บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การวิเคราะห์รูปร่างและขนาดของอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโน

จากการทดลองพบว่าปัจจัยที่ประกอบด้วย cyclohexane, n-Hexanol, Triton X-100, 20 mM RuBpy dye solution, TEOS และNH_4OH (NH_3 30; wt%) ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาค FDS-NPs ในระบบไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน มีลักษณะเป็นสารสีส้มใสสามารถมองทะลุผ่านได้ และมีความเสถียร มีผลต่อรูปร่าง และขนาดของอนุภาค FDS-NPs ซึ่งจะพบค่าเฉลี่ยขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 43 ± 2 nm ซึ่งขนาดของอนุภาค FDS-NPs ที่สังเคราะห์ได้มีขนาดของอนุภาคใกล้เคียงและสอดคล้องกับการทดลองของธัญภัค สุวรรณชาติ (2551) และ Hun (2007)

5.1.2 การความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้น และความยาวช่วงคลื่นที่ใช้ในการเรืองแสง

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าลักษณะของสี Rubpy dye ไม่เปลี่ยนแปลงไปมากนักเมื่อผ่านกระบวนการบรรจุไว้ภายในอนุภาค FDS-NPs และจะเห็นได้ว่าความเข้มแสงของอนุภาค FDS-NPs มีความเข้มสูงขึ้นจาก 160 เป็น 1,600 เมื่อเทียบกับ Free Rubpy dye แสดงให้เห็นเม็ดสีที่ถูกบรรจุอยู่ภายในจำนวนมากจึงมีความเข้มแสงเพิ่มขึ้น และจากการเพิ่มของความยาวคลื่นของสี Rubpy dye หลังจากสังเคราะห์เป็นอนุภาค FDS-NPs นั้นเพราะว่า สี Free Rubpy dye จะถูกบรรจุอยู่ในอนุภาค FDS-NPs เป็นจำนวนมากจึงทำให้ Free Rubpy dye ถูกบีบอัดอยู่ภายใน และผิวของอนุภาคนั้นยังสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจน และแสงจากสิ่งแวดล้อมภายนอก โดยมีโครงร่างของซิลิกาเป็นเปลือกห่อหุ้มอนุภาคไว้ จึงทำให้ความยาวคลื่นกระตุ้น และการเรืองแสงของอนุภาค FDS-NPs มากกว่าสี Free Rubpy dye (Hun, 2007)

5.1.3 อนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโนที่ดัดแปลงให้เกิดหมู่เอมีน

จากการทดลองพบว่าช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวเป็นความยาวคลื่นของหมู่เอมีน (N-H stretch) แสดงให้เห็นว่าการใช้ Trimethoxysilyl-propyldiethylenetriamine (DETA) ทำให้เกิดหมู่เอมีนที่มีประจุบวกไปสร้างพันธะบนพื้นผิวของอนุภาค FDS-NPs ซึ่งเป็นประจุลบ จึงทำให้เกิดการสร้างพันธะระหว่างกัน และทำให้เกิดหมู่เอมีน (N-H stretch) ได้ตามต้องการ (แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม, 2539)

5.1.4 อนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโนที่ดัดแปลงให้เกิดหมู่คาร์บอกซิล

พีคที่พบจากการทดลอง ปรากฏหมู่คาร์บอกซิลที่ต้องการอย่างชัดเจน และไม่ปรากฏหมู่เอมีน (N-H stretch) ที่ 3,297.88cm^{-1} แสดงให้เห็นว่าหมู่คาร์บอกซิลเข้ามาแทนที่หมู่เอมีนได้อย่างสมบูรณ์ (Charlie, 2008; แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม, 2539)

5.1.5 การเกาะกลุ่มระหว่างอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโนในการสังเคราะห์อนุภาค

เนื่องด้วยในขั้นตอนนี้โครงสร้างของอนุภาคจะประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (O-H) และหมู่ซิลิกา (Si-O-Si) และบริเวณผิวของอนุภาคจะพบประจุลบเท่านั้น ซึ่งบริเวณผิวในขั้นตอนนี้จะไม่มีการเหนี่ยวนำด้วยพันธะไอออนิก (Ionic bond) หรือมีการกระจายตัวสม่ำเสมอ ไม่มีการเกาะกันระหว่างอนุภาค FDS-NPs (Rahul, 2006)

5.1.6 การเกาะกลุ่มระหว่างอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโนในการดัดแปลงพันธะเคมี

หลังจากเติม Trimethoxysilyl-propyldiethylenetriamine (DETA) ทำให้เกิดการเกาะตัวที่มากขึ้น เป็นเพราะประจุบวกของ DETA ทำให้อนุภาค FDS-NPs (ประจุลบ) เกิดการเกาะตัวมากขึ้น และหลังจากเติม Succinic anhydride ทำให้เกิดประจุลบแทนประจุบวก ซึ่งประจุลบเป็นประจุของอนุภาค FDS-NPs จึงทำให้มีแรงผลักมากกว่าที่จะเกิดพันธะไอออนิก (Ionic bond) แต่การเกาะตัวกันระหว่างอนุภาคนั้น ยังมีหมู่เอมีนหลงเหลืออยู่ในขั้นตอนนี้ด้วย (Rahul, 2006)

5.1.7 การเกาะกลุ่มระหว่างอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโนในการติดแอนติบอดี

ซึ่งการเกาะตัวนี้เกิดจาก แอนติบอดี (โปรตีน) มีประจุบริเวณผิวทั้งบวกและลบกระจายตัวอย่างไม่สม่ำเสมอกัน และไม่สามารถใช้เครื่อง sonicate probe ในการกระจายอนุภาค FDS-NPs ได้ เพราะจะทำให้โปรตีนเสียสภาพ (denature) ไป จึงทำให้ขั้นตอนการนี้เกิดการเกาะตัวของอนุภาค FDS-NPs (Baoan, 2007)

5.1.8 การเกาะกลุ่มระหว่างอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโนโดยใช้ Zeta potential

พบว่าสารแขวนลอยที่มีความเสถียร (เกิดแรงผลักระหว่างอนุภาค FDS-NPs) ซึ่งค่าที่ให้ผลดีที่สุดคือค่า 10mM NaCl ใน PBS buffer เพราะว่า NaCl เมื่อแตกตัวในสารละลายจะเกิดทั้งประจุบวก (Na^+) และประจุลบ (Cl^-) ซึ่งประจุทั้งสองจะเข้าไปสร้างพันธะไอออนิก บนแอนติบอดี (โปรตีน) ทำให้ประจุบนแอนติบอดีเกิดความเสถียร และสามารถลดการเกาะตัวของอนุภาค FDS-NPs (Baoan, 2007)

5.1.9 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโน และวิธี spread plate กับตัวอย่างเชื้อ *C. jejuni* บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ

พบว่าวิธีทั้งสองมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกันโดยดูความสัมพันธ์จากรูปที่ 4.25 ซึ่งเป็นผลมาจากความจำเพาะของแอนติบอดี กับแอนติเจนของเชื้อ *C. jejuni* และเป็นการใช้อนุภาค FDS-NPs ที่จำเพาะกับเชื้อบริสุทธ์ จึงทำให้มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวิธี Spread plate (conventional method) และมีประสิทธิภาพสามารถตรวจหาเชื้อ *C. jejuni* ได้อยู่ที่ค่าเฉลี่ยประมาณร้อยละ 98.1 เมื่อเทียบกับ

วิธี spread plate (คิดเป็น 100%) จะพบว่าประสิทธิภาพสามารถตรวจหาเชื้อ *C. jejuni* มีค่าเฉลี่ยที่สูง เป็นเพราะว่า ในขั้นตอนนี้ใช้ *C. jejuni* บริสุทธิ์ จึงทำให้อนุภาค FDS-NPs ที่ติดด้วย แอนติบอดี (mAb) จึงมีความจำเพาะที่สูงมาก

5.1.10 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโน และวิธี spread plate กับเชื้อ *C. jejuni* ในตัวอย่างไก่ในห้องปฏิบัติการ

จากค่าที่แสดงประสิทธิภาพอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโน พบว่าลดลง เป็นเพราะว่าในตัวอย่างไก่ทั้ง 3 ตัวอย่าง มีทั้ง ปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดตร และไขมันต่างๆ เป็นจำนวนมากไปบดบัง หรือขัดขวางอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโน จึงทำให้การเกิดแสง และทำให้ประสิทธิภาพของแอนติบอดีลดลงได้ และยังส่งผลต่อการทำงานของ แอนติบอดี (mAb) ด้วย

5.1.11 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพอนุภาคฟลูออเรสเซนท์ซิลิกานาโน และวิธี spread plate กับเชื้อ *C. jejuni* ในตัวอย่างไก่ในโรงงานอุตสาหกรรม

ในตำแหน่งด้านล่างของรถบรรทุกพบปริมาณเชื้อ *C. jejuni* ที่มากเป็นเพราะว่าก่อนเชือดจะให้ไก่อดอาหาร (Feed withdrawal) อย่างน้อย 4 ชั่วโมง ซึ่งจะทำให้ไก่เกิดการหิว และอุจจาระเมื่อเกิดการตกใจในระหว่างการขนส่ง ไก่ที่อยู่ด้านบนอุจจาระลงมาสู่ด้านล่างเป็นจำนวนมาก อาจทำให้ถ่ายติดตามตัวหรืออาจจะกินเข้าไปได้ และทำให้ประสิทธิภาพของอนุภาค FDS-NPs ลดลงเนื้องจากในตัวอย่างไก่มีทั้ง ปริมาณโปรตีน, คาร์โบไฮเดตร และไขมันต่างๆ เป็นจำนวนมากไปบดบัง หรือขัดขวางอนุภาค FDS-NPs จึงทำให้การเกิดแสง และทำให้ประสิทธิภาพของแอนติบอดีลดลงได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

- ในการตรวจประสิทธิภาพอนุภาค FDS-NPs กับวิธี spread plate ในงานวิจัยนี้เป็นเพียงการทดสอบในตัวอย่างไก่ (clocal swab) เท่านั้น ยังจะต้องทดสอบอีกหลายตัวอย่างเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของตัวอนุภาค FDS-NPs ตามมาตรฐาน ISO 16140
- ในงานวิจัยนี้ทำการตรวจประสิทธิภาพอนุภาค FDS-NPs กับวิธี spread plate แต่ยังไม่สามารถหาปริมาณเชื้อที่ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจนับได้ (Detection limit) ของอนุภาค FDS-NPs