



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอทสำหรับตรวจจับน้ำตาลกลูโคสด้วย
เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์
Synthesis of boronic graphene quantum dots for detection of glucose
by using fluorescence techniques

ชื่อนิสิต	นางสาวภัทรปภา จันทกิจ	เลขประจำตัว	6033075223
ภาควิชา	เคมี		
ปีการศึกษา	2563		

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสังเคราะห์โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท สำหรับตรวจจับน้ำตาลกลูโคส ด้วย
เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

Synthesis of boronic graphene quantum dots for detection of glucose by
using fluorescence techniques

โดย
นางสาวภัทรปภา จันทกิจ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563

โครงการ การสังเคราะห์ไบโโรนิกกราฟีนควอนตัมดอทสำหรับตรวจจับน้ำตาลกลูโคสด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์

โดย นางสาวภัทรปภา จันทกิจ

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

- | | |
|---|------------------|
| 1. รองศาสตราจารย์ ดร.เฟื่องฟ้า อุ่นอบ | ประธานกรรมการ |
| 2. อาจารย์ ดร.ชนัท อ้นบางเขน | กรรมการ |
| 3. รองศาสตราจารย์ ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒน์กิจ | อาจารย์ที่ปรึกษา |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี



(รองศาสตราจารย์ ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒน์กิจ)
อาจารย์ที่ปรึกษา



(รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิรี โฮვნ)
หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ .27 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2564

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์โพลิเมอร์กราฟีนควอนตัมดอทสำหรับตรวจจับน้ำตาลกลูโคสด้วยเทคนิค
 ฟลูออเรสเซนซ์

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวภัทรปภา จันทกิจ เลขประจำตัว 6033075223

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒน์กิจ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2563

บทคัดย่อ

น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งพลังงานสำคัญสำหรับร่างกาย อย่างไรก็ตาม หากน้ำตาลกลูโคสถูกบริโภคในปริมาณที่มากเกินไป หรือขาดการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสด้วยระบบการควบคุมฮอร์โมน ซึ่งส่งผลให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงผิดปกติ สิ่งเหล่านี้สามารถส่งผลให้เกิดอาการร้ายแรงในรูปของโรคเบาหวาน ที่น่าเสียดาย ณ ปัจจุบัน โรคนี้ยังไม่มีวิธีการรักษาให้หายขาดได้ และผู้ป่วยบางคนอาจเกิดอาการแทรกซ้อนรุนแรงซึ่งได้มาจากโรคเบาหวานอีกด้วย ฉะนั้น การตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในเลือดจึงสำคัญสำหรับการบ่งบอกถึงระดับความรุนแรงของโรคเบื้องต้น เพื่อบรรเทาอาการรุนแรงของโรคได้อย่างทันท่วงที ในงานวิจัยนี้ การสังเคราะห์วัสดุตรวจวัดจากโพลิเมอร์กราฟีนควอนตัมดอทที่ห่อหุ้มด้วยไฮโดรเจล (BGQDs/Gels) ประสบความสำเร็จในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันเอนไซม์ โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี BGQDs ถูกสังเคราะห์ผ่านกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลเพียงขั้นตอนเดียว จากสารตั้งต้น 3-อะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิด (3-APBA) ลักษณะสัณฐาน และโครงสร้างของ BGQDs ถูกศึกษาด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (TEM) จากผลการทดลอง BGQDs มีรูปร่างเป็นทรงกลม และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยที่ 4.69 ± 0.84 nm ยิ่งไปกว่านั้น การพิสูจน์เอกลักษณ์หมู่ฟังก์ชันบน BGQDs ด้วย FT-IR และ $^{11}\text{B-NMR}$ ได้ยืนยันว่า มีหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดบริเวณขอบของแผ่นกราฟีนควอนตัมดอท ในงานวิจัยนี้สนใจที่จะตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสอย่างจำเพาะเจาะจงผ่านการใช้อเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ได้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ว่องไว ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดผ่านปฏิกิริยาไฮโดรโบเรชันทำให้เกิดการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ นอกจากนี้ ไฮโดรเจลถูกนำมาประยุกต์ใช้ เพื่อเพิ่มความว่องไวในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส และรักษาเสถียรภาพของเอนไซม์ โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 375 นาโนเมตรแปรผกผันกับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และค่าขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) ของน้ำตาลกลูโคสเป็น 40.10 และ 133.66 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ ในช่วงความเป็นเส้นตรง 300-800 ไมโครโมลาร์ นอกเหนือจากนั้น ผลการทดลองของงานนี้แสดงว่า BGQDs/Gels มีความสามารถในการตรวจวัดอย่างมีประสิทธิภาพสูง และมีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อน้ำตาลกลูโคส โดยคาดว่า วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels สามารถเป็นตัวเลือกที่จะเป็นประโยชน์ในการตรวจวัดระดับน้ำตาลกลูโคสในการวินิจฉัยในทางการแพทย์ สำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานได้

คำสำคัญ : น้ำตาลกลูโคส, โพลิเมอร์กราฟีนควอนตัมดอท, ไฮโดรเจล, เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

Project Title Synthesis of boronic graphene quantum dots for detection of glucose by using fluorescence techniques

Student Name Pattarapapa Janthakit Student ID 6033075223

Advisor Name Associate Professor Boosayarat Tomapatanaget, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2020

Abstract

Glucose is a necessary energy source for human body. However, if excessive amount of glucose is consumed or lack of glucose control by hormone regulation system, resulting in abnormally high level of glucose, these can cause a dangerous symptom in terms of “diabetes mellitus”. Unfortunately, this disease is nowadays untreatable, and some patients might gain severe complications, extending from diabetes. Accordingly, blood glucose measurement is vital for indicating preliminary disease severity in order to relieve dramatic symptoms in due time. In this study, sensing materials with fabrication of boronic graphene quantum dots encapsulated in hydrogel (**BGQDs/Gels**) have been achieved for glucose detection via enzymatic reaction by using fluorescence techniques. **BGQDs** were synthesized by one-step hydrothermal reaction by employing only 3-aminophenylboronic acid (3-APBA) as reactant. The morphology and structural properties of **BGQDs** were investigated by TEM photographs. As a result, **BGQDs** were spherical and their average size distributions of **BGQDs** were 4.69 ± 0.84 nm. Additionally, the functional group characterization by FT-IR and ^{11}B -NMR confirmed boronic acid group at the edge of **BGQDs** graphene sheet. Herein, this research focused on selective glucose detection by glucose oxidase enzymatic reaction to obtain H_2O_2 as reactive product, being able to react boronic acid groups on **BGQDs** via hydroboration reaction inducing the fluorescent quenching. Furthermore, hydrogel was applied to improve the sensitivity and enzymatic stability for glucose sensing system. The experiment demonstrated that the fluorescent spectra at 375 nm was inversely proportional to the concentration of glucose. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of glucose were $40.10 \mu\text{M}$ and $133.66 \mu\text{M}$, respectively, with the concentration linear range of $300\text{-}800 \mu\text{M}$. Moreover, the results of this study provided that **BGQDs/Gels** showed a highly effective sensing activity and excellent selectivity for glucose detection. As anticipated, the **BGQDs/Gels** materials can be alternative candidate to give a benefit as the application for detection of glucose levels in the field of medical diagnosis for diabetic patients.

Keywords: glucose, boronic graphene quantum dots, hydrogel, glucose oxidase, hydrogen peroxide

กิตติกรรมประกาศ

ดิฉันขอขอบพระคุณทุกคำแนะนำ คำสั่งสอน การช่วยเหลือ และการสนับสนุนอันมีค่าที่ได้รับจากทุก ๆ ท่าน ระหว่างการทำงานวิจัยนี้ ดังต่อไปนี้

ดิฉันขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย รองศาสตราจารย์ ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒน์กิจ ที่กรุณาให้โอกาสให้แนวทางในการดำเนินงานวิจัย และมอบคำแนะนำ คำสั่งสอน ความรู้ ความเมตตาที่มีค่า อีกทั้งยังเสียสละเวลา เพื่อให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ เป็นอย่างดียิ่งตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา ทำให้การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และสิ่งสำคัญคือ อาจารย์เป็นนิยามของคำว่าต้นแบบ และแนวทางของการเป็นนักวิจัยที่ดีให้แก่ดิฉัน

ดิฉันขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เฟื่องฟ้า อุ่่นอบ และ อาจารย์ ดร.ชนัท อ้นบางเขน ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการ รวมทั้งให้คำแนะนำ และความคิดเห็นที่มีค่าสำหรับงานวิจัยนี้

ดิฉันขอขอบพระคุณ คุณจตุรงค์ ก้องวุฒิเวช สำหรับความเอื้อเฟื้อในการสังเคราะห์เจเลเตอร์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ และดิฉันขอขอบพระคุณพี่ ๆ ในห้องปฏิบัติการทุกคน ที่ได้มอบทั้งคำแนะนำที่มีความหมาย และทักษะในการทำวิจัย รวมถึงความช่วยเหลือ และมิตรภาพที่ดีมาโดยตลอด รวมถึงดิฉันขอขอบพระคุณพี่ ๆ ทุกคนในกลุ่มวิจัย Supramolecular Chemistry Research Unit (SCRU) สำหรับคำปรึกษา ความเมตตา มิตรภาพที่อบอุ่น ตลอดจนคำชี้แนะในการทำวิจัยต่าง ๆ

สุดท้ายนี้ ดิฉันขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้มอบวิชาความรู้ และประสบการณ์ในการทำวิจัย รวมถึงดิฉันขอขอบคุณกำลังใจจากแม่ และครอบครัวที่ได้ช่วยเหลือ และเป็นแรงผลักดันให้งานวิจัยนี้ผ่านลุล่วงไปได้ด้วยดี ดิฉันซาบซึ้งในทุกความกรุณา และขอขอบพระคุณทุกท่านจากใจจริง

ภัทรภา จันทกิจ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูป	ฅ
สารบัญตาราง	ฉ
สัญลักษณ์ และคำย่อ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.1.1 โรคเบาหวาน (diabetes mellitus)	1
1.1.2 เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy)	4
1.1.3 วัสดุระดับนาโน (nanomaterials)	5
1.1.4 กราฟีนควอนตัมดอท (graphene quantum dots, GQDs)	7
1.1.5 โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (boronic graphene quantum dots, BGQDs)	11
1.1.6 แนวคิดการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสด้วยการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส	14
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	19
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	19
บทที่ 2 การทดลอง	20
2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์	20
2.1.1 เครื่องมือในการวิเคราะห์	20
2.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	21
2.1.3 สารเคมี	21
2.2 การสังเคราะห์ และการพิสูจน์เอกลักษณ์	22
2.2.1 การสังเคราะห์เซ็นเซอร์โมเลกุลโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอทสำหรับตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส	22
2.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเซ็นเซอร์โมเลกุลโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท	22
2.2.2.1 การวิเคราะห์ขนาด และสัญญาณของ BGQDs ด้วย transmission electron microscopy (TEM)	22
2.2.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ BGQDs ด้วย ¹¹ B-NMR spectroscopy	22

2.2.2.3 การพิสูจน์หมู่ฟังก์ชันของ BGQDs ด้วย Fourier transform infrared spectrometer, FT-IR	22
2.2.2.4 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของ BGQDs ด้วย fluorescence spectroscopy	22
2.3 การเตรียมวัสดุตรวจวัด BGQDs ที่ถูกห่อหุ้มด้วยไฮโดรเจล (BGQDs/Gels)	23
2.3.1 การศึกษาปริมาณเจลเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	23
2.3.2 การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	25
2.3.3 การศึกษาความเข้มข้น BGQDs ที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	27
2.3.4 การศึกษาความเข้มข้น BGQDs ที่เหมาะสมสำหรับ BGQDs/Gels ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี	28
2.4 การศึกษาการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H ₂ O ₂) ของ BGQDs/Gels	30
2.5 การศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสของ BGQDs /Gels	31
2.5.1 การศึกษาปริมาณกลูโคสออกซิเดสที่เหมาะสมของปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกลูโคสออกซิเดสที่มีต่อ BGQDs/Gels ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี	31
2.5.2 การศึกษาฟลูออเรสเซนส์ไทเทรชันของเซ็นเซอร์ BGQDs/Gels กับน้ำตาลกลูโคส ผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี	32
บทที่ 3 ผลการทดลอง และอภิปรายผลการทดลอง	34
3.1 การสังเคราะห์ และการพิสูจน์เอกลักษณ์	34
3.1.1 การสังเคราะห์โมเลกุลเซ็นเซอร์โพรนิกรราฟีนควอนตัมดอท (BGQDs)	34
3.1.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของโมเลกุลเซ็นเซอร์โพรนิกรราฟีนควอนตัมดอท (BGQDs)	35
3.1.2.1 การศึกษาขนาดและสัญญาณของ BGQDs	35
3.1.2.2 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของ BGQDs	36
3.1.2.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ BGQDs ด้วย ¹¹ B-NMR spectroscopy	37
3.1.2.4 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของ BGQDs ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี	38
3.2 แนวคิดงานวิจัยเกี่ยวกับปฏิกิริยาที่ต้องอาศัยเอนไซม์	39
3.3 การศึกษาการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs ห่อหุ้มในไฮโดรเจล (BGQDs/Gels)	42
3.3.1 การศึกษาปริมาณเจลเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	42

3.3.2 การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	44
3.3.3 การศึกษาความเข้มข้น BGQDs ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	46
3.4 การศึกษาการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H ₂ O ₂) ของ BGQDs ในระบบสารละลายและไฮโดรเจล	51
3.5 การศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสของ BGQDs/Gels	53
3.5.1 ศึกษาปริมาณกลูโคสออกซิเดสที่เหมาะสมของปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกลูโคสออกซิเดสที่มีต่อ BGQDs/Gels ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี	53
3.5.2 ศึกษาฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชันของ BGQDs/Gels กับน้ำตาลกลูโคส โดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส	55
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	59
เอกสารอ้างอิง	61
ภาคผนวก	67
ประวัติผู้วิจัย	70

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	ชนิด และสาเหตุของการเกิดโรคเบาหวาน (diabetes mellitus)	2
1.2	แนวคิดและงานวิจัยของ H. Gao และคณะ และ (b) โครงสร้างของโมเลกุลกลูโคสที่เปลี่ยนเป็น กลูโคโนแลกโทน	2
1.3	แสดงอิทธิพลของตัวรับวาน (0.5 mM ascorbic acid , 0.1 mM uric acid, 0.1 mM urea, 0.5 mM fructose) ซึ่งมีผลต่อ 5.0 mM กลูโคส ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.35 V	3
1.4	แผนภาพระดับพลังงานสำหรับการเรืองแสงของโมเลกุล (molecular photoluminescence)	4
1.5	แสดงการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสของอนุภาคเงินระดับนาโนดัดแปลงบนพื้นผิวของแคดเมียม เซลีเนียม	5
1.6	สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์และการเรืองแสงของโมลิบดีนัม ไดซัลไฟด์ควอนตัมดอท ที่มีการเพิ่มความเข้มข้นกลูโคส (0.1 ถึง 5.0 mM) ในซีรัมของตัวอ่อนลูกวัว	6
1.7	ภาพแสดง (a) โครงสร้างกราฟีนควอนตัมดอท และ (b) ความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคกับ สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์	7
1.8	กระบวนการสังเคราะห์ด้วยวิธีจากใหญ่ไปเล็ก	8
1.9	กระบวนการสังเคราะห์ด้วยวิธีจากเล็กไปใหญ่	8
1.10	สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ GQDs (เส้นสีแดง) และ N-GQDs (เส้นสีดำ) ในสารละลายที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 360 นาโนเมตร และภาพถ่ายการเรืองแสงภายใต้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร ของ GODs (ภาพขวา) และ N-GQDs (ภาพซ้าย)	9
1.11	แนวคิดการดัดแปลงโครงสร้างของกราฟีนควอนตัมดอทโดยทำการเติมหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด (a) สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ APBA-GQD และ GQD (b) ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 290 และ 320 นาโนเมตร ตามลำดับ	10
1.12	กลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่ฟีนิลโบโรนิก แอซิด และน้ำตาลกลูโคส	11
1.13	โครงสร้างวงน้ำตาลไพแรนโนสของ (a) น้ำตาลกลูโคส (b) น้ำตาลฟรักโทส (c) น้ำตาลกาแลกโทส และ (d) น้ำตาลแมนโนส	11
1.14	แนวคิดงานวิจัยในการออกแบบระบบตัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส	12
1.15	แสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ GQDs หลังจากเติมน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวฟรักโทส (เส้นสีดำ) กาแลกโทส (เส้นสีเขียว) และกลูโคส (เส้นสีน้ำเงิน)	13
1.16	แนวคิดการออกแบบระบบการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอ็นไซม์ และตัวตรวจวัดที่มีพื้นฐานจากหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก	14
1.17	การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีการเติมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ	15

1.18	กราฟแท่งแสดงความเข้มข้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ที่ความยาวคลื่น 375 นาโนเมตร ซึ่งเติมน้ำตาลกลูโคส (ซ้ำย) และน้ำตาลฟรักโทส (ขวา) ความเข้มข้น 20 mM ผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 1 หน่วย ใน HEPES buffer pH 7.4	16
1.19	โครงสร้างทางเคมีของซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ (sucrose laurate monoester)	17
1.20	แนวความคิดงานวิจัยการตรวจจับน้ำตาลกลูโคส โดยใช้วัสดุตรวจวัด BGQDs ห่อหุ้มในไฮโดรเจล	18
3.1	ปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ BGQDs และภาพแสดงสารละลาย BGQDs ภายใต้แสงยูวีความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร	34
3.2	ภาพถ่าย TEM (a) high-resolution TEM (b) ภาพแสดงระยะห่างภายในระนาบ (c) และขนาดอนุภาคเฉลี่ย (d) ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs	35
3.3	FT-IR spectra ของ BGQDs	36
3.4	^{11}B -NMR spectra ของ 3-APBA (a) และ BGQDs (b)	37
3.5	สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ที่ความยาวคลื่นกระตุ้นตั้งแต่ 280 ถึง 380 นาโนเมตร	38
3.6	กราฟแท่งแสดงความเข้มข้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ที่ความยาวคลื่น 375 นาโนเมตรซึ่งเติมน้ำตาลกลูโคส (ซ้ำย) และน้ำตาลฟรักโทส (ขวา) ความเข้มข้น 20 mM ผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 1 unit ใน HEPES buffer pH 7.4	40
3.7	แนวความคิดงานวิจัยการตรวจจับน้ำตาลกลูโคส โดยใช้วัสดุตรวจวัด BGQDs ห่อหุ้มในไฮโดรเจล	41
3.8	โครงสร้างทางเคมีของซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ (sucrose laurate monoester)	41
3.9	(a) สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs/Gels และ (b) พล็อตความเข้มข้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 375 นาโนเมตรของ BGQDs ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-1.617 mg/mL โดยความคลาดเคลื่อนของความเข้มข้นสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้จากการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)	49
3.10	สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ในสารละลาย ที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.01 mM, 0.1mM และ 1.0 mM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)	51
3.11	สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ในไฮโดรเจล ที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.01 mM, 0.1mM และ 1.0 mM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)	52
3.12	สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ในไฮโดรเจล ที่ทำปฏิกิริยากับกลูโคสและกลูโคสออกซิเดส ที่ความเข้มข้น 1 unit และ 2 units โดยใช้กลูโคส 10 mM และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 mM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)	53

- 3.13 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ในไฮโดรเจล ที่ทำปฏิกิริยากับกลูโคสและกลูโคสออกซิเดส ที่ความเข้มข้น 1 unit และ 2 units โดยใช้กลูโคส 1 mM และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 25 mM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm) 54
- 3.14 (a) ฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชันของ BGQDs/Gels (b) ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในช่วง 0-1500 μ M (c) กราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ในช่วง 300-800 μ M (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm) 55
- 3.15 (a) ฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชันของ BGQDs ในระบบสารละลาย (b) ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้นในช่วง 0-1500 μ M และกราฟเส้นตรงในช่วง 500-800 μ M (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm) 56

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs	23
2.2	ปริมาณของสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาปริมาณเจลเลเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับ BGQDs/Gels	24
2.3	ปริมาณของสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับ BGQDs/Gels	26
2.4	ปริมาณของ BGQDs ที่ใช้ในการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BGQDs สำหรับ BGQDs/Gels	27
2.5	ปริมาณของ BGQDs ที่ใช้ในการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BGQDs สำหรับ BGQDs/Gels ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี	28
2.6	สภาวะที่ใช้สำหรับการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs/Gels	29
2.7	ปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สำหรับศึกษาการตรวจวัดของ BGQDs/Gels	30
2.8	ปริมาณของกลูโคสออกซิเดสที่ใช้ในการศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสของ BGQDs/Gels	31
2.9	ปริมาณของสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชัน สำหรับ BGQDs/Gels/glucose	33
3.1	ผลการศึกษาปริมาณเจลเลเตอร์ในการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	43
3.2	ผลการศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลาย DMSO:H ₂ O ในการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	45
3.3	ผลของความเข้มข้น BGQDs ที่มีผลต่อการเกิดเจลของวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels	46
3.4	ผลการศึกษาความเข้มข้น BGQDs ที่มีผลต่อความเข้มข้นสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs/Gels	48

สัญลักษณ์ และคำย่อ

NMR	นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรมิเตอร์ (Nuclear Magnetic Resonance spectrometer)
TEM	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope)
FT-IR	เครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrometer)
BGQDs	โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (boronic graphene quantum dots)
BGQDs/Gels	โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอทที่ถูกห่อหุ้มด้วยไฮโดรเจล (boronic graphene quantum dots encapsulated in hydrogel)
3-APBA	3-อะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิด (3-aminophenylboronic acid)
GOx	เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase enzyme)
DMSO	ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide)
min	นาที (minute)
μL	ไมโครลิตร (microliter)
mL	มิลลิลิตร (milliliter)
cm	เซนติเมตร (centrimeter)
nm	นาโนเมตร (nanometer)
μM	ไมโครโมลาร์ (micromolar)
ppm	ส่วนในล้านส่วน (part per million)
λ	ความยาวคลื่น (wavelength)
λ_{ex}	ความยาวคลื่นกระตุ้น (excitation wavelength)

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

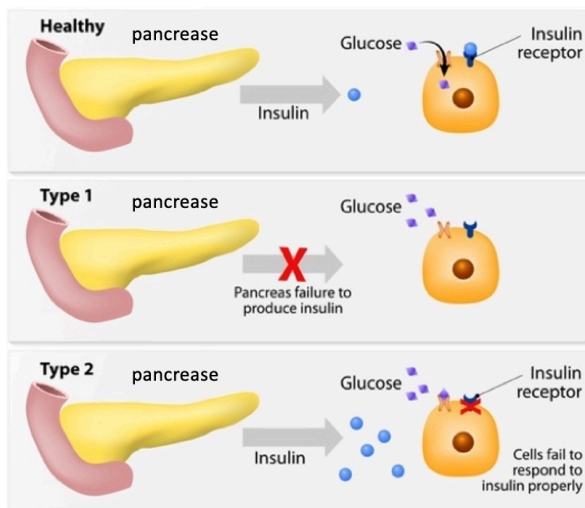
1.1.1 โรคเบาหวาน (diabetes mellitus)

โรคเบาหวาน (diabetes mellitus) ถือว่าเป็นโรคเรื้อรังที่มีความรุนแรงซึ่งก่อให้เกิดการเสียชีวิตได้⁽¹⁾ จากสถานการณ์ของโรคเบาหวานในปัจจุบัน พบว่า แนวโน้มของอัตราการเกิดโรคเบาหวานได้ทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในรายงานขององค์การอนามัยโลก (world health organization, WHO) ในปี 2020 ได้แสดงถึงจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานทั่วโลกที่มีกว่า 422 ล้านคน และมีอัตราการเสียชีวิตสูงถึง 1.6 ล้านคน นอกจากนี้ ยังได้มีการคาดการณ์ว่า จำนวนของผู้ป่วยโรคเบาหวานจะเพิ่มสูงถึง 700 ล้านคนในปี 2045⁽²⁾ จากข้อมูลเชิงสถิติของผู้ป่วยโรคเบาหวานในภาคพื้นแปซิฟิก พบว่า คนไทยมีจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานมากเป็นอันดับ 4 ซึ่งรองจากประเทศจีน อินเดีย และญี่ปุ่น⁽³⁾

จากงานวิจัยในปัจจุบัน พบว่า ระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือด (blood glucose sugar) ที่มีมากกว่าปกติ (hyperglycemia) เป็นสาเหตุหลักของโรคเบาหวาน ทั้งนี้ กระบวนการเกิดโรคเบาหวานสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด⁽⁴⁾ ดังแสดงในรูปที่ 1.1 ได้แก่ ชนิดที่ 1 คือ ร่างกายไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินได้ตั้งแต่กำเนิดซึ่งส่งผลโดยตรงต่อกลไกการลดระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือด ฉะนั้น ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดนี้จึงจำเป็นต้องได้รับการรักษาโดยฉีดฮอร์โมนอินซูลิน เพื่อป้องกันการเกิดภาวะหมดสติจากน้ำตาลในเลือดสูง สำหรับโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งเป็นสภาวะที่พบบ่อยที่สุด โดยมักจะมีสาเหตุหลักมาจากการรับประทานอาหารที่มีระดับน้ำตาลกลูโคสสูงเกินไป จนสภาวะร่างกายไม่สามารถตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลิน (insulin resistance) เมื่อไม่ได้รับการรักษาเป็นเวลานาน จะส่งผลให้เกิดภาวะเป็นพิษต่อเซลล์ตับอ่อน

ในสภาวะปกติ เมื่อร่างกายได้รับกลูโคสจากการบริโภคสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ตับอ่อนจะทำการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน (insulin hormone) เพื่อกระตุ้นให้มีการขนส่งน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดเข้าสู่เซลล์ และแพร่ไปเนื้อเยื่อต่าง ๆ แต่หากมีระดับน้ำตาลกลูโคสที่ได้รับมากเกินไป ร่างกายจะกักเก็บน้ำตาลเหล่านั้นให้อยู่ในรูปไกลโคเจนในตับ และกล้ามเนื้อ เพื่อเอาไว้ใช้ในยามที่ร่างกายขาดแคลนพลังงาน โดยระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของคนทั่วไปจะอยู่ที่ประมาณ 3.9-6.1 mM แต่สำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสในเลือดมากกว่า 6.1 mM⁽⁶⁾ ทั้งนี้ การมีระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูงเป็นเวลานานสามารถส่งผลร้ายแรงต่อหัวใจ และก่อให้เกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน รวมไปถึงอาจทำให้เกิดอาการไตวาย เนื้อตาย สูญเสียการมองเห็น และระบบประสาทถูกทำลาย⁽⁷⁾ อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบัน โรคเบาหวานยังไม่มีวิธีการรักษาที่ทำให้หายขาดได้ ดังนั้น การตรวจพบโรคเบาหวานในระยะแรกจึงเป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งสามารถช่วยบรรเทาอาการรุนแรงของโรคได้

DIABETES MELLITUS

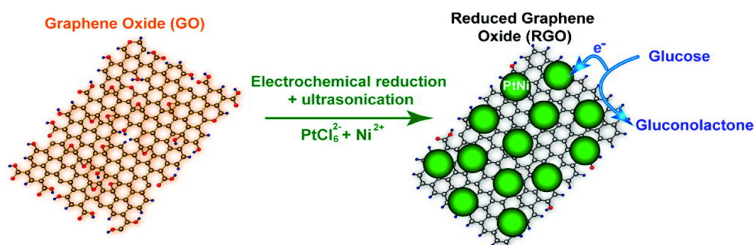


รูปที่ 1.1 ชนิด และสาเหตุของการเกิดโรคเบาหวาน (diabetes mellitus) ⁽⁵⁾

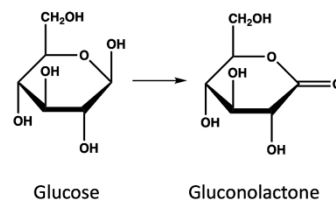
จากการศึกษางานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่า ได้มีการศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสด้วยเทคนิคที่หลากหลาย ยกตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้า (electroanalytical techniques) ⁽⁸⁻⁹⁾ เทคนิคโครมาโทกราฟี เพลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) ⁽¹⁰⁻¹¹⁾ เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี (mass spectrometry) ⁽¹²⁾ เป็นต้น ซึ่งเทคนิคเหล่านี้สามารถตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสได้อย่างจำเพาะเจาะจง และมีประสิทธิภาพสูง

ในปี 2011 H. Gao และคณะ ⁽¹³⁾ ได้ทำการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรี (amperometry) ผ่านการใช้อนุภาคนาโนของแพททินิกเกิลและกราฟีนออกไซด์ (PtNi nanoparticle-graphene nanocomposites) ดังแสดงในรูปที่ 1.2

(a)



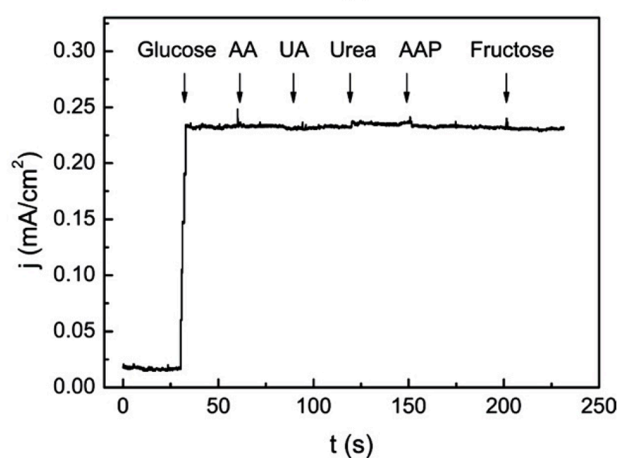
(b)



รูปที่ 1.2 (a) แนวคิดและงานวิจัยของ H. Gao และคณะ ⁽¹³⁾

และ (b) โครงสร้างของโมเลกุลกลูโคสที่เปลี่ยนเป็นกลูโคโนแลกโตน

จากงานวิจัยนี้ พบว่า เซ็นเซอร์ตรวจวัดกลูโคสจากอนุภาคนาโนของแพททินัมนิกเกิล และกราฟีนออกไซด์ ซึ่งตรวจวัดด้วยเทคนิคเพอร์เมตรีนั้น สามารถตรวจวัดกลูโคสได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดยไม่มีการรบกวนจากสารอื่น ๆ เช่น วิตามินซี (ascorbic acid) กรดยูริก (uric acid) ยูเรีย (urea) น้ำตาลฟรุกโทส (fructose) เป็นต้น เนื่องมาจากการเลือกค่าศักย์ไฟฟ้าในการวิเคราะห์ต่ำกว่า -0.35 V ทำให้สัญญาณของสารอื่นที่ไม่ใช่ น้ำตาลกลูโคสไม่ถูกกระตุ้น แสดงในรูปที่ 1.3 นอกจากนี้ เซ็นเซอร์นี้มีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำอยู่ที่ 0.01 mM จากคุณสมบัติที่โดดเด่นของขั้วอิเล็กโทรดที่มีการเคลือบอนุภาคนาโนของแพททินัมนิกเกิล ส่งผลให้มีพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยามากจึงช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสอย่างมีประสิทธิภาพ

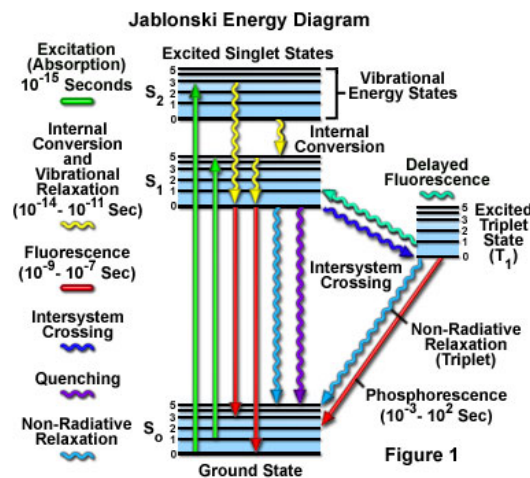


รูปที่ 1.3 อิทธิพลของตัวรบกวน (0.5 mM ascorbic acid , 0.1 mM uric acid, 0.1 mM urea, 0.5 mM fructose) ซึ่งมีผลต่อ 5.0 mM กลูโคส ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.35 V ⁽¹³⁾

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เทคนิคเหล่านี้มีความยุ่งยาก ซับซ้อน และจำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการทดลอง โดยเฉพาะการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้า ถ้าการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสมีการใช้เอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง ผลิตภัณฑ์ของน้ำตาลกลูโคส และเอนไซม์จะสามารถเกิดการดูดซับบนผิวหน้าขั้วอิเล็กโทรดได้ ซึ่งเป็นสาเหตุให้ความว่องไว และประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ของขั้วอิเล็กโทรดลดลง ⁽¹⁴⁾ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงหันมาสนใจเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) ในการตรวจวัดสารประกอบดังกล่าว เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์ได้ง่าย รวดเร็ว ไม่ซับซ้อน มีความจำเพาะ (selectivity) และความว่องไว (sensitivity) สูง นอกจากนี้ เทคนิคนี้ยังสามารถวิเคราะห์สารที่มีปริมาณน้อยได้ดี มีขีดจำกัดในการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ต่ำ ⁽¹⁵⁾ และสามารถนำไปประยุกต์กับการตรวจวัดสารประกอบภายในร่างกายได้ ⁽¹⁶⁾

1.1.2 เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy)

หลักการของเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ จากการเปลี่ยนแปลงระดับชั้นพลังงานของอิเล็กตรอน กล่าวคือ เมื่ออิเล็กตรอนภายในโมเลกุลได้รับพลังงานในช่วงความยาวคลื่นอัลตราไวโอเลต และวิสิเบิล (UV-visible wavelength) ที่เหมาะสม จะสามารถเคลื่อนที่จากสถานะพื้น (ground state, S_0) ไปยังสถานะกระตุ้น (excited state, S_1) อย่างไรก็ตาม อิเล็กตรอนในสถานะกระตุ้นมีความเสถียรต่ำ เนื่องจากมีพลังงานภายในสูง จึงเกิดการตกกลับสู่สถานะพื้น (relaxation) พร้อมทั้งปลดปล่อยพลังงานบางส่วนออกมาในรูปแบบของโฟตอน (photon emission) สำหรับการเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent signal) อิเล็กตรอนในชั้น S_1 จะเกิดการตกกลับสู่สถานะพื้นอย่างรวดเร็ว โดยไม่มีการเปลี่ยน spin multiplicity ภายในระยะเวลา 10^{-7} - 10^{-9} วินาที⁽¹⁷⁾ ทำให้มองเห็นการเรืองแสงของโฟตอน (photon emission) ซึ่งสามารถสังเกตได้อย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ กลไกการเกิดสามารถอธิบายได้ด้วยแผนภาพ Jablonski diagram⁽¹⁸⁾ ดังแสดงในรูปที่ 1.4



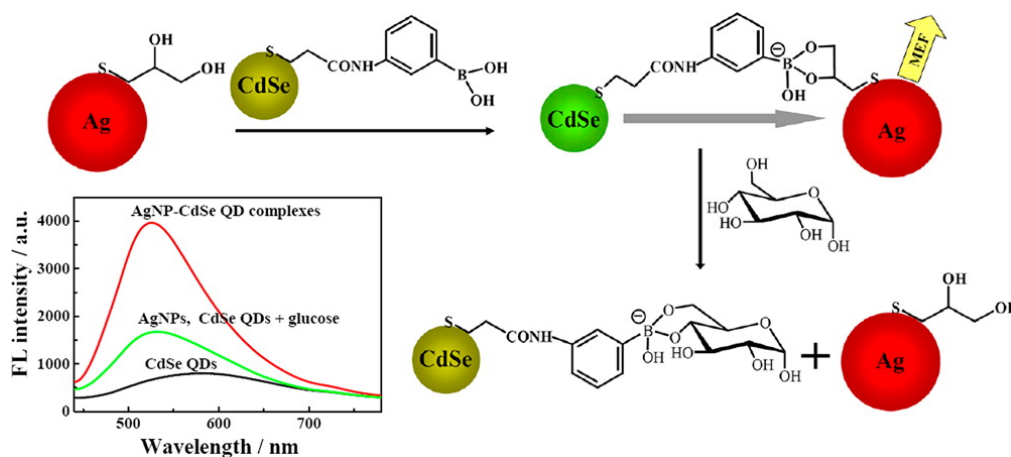
รูปที่ 1.4 แผนภาพระดับพลังงานสำหรับการเรืองแสงของโมเลกุล (molecular photoluminescence)⁽¹⁸⁾

โดยปกติ การปลดปล่อยพลังงานดังกล่าวไม่ได้มีเพียงพลังงานของโฟตอน แต่อิเล็กตรอนที่ตกกลับลงมาสามารถเกิดการสูญเสียพลังงานในรูปแบบอื่นได้เช่นกัน อาทิ การคายพลังงานในรูปแบบพลังงานความร้อนจากการหมุน (rotation) การสั่น (vibration) และการชนกัน (collision) ของโมเลกุล เป็นต้น ซึ่งส่งผลให้ความยาวคลื่นที่ปลดปล่อยออกมามากกว่าความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืน โดยการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสาร สามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงในเชิงคุณภาพและปริมาณได้จากการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เพิ่มขึ้น (fluorescence enhancement) หรือลดต่ำลง (fluorescence quenching) หรือการชิพของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (shifted fluorescence signal) จากความสามารถในการวิเคราะห์ข้างต้น จึงทำให้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ได้รับการยอมรับและน่าสนใจในการตรวจวัด

1.1.3 วัสดุระดับนาโน (nanomaterials)

ในวงการตรวจวัดทางชีวภาพ (biological sensing field) วัสดุระดับนาโน (nanomaterials) ตัวอย่างเช่น ควอนตัมดอท (quantum dots, QDs) ⁽¹⁹⁻²¹⁾ อนุภาคทองคำระดับนาโน (gold nanoparticles, AuNPs) ⁽²²⁻²⁴⁾ อนุภาคเงินระดับนาโน (silver nanoparticles, AgNPs) ⁽²⁵⁾ และอนุภาคซิลิกอนระดับนาโน (silicon nanoparticle, SiNPs) ⁽²⁶⁻²⁷⁾ เป็นต้น เป็นที่นิยมอย่างมาก เนื่องจากคุณสมบัติที่มีขนาดเล็ก จึงทำให้อัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง เมื่อเทียบกับอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า (bulk material) จึงส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาเคมีบนพื้นผิววัสดุเกิดได้ง่าย และรวดเร็วขึ้น ยิ่งไปกว่านั้น วัสดุระดับนาโนยังมีเสถียรภาพสูง และสามารถดัดแปลงพื้นผิวได้ ทำให้นักวิจัยสนใจนำวัสดุระดับนาโนมาใช้ในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสกันอย่างแพร่หลาย ⁽²⁸⁻²⁹⁾

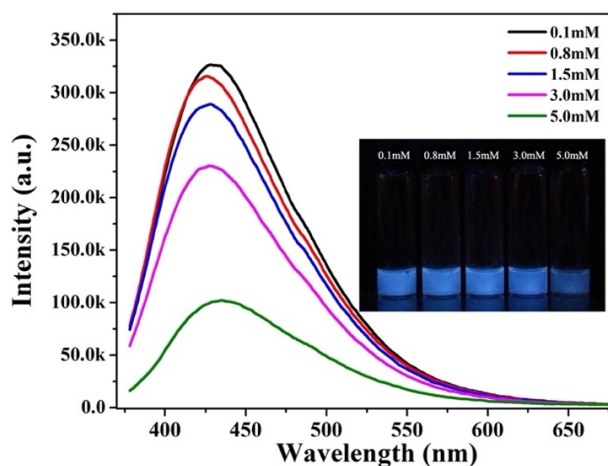
ในปี 2014 Y. Tang และคณะ ⁽³⁰⁾ ได้พัฒนาตัวตรวจวัดทางฟลูออเรสเซนซ์ในการตรวจวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคส โดยใช้อนุภาคเงินระดับนาโน (AgNPs) ซึ่งถูกดัดแปลงพื้นผิวผ่านปฏิกิริยาไฮโดรโบเรชัน (hydroboration) ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล และหมู่โบโรนิก แอซิด บนพื้นผิวของแคดเมียมซีลีเนียมควอนตัมดอท (CdSe QDs) ดังแสดงในรูปที่ 1.5 จากผลการทดลอง พบว่า วัสดุที่สังเคราะห์นี้เกิดการเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี เนื่องจากอิทธิพลของ AgNPs ส่งผลให้เกิด metal-enhanced fluorescence (MEF) และการเกิดปรากฏการณ์ surface plasmon resonance (SPR) ซึ่งช่วยเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ CdSe QDs โดยการวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลกลูโคส นั้นใช้หลักการแย่งจับระหว่างน้ำตาลกลูโคส กับ AgNPs ที่ทำอันตรกิริยากับ CdSe QDs ซึ่งทำให้เกิดการลดของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ หลังจากน้ำตาลกลูโคสทำปฏิกิริยากับตัวตรวจวัดดังกล่าว



รูปที่ 1.5 การตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสของอนุภาคเงินระดับนาโนดัดแปลงบนพื้นผิวของแคดเมียมซีลีเนียม ⁽³⁰⁾

อย่างไรก็ตาม แม้ว่า CdSe QDs ควอนตัมดอท ซึ่งเป็นวัสดุระดับนาโนชนิดหนึ่งที่สามารถตรวจวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้อย่างรวดเร็ว แต่กระบวนการสังเคราะห์ตัวตรวจวัดมีความยุ่งยาก และซับซ้อน รวมถึงต้องใช้ธาตุโลหะหนักในการตรวจวัด

ในปี 2017 X. Wang และคณะ⁽³¹⁾ ประสบความสำเร็จในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่างจริง คือ การตรวจวัดน้ำตาลในซีรัมของตัวอ่อนลูกวัว (fetal bovine serum) โดยการใช้โมลิบดีนัม ไดซัลไฟด์ควอนตัมดอท (molybdenum disulfide quantum dots, MoS₂ QDs) ซึ่งถือว่าเป็นอนุภาคระดับนาโนชนิดหนึ่งของ transition metal dichalcogenide (TMD₂) ที่ช่วยเพิ่มสัญญาณของฟลูออเรสเซนซ์ในการตรวจวัด จากการทดลอง พบว่างานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำที่ 5.16 μ M และสามารถศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสผ่านการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ลดลงตามความเข้มข้นกลูโคสที่มากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 1.6

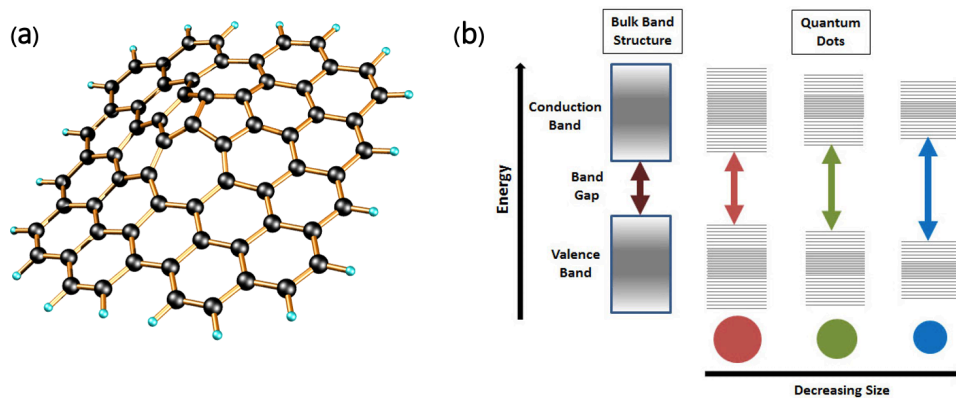


รูปที่ 1.6 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์และการเรืองแสงของโมลิบดีนัม ไดซัลไฟด์ควอนตัมดอท ที่มีการเติมความเข้มข้นกลูโคส (0.1 ถึง 5.0 mM) ในซีรัมของตัวอ่อนลูกวัว⁽³¹⁾

แต่อย่างไรก็ตาม เนื่องจากวัสดุระดับนาโนส่วนใหญ่มักประกอบไปด้วยโลหะหนัก ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบัน นักวิจัยในวงการวิทยาศาสตร์จึงมีแนวคิดในการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ และมีการใช้หลักการของเคมีสีเขียว (green chemistry) กันมากขึ้น⁽³²⁻³⁴⁾ กราฟีนควอนตัมดอท (graphene quantum dots, GQDs) เป็นหนึ่งในวัสดุนาโนทางเลือกที่ประกอบด้วยคาร์บอนอะตอม (abundant carbon atoms) ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม⁽³⁵⁾ และมีคุณสมบัติต่าง ๆ ในการให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี ซึ่งเกิดจากสมบัติการกักกันเชิงควอนตัม (quantum confinement effect)⁽³⁶⁾ นอกจากนี้ GQDs ยังสามารถสังเคราะห์ได้ง่าย ราคาถูก มีความเสถียรสูง อนุกรมสูง และมีความเป็นพิษต่ำ จึงเหมาะกับการนำมาใช้เป็นตัวตรวจวัดทางชีวภาพ (biological sensors) ตัวขนส่งยา (drug delivery) ภาพถ่ายทางชีวภาพ (bioimaging) และตัวเร่งเชิงแสง (photocatalyst) เป็นต้น⁽³⁷⁻³⁸⁾

1.1.4 กราฟีนควอนตัมดอท (graphene quantum dots, GQDs)

กราฟีนควอนตัมดอท (graphene quantum dots, GQDs) เป็นอนุภาคที่ถูกพัฒนาจากแผ่นกราฟีนผ่านการสังเคราะห์ที่ทำให้ได้เป็นอนุภาค 0 มิติ ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 10 นาโนเมตร⁽³⁹⁾ และมีสัณฐาน (morphology) เป็นทรงกลม หรือรูปไข่ โดยโครงสร้างประกอบด้วยแผ่นกราฟีน 1-10 ชั้น ซึ่งระยะห่างภายในระนาบอยู่ในช่วง 0.18-0.25 นาโนเมตร และมีระยะห่างระหว่างระนาบประมาณ 0.32-0.34 nm⁽⁴⁰⁾ โดยคุณสมบัติเชิงแสงที่สำคัญของ GQDs คือ สามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงกว้าง ตั้งแต่ความยาวคลื่น 260 ถึง 320 นาโนเมตร⁽⁴¹⁾ ทั้งนี้ GQDs ยังมีคุณสมบัติในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี และมีคุณสมบัติทางอิเล็กทรอนิกส์เฉพาะตัว ทำให้มีสปีซีที่ขึ้นกับขนาดของอนุภาค ดังแสดงในรูปที่ 1.7

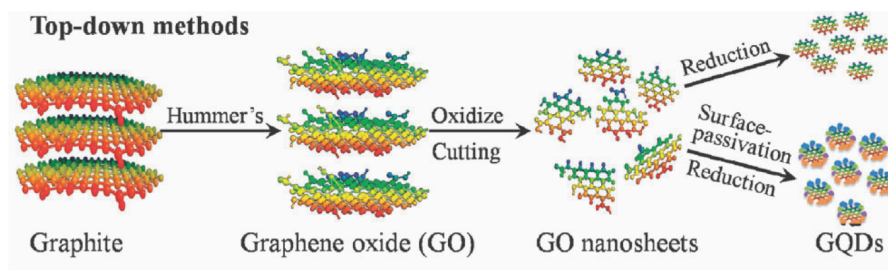


รูปที่ 1.7 ภาพแสดง (a) โครงสร้างกราฟีนควอนตัมดอท⁽⁴²⁾ และ (b) ความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคกับสเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์⁽⁴³⁾ ตามลำดับ

การสังเคราะห์กราฟีนควอนตัมดอท (GQDs) สามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การสังเคราะห์จากใหญ่ไปเล็ก (top-down approach) และการสังเคราะห์จากเล็กไปใหญ่ (bottom-up approach)

1. การสังเคราะห์จากใหญ่ไปเล็ก (top-down approach)⁽³⁹⁾

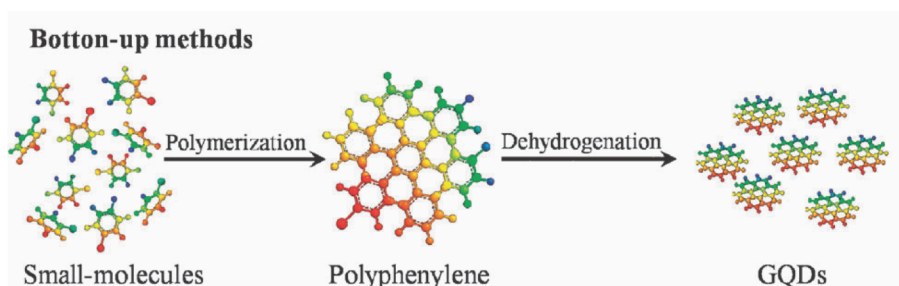
การสังเคราะห์วิธีนี้เริ่มต้นจากคาร์บอนที่ประกอบด้วยวงอะโรมาติกที่มีการจัดเรียงตัวแบบ sp^2 นำมาผ่านกระบวนการทางเคมี เช่น ออกซิเดชันโดยใช้กรด (acidic oxidation) กระบวนการไฮโดรเทอร์มอล (hydrothermal) เป็นต้น และได้เป็นผลิตภัณฑ์เป็นควอนตัมดอทระดับนาโน แสดงดังรูปที่ 1.8 ซึ่งวิธีนี้ง่ายต่อการสังเคราะห์ และสามารถเลือกใช้สารตั้งต้นได้หลากหลาย เช่น กราฟีน กราฟีนออกไซด์ เส้นใยคาร์บอน เป็นต้น อีกทั้ง วิธีนี้ยังได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณมาก แต่มีข้อจำกัด คือ ไม่สามารถควบคุมลักษณะพื้นผิว ความบริสุทธิ์ และขนาดของกราฟีนควอนตัมดอทที่สังเคราะห์ได้



รูปที่ 1.8 กระบวนการสังเคราะห์ด้วยวิธีจากใหญ่ไปเล็ก ⁽⁴⁴⁾

2. การสังเคราะห์จากเล็กไปใหญ่ (bottom-up approach) ⁽³⁹⁾

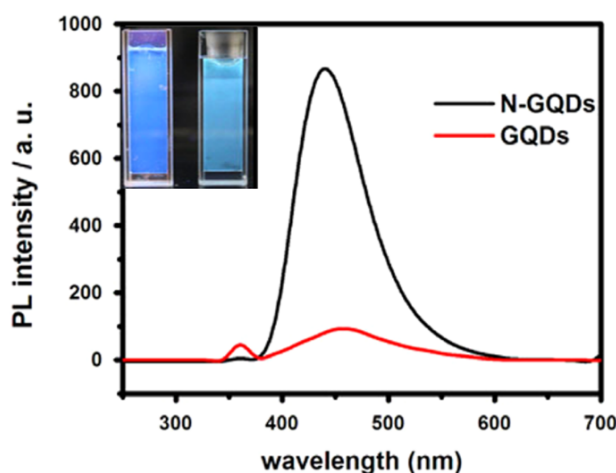
กระบวนการสังเคราะห์อาศัยหลักการรวมตัวของอนุภาคโมเลกุลขนาดเล็ก โดยสารตั้งต้นที่ใช้มักเป็นโมเลกุลที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งนำมาผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น กระบวนการไพโรไลซิส (pyrolysis) กระบวนการไฮโดรเทอร์มอล (hydrothermal) และกระบวนการโซลโวเทอร์มอล (solvothermal) เป็นต้น เพื่อให้สารตั้งต้นสลายตัวเกิดการควบแน่นเป็นนิวเคลียสผลึก และขยายขนาดจนมีขนาดใหญ่เป็นกราฟีนควอนตัมดอท ดังแสดงในรูปที่ 1.9 ซึ่งการสังเคราะห์จากเล็กไปใหญ่นั้นได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากทำได้ง่าย มีประสิทธิภาพสูง ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม สามารถปรับปริมาณการสังเคราะห์ และสามารถกำหนดขนาดของกราฟีนควอนตัมดอทได้ รวมทั้งสามารถเจือปนอะตอมอื่นได้ตามต้องการ เช่น อะตอมของธาตุไนโตรเจน (N) โบรอน (B) และซิลิโคน (S) เป็นต้น



รูปที่ 1.9 กระบวนการสังเคราะห์ด้วยวิธีจากเล็กไปใหญ่ ⁽⁴⁴⁾

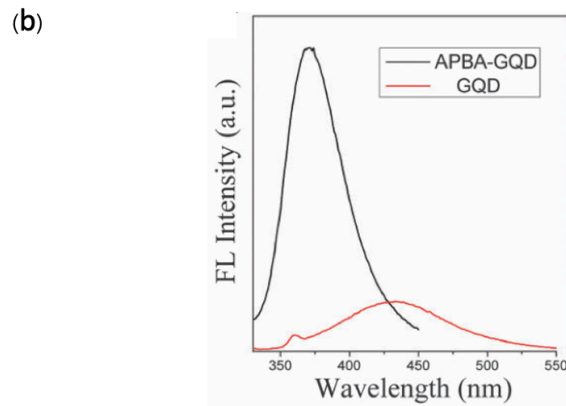
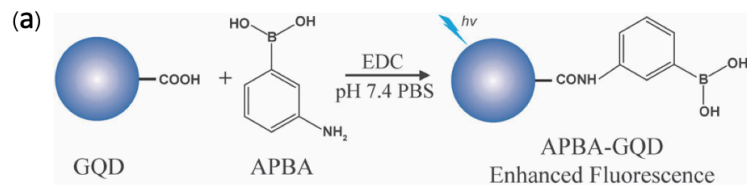
นอกจากนี้ การเติมอะตอมของธาตุอื่น หรือเฮเทอโรอะตอม (heteroatom) เจือปนสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ดียิ่งขึ้น เช่น อะตอมของธาตุไนโตรเจน (N) โบรอน (B) และซิลเฟอร์ (S) เป็นต้น โดยการเติมอะตอมเหล่านี้เข้าไปสามารถเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของกราฟีนควอนตัมดอท โดยเฉพาะไนโตรเจนอะตอม และโบรอนอะตอม ซึ่งได้รับการพิสูจน์แล้วว่า จะช่วยเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้ดีมากที่สุด⁽⁴⁵⁻⁴⁶⁾ เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟีนควอนตัมดอทที่ไม่มีธาตุเหล่านี้เจือปน เนื่องจากอะตอมของธาตุเหล่านี้มีอิเล็กตรอนมาก (electron-rich atom) จึงสามารถให้อิเล็กตรอนกับคาร์บอนอะตอมของกราฟีนควอนตัมดอทที่อยู่ติดกันได้ โดยอาศัยกระบวนการเติมโปรตอนให้กับอะตอม (protonation) ทำให้คาร์บอนของวงอะโรมาติกติดประจุบวก ส่งผลให้ช่วยป้องกันการเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (electron transfer) ในสถานะกระตุ้นเมื่ออิเล็กตรอนได้รับพลังงาน จากเหตุการณ์ดังกล่าวจึงเป็นผลให้กราฟีนควอนตัมดอทมีผลได้ควอนตัมยิลด์ (quantum yield) สูงขึ้น⁽⁴⁷⁾

ในปี 2014 J. Ju และ W. Chen⁽⁴⁸⁾ ได้พัฒนาการเพิ่มค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของตัวตรวจวัดกราฟีนควอนตัมดอทจากการเติมหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ จากงานวิจัยนี้ พบว่า กราฟีนควอนตัมดอทที่ได้รับการดัดแปลงสามารถเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์สีฟ้าได้ดี ดังแสดงในรูปที่ 1.10 ซึ่งเห็นได้ชัดว่ากราฟีนควอนตัมดอทที่มีการปนของธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างให้ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงกว่ากราฟีนควอนตัมดอทที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งพบว่าควอนตัมของไนโตรเจนโดปกราฟีนควอนตัมดอท (nitrogen-doped GQDs, N-GQDs) มีค่ามากกว่ากราฟีนควอนตัมดอทถึง 5 เท่า



รูปที่ 1.10 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ GQDs (เส้นสีแดง) และ N-GQDs (เส้นสีดำ) ในสารละลายที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 360 นาโนเมตร และภาพถ่ายการเรืองแสงภายใต้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร ของ GQDs (ภาพขวา) และ N-GQDs (ภาพซ้าย)⁽⁴⁸⁾

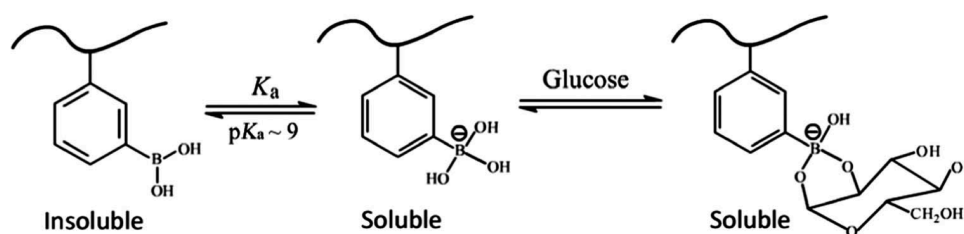
งานวิจัยของ Z. Qu และคณะ⁽⁴⁹⁾ ได้ดัดแปลงกราฟีนควอนตัมดอทโดยการเติมหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด เข้าไปในโครงสร้าง คาดว่าจะช่วยเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยการทดลองนี้เริ่มต้นจากการสังเคราะห์กราฟีนควอนตัมดอทจากกราฟีนออกไซด์ด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอล และทำการเติมอะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิด (aminophenylboronic acid, APBA) ซึ่งมีธาตุโบโรน และโบรอนเป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในรูปที่ 1.11(a) จากการทดลอง พบว่า งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ให้กับกราฟีนควอนตัมดอท โดย กราฟีนควอนตัมดอทที่ได้รับการดัดแปลง (APBA-GQD) นั้น มีค่าควอนตัมยิลด์ (quantum yield) เท่ากับ 49.7 % เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟีนควอนตัมดอท (GQD) ที่ไม่มีการเติมธาตุเหล่านี้ลงไป ซึ่งจะมีค่าควอนตัมยิลด์เพียง 2.9 % เท่านั้น ซึ่งมีความแตกต่างของการเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ถึง 17.2 เท่า ดังแสดงในรูปที่ 1.11(b) ฉะนั้น จึงเห็นได้ว่า การเติมเฮเทอโรอะตอมจะช่วยเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของกราฟีนควอนตัมดอทได้จริง



รูปที่ 1.11 แนวคิดการดัดแปลงโครงสร้างของกราฟีนควอนตัมดอทโดยการเติมหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด (a) สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ APBA-GQD และ GQD (b) ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 290 และ 320 นาโนเมตร ตามลำดับ⁽⁴⁹⁾

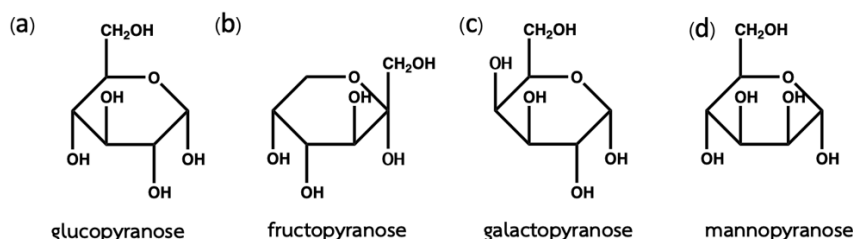
1.1.5 โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (boronic graphene quantum dots, BGQDs)

กราฟีนควอนตัมดอทที่มีการเติมหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดสามารถนำไปใช้ตรวจวัดกลูโคสได้อย่างกว้างขวาง โดยโบโรนิก กราฟีนควอนตัมดอท (boronic graphene quantum dots, BGQDs) สามารถเกิดปฏิกิริยากับกลูโคส ได้ทั้งแบบอาศัยเอนไซม์ และไม่อาศัยเอนไซม์ กลูโคสออกซิเดส โดยปกติในกรณีที่ไม่อาศัยเอนไซม์ BGQDs สามารถเกิดปฏิกิริยากับวงน้ำตาลไพแรนโนส (pyranose sugar ring) ได้⁽⁵⁰⁾ โดยหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด (boronic acid) ที่อยู่บนผิวของ BGQDs สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำตาลผ่านหมู่แอลกอฮอล์ที่อยู่ฝั่งเดียวกันของโครงสร้าง (1,2 หรือ 1,3 cis-diol) ได้เป็นอนุพันธ์โบโรเนท เอสเทอร์รูปทรงสี่หน้า (tetrahedral boronate ester) ดังกลไกการตรวจวัดน้ำตาล กลูโคสรูปที่ 1.12



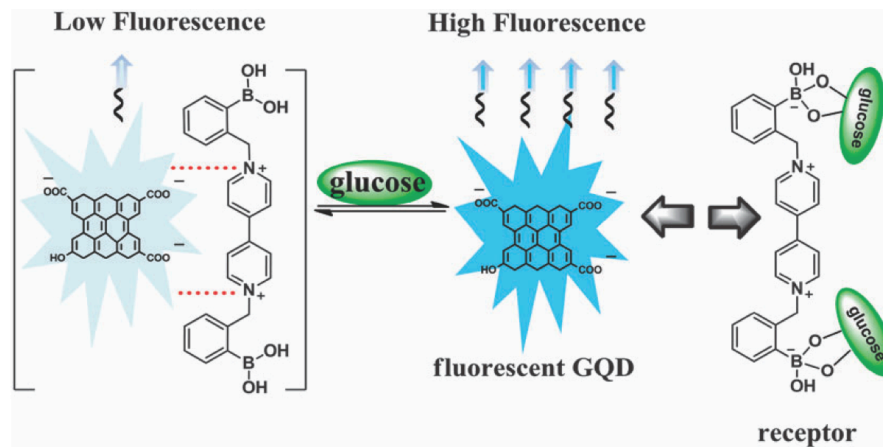
รูปที่ 1.12 กลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่ฟีนิลโบโรนิก แอซิด และน้ำตาลกลูโคส⁽⁵⁰⁾

จากกลไกปฏิกิริยาดังกล่าวจึงเป็นเหตุผลหลักเกี่ยวกับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสผ่านหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดโดยไม่อาศัยเอนไซม์ ซึ่งไม่สามารถแยกความแตกต่างของน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลชนิดอื่น ๆ ที่มีโครงสร้างคล้ายกันได้อย่างสิ้นเชิง กล่าวคือ น้ำตาลที่มีโครงสร้างวงน้ำตาลไพแรนโนสเป็นไอโซเมอร์กับน้ำตาลกลูโคส อาทิเช่น น้ำตาลฟรักโทส น้ำตาลกาแลกโทส น้ำตาลแมนโนส เป็นต้น ส่งผลทำให้ระบบการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสจากโครงสร้าง cis-diol ภายในโมเลกุล⁽⁵¹⁾ ดังแสดงโครงสร้างในรูปที่ 1.13



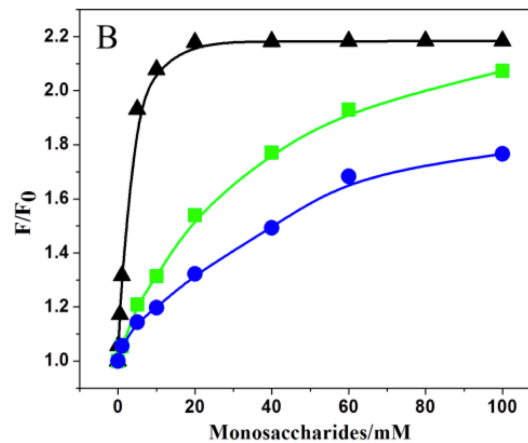
รูปที่ 1.13 โครงสร้างวงน้ำตาลไพแรนโนสของ (a) น้ำตาลกลูโคส (b) น้ำตาลฟรักโทส (c) น้ำตาลกาแลกโทส และ (d) น้ำตาลแมนโนส

ในปี 2013 J. Qiu และคณะ⁽⁵²⁾ ได้ใช้กราฟีนควอนตัมดอทที่มีประจุลบ (anionic fluorescent QDs) ซึ่งพื้นผิวมีหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิก และไฮดรอกซิล ร่วมกับเกลือไบไพริดิเนียมโบโรนิก แอซิด (cationic boronic acid-substituted bipyridinium salt, BBV) ที่มีประจุบวกในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสามารถตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสทางตรงโดยไม่อาศัยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ดังแสดงรูปที่ 1.14



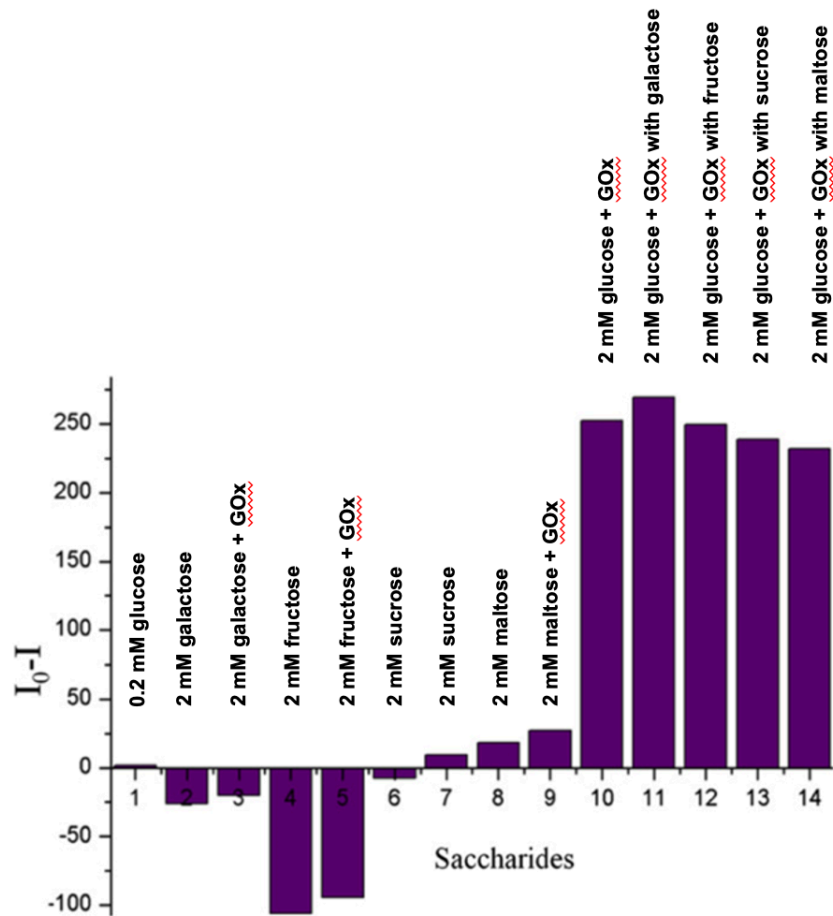
รูปที่ 1.14 แนวคิดงานวิจัยในการออกแบบระบบตัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส⁽⁵²⁾

ในงานวิจัยนี้ การตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสจะใช้หลักการของแรงอันตรกิริยาทางไฟฟ้า คือ แรงดึงดูดประจุบวก-ลบระหว่าง QODs และ BBV ตามลำดับ ในสถานะที่ไม่มีกลูโคส QODs และ BBV จะเกิดแรงดึงดูดทำให้โมเลกุลอยู่ใกล้กัน ส่งผลให้อิเล็กตรอนของ QODs สามารถเกิดการถ่ายโอน (electron transfer) ไปยัง BBV ได้ จึงทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้มีค่าลดลง แต่ในสถานะที่มีน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลกลูโคสสามารถเกิดปฏิกิริยากับโบโรนิก แอซิดเนื่องจากน้ำตาลกลูโคสมีหมู่แอลกอฮอล์อยู่ฝั่งเดียวกันของโครงสร้าง จึงทำให้โบโรนิก แอซิดเกิดการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นอนุพันธ์ของเอสเทอร์ ซึ่งมีผลต่อประจุของ BBV เมื่อประจุ BBV เป็นกลาง จึงไม่เกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้ากับ QODs จากการทดลอง พบว่า เมื่อมีน้ำตาลกลูโคส สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ QODs มีค่าสูงขึ้น จากหลักการข้างต้น ดังนั้น วัสดุตรวจวัดชนิดนี้จึงสามารถวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้ แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ พบว่าไม่เพียงแต่น้ำตาลกลูโคสที่สามารถเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดอื่นโดยเฉพาะฟรักโทส และกาแลกโทสก็สามารถเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี ดังแสดงในรูปที่ 1.15



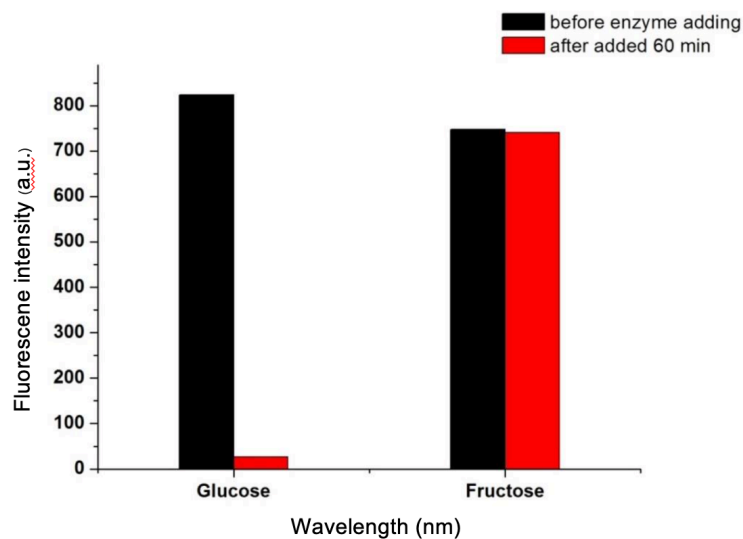
รูปที่ 1.15 สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ QODs หลังจากเติมน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวฟรักโทส (เส้นสีดำ) กาแลกโทส (เส้นสีเขียว) และกลูโคส (เส้นสีน้ำเงิน) ⁽⁵²⁾

จากผลการทดลอง พบว่า งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส โดยไม่มีการรบกวนจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดอื่น โดยเฉพาะน้ำตาลฟรักโทส เนื่องจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสมีความจำเพาะกับน้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 1.17 และเมื่อเอนไซม์เกิดปฏิกิริยากับน้ำตาลกลูโคสได้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดได้เป็นสารประกอบฟีนอล จึงทำให้สามารถติดตามปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้จากการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยได้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำอยู่ที่ 0.011 mM



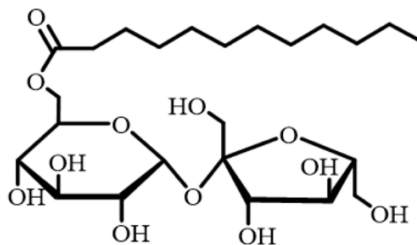
รูปที่ 1.17 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีการเติมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ

ในปี 2016 นางสาว อังคณา ขจรวงศ์วัฒนา⁽⁵⁶⁾ ได้พัฒนาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส โดยใช้กราฟีนควอนตัมดอทที่มีหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดผ่านปฏิกิริยาเร่งด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเช่นเดียวกัน ซึ่งตัวตรวจวัดในงานวิจัยนี้ได้ใช้ 3 ไอโซเมอร์ของกรดอะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิดเป็นสารตั้งต้น จากผลการทดลองด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี พบว่า ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของกราฟีนควอนตัมดอทลดลงตามปริมาณความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดผ่านเอนไซม์ และมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลกลูโคส โดยสารตั้งต้น 3-อะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิด (3-aminophenyl boronic acid, 3-APBA) เป็นไอโซเมอร์ชนิดเดียวที่สามารถตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มาจากปฏิกิริยาดังกล่าวได้ แต่ไอโซเมอร์อื่น ๆ ไม่สามารถตรวจวัดได้ โดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดที่ 2.858 mM นอกจากนี้ ยังพบว่า น้ำตาลฟรุกโทสไม่รบกวนระบบการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสหรือไม่ทำให้ค่าสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังรูปที่ 1.18 ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า กราฟีนควอนตัมดอทที่มีหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด (BGQDs) ผ่านปฏิกิริยาเร่งด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำตาลกลูโคสได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดยไม่มีการรบกวนจากน้ำตาลโมเลกุลอื่น ๆ



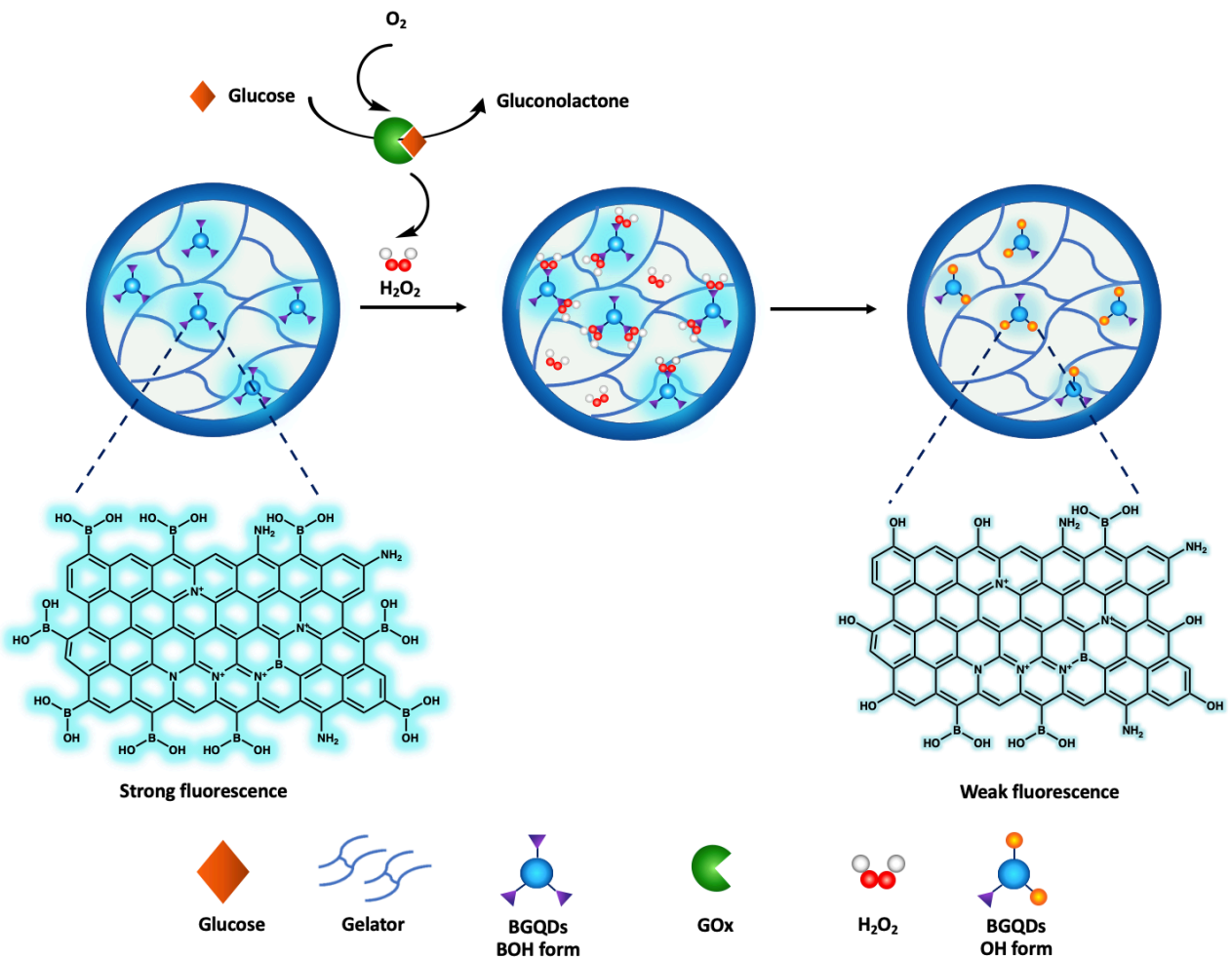
รูปที่ 1.18 กราฟแท่งแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ที่ความยาวคลื่น 375 นาโนเมตรซึ่งเติมน้ำตาลกลูโคส (ซ้าย) และน้ำตาลฟรุกโทส (ขวา) ความเข้มข้น 20 mM ผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 1 unit ใน HEPES buffer pH 7.4⁽⁵⁶⁾

แต่อย่างไรก็ตาม การใช้เอนไซม์ยังมีข้อจำกัดในเรื่องความเสถียรภาพที่ต่ำจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น อุณหภูมิ สภาพความเป็นกรดเบส เป็นต้น ซึ่งล้วนมีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์⁽⁵⁷⁾ ไฮโดรเจล (hydrogel) จึงเป็นหนึ่งในวัสดุที่มีความน่าสนใจในการช่วยเพิ่มความเสถียรของเอนไซม์ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลากหลาย เช่น การขนส่งยา การตรวจวัดทางชีวภาพ เป็นต้น⁽⁵⁸⁾ ไฮโดรเจลมีคุณสมบัติเป็นสารที่สามารถดูดซับน้ำได้ในปริมาณมาก เนื่องจากโครงสร้างโพลิเมอร์ที่เป็นสามมิติ ที่สามารถกักเก็บน้ำภายในโมเลกุลได้ และคุณลักษณะพิเศษ คือ ไฮโดรเจลที่อยู่ในสภาวะนี้จะไม่ละลายน้ำ และรักษาสภาพที่เป็นโครงสร้างตาข่ายไว้ได้ จึงเหมาะกับการตรวจวัดสารละลายที่อยู่ในน้ำ นอกจากนี้ ไฮโดรเจลยังมีเอกลักษณ์ในเรื่องความอ่อนนุ่ม และยืดหยุ่นได้ โดยส่วนใหญ่เตรียมได้จากวัสดุที่มาจากธรรมชาติ เช่น โปรตีน น้ำตาล และสารชีวโมเลกุลจึงไม่เป็นอันตรายต่อสารชีวภาพ รวมถึงเอนไซม์ โดยไฮโดรเจลสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด⁽⁵⁹⁾ ได้แก่ ชนิดที่ 1 คือ โพลิเมอร์ิก ไฮโดรเจล (polymeric hydrogel) กล่าวคือ ไฮโดรเจลที่ประกอบขึ้นจากโมเลกุลขนาดเล็ก ที่เรียกว่า เจเลเตอร์ (gelator) มาสร้างพันธะ โดยใช้ปฏิสัมพันธ์แบบโควาเลนต์ (covalent-linked network) และชนิดที่ 2 คือ ซูปราโมเลคิวลาร์ ไฮโดรเจล (supramolecular hydrogel) ซึ่งไฮโดรเจลชนิดนี้มีความโดดเด่น คือ เจเลเตอร์ของไฮโดรเจลสามารถสร้างพันธะเกิดเป็นโครงข่ายโพลิเมอร์สามมิติที่มีขนาดใหญ่ โดยใช้อันตรกิริยาแบบนอนโควาเลนต์ (non-covalent) เช่น การเกิดพันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไพ-ไพ (π - π interaction) แรงดึงดูดทางไฟฟ้า อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และแรงแวนเดอร์วาลส์ เป็นต้น ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้ซูปราโมเลคิวลาร์ ไฮโดรเจล เนื่องจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และน้ำตาลกลูโคสสามารถเกิดอันตรกิริยาแบบนอนโควาเลนต์ กับเจเลเตอร์นี้ได้ โดยเจเลเตอร์ที่ใช้ คือ ซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ (sucrose laurate monoester) ซึ่งมีสมบัติเป็นแอมฟิฟิลิกไฮโดรเจล (amphiphilic hydrogel) โดยมีโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส และสายคาร์บอนออกเทน ดังแสดงในรูปที่ 1.19 ทำให้ผู้วิจัยคาดหวังว่า เอนไซม์จะสามารถถูกตรึงเข้าไปในโครงข่ายโพลิเมอร์ และได้รับการห่อหุ้ม ซึ่งส่งผลให้ปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอกไม่เป็นข้อจำกัดในการทำงานของเอนไซม์



รูปที่ 1.19 โครงสร้างทางเคมีของซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ (sucrose laurate monoester)

จากการทบทวนวรรณกรรมที่กล่าวไปข้างต้น จะเห็นได้ว่า การตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสมีความสำคัญในการบ่งชี้ระดับของโรคเบาหวาน เพื่อช่วยในการบรรเทาความรุนแรงของโรค และส่งผลให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานมีโอกาสรอดชีวิตมากขึ้น ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการออกแบบ และพัฒนาไบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (boronic graphene quantum dots, BGQDs) เป็นวัสดุตรวจวัดในรูปแบบไฮโดรเจล (hydrogel) สำหรับตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสอย่างจำเพาะเจาะจงผ่านการใชเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) ทั้งนี้ ทางผู้วิจัยมีแนวคิดว่ากลูโคสสามารถทำปฏิกิริยากับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และเกิดสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) เป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับตัวตรวจวัด และทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยมีไฮโดรเจลในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ และความไวในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส รวมถึงช่วยรักษาเสถียรภาพการทำงานของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ซึ่งแนวคิดนี้ได้แสดงดังรูปที่ 1.20



รูปที่ 1.20 แนวคิดงานวิจัยการตรวจจับน้ำตาลกลูโคส โดยใช้วัสดุตรวจวัด BGQDs ห่อหุ้มในไฮโดรเจล

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย

เพื่อสร้างโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอทในรูปแบบไฮโดรเจลเป็นวัสดุตรวจวัดชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปีอย่างมีประสิทธิภาพ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วัสดุตรวจวัดชนิดใหม่ฐานโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอทในรูปแบบไฮโดรเจลสำหรับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสได้อย่างจำเพาะเจาะจง

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 เครื่องมือ และอุปกรณ์

2.1.1 เครื่องมือในการวิเคราะห์

- นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรมิเตอร์ (Nuclear Magnetic Resonance spectrometer, NMR) รุ่น Bruker-500 (500 MHz) spectrometer ซึ่งใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope, TEM) รุ่น JEOL JEM 2010 field emission gun operated ที่ 200 กิโลโวลต์ซึ่งใช้ในการวัดขนาด และตรวจสอบสัญญาณของโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท ผ่านการใช้ ImageJ software ของ Scion Corporation
- เครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrometer, FT-IR) รุ่น Nicolet 6700 ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท
- ฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (fluorescent spectroscopy) รุ่น Varian Eclipse Probe fluorescence spectrometer ซึ่งใช้ในการศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสและสมบัติการคายแสงของโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท
- Iphone 7 ใช้สำหรับถ่ายภาพสารตัวอย่าง

2.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 20, 200, 1000 และ 5000 μL
- เครื่องปฏิกรณ์เพฟลอนไลน์สำหรับการสังเคราะห์แบบไฮโดรเทอร์มอล (teflon lined hydrothermal synthesis autoclave reactor)
- กริดทองแดงที่ถูกเคลือบด้วยคาร์บอน (carbon-coated copper grid)
- ไซริงค์กรองสาร (syringe filter) ขนาด 0.22 μm
- หลอดฉีดยา ขนาด 5 mL
- ถุงไดอะไลซิส (dialysis bag) ขนาดรูพรุน 2000 Da
- ขวดเก็บสารสีชา ขนาด 3 และ 5 mL
- ขวดเก็บสารใส ขนาด 3,5 และ 15 mL
- ปีกเกอร์ ขนาด 25, 50, 100 และ 1000 mL
- ควอตซ์คิวเวตต์ (quartz cuvette) ขนาด 3 mL
- เครื่องกวนสารละลาย (magnetic stirrer)
- แท่งแม่เหล็กคนสาร (magnetic bar)
- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
- อ่างส่งคลื่นความถี่สูง (sonicator bath)
- การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer)
- เครื่องชั่งแบบละเอียด
- ตู้อบ

2.1.3 สารเคมี

- 3-อะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิด เฮมิซัลเฟต (3-aminophenylboronic acid hemisulfate salt, 3-APBA)
- น้ำตาลกลูโคส (D-Glucose, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)
- เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase, GOx)
- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide, H_2O_2)
- ซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ เจเลเตอร์ (sucrose laurate monoester gelator)
- ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO)
- ไดโซเดียมฟอสเฟต (Disodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4)
- โมโนโซเดียมฟอสเฟต (Monosodium phosphate, NaH_2PO_4)

2.2 การสังเคราะห์ และการพิสูจน์เอกลักษณ์

2.2.1 การสังเคราะห์เซ็นเซอร์โม่เลกุลโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอทสำหรับตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

การสังเคราะห์โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (boronic graphine quantum dots, BGQDs) ด้วยกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลคาร์บอนิเซชัน (hydrothermal carbonization) โดยใช้ 3-อะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิด (3-aminophenylboronic acid, 3-APBA) ปริมาณ 0.372 g (0.2 mmol) ลงในขวดเก็บสารใส ขนาด 15 mL ละลายด้วยน้ำมิลลิควปริมาตร 10.00 mL และคนสารละลายให้เข้ากัน เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้แท่งแม่เหล็กคนสาร จากนั้นเทสารละลายลงในเครื่องปฏิกรณ์เทฟลอนไลน์ (teflon-lined autoclave reactor) ขนาด 25 mL ปิดฝาให้สนิท และนำไปให้ความร้อนในเตาเผาที่อุณหภูมิ 160 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา กรองสารละลาย BGQDs ที่ได้ผ่านไซริงค์กรองสารขนาด 0.22 μm เพื่อกำจัดสารที่มีขนาดใหญ่ หลังจากนั้นไดอะไลซิสสารละลายโดยใช้น้ำมิลลิควเป็นตัวทำละลาย เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อกำจัดเกลืออนินทรีย์ ผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้สารละลาย BGQDs สีน้ำตาลใส และได้สารเรืองแสงสีฟ้าเมื่ออยู่ภายใต้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 365 nm

2.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเซ็นเซอร์โม่เลกุลโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท

2.2.2.1 การวิเคราะห์ขนาด และสัญญาณของ BGQDs ด้วย transmission electron microscopy (TEM)

ขนาด และสัญญาณของสารละลาย BGQDs วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน ซึ่งเตรียมตัวอย่างโดยการหยดสารละลาย BGQDs ลงบนแผ่นกริดทองแดงที่ถูกเคลือบด้วยคาร์บอน (carbon-coated copper grid)

2.2.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ BGQDs ด้วย ^{11}B -NMR spectroscopy

นำสารละลาย BGQDs ไปทำให้แห้งโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) จากนั้นละลายของแข็ง BGQDs ด้วยตัวทำละลาย D_2O และนำไปวัดค่าสัญญาณ chemical shift ในหน่วย ppm

2.2.2.3 การพิสูจน์หมู่ฟังก์ชันของ BGQDs ด้วย Fourier transform infrared spectrometer, FT-IR

นำสารละลาย BGQDs ไปทำให้แห้ง โดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer) จากนั้นบดให้ละเอียดและนำไปผสมกับ KBr โดยให้ BGQDs มีความเข้มข้นประมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยมวล หลังจากนั้น ใส่ตัวอย่างที่บดแล้วลงในเครื่องอัดไฮดรอลิก แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย FT-IR

2.2.2.4 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของ BGQDs ด้วย fluorescence spectroscopy

เปิดสารละลาย BGQDs ความเข้มข้น 10.78 mg/mL ปริมาตร 500 μL ลงในควอตซ์คิวเวตท์ จากนั้นเจือจางด้วยน้ำมิลลิควจนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 2.00 mL และคนสารละลายให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs

	BGQDs
Excitation wavelength (nm)	310
Start (nm)	320
Stop (nm)	800
Width of excitation and emission slit (nm)	5
Smoothing factor	19
Scan rate (nm/min)	600
PMT	530
Range of emission spectrum (nm)	320-460

2.3 การเตรียมวัสดุตรวจวัด BGQDs ที่ถูกห่อหุ้มในไฮโดรเจล (BGQDs/Gels)

2.3.1 การศึกษาปริมาณเจลเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

ซึ่งนำหนักเจลเตอร์ (gelator) ซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ 4.00 g ลงในขวดเก็บสารขนาด 15 mL และละลายด้วยน้ำมีลลิควจนได้ปริมาตรสุดท้าย 10.00 mL จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้า (heat gun) เพื่อให้เจลเตอร์ละลายจนได้สารละลายสต็อก (stock solution) เข้มข้น 40 %w/w หลังจากนั้น เจือจางสารละลายที่ได้ด้วยน้ำมีลลิคว เพื่อให้ได้สารละลายสต็อก (stock solution) เข้มข้น 5 10 และ 20 %w/w เปิดสารละลายเจลเตอร์และสารละลาย BGQDs ความเข้มข้น 5.39 mg/mL ในตัวทำละลายผสมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer, PBS) pH 7.4 ความเข้มข้น 100 mM อัตราส่วน DMSO:H₂O เท่ากับ 10:90 20:80 และ 50:50 ในขวดเก็บสารขนาด 3 mL ปริมาตรของสารละลายแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 2.2 โดยปริมาตรรวมของสารละลายทั้งหมด คือ 1.00 mL ซึ่งในการทดลองนี้ อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม คือ 60 °C จากนั้นให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้า (heat gun) เป็นเวลา 30 วินาที และโซนิเคตสารละลายเป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำมาให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าอีกครั้งเป็นเวลา 30 วินาที สุดท้าย นำสารละลายที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และสังเกตผลของการเกิดเจล ณ เวลาต่าง ๆ

หมายเหตุ อัตราส่วน DMSO:H₂O ซึ่งน้ำ (H₂O) ในการทดลองนี้ ประกอบด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เจลเตอร์ และ BGQDs ที่ละลายในน้ำมีลลิคว

ตารางที่ 2.2 ปริมาตรของสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาปริมาณเจลเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับ BGQDs/Gels

ครั้งที่	อัตราส่วน DMSO: H ₂ O	ความเข้มข้น สุดท้ายของ เจลเตอร์ใน 1.00 mL (%w/w)	ความ เข้มข้นเจล เตอร์เริ่มต้น (%w/w)	ปริมาตร ของ เจลเตอร์ (μ L)	ปริมาตร ของ PBS (μ L)	ปริมาตร ของ BGQDs (μ L)	ปริมาตร ของ DMSO (μ L)
1	10:90	0.50	5.0	100.0	700.00	100.00	100.00
2		0.75	5.0	150.0	650.00		
3		1.00	10.0	100.00	700.00		
4		1.50	10.0	150.00	650.00		
5		2.00	20.0	100.00	700.00		
6		2.50	20.0	125.00	675.00		
7		5.00	20.0	250.00	550.00		
8		10.0	40.0	250.00	550.00		
9	20:80	0.50	5.0	100.00	600.00	100.00	200.00
10		0.75	5.0	150.00	550.00		
11		1.00	10.0	100.00	600.00		
12		1.50	10.0	150.00	550.00		
13		2.00	20.0	100.00	600.00		
14		2.50	20.0	125.00	575.00		
15		5.00	20.0	250.00	450.00		
16		10.0	40.0	250.00	450.00		
17	50:50	0.50	5.0	100.00	300.00	100.00	500.00
18		0.75	5.0	150.00	250.00		
19		1.00	10.0	100.00	300.00		
20		1.50	10.0	150.00	250.00		
21		2.00	20.0	100.00	300.00		
22		2.50	20.0	125.00	275.00		
23		5.00	20.0	250.00	150.00		
24		10.0	40.0	250.00	150.00		

2.3.2 การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

ชั่งน้ำหนักเจลาเตอร์ (gelator) ซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ 2.00 g ลงในขวดเก็บสารขนาด 15 mL และละลายด้วยน้ำมิลลิควจนได้ปริมาตรสุดท้าย 10.00 mL นำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้า เพื่อให้เจลาเตอร์ละลายจนได้สารละลายสต็อก (stock solution) เข้มข้น 20 %w/w หลังจากนั้น เจือจางสารละลายที่ได้ด้วยน้ำมิลลิคว เพื่อให้ได้สารละลายสต็อก (stock solution) เข้มข้น 10 และ 15 %w/w ปิดสารละลายเจลาเตอร์ และสารละลาย BGQDs ความเข้มข้น 5.39 mg/mL ในตัวทำละลายผสมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 100 mM ในอัตราส่วนต่าง ๆ ลงในขวดเก็บสารขนาด 3 mL ปริมาตรของสารละลายแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 2.3 โดยปริมาตรรวมของสารละลายทั้งหมด คือ 1.00 mL ซึ่งในการทดลองนี้ อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม คือ 60 °C จากนั้นให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้า เป็นเวลา 30 วินาที และโซนิเคตสารละลายเป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำมาให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าอีกครั้งเป็นเวลา 30 วินาที สุดท้ายนำสารละลายที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และสังเกตผลของการเกิดเจล ณ เวลาต่าง ๆ

หมายเหตุ อัตราส่วน DMSO:H₂O ซึ่งน้ำ (H₂O) ในการทดลองนี้ ประกอบด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เจลาเตอร์ และ BGQDs ที่ละลายในน้ำมิลลิคว

ตารางที่ 2.3 ปริมาตรของสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับ BGQDs/Gels

ครั้งที่	อัตราส่วน DMSO:H ₂ O	ความเข้มข้น สุดท้ายของ เจเลเตอร์ใน 1.00 mL (%w/w)	ความเข้มข้น เจเลเตอร์ เข้มข้น (%w/w)	ปริมาตร ของ เจเลเตอร์ (μ L)	ปริมาตร ของ PBS (μ L)	ปริมาตร ของ BGQDs (μ L)	ปริมาตร ของ DMSO (μ L)
1	10:90	1.50	15.0	100.00	750.00	50.00	100.00
2	20:80	1.50	15.0		650.00		200.00
3	30:70	1.50	15.0		550.00		300.00
4	40:60	1.50	15.0		450.00		400.00
5	50:50	1.50	15.0		350.00		500.00
6	60:40	1.50	15.0		250.00		600.00
7	70:30	1.50	15.0		150.00		700.00
8	80:20	1.50	15.0		50.00		800.00
9	10:90	1.00	10.0	100.00	750.00	50.00	100.00
10	20:80	1.00	10.0		650.00		200.00
11	30:70	1.00	10.0		550.00		300.00
12	40:60	1.00	10.0		450.00		400.00
13	50:50	1.00	10.0		350.00		500.00
14	60:40	1.00	10.0		250.00		600.00
15	70:30	1.00	10.0		150.00		700.00
16	80:20	1.00	10.0		50.00		800.00

2.3.3 การศึกษาความเข้มข้น BGQDs ที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

ปิเปตสารละลายเจเลเตอร์ (stock solution) 10 %w/w ปริมาตร 100.00 μL ลงในขวดเก็บสารขนาด 3 mL ปิเปตสารละลาย BGQDs ความเข้มข้น 5.39 mg/mL ปริมาตรดังแสดงในตารางที่ 2.4 ปิเปตตัวทำละลายผสมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 100 mM ในอัตราส่วน DMSO:H₂O เท่ากับ 50:50 โดยปริมาตรรวมของสารละลายทั้งหมด คือ 1.00 mL อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง คือ 60 °C จากนั้นให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้า เป็นเวลา 30 วินาที และโซนิเคตสารละลายเป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำมาให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าอีกครั้งเป็นเวลา 30 วินาที สุดท้ายนำสารละลายที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และสังเกตผลของการเกิดเจล ณ เวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 2.4 ปริมาตรของ BGQDs ที่ใช้ในการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BGQDs สำหรับ BGQDs/Gels

ครั้งที่	ความเข้มข้นสุดท้ายของ BGQDs ใน 1.00 mL (mg/mL)	ปริมาตรของ BGQDs จาก stock solution (μL)
1	0	0.00
1	0.270	50.00
2	0.539	100.00
3	0.809	150.00
4	1.078	200.00
5	1.348	250.00
6	1.617	300.00
7	1.887	350.00
8	2.156	400.00

2.3.4 การศึกษาความเข้มข้น BGQDs ที่เหมาะสมสำหรับ BGQDs/Gels ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

ปิเปตสารละลายเจเลเตอร์ (stock solution) 10 %w/w ปริมาตร 200.00 μL ลงในขวดเก็บสารขนาด 3 mL ปิเปตสารละลาย BGQDs ความเข้มข้น 5.39 mg/mL ปริมาตรดังแสดงในตารางที่ 2.5 หลังจากนั้น ปิเปตตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 100 mM ในอัตราส่วน DMSO:H₂O เท่ากับ 50:50 โดยปริมาตรรวมของสารละลายทั้งหมด คือ 2.00 mL อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง คือ 60 °C จากนั้นให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้า เป็นเวลา 30 วินาที และโซนิเคตสารละลายเป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำมาให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าอีกครั้งเป็นเวลา 30 วินาที ต่อมาปิเปตสารละลายที่ได้ใส่ในควอตซ์คิวเวตท์ แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายใต้สภาวะดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.5 ปริมาตรของ BGQDs ที่ใช้ในการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BGQDs สำหรับ BGQDs/Gels ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

ครั้งที่	ความเข้มข้นสุดท้ายของ BGQDs ใน 2.00 mL (mg/mL)	ปริมาตรของ BGQDs จาก stock solution (μL)
1	0.068	25.00
2	0.135	50.00
3	0.270	100.00
4	0.539	200.00
5	0.809	300.00
6	1.078	400.00
7	1.348	500.00
8	1.617	600.00

ตารางที่ 2.6 สภาวะที่ใช้สำหรับการวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs/Gels

	BGQDs/Gels
Excitation wavelength (nm)	310
Start (nm)	320
Stop (nm)	500
Width of excitation and emission slit (nm)	5
Smoothing factor	29
Scan rate (nm/min)	600
PMT	500
Range of emission spectrum (nm)	320-460

2.4 การศึกษาการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ของ BGQDs/Gels

ปิเปตสารละลายเจเลเตอร์ (stock solution) เข้มข้น 10 %w/w ปริมาตร 200.00 μ L ลงในขวดเก็บสารขนาด 3 mL ปิเปต BGQDs ความเข้มข้น 5.39 mg/mL ปริมาตร 50.00 μ L ปิเปตตัวทำละลายผสมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 100 mM ในอัตราส่วน DMSO:H₂O เท่ากับ 50:50 จากนั้นปิเปตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในขวดเก็บสาร ปริมาตรที่ใช้แสดงดังตารางที่ 2.7 โดยปริมาตรรวมของสารละลายทั้งหมด คือ 2.00 mL เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ในการตรวจวัด คือ 0.01, 0.10 และ 1.00 mM คนสารละลายโดยใช้แท่งแม่เหล็กคนสาร เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้า เป็นเวลา 30 วินาที และโซนิเคตสารละลายเป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำมาให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าอีกครั้งเป็นเวลา 30 วินาที ต่อมาปิเปตสารละลายที่ได้ใส่ในควอตส์คิวเวตท์ แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ภายใต้สภาวะดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.7 ปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สำหรับศึกษาการตรวจวัดของ BGQDs/Gels

ครั้งที่	ความเข้มข้นสุดท้าย ของ H ₂ O ₂ ใน 2.00 mL (mM)	ความเข้มข้น เริ่มต้นของ H ₂ O ₂ (mM)	ปริมาตรของ H ₂ O ₂ จาก stock solution (μ L)	ปริมาตรของ PBS (μ L)	ปริมาตรของ DMSO (μ L)
1	0.01	0.10	200.00	550.00	1000.00
2	0.10	1.00			
3	1.00	10.0			

2.5 การศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสของ BGQDs /Gels

2.5.1 การศึกษาปริมาณกลูโคสออกซิเดสที่เหมาะสมของปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกลูโคสออกซิเดสที่มีต่อ BGQDs/Gels ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

ปิเปต BGQDs ความเข้มข้น 5.39 mg/mL ปริมาตร 63.00 μ L ลงในขวดเก็บสารขนาด 3 mL และปิเปตสารละลายกลูโคส ความเข้มข้น 25 mM ปริมาตร 100.00 μ L และปิเปตสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 25 mM และสารละลายสต็อกกลูโคสออกซิเดส (stock solution, GOx) ปริมาตรแสดงดังตารางที่ 2.8 เติมออกซิเจนโดยใช้เครื่องเติมออกซิเจนแบบพกพาเป็นเวลา 15 นาที ปิดฝาคนสารละลายโดยใช้แท่งแม่เหล็กคนสารเป็นเวลา 60 นาที เติมตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) 1250.00 μ L แล้วเติมสารละลายเจเลเตอร์ (stock solution) ความเข้มข้น 10 %w/w ปริมาตร 250.00 μ L ปริมาตรรวมของสารละลายทั้งหมด คือ 2.50 mL จากนั้นให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าเป็นเวลา 30 วินาที และโซนิเคตสารละลายเป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำมาให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าอีกครั้งเป็นเวลา 30 วินาที สุดท้ายปิเปตสารละลายที่ได้ใส่ในควอตส์ควิเวท แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ภายใต้สภาวะดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.8 ปริมาณของกลูโคสออกซิเดสที่ใช้ในการศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสของ BGQDs/Gels

ครั้งที่	ปริมาณกลูโคสออกซิเดส ใน 2.50 mL (units)	ปริมาตรของสต็อกกลูโคสออกซิเดส 559.52 units/2.50 mL	ปริมาตรของ PBS (μ L)
1	1	4.50	832.50
2	2	9.00	828.00

2.5.2 การศึกษาฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชันของเซ็นเซอร์ BGQDs/Gels กับน้ำตาลกลูโคส ผ่านการใช้ เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

ปิเปต BGQDs ความเข้มข้น 5.39 mg/mL ปริมาตร 63.00 μ L ลงในขวดเก็บสารขนาด 3 mL ปิเปต สารละลายกลูโคส ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายตั้งแต่ 50 ถึง 1500 μ M ต่อมาปิเปตสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 25 mM และสารละลายสต็อกกลูโคสออกซิเดส (stock solution, GOx) 2 units ปริมาตรของสารละลายแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 2.9 เติมออกซิเจนโดยใช้เครื่องเติมออกซิเจนแบบพกพาเป็นเวลา 15 นาที ปิดฝาคนสารละลายโดยใช้แท่งแม่เหล็กคนสารเป็นเวลา 60 นาที เติมตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) 1250.00 μ L แล้วเติมสารละลายเจเลเตอร์ (stock solution) เข้มข้น 10 %w/w ปริมาตร 250.00 μ L ปริมาตรรวมของสารละลายทั้งหมด คือ 2.50 mL จากนั้นให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าเป็นเวลา 30 วินาที และ โชนิเคตสารละลายเป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำมาให้ความร้อนด้วยเครื่องเป่าลมไฟฟ้าอีกครั้งเป็นเวลา 30 วินาที ต่อ มาปิเปตสารละลายที่ได้ใส่ในควอตส์ควิเวตท์ แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดสัญญาณ ฟลูออเรสเซนซ์ ภายใต้สภาวะดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.9 ปริมาณของสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชัน สำหรับBGQDs/Gels/glucose

ครั้งที่	ความเข้มข้น สุดท้ายของ สารละลาย น้ำตาลกลูโคส ใน 2.50 mL (μM)	ความเข้มข้น เริ่มต้นของ สารละลาย น้ำตาลกลูโคส (μM)	ปริมาตรของ สารละลาย น้ำตาลกลูโคส จาก stock solution (μL)	ปริมาตรของ สต็อกกลูโคส ออกซิเดส 570.28 units/ 5.00 mL (μL)	ปริมาตร ของ PBS (μL)	ปริมาตร ของ DMSO (μL)
1	50	2.50	50.00	17.00	870.00	1250.00
2	100	2.50	100.00		820.00	
3	200	25.0	20.00		900.00	
4	300	25.0	30.00		890.00	
5	350	25.0	35.00		885.00	
6	400	25.0	40.00		880.00	
7	450	25.0	45.00		875.00	
8	500	25.0	50.00		870.00	
9	550	25.0	55.00		865.00	
10	600	25.0	60.00		860.00	
11	650	25.0	65.00		855.00	
12	700	25.0	70.00		850.00	
13	750	25.0	75.00		845.00	
14	800	25.0	80.00		840.00	
15	900	25.0	90.00		830.00	
16	1000	25.0	100.00		820.00	
17	1200	50.0	60.00		860.00	
18	1500	50.0	75.00		845.00	

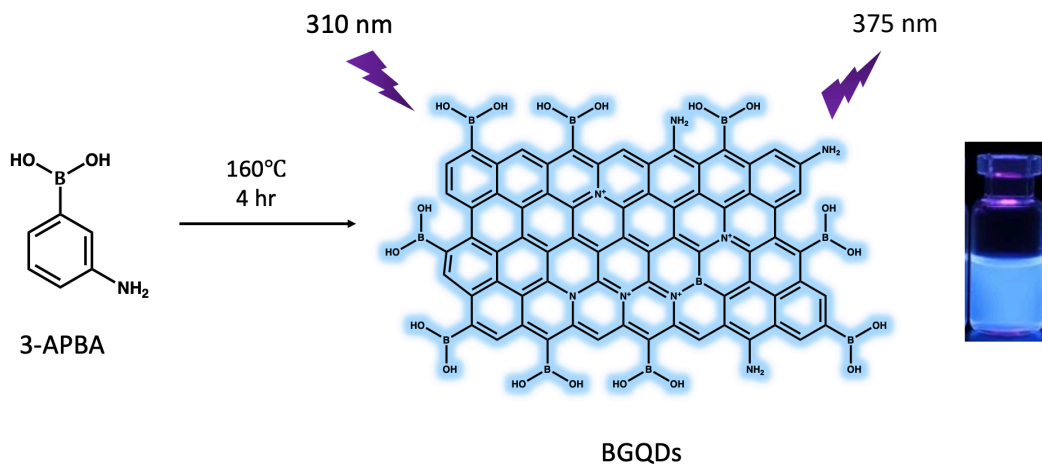
บทที่ 3

ผลการทดลอง และอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์ และการพิสูจน์เอกลักษณ์

3.1.1 การสังเคราะห์โมเลกุลเซ็นเซอร์โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (BGQDs)

สารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (boronic graphene quantum dots, BGQDs) คือ 3-อะมิโนฟีนิลโบโรนิก แอซิด (3-aminophenylboronic acid, 3-APBA) ซึ่งเป็นสารที่มีวงอะโรมาติกเป็นองค์ประกอบ โดยภายในโครงสร้างของโมเลกุลมีหมู่ฟังก์ชันเอมีนที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ และมีหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด ซึ่งเป็นหมู่สำคัญสำหรับทำปฏิกิริยากับน้ำตาลกลูโคส ในงานวิจัยนี้ ขั้นตอนการสังเคราะห์ BGQDs จะสังเคราะห์ด้วยวิธีจากเล็กไปใหญ่ (bottom-up approach) ผ่านกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล (hydrothermal process) โดยเตรียมได้จากการละลาย 3-APBA ด้วยน้ำมิลลิคิว และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 160 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากการทำปฏิกิริยา พบว่า สีของสารละลายที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองใสของสารตั้งต้นเป็นสารละลายสีม่วงแดง และเมื่อทำการกรองด้วยไซริงค์กรองสาร ขนาด 0.22 μm พบว่า มีอนุภาคสีม่วงติดอยู่บนแผ่นกรองของไซริงค์ ซึ่งแสดงให้เห็นเบื้องต้นว่า สารตั้งต้นเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทำไดอะไลซิส (dialysis) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้โมเลกุลของสารตั้งต้น โมเลกุลเกลือสารอนินทรีย์ชนิดอื่น และผลพลอยได้ (byproduct) แพร่ผ่านออกไป โดยในการทดลองขั้นตอนนี้ ได้เปลี่ยนน้ำทุก 1 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการอิมตัวของสารละลาย และเพิ่มอัตราการแพร่ของสารละลายภายในถุงไดอะไลซิส หลังจากไดอะไลซิสแล้ว พบว่า ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีสีน้ำตาลใส และเมื่อนำไปวัดการเรืองแสงภายใต้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร สารละลายที่ได้เรืองแสงสีฟ้า โดยปฏิกิริยาแสดงในรูปที่ 3.1

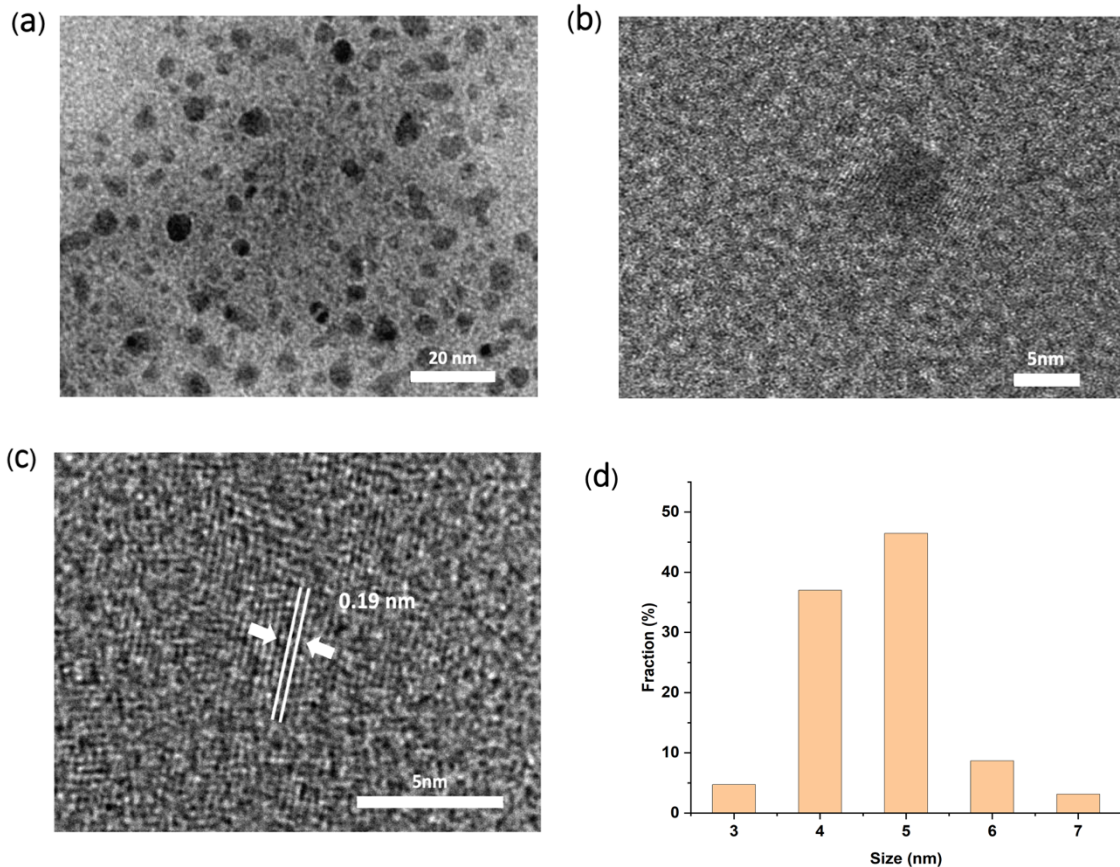


รูปที่ 3.1 ปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ BGQDs และภาพแสดงการเรืองแสงของสารละลาย BGQDs ภายใต้แสงยูวีความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร

3.1.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของโมเลกุลเซ็นเซอร์โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (BGQDs)

3.1.2.1 การศึกษาขนาดและสัณฐานของ BGQDs

ขนาด และสัณฐานของ BGQDs สามารถวิเคราะห์ที่ได้ผ่านภาพถ่ายของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (transmission electron microscopy micrographs, TEM micrographs) ดังแสดงในรูปที่ 3.2

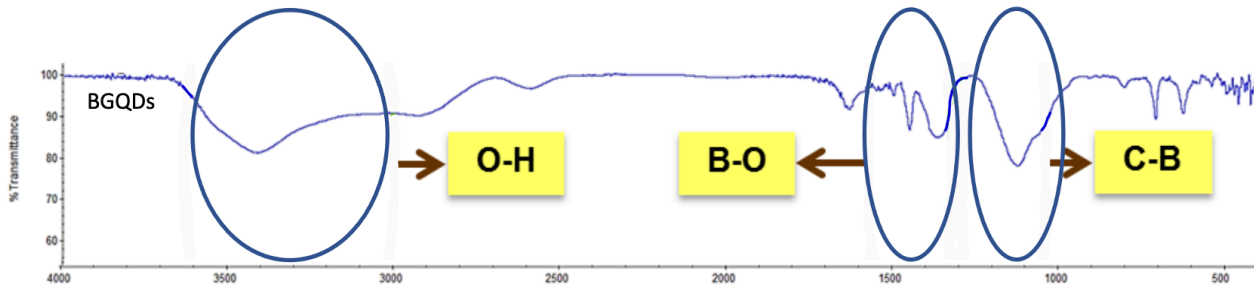


รูปที่ 3.2 ภาพถ่าย TEM (a) high-resolution TEM (b) ภาพแสดงระยะห่างภายในระนาบ (c) และขนาดอนุภาคเฉลี่ย (d) ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs

จากภาพถ่ายของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านในรูปที่ 3.2(a) พบว่า BGQDs ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็นอนุภาคทรงกลม (spherical particles) โดยมีระยะห่างภายในระนาบแสดงในรูปที่ 3.2(c) (graphical in-plane lattice spacing) เท่ากับ 0.19 นาโนเมตร และมีขนาดของอนุภาคเฉลี่ยเป็น 4.69 ± 0.84 นาโนเมตร (คำนวณจากการสุ่มอนุภาค BGQDs จำนวน 127 อนุภาค โดยใช้โปรแกรม Image J software) โดยทั่วไปคุณลักษณะของกราฟีนควอนตัมดอทจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 10 นาโนเมตร⁽⁶⁰⁾ มีรูปร่างเป็นทรงกลม หรือรูปไข่ และมีระยะห่างภายในระนาบอยู่ในช่วง 0.18-0.25 นาโนเมตร⁽⁴⁰⁾ ดังนั้น จึงสันนิษฐานได้ว่า BGQDs ที่สังเคราะห์ได้เป็นกราฟีนควอนตัมดอท ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของวงอะโรมาติกของ 3-APBA

3.1.2.2 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของ BGQDs

หมู่ฟังก์ชันของ BGQDs สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยฟูเรียร์ทรานซ็อมอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี (fourier transform-infrared spectroscopy, FT-IR) ดังแสดงในรูปที่ 3.3

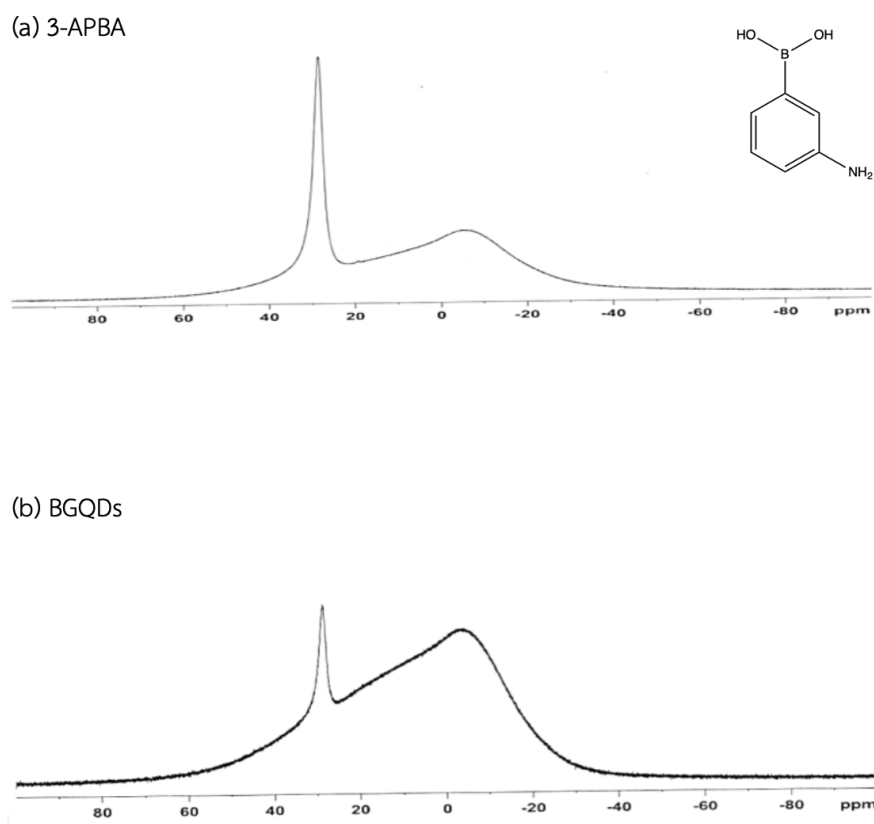


รูปที่ 3.3 FT-IR spectra ของ BGQDs

จากเส้นสเปกตรัมของ BGQDs ในรูปที่ 3.3 แสดงพีคของความถี่ของการสั่นแบบยืดของพันธะ O-H (O-H stretching mode) จากหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลบนโมเลกุลเซ็นเซอร์ที่ 3431 cm^{-1} นอกจากนี้ ยังแสดงถึงพีคสำคัญของหมู่โบโรนิกบนโครงสร้างของโมเลกุลเซ็นเซอร์ที่ 1410 และ 1100 cm^{-1} ซึ่งบ่งบอกถึงพีคของความถี่ของการสั่นแบบยืดของพันธะ B-O (B-O stretching mode) และความถี่ของการสั่นแบบยืดของพันธะ C-B (C-B stretching mode) ตามลำดับ จากผลที่กล่าวมาข้างต้น คาดได้ว่า BGQDs ที่ได้มีหมู่ฟังก์ชันของโบโรนิก แอซิด (boronic acid) ภายในโครงสร้าง

3.1.2.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ BGQDs ด้วย ^{11}B -NMR spectroscopy

เนื่องจากหมู่โบโรนิก แอซิด (B-OH) สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหมู่บอริก แอซิด (boric acid, B_2O_3) ซึ่งทำปฏิกิริยากับน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยเอนไซม์ได้ไม่ดี ดังนั้น เพื่อพิสูจน์ว่า BGQDs มีหมู่โบโรนิก แอซิด อยู่ที่ขอบของแผ่นกราฟีนควอนตัมดอทจึงทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ BGQDs โดยเทียบกับสารตั้งต้น 3-APBA ซึ่งประกอบด้วย หมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด ในโครงสร้างของโมเลกุล ดังแสดงในรูปที่ 3.4

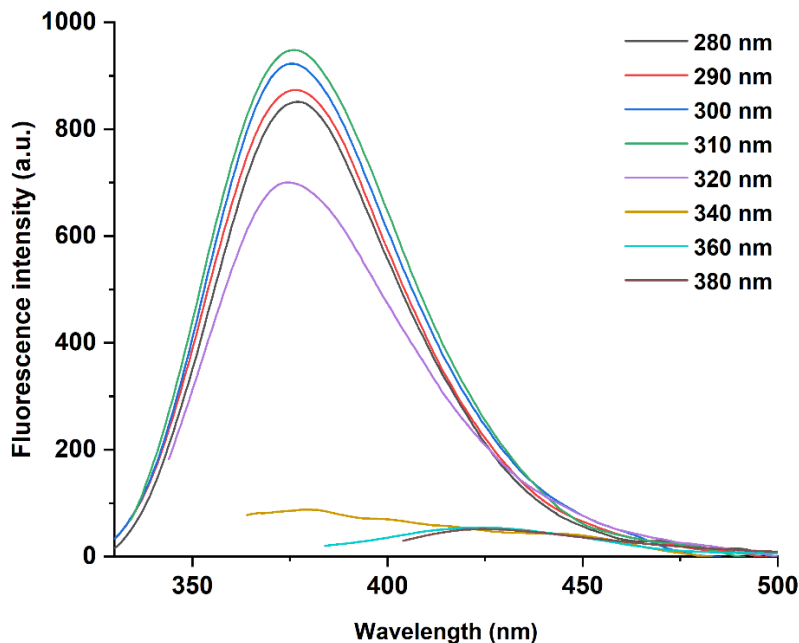


รูปที่ 3.4 ^{11}B -NMR spectra ของ 3-APBA (a) และ BGQDs (b)

จากรูปที่ 3.4 เมื่อพิจารณา ^{11}B -NMR spectrum ของ 3-APBA พบว่า มีพีคของโบรอนในรูปหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด ที่ประมาณ 28.6 ppm อีกทั้ง เมื่อเทียบกับ ^{11}B -NMR spectrum ของ BGQDs พบว่า มีสัญญาณของโบรอนที่ประมาณ 28.8 ppm ซึ่งใกล้เคียงกับสัญญาณโบรอนของ 3-APBA และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหมู่บอริก แอซิดที่มักจะปรากฏสัญญาณของหมู่บอริก แอซิดที่ chemical shift ประมาณ 18.5 ppm⁽⁶¹⁾ จึงสามารถสรุปได้ว่า BGQDs มีหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดอยู่บริเวณขอบของแผ่นกราฟีนควอนตัมดอท ดังนั้นจึงคาดว่า BGQDs ที่เตรียมได้เหมาะสมที่จะนำไปใช้ศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสตามแนวคิดที่กล่าวไว้ข้างต้น ในการทดลองต่อไป

3.1.2.4 การศึกษาสมบัติเชิงแสงของ BGQDs ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

ในการศึกษาสมบัติเชิงแสง (optical properties) ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs สามารถทำได้โดยนำสารละลาย BGQDs ไปวิเคราะห์การเรืองแสงผ่านเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จากรูปที่ 3.5 พบว่า เมื่อให้ความยาวคลื่นกระตุ้น (excitation wavelength) ในช่วง 280 ถึง 320 นาโนเมตร BGQDs จะมีการคายแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 375 นาโนเมตร โดยความเข้มของการคายแสงจะค่อย ๆ สูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงความยาวคลื่นกระตุ้นที่ 310 นาโนเมตร ซึ่งจะเกิดการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด จากนั้น ความเข้มแสงจะค่อย ๆ ลดลง จึงแสดงให้เห็นว่า BGQDs สามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงยูวี ซึ่งเป็นผลจากคุณสมบัติเชิงแสงที่เป็นเอกลักษณ์ของกราฟีนควอนตัมดอทที่สามารถเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากระดับชั้น $\pi-\pi^*$ ของพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนกับคาร์บอนในวงอะโรมาติก⁽⁶²⁾ และจากผลการศึกษาสมบัติเชิงแสงข้างต้น ผู้วิจัยจึงสนใจใช้ความยาวคลื่นที่ 310 นาโนเมตรเป็นความยาวคลื่นกระตุ้นในการศึกษาการตรวจจับน้ำตาลกลูโคสของโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs ต่อไป

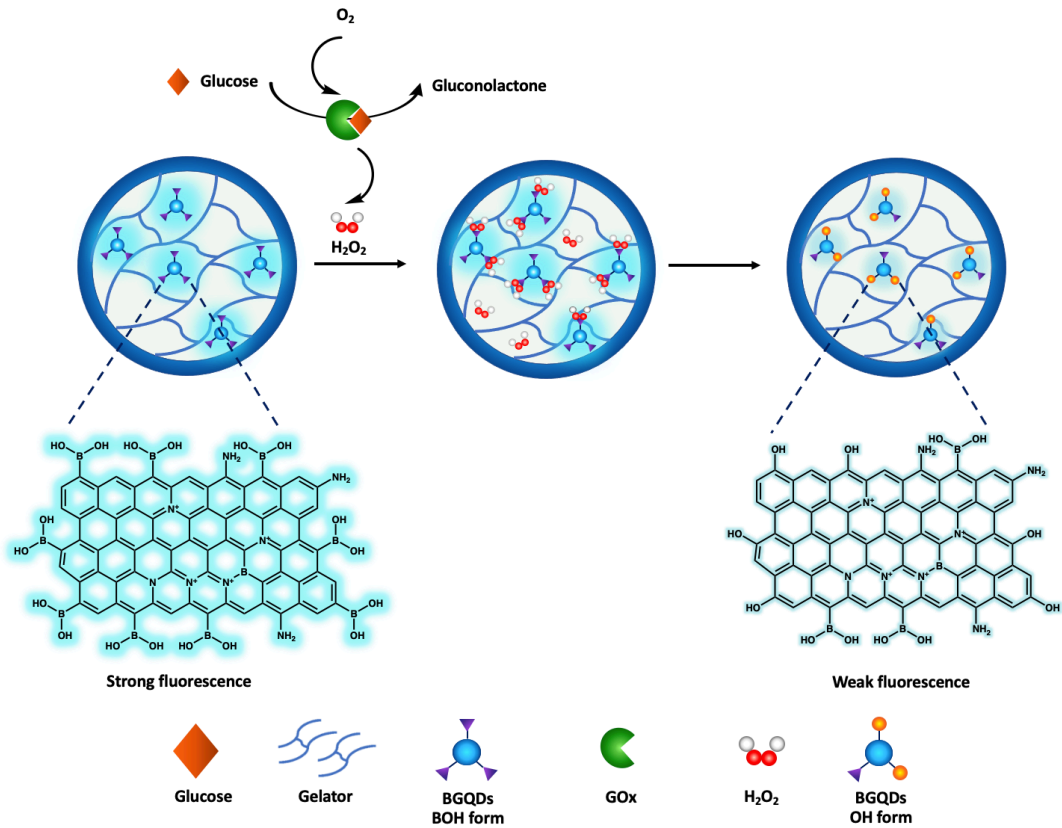


รูปที่ 3.5 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ที่ความยาวคลื่นกระตุ้นตั้งแต่ 280 ถึง 380 นาโนเมตร

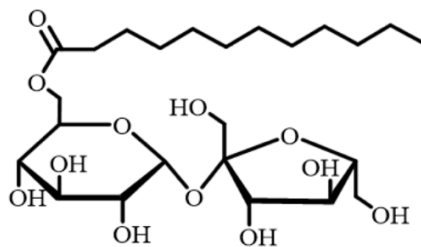


รูปที่ 3.6 กราฟแท่งแสดงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ที่ความยาวคลื่น 375 นาโนเมตรซึ่งเติมน้ำตาลกลูโคส (ซ้าย) และน้ำตาลฟรักโทส (ขวา) ความเข้มข้น 20 mM โดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 1 unit ใน HEPES buffer pH 7.4

จากผลการทดลองข้างต้น ผู้วิจัยสามารถยืนยันได้ว่า เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสมีความจำเพาะต่อน้ำตาลกลูโคสเท่านั้น โดยปราศจากการรบกวนจากน้ำตาลฟรักโทส และ H_2O_2 ที่ได้จากปฏิกิริยาสามารถลดความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้ ดังนั้น จึงกล่าวได้ว่า เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสสามารถเกิดปฏิกิริยากับน้ำตาลกลูโคสได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ ผู้วิจัยพบว่า BGQDs จะเป็นโมเลกุลเซ็นเซอร์ที่มีความไวในการตรวจวัดสูง และสามารถผลิตเป็นชิ้นงานได้ แนวคิดนี้จึงสามารถนำไปพัฒนาให้ BGQDs เป็นวัสดุตรวจวัดอยู่ในรูปไฮโดรเจล (hydrogel) ดังแสดงในรูปที่ 3.7 ผ่านการใช้ซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ (sucrose laurate monoester) เป็นเจเลเตอร์ (gelator) โดยโครงสร้างของเจเลเตอร์ ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส และคาร์บอนออกเทนดังแสดงในรูปที่ 3.8 ซึ่งแสดงสมบัติความเป็นแอมฟิฟิลิก สามารถเกิดอันตรกิริยาได้ทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้ว โดยเจเลเตอร์ชนิดนี้ประกอบด้วยน้ำตาลเป็นหลัก ซึ่งมีความเป็นพิษต่ำจึงเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม



รูปที่ 3.7 แนวคิดงานวิจัยการตรวจจับน้ำตาลกลูโคส โดยใช้วัสดุตรวจวัด BGQDs ที่ถูกห่อหุ้มในไฮโดรเจล



รูปที่ 3.8 โครงสร้างทางเคมีของซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ (sucrose laurate monoester)

3.3 การศึกษาการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs ห่อหุ้มในไฮโดรเจล (BGQDs/Gels)

3.3.1 การศึกษาปริมาณเจลเลเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

ในการศึกษาปริมาณเจลเลเตอร์ที่เหมาะสมในการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels ผู้วิจัยได้ศึกษาในช่วงความเข้มข้นของเจลเลเตอร์ตั้งแต่ 0.50 ถึง 10 %w/w โดยละลายในตัวทำละลายผสมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) กับน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ (10:90 20:80 และ 50:50) ส่วนของน้ำในระบบนี้ประกอบไปด้วย 100 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เจลเลเตอร์ และ 0.270 mg/mL BGQDs ที่ละลายในน้ำมีลิลคิว จากการทดลองนี้ ผู้วิจัยต้องการศึกษาอัตราเร็วในการเกิดเจล (gel formation) ณ อุณหภูมิห้อง ดังนั้น ผลการทดลองจะถูกบันทึกตั้งแต่วันที่ 1 นาที่ ถึง 2 วัน แสดงดังตารางที่ 3.1

จากผลการทดลอง สังเกตได้ว่า ปริมาณเจลเลเตอร์มีผลต่ออัตราเร็วในการเกิดเจลอย่างมีนัยสำคัญ โดยหากความเข้มข้นของเจลมีปริมาณมาก เจลจะสามารถเกิดเป็นเจลได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้ง มีลักษณะทางกายภาพที่เป็นเจลขุ่นมาก ทั้งนี้ เนื่องจากเจลเลเตอร์ที่ใช้จะมีคุณสมบัติเป็นสารประเภทแอมฟิฟิลิก (amphiphilic molecules) กล่าวคือ ภายในโครงสร้างโมเลกุลมีสายโซ่คาร์บอน 8 ตัวเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic part) และมีส่วนของน้ำตาลซูโครส ซึ่งมีสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophilic part) เมื่อละลายเจลเลเตอร์ชนิดนี้ในตัวทำละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และไดเมทิลซัลฟอกไซด์ที่มีขั้วสูง เจลเลเตอร์จึงละลายได้ไม่ดี ส่งผลให้เมื่อมีปริมาณเจลเลเตอร์มากขึ้น เจลจึงขุ่นขึ้น ยิ่งไปกว่านั้น จากผลการทดลองยังบ่งบอกได้อีกว่าเวลาในการเริ่มเกิดเจลจะแปรผกผันกับความเข้มข้นของเจลเลเตอร์ เนื่องจากเจลเลเตอร์คือองค์ประกอบสำคัญในการสร้างเจล ยิ่งมีปริมาณเจลเลเตอร์ในระบบมาก อันตรกิริยาระหว่างเจลเลเตอร์ยิ่งเกิดได้มากขึ้น ทำให้เกิดโครงสร้างเป็นร่างแหตาข่าย 3 มิติ (3D-network) ได้ดียิ่งขึ้น

ดังนั้น จากการทดลองดังตารางที่ 3.1 พบว่า ความเข้มข้นของเจลเลเตอร์ที่เหมาะสมในการเกิดเจลอยู่ในช่วง 0.75 ถึง 1.5 %w/w ซึ่งสารละลายสามารถเกิดเป็นเจลได้ภายในเวลา 15 นาที และเจลที่ได้มีลักษณะยืดหยุ่นในงานวิจัยนี้ จึงเลือกใช้ความเข้มข้นในช่วงดังกล่าวไปหาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดเจลต่อไป อย่างไรก็ตาม ที่ความเข้มข้น 0.75 %w/w แม้ว่าเจลมีลักษณะใสที่สุด และใช้ปริมาณเจลเลเตอร์ต่ำที่สุด แต่เจลที่ได้ยังคงเกิดไม่สมบูรณ์ อีกทั้ง ในบางการทดลอง ที่ความเข้มข้นของเจลเลเตอร์ดังกล่าวอาจไม่ฟอร์มตัวเป็นเจล ดังนั้น ความเข้มข้นของเจลเลเตอร์ที่เหมาะสมที่สุดในการเกิดเจลของระบบโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs คือ 1%w/w

ตารางที่ 3.1 ผลการศึกษาปริมาณเจลเตอร์ในการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

#	Ratio DMSO:H ₂ O	Gelator %w/w	1 min	3 mins	5 mins	15 mins	30 mins	1 hour	2 hours	1 day	2 days
1	10:90	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	10:90	0.75	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	10:90	1.0	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	10:90	1.5	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	10:90	2.0	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	10:90	2.5	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	10:90	5.0	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	10:90	10	S	S	S	S	OG	OG	OG	OG	OG
9	20:80	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
10	20:80	0.75	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	20:80	1.0	S	S	S	S	S	S	S	S	S
12	20:80	1.5	S	S	S	S	S	S	S	S	S
13	20:80	2.0	S	S	S	S	S	S	S	S	S
14	20:80	2.5	S	S	S	S	S	S	S	S	S
15	20:80	5.0	S	S	S	S	S	S	S	S	S
16	20:80	10	S	S	PG	OG	OG	OG	OG	OG	OG
17	50:50	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
18	50:50	0.75	S	S	S	G	G	G	G	G	G
19	50:50	1.0	S	S	S	G	G	G	G	G	G
20	50:50	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
21	50:50	2.0	S	S	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG
22	50:50	2.5	S	S	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG
23	50:50	5.0	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG
24	50:50	10	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG

หมายเหตุ S = solution สารละลายที่ไม่เกิดเจล PG= partial gel เจลบางส่วน
 G= gel เจล OG= opaque gel เจลที่มีลักษณะขุ่น

3.3.2 การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

ในการทดลองนี้ ได้ศึกษาอัตราส่วนของตัวทำละลายระหว่างไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) และน้ำในช่วงอัตราส่วนตั้งแต่ 10:90 ถึง 80:20 โดยปริมาตร ซึ่งน้ำในระบบนี้ประกอบด้วย 100 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เจลเตอรืความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 %w/w และ BGQDs ความเข้มข้น 0.135 mg/mL ที่ละลายในน้ำมิลลิคว โดยผู้วิจัยจะทำการศึกษาการเกิดเจล ณ อุณหภูมิห้อง และศึกษาอัตราการเกิดเจลตั้งแต่เวลา 1 นาที ถึง 2 วัน แสดงดังตารางที่ 3.2

จากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณตัวทำละลาย DMSO มีผลอย่างมากต่อการเกิดเจล กล่าวคือ ถ้ามีปริมาณตัวทำละลาย DMSO ในระบบมาก เจลจะมีลักษณะทางกายภาพที่ใสขึ้น และเวลาในการเกิดเจลจะยิ่งน้อยลง ทั้งนี้ จึงกล่าวได้ว่า DMSO มีบทบาทสำคัญในระบบการเกิดเจล เนื่องจาก DMSO เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วต่ำกว่าน้ำ (ความเป็นขั้วสัมพัทธ์ = 0.444 เทียบกับน้ำ) ⁽⁶³⁾ จึงสามารถเป็นสารละลาย (solvate) ของระบบ BGQDs/Gels ได้ กล่าวคือ เมื่อใช้ตัวทำละลาย DMSO ละลายเจลเตอรืซึ่งมีสมบัติเป็นสารแอมฟิฟิลิก (amphiphilic substance) โมเลกุลของเจลเตอรืในส่วนของสายโซ่คาร์บอน 8 ตัวของเจลเตอรืซึ่งมีสมบัติความเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) จะเกิดการทำอันตรกิริยาแบบขั้วคู่-ขั้วคู่เหนี่ยวนำ (dipole-induced dipole interaction) กับ DMSO และเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ (self-assemble organization) เพื่อให้สภาพที่มีขั้วเหมือนกันกับตัวทำละลาย นอกจากนี้ เมื่อระบบเกิดเป็นเจล BGQDs จะถูกห่อหุ้มด้วยเจลเตอรื โดยใช้ข้อั้ประกอบขุโครสภายในโครงสร้างซึ่งมีสมบัติเป็นสารไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) จากหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (hydroxyl group) และเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ซึ่งช่วยให้เกิดไฮโดรเจลได้ดีขึ้น ในทางตรงกันข้าม จากผลการทดลองในตารางที่ 3.2 ยังแสดงให้เห็นว่า ถ้าอัตราส่วนตัวทำละลาย DMSO:H₂O น้อยกว่า 20:80 โดยปริมาตร ระบบจะไม่เกิดเป็นเจลขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลจากการที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ไม่มากพอ ส่งผลให้สายโซ่คาร์บอนของเจลเตอรืละลายได้ไม่ดี สารละลายจึงไม่เกิดการจัดเรียงตัวเป็นเจล และเกิดการตกตะกอน นอกจากนี้ ในกรณีที่ใช้ตัวทำละลาย DMSO ความเข้มข้นสูงเกินไป จะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ และส่งผลต่อความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ จากผลการทดลองที่ได้กล่าวมาข้างต้น อัตราส่วนตัวทำละลาย DMSO:H₂O ที่ 50:50 เมื่อปริมาณเจลเตอรืเท่ากับ 1 %w/w จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด โดยใช้เวลาในการเกิดเจลอย่างน้อย 15 นาที และเจลมีลักษณะทางกายภาพที่ใสมากที่สุด ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้อัตราส่วนนี้ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 3.2 ผลการศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลาย DMSO:H₂O ในการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

#	Ratio DMSO:H ₂ O	Gelator %w/w	1 mins	3 mins	5 mins	10 mins	15 mins	30 mins	1 hour	2 hours	1 day	2 days
1	10:90	1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	20:80	1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	30:70	1	S	S	S	S	S	S	S	S	PG	PG
4	40:60	1	S	S	S	S	G	G	G	G	G	G
5	50:50	1	S	S	S	S	G	G	G	G	G	G
6	60:40	1	S	S	S	G	G	G	G	G	G	G
7	70:30	1	S	S	S	G	G	G	G	G	G	G
8	80:20	1	S	S	S	G	G	G	G	G	G	G
10	10:90	1.5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	20:80	1.5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
12	30:70	1.5	S	S	S	S	S	S	S	S	G	G
13	40:60	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G	G
14	50:50	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G	G
15	60:40	1.5	S	S	G	G	G	G	G	G	G	G
16	70:30	1.5	S	PG	G	G	G	G	G	G	G	G
17	80:20	1.5	S	G	G	G	G	G	G	G	G	G

หมายเหตุ S = solution สารละลายที่ไม่เกิดเจล PG= partial gel เจลบางส่วน
G= gel เจล OG= opaque gel เจลที่มีลักษณะขุ่น

3.3.3 การศึกษาความเข้มข้น BGQDs ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

ในการทดลองนี้ ได้ศึกษาผลของความเข้มข้น BGQDs ต่ออัตราการเกิดเจล และการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยศึกษาในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 2.156 mg/mL โดยทำการศึกษา ณ อุณหภูมิห้อง ตั้งแต่เวลา 1 นาที ถึง 2 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ผลของความเข้มข้น BGQDs ที่มีผลต่อการเกิดเจลของวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels

[BGQDs] in 1.00 mL (mg/mL)	Gelator (%w/w)	1 min	3 mins	5 mins	15 mins	30 mins	1 hour	2 hours	1 day	2 days
0	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0.270	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0.539	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0.809	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1.078	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1.348	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1.617	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1.887	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2.156	0.50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0	0.75	S	S	S	S	G	G	G	G	G
0.270	0.75	S	S	S	G	G	G	G	G	G
0.539	0.75	S	S	S	G	G	G	G	G	G
0.809	0.75	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.078	0.75	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.348	0.75	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.617	0.75	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.887	0.75	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2.156	0.75	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0	1.0	S	S	S	G	G	G	G	G	G
0.270	1.0	S	S	S	G	G	G	G	G	G
0.539	1.0	S	S	S	G	G	G	G	G	G
0.809	1.0	S	S	S	G	G	G	G	G	G

ตารางที่ 3.3 ผลของความเข้มข้น BGQDs ที่มีผลต่อการเกิดเจลของวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels (ต่อ)

[BGQDs] in 1.00 mL (mg/mL)	Gelator (%w/w)	1 min	3 mins	5 mins	15 mins	30 mins	1 hour	2 hours	1 day	2 days
1.078	1.0	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.348	1.0	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.617	1.0	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.887	1.0	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2.156	1.0	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
0.270	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
0.539	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
0.809	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.078	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.348	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.617	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
1.887	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G
2.156	1.5	S	S	S	G	G	G	G	G	G

หมายเหตุ

S = solution

สารละลายที่ไม่เกิดเจล

PG= partial gel

เจลบางส่วน

G= gel

เจล

OG= opaque gel

เจลที่มีลักษณะขุ่น

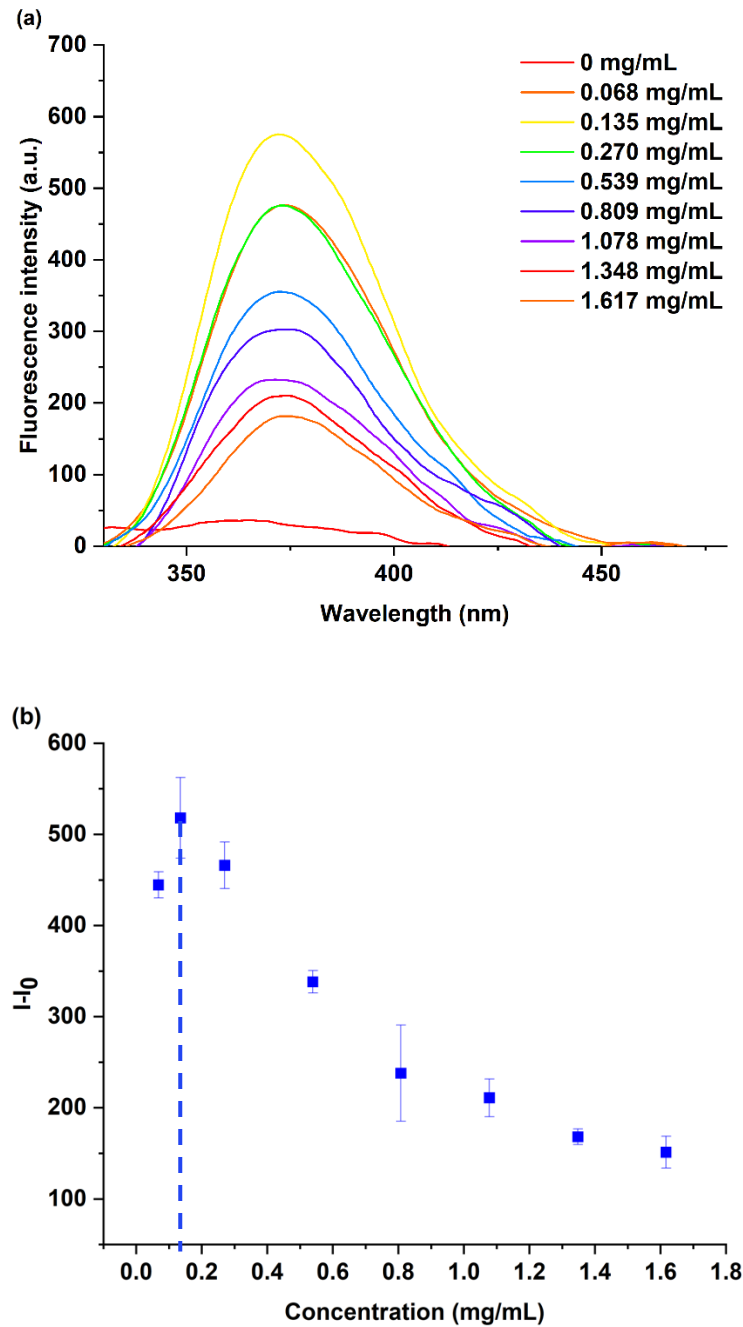
จากผลการทดลองในตารางที่ 3.3 พบว่า ณ ความเข้มข้นของเจเลเตอร์ที่ 0.5 และ 1.5 %w/w ความเข้มข้นของ BGQDs ไม่มีผลต่ออัตราการเกิดเจล เนื่องจากที่ความเข้มข้นของเจเลเตอร์ 0.5 %w/w มีปริมาณของเจเลเตอร์ไม่เพียงพอที่จะทำให้สารละลายกลายเป็นเจล และที่ความเข้มข้น 1.5 %w/w มีปริมาณของเจเลเตอร์มาก อันตรกิริยาระหว่างเจเลเตอร์จึงเกิดได้ดี ส่งผลให้ BGQDs ไม่ขัดขวางต่อการเกิดเจล แต่เจลที่ได้มีลักษณะขุ่น ซึ่งไม่เหมาะกับการใช้งาน จึงพิจารณาความเข้มข้นของเจเลเตอร์ที่ 0.75 และ 1.0 %w/w พบว่า ความเข้มข้น BGQDs มีผลต่ออัตราการเกิดเจล โดยเฉพาะเมื่อใช้ความเข้มข้นของ BGQDs สูง (1.887 และ 2.156 mg/mL) ส่งผลให้สารละลาย BGQDs/Gels ไม่กลายเป็นเจลเมื่อเวลาผ่านไป ทั้งนี้ คาดว่ามีสาเหตุมาจาก เมื่อสารละลายมีความเข้มข้นของ BGQDs มากเกินไป จะขัดขวางการเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันของเจเลเตอร์ เนื่องด้วย BGQDs และซูโครสซึ่งเป็นองค์ประกอบในเจเลเตอร์มีหมู่ไฮดรอกซิลเช่นเดียวกัน จึงสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ระหว่างกันได้ดี รวมทั้งสายโซ่คาร์บอน 8 ตัวของเจเลเตอร์สามารถเกิดแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals interaction) กับวงอะโรมาติกของ BGQDs ได้เช่นเดียวกัน จึงทำให้เจเลเตอร์เกิดอันตรกิริยาระหว่างกันได้ไม่ดี จึงเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติได้ไม่สมบูรณ์ และไม่สามารถฟอร์มตัวเป็นเจลได้ ดังนั้น ในการศึกษาความเข้มข้นของ โมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs ที่มีผลต่อการเกิดเจล และการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ จึงศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.068-1.617 mg/mL ของ BGQDs ซึ่งเป็นช่วงที่สามารถเกิดเจลได้ในเวลาอย่างน้อย 15 นาที

ลำดับถัดมา ได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้น BGQDs ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี โดยใช้ความเข้มข้นของ BGQDs ตั้งแต่ 0.068 ถึง 1.617 mg/mL ใน 1 %w/w เจเลเตอร์ และ 50:50 ของ DMSO:H₂O แสดงข้อมูลดังตารางที่ 3.4 และรูปที่ 3.9

ตารางที่ 3.4 ผลการศึกษาความเข้มข้น BGQDs ที่มีผลต่อความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs/Gels

[BGQDs] (mg/mL)	Average fluorescent intensity* at 375 nm (a.u.)	SD* (a.u.)
0.068	444.544	14.337
0.135	518.004	44.089
0.270	466.034	25.538
0.539	338.171	12.221
0.809	237.901	52.821
1.078	210.908	20.608
1.348	168.209	8.613
1.617	151.210	17.378

*ทำการทดลองวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs/Gels อย่างน้อย 3 ครั้ง



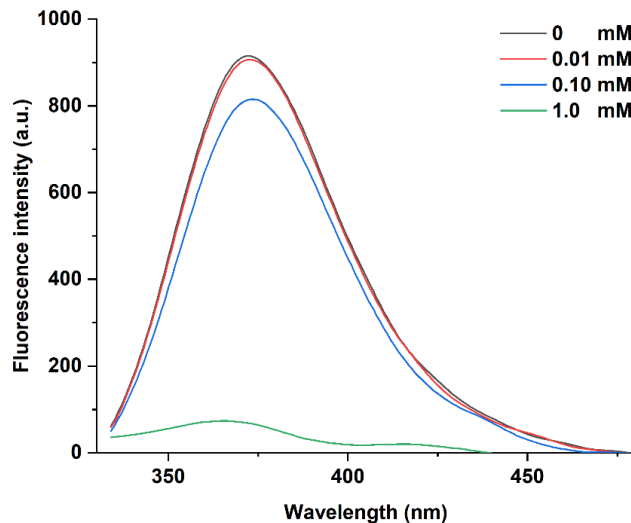
รูปที่ 3.9 (a) สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs/Gels และ (b) พล็อตความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 375 นาโนเมตรของ BGQDs ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-1.617 mg/mL โดยความคลาดเคลื่อนของความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้จากการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)

จากการทดลอง พบว่า ที่ความเข้มข้นของ BGQDs 0.135 mg/mL จะให้ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุด ในขณะที่เมื่อความเข้มข้นต่ำ หรือสูงเกินไปสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะลดลง ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นของ BGQDs ต่ำ ๆ (0.068 mg/mL) จะมีการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์น้อย เนื่องจากมีปริมาณของอิเล็กตรอนที่ตกกลับ (relaxation) จากระดับชั้นพลังงานกระตุ้น (excited state) สู่สถานะพื้น (ground state) น้อย ซึ่งส่งผลต่อการคายพลังงานแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้น้อยเช่นเดียวกัน ในทางเดียวกัน จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อใช้ BGQDs ความเข้มข้นสูงกว่า 0.135 mg/mL ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แปรผกผันกับความเข้มข้นของ BGQDs ซึ่งสามารถอธิบายได้ตามทฤษฎีการเกิด self-quenching กล่าวคือ เมื่ออิเล็กตรอนของโครโมฟอร์ (chromophore) ซึ่งในที่นี้ คือ BGQDs ได้รับพลังงานจะเกิดการเคลื่อนที่ไปยังสถานะกระตุ้น แต่เมื่อสารละลายมีความเข้มข้นมาก ทำให้อิเล็กตรอนบางส่วนของ BGQDs ที่อยู่ในสถานะกระตุ้น และจะตกกลับลงมาที่สถานะพื้นเพื่อเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์เกิดการชนกับโมเลกุลของ BGQDs ตัวอื่น ๆ และเกิดการถ่ายโอนพลังงานระหว่างโมเลกุลของ BGQDs กันเอง ส่งผลให้พลังงานตกกลับสู่สภาวะพื้นน้อยลง จึงทำให้เห็นสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลงตามความเข้มข้นที่มากขึ้น ดังนั้น จากผลการทดลองที่กล่าวมา จึงสามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้น BGQDs ที่เหมาะสมในการเป็นตัวตรวจวัด คือ 0.135 mg/mL เนื่องจากให้ความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด และเกิดเป็นเจลได้ภายในเวลา 15 นาที

จากผลการทดลองทั้งหมดในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์วัสดุตรวจวัด BGQDs ชนิดไฮโดรเจล (BGQDs/Gels) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเกิดเจล คือ เจลเตอร์ความเข้มข้น 1 %w/w ในอัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ต่อน้ำ คือ 50:50 และใช้ความเข้มข้นของ BGQDs เท่ากับ 0.135 mg/mL ณ อุณหภูมิในการทดลองที่ 60 °C

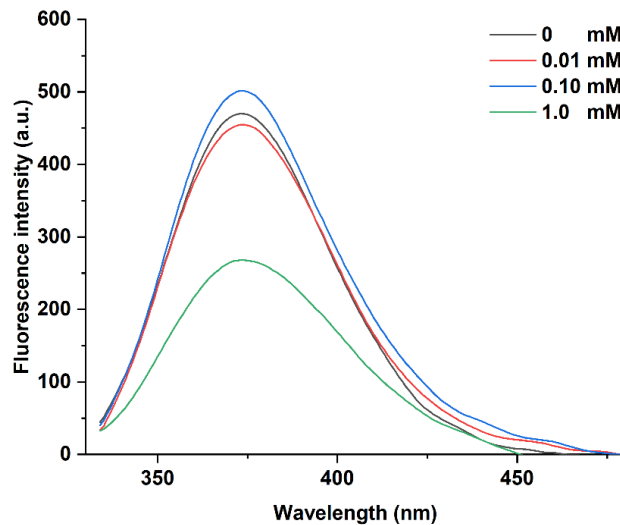
3.4 การศึกษาการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ของ BGQDs ในระบบสารละลายและไฮโดรเจล

เนื่องจากการทดลองนี้มุ่งเน้นที่จะตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสด้วยโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs ผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ฉะนั้นเพื่อเป็นการยืนยันกลไกในการเกิดปฏิกิริยาของ BGQDs ต่อ H_2O_2 ผู้วิจัยได้ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง BGQDs และ H_2O_2 ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0.01 mM, 0.1 mM และ 1.0 mM ในระบบสารละลายโดยศึกษาการเกิดปฏิกิริยาโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี ดังแสดงในรูปที่ 3.10 จากผลการทดลอง พบว่า ที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 310 นาโนเมตร จะเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 375 นาโนเมตร ภายหลังจากการเติมสารละลาย H_2O_2 และปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา (reaction time) 30 นาที พบว่า เกิดการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ที่แปรผันตามความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น จากปรากฏการณ์ดังกล่าวสามารถอธิบายได้จาก ความสามารถของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สามารถออกซิไดส์หมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิด (boronic acid group, C-B-OH) เป็นแอลกอฮอล์ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรโบเรชัน (hydroboration reaction) เนื่องจากโครงสร้างโบโรนิกแอซิดบนขอบของกราฟีนควอนตัมดอทเปลี่ยนไปเป็นหมู่ไฮดรอกซี จึงทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลง ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า BGQDs สามารถเกิดปฏิกิริยากับ H_2O_2 ได้ ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นตัวแปรสำคัญในการพิสูจน์เบื้องต้นว่า BGQDs สามารถตรวจวัดเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ของน้ำตาลกลูโคสได้



รูปที่ 3.10 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ในสารละลาย ที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.01 mM, 0.1mM และ 1.0 mM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)

ในการทดลองนี้ได้นำวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels ที่สังเคราะห์ที่ได้ไปตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.10 และ 1.0 mM เช่นเดียวกับในระบบสารละลาย จากผลการทดลองดังรูปที่ 3.11 พบว่าความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลง (fluorescence quenching) เมื่อ BGQDs ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 เช่นเดียวกับในระบบสารละลาย แสดงว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถแทรกตัวเข้าไปทำปฏิกิริยากับ BGQDs ที่ถูกห่อหุ้มในไฮโดรเจลได้ อย่างไรก็ตาม พบว่า ผลต่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในระบบไฮโดรเจลด้อยกว่าในระบบสารละลาย และแนวโน้มการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ไม่เป็นแนวโน้มเดียวกัน ซึ่งมีสาเหตุมาจากลักษณะความขุ่นของไฮโดรเจล ทำให้ผลการทดลองที่ได้ไม่เป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ว่าไฮโดรเจลจะสามารถช่วยให้เพิ่มความไวในการตรวจวัดได้ โดยความขุ่นเกิดจากสารแขวนลอยที่เป็นของแข็งมีผลต่อการกระเจิงของแสง จึงทำให้ค่าความเข้มฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้คลาดเคลื่อนไป ยิ่งไปกว่านั้น ยังพบอีกว่า ความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs ของระบบไฮโดรเจลมีค่าน้อยกว่าในระบบสารละลายอย่างเห็นได้ชัด ทั้งนี้ อาจเกิดขึ้นมาจากความขุ่นของระบบไฮโดรเจล ทำให้อนุภาคต่าง ๆ ที่อยู่ในระบบสามารถดูดกลืนพลังงานที่ BGQDs คายออกมา นอกจากนี้ เจลที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นของแข็งกึ่งเหลว จึงสามารถทำให้ BGQDs อาจเกิดการจัดเรียงตัวใกล้ชิดกัน (close packing) มากขึ้น ส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์ self-quenching และลดความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

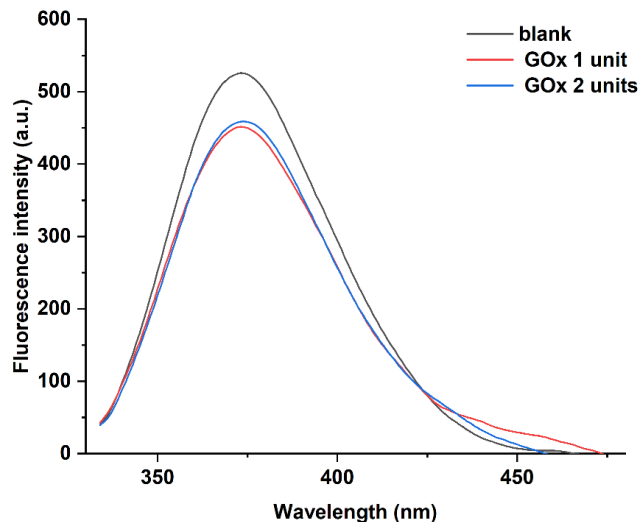


รูปที่ 3.11 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ในไฮโดรเจล ที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 0.01 mM, 0.1mM และ 1.0 mM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)

3.5 การศึกษาการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสของ BGQDs/Gels

3.5.1 ศึกษาปริมาณกลูโคสออกซิเดสที่เหมาะสมของปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับกลูโคสออกซิเดสที่มีต่อ BGQDs/Gels ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

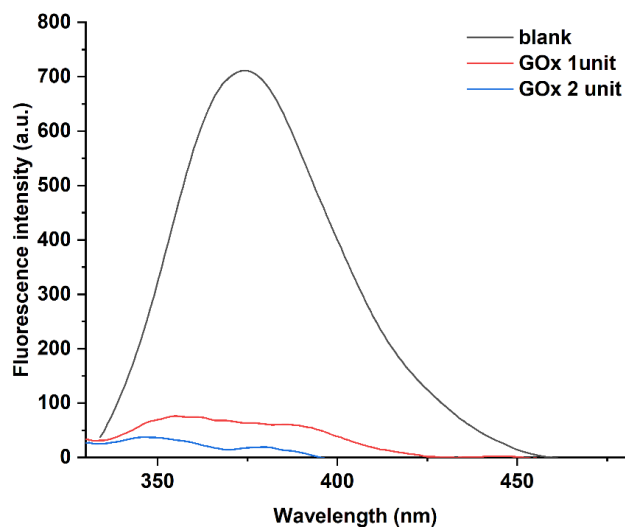
จากผลการทดลองก่อนหน้านี้ พบว่า BGQDs สามารถเกิดปฏิกิริยากับ H_2O_2 ได้ทั้งในระบบสารละลาย และ ไฮโดรเจล ในการทดลองนี้ ได้ทำการศึกษาปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase, GOx) ต่อการเกิดปฏิกิริยากับกลูโคสผ่านการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ทั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทดลองใช้ ปริมาณของ GOx 2 ความเข้มข้น คือ 1 unit และ 2 units ในการทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10 mM ณ อุณหภูมิ 37 °C และ pH 7.4 ซึ่งเป็นสถานะที่เอนไซม์ชนิดนี้ทำงานได้ดีมากที่สุด⁽⁶⁴⁾ โดยเวลาในการทำปฏิกิริยา (reaction time) คือ 60 นาที⁽⁵⁶⁾ ผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ในไฮโดรเจล ที่ทำปฏิกิริยากับกลูโคสและกลูโคสออกซิเดส ที่ความเข้มข้น 1 unit และ 2 units โดยใช้กลูโคส 10 mM และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 100 mM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)

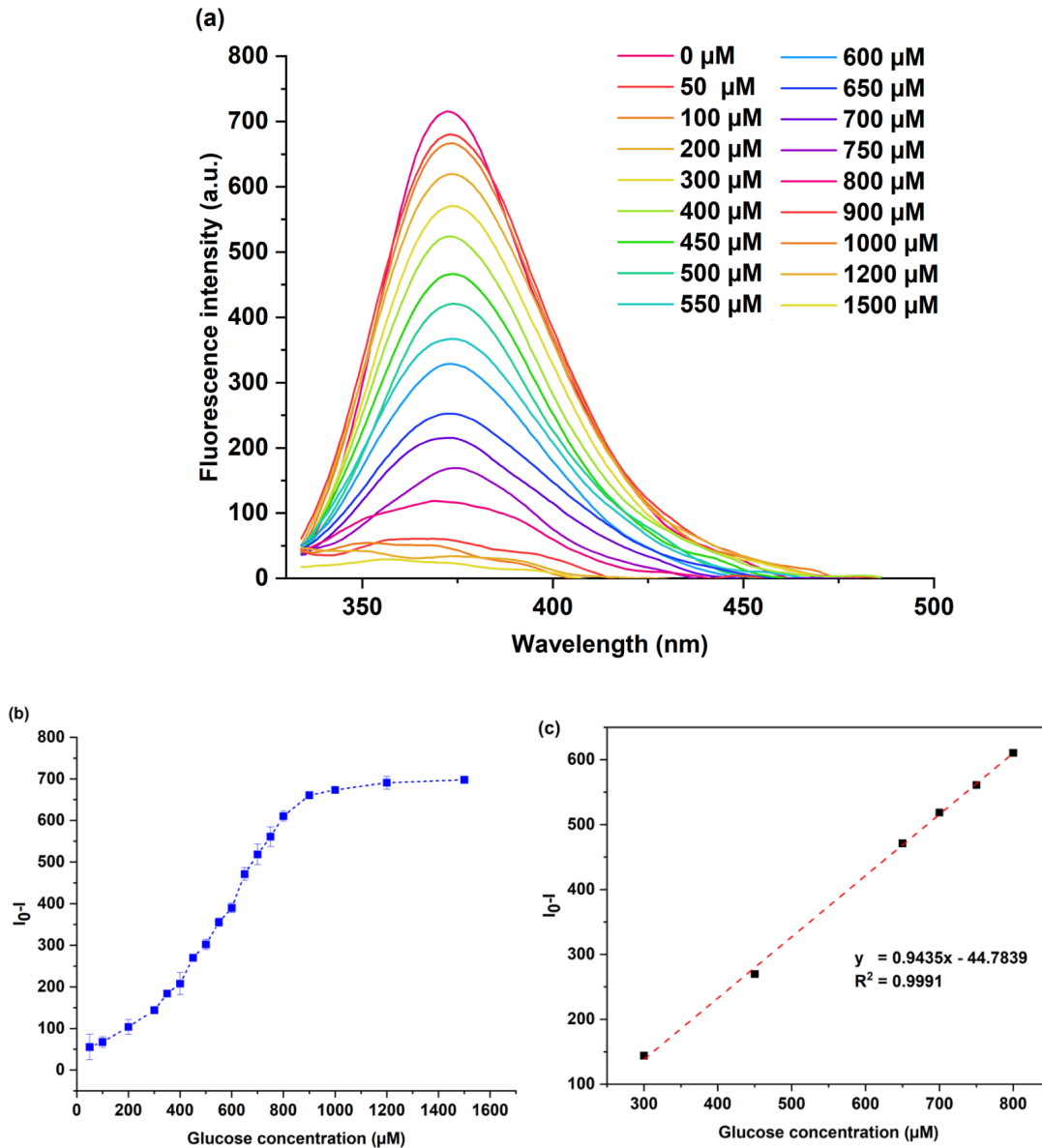
จากผลการทดลอง พบว่า ไม่ว่าจะเติมเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสที่ 1 unit หรือ 2 units สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดการลดลงน้อยมาก เมื่อเทียบกับการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง BGQDs กับ H_2O_2 โดยตรง จากปรากฏการณ์ดังกล่าว ผู้วิจัยจึงสันนิษฐานว่าอาจมีสาเหตุมาจาก ผลของตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ที่เป็นพิษ และสามารถทำลายการทำงานของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสได้ และที่อุณหภูมิ 37 °C นั้น เป็นอุณหภูมิที่ต่ำเกินไปในการฟอร์มตัวเป็นเจลจึงทำให้ได้อยู่ในรูปเกิดการเป็นเจลบางส่วน (partial gel) ส่งผลให้เกิดการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสได้ไม่ดีจึงทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ นอกจากนี้ พบอีกว่า ความ

เข้มข้นของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ก็มีผลต่อการทดลอง โดยในการทดลองนี้ได้ใช้ความเข้มข้นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นสูงถึง 100 mM เมื่อละลายลงในตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) สารละลายเกิดการคายความร้อนและเกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟตเกิดขึ้นในระบบ จากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยจึงทำการปรับวิธีการทดลอง โดยทำการเติมเจเลเตอร์และตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) หลังจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสและเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสสิ้นสุดลง และลดปริมาณความเข้มข้นของฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็น 25 mM จากนั้นจึงทำการวัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นอีกครั้งของเซ็นเซอร์ BGQDs/Gels เมื่อทำการตรวจวัด 1 mM น้ำตาลกลูโคส โดยเปรียบเทียบปริมาณเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 1 unit และ 2 units ซึ่งแสดงดังรูปที่ 3.13 จากผลการทดลอง พบว่า ภายในระบบไฮโดรเจลไม่มีตะกอนเกิดขึ้น และสารละลายมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน อีกทั้ง ความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 2 units ทำให้การลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลงมากกว่า แสดงว่าเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำตาลกลูโคส และผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้มากกว่า ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 2 units ในวัสดุตรวจวัด BGQDs/Gels เพื่อตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

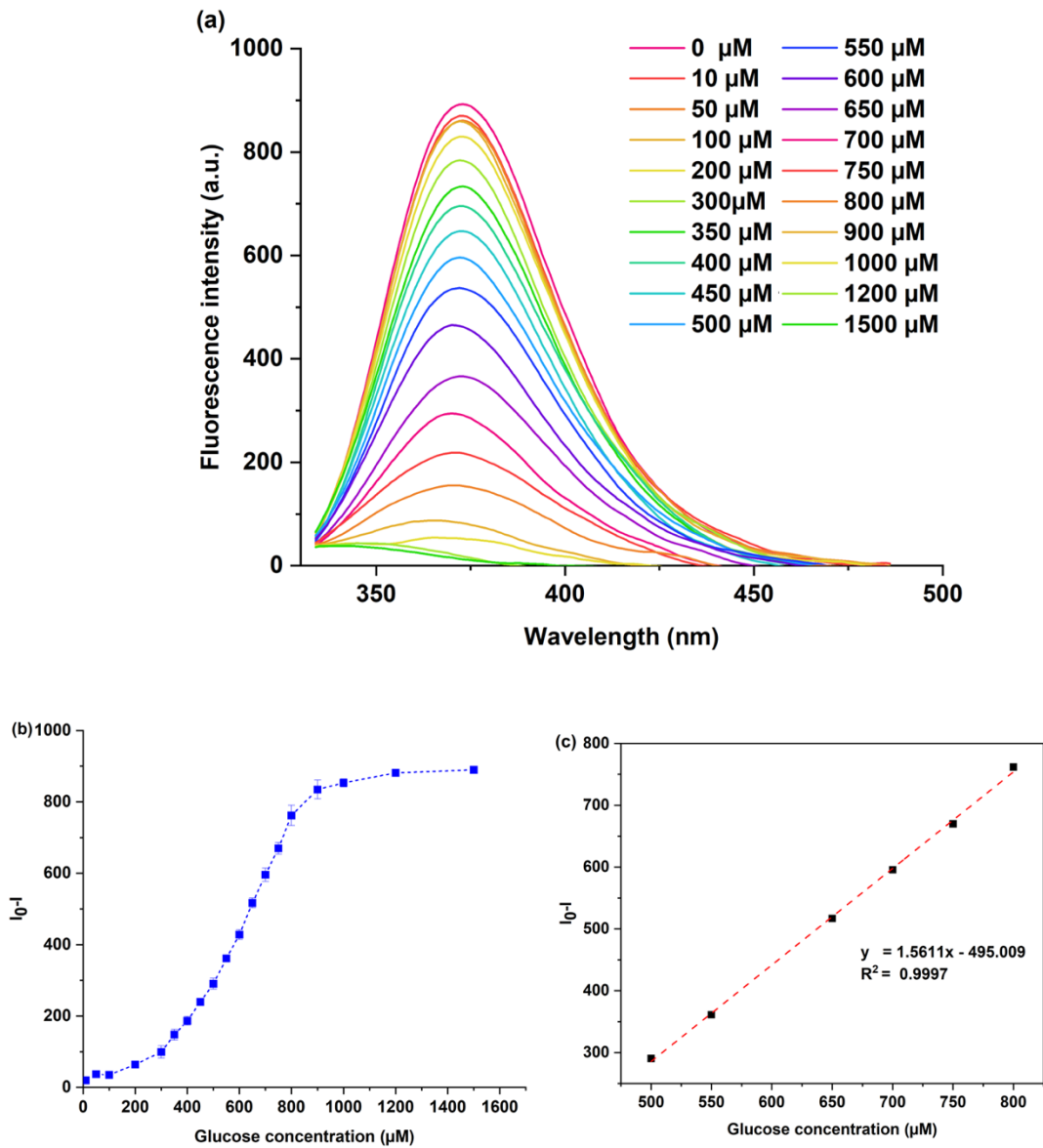


รูปที่ 3.13 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs ในไฮโดรเจล ที่ทำปฏิกิริยากับกลูโคสและกลูโคสออกซิเดส ที่ความเข้มข้น 1 unit และ 2 units โดยใช้กลูโคส 1 mM และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 25 mM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)

3.5.2 ศึกษาฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชันของ BGQDs/Gels กับน้ำตาลกลูโคส โดยใช้ เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส



รูปที่ 3.14 (a) ฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชันของ BGQDs/Gels (b) ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในช่วง 0-1500 μM (c) กราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ในช่วง 300-800 μM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)



รูปที่ 3.15 (a) ฟลูออเรสเซนซ์ไทเทรชันของ BGQDs ในระบบสารละลาย (b) ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้นในช่วง 0-1500 μM และกราฟเส้นตรงในช่วง 500-800 μM (λ_{ex} 310 nm, PMT 500 V และ slit width 5 nm)

การศึกษาการตรวจวัดเชิงปริมาณของน้ำตาลกลูโคสจากการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ BGQDs/Gels โดยการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสทำปฏิกิริยากับสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน แสดงในรูปที่ 3.14(a) ซึ่งเห็นได้ว่าในระบบไฮโดรเจล เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้น ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 375 นาโนเมตรจะค่อย ๆ ลดลง ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานที่ว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกลูโคส และเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสได้เปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดของกราฟีนควอนตัมดอท กลายเป็นหมู่ไฮดรอกซีเป็นผลให้ BGQDs เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ลดลง จากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 3.14(b) และ(c) จะได้ขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ดังสมการที่ (2) เป็น $40.10 \mu\text{M}$ และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) ดังสมการที่ (3) เป็น $133.66 \mu\text{M}$ ในช่วงความเข้มข้นที่มีความเป็นเส้นตรง (linear range) $300\text{-}800 \mu\text{M}$ โดยค่าความคลาดเคลื่อนของ BGQDs/Gels (standard deviation, SD) คือ 12.63

สำหรับระบบสารละลาย (รูปที่ 3.15) เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้น ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 375 นาโนเมตรของ BGQDs ก็ค่อย ๆ ลดลงเป็นไปตามแนวโน้มเช่นเดียวกับในระบบไฮโดรเจล จากผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3.15(a) พบว่า ขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) ในระบบสารละลายเป็น $9.07 \mu\text{M}$ และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เป็น $30.22 \mu\text{M}$ ในช่วงความเข้มข้นที่มีความเป็นเส้นตรง $500\text{-}800 \mu\text{M}$ โดยค่าความคลาดเคลื่อนของ BGQDs (SD) คือ 4.72 ดังแสดงในรูปที่ 3.15 (b) และ (c)

$$\text{LOD} = \frac{3\text{SD}}{\text{Slope}} \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{LOQ} = \frac{10\text{SD}}{\text{Slope}} \quad \dots\dots\dots(3)$$

จากผลการทดลองที่ได้ข้างต้น สังเกตเห็นได้ว่า ขีดจำกัดการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสของ BGQDs ผ่าน เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสนั้นในระบบสารละลายมีค่า LOD ต่ำกว่าในระบบไฮโดรเจล แม้ว่าในสถานะทั้งสองจะใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส และเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเท่ากัน แต่เนื่องมาจากความขุ่นของเจลในรูป BGQDs/Gels ส่งผลให้ค่าความคลาดเคลื่อน (SD) ของไฮโดรเจลมากกว่าในระบบสารละลาย รวมถึงไฮโดรเจลไม่ได้ช่วยรักษาเสถียรภาพของเอนไซม์ซึ่งมาจากผลของปริมาณตัวทำละลาย DMSO และความร้อนที่ใช้ในขั้นตอนการเตรียมวัสดุตรวจวัดดังกล่าวข้างต้น อีกทั้ง ยังไม่ช่วยเพิ่มความไวในการตรวจวัด (sensitivity) ตามสมมติฐานในตอนแรก ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการใช้ชนิดของเจลเตอร์ที่ไม่เหมาะสม และจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ปริมาณมาก ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ อย่างไรก็ตาม ระบบไฮโดรเจลมีข้อดีในการช่วยเพิ่มช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดกลูโคสได้ จึงทำให้สามารถศึกษาปริมาณกลูโคสได้อย่างแม่นยำในช่วงความเข้มข้นที่กว้าง มีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดต่ำ และไม่มีกรรบกวนจากน้ำตาลชนิดอื่น รวมถึงวัสดุในการตรวจวัดแบบไฮโดรเจลสามารถถูกพัฒนาให้สร้างเป็นชิ้นงานได้ สำหรับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในทางการแพทย์ และอุตสาหกรรม ที่สำคัญงานวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดน้ำตาลสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานได้ เนื่องจากผู้ป่วยโรคเบาหวานมีน้ำตาลในกระแสเลือดประมาณ 6.1 mM⁽⁶⁾ แต่งานวิจัยนี้มีขีดจำกัดการตรวจวัด 40.10 μ M ดังนั้นลำดับต่อไปในการพัฒนางานวิจัยชิ้นนี้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัด ควรเปลี่ยนชนิดของเจลเตอร์ให้เหมาะสมกับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส และ BGQDs โดยการใช้เจลเตอร์ที่มีสมบัติไฮโดรฟิลิก และเลือกใช้เจลเตอร์ที่สามารถเกิดเจลได้ดีในระบบตัวทำละลายที่เป็นน้ำ รวมถึงพัฒนาวิธีการทดลองในการเกิดเจลโดยไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องเป่าลมไฟฟ้า (heat gun) เพื่อไม่ให้เอนไซม์ถูกทำลายที่อุณหภูมิสูง

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (BGQDs) และ โบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอทที่ห่อหุ้มด้วยไฮโดรเจล (BGQDs/Gels) เพื่อใช้เป็นวัสดุตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase, GOx) โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาขนาด และสัณฐานของโบโรนิกกราฟีนควอนตัมดอท (BGQDs) จากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน พบว่า กราฟีนควอนตัมดอทมีรูปร่างของอนุภาคเป็นทรงกลม มีขนาดของอนุภาคเฉลี่ยอยู่ที่ 4.69 ± 0.84 นาโนเมตร และมีระยะห่างระหว่างระนาบ 0.19 นาโนเมตร นอกจากนี้ โครงสร้างทางเคมีของ BGQDs ถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี และ $^{11}\text{B-NMR}$ spectroscopy ซึ่งแสดงให้เห็นถึงหมู่ฟังก์ชันโบโรนิก แอซิดซึ่งอยู่บนกราฟีนควอนตัมดอท

จากการศึกษาสมบัติเชิงแสงของโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs พบว่า BGQDs ที่สังเคราะห์ได้นั้นให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงความยาวคลื่นสูงสุดที่ 375 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร จากนั้นได้พัฒนา BGQDs เป็นวัสดุตรวจวัดในรูปไฮโดรเจล (BGQDs/Gels) โดยใช้ซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์เป็นเจลเลเตอร์ (gelator) โดยพบว่า สภาวะที่สามารถเกิดเจลได้เหมาะสมที่สุด ณ อุณหภูมิห้อง เมื่อใช้ปริมาณความเข้มข้นของเจลเลเตอร์ที่ $1\% \text{w/w}$ ในตัวทำละลาย DMSO:H₂O อัตราส่วนเท่ากับ $50:50$ และใช้ BGQDs ความเข้มข้น 0.135 mg/mL ซึ่งสามารถฟอร์มเป็นเจลได้ภายในเวลา 15 นาที

จากการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดของ BGQDs/Gels ต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกลูโคส กับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสผ่านปฏิกิริยาไฮโดรโปเรชัน พบว่า ความเข้มข้นสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เกิดการลดลง (fluorescence quenching) ที่ความยาวคลื่น 375 นาโนเมตร และเมื่อทำการไทเทรชันด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีของ BGQDs/Gels กับน้ำตาลกลูโคสผ่านปฏิกิริยาที่ต้องอาศัยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส พบการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ 375 นาโนเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส โดยค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) ของ BGQDs/Gels ต่อน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ $40.10 \mu\text{M}$ และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ $133.66 \mu\text{M}$ ในช่วงความเป็นเส้นตรง $300-800 \mu\text{M}$ ซึ่งแสดงให้เห็นว่างานวิจัยนี้สามารถพัฒนา BGQDs เป็นรูปแบบชิ้นงานที่สามารถตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดต่ำ และจากปฏิกิริยาที่อาศัยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสส่งผลให้การตรวจวัดมีความจำเพาะเจาะจงสูง โดยไม่มีการรบกวนจากน้ำตาลชนิดอื่น

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสเชิงปริมาณของ BGQDs ในระบบสารละลาย พบว่าค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) ของ BGQDs ในสารละลายเท่ากับ $9.07 \mu\text{M}$ และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ $30.23 \mu\text{M}$ ในช่วงความเป็นเส้นตรง $500-800 \mu\text{M}$ ซึ่งมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดในระบบสารละลายต่ำ

กว่าในระบบไฮโดรเจล ดังนั้น ผลการทดลองที่ได้จึงไม่เป็นไปตามที่คาดการณ์ไว้ กล่าวคือ ไฮโดรเจลไม่สามารถช่วยเพิ่มความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และความว่องไวในการตรวจวัดของ BGQDs ได้ จึงจำเป็นต้องพัฒนา งานวิจัยต่อไป โดยเปลี่ยนชนิดของเจเลเตอร์ให้มีคุณสมบัติความเป็นไฮโดรฟิลิกแทนการใช้ซูโครส ลอเรต โมโนเอสเทอร์ เจเลเตอร์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นแอมฟิฟิลิก เนื่องจากน้ำตาลกลูโคส และ BGQDs มีสมบัติความเป็นไฮโดรฟิลิกที่ดี นอกจากนั้น ควรพัฒนาให้เจเลเตอร์สามารถเกิดเป็นเจลได้ดีในระบบตัวทำละลายที่เป็นน้ำแทนตัวทำละลายอินทรีย์ โดยเฉพาะตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์นั้นสามารถทำลายเอนไซม์ได้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดในระบบชีวภาพให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- (1) American Diabetes Association, Statistics about diabetes. Retrieved from.
<https://www.diabetes.org/resources/statistics/statistics-about-diabetes> (access 15.04.2021)
- (2) World Health Organization (WHO), Diabetes. Retrieved from. <https://www.who.int/health-topics/diabetes> (access 1.02.2021)
- (3) Diabetes association of Thailand under the patronage of her royal highness princess Maha Chakri Sirinhorn, Diabetes, Retrieved from.
<https://www.dmthai.org/index.php/knowledge/the-chart/the-chart-1/549-2018-02-08-14-52-46> (access 7.02.2021)
- (4) International Diabetes Federation, What is diabetes. Retrieved from
<https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes.html> (access 15.04.2021)
- (5) New Medical Lifesciences, Diabetes mellitus subtypes, Retrieved from <https://www.news-medical.net/health/Diabetes-Mellitus-Subtypes.aspx> (access 15.04.2021)
- (6) Austin, P.C.; Lee, D.S.; Lipscombe, L.L.; Newton, G.E.; Sud, M.; Tu, J.V.; Vasan, R.S.; Wang, X. Presentation blood glucose and death, hospitalization and future diabetes risk in patients with acute heart failure syndromes. *European Heart Journal*, **2015**, *36*, 924-931.
- (7) The emerging risk factors collaboration, diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*, **2010**, *375*, 2215-2222.
- (8) Baek, S.H.; Kailasa, S.K.; Kim, M.W.; Shi, R.; Park C.Y.; Park, T.J.; Roh, J. Cu-nanoflower decorated gold nanoparticles-graphene oxide nanofiber as electrochemical biosensor for glucose detection. *Materials Science and Engineering C*, **2020**, *107*, 1-8.
- (9) Hou, C.; Li, S.; Wang, Y.; Zhang, S.; Zhao, D. Preparation of magnetic Fe₃O₄/PPy@ZIF-8 nanocomposite for glucose oxidase immobilization and used as glucose electrochemical biosensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2018**, *822*, 50-56.
- (10) Coman, V.; Filip, M.; Halmagyi, A.; Vlassa, M. Simultaneous determination of glucose, fructose, sucrose and sorbitol in the leaf and fruit peel of different apple cultivars by the HPLC-RI optimized method. *Food Chemistry*, **2016**, *199*, 653-659.
- (11) Choi, S.; Friedman, M.; Kim, H.; Kozukue, N. Analysis of protein amino acids and metabolites, dietary protein, glucose, fructose, sucrose, phenolic, and flavonoid content and antioxidative

- properties of potato tubers, peels, and cortexes (pulp). *Journal of Food Composition and Analysis*, **2016**, *50*, 77-87.
- (12) Clemmer, D.E.; Gaye, M.M.; Nagy, G.; Pohl, N.L.B. Multidimensional analysis of 16 glucose isomers by ion mobility spectrometry. *Analytical Chemistry*, **2016**, *88*, 2335-2344.
- (13) Ching, C.B.; Duan, H.; Gao, H.; Xiao, F. One-step electrochemical synthesis of PtNi nanoparticle-graphene nanocomposites for nonenzymatic amperometric glucose detection. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **2011**, *3*, 3049-3057.
- (14) Gilman, S.; *Electroanalytical Chemistry. By AJ Bard, Marcel Dekker: New York*, **1967**, *2*, 111-192.
- (15) Li, Y.; Lu, L.; Nie, Y.; Tian, X.; Yang, C.; Yang, Y.; Zhou, Z. Ratiometric fluorescence detection of mercuric ions by sole intrinsic dual emitting gold nanoclusters. *Sensors and Actuators: B. Chemical*, **2019**, *278*, 82-87.
- (16) Kumar, R.; Panda A.K.; Solanki, R.; Sri, S. Highly biocompatible, fluorescence, and zwitterionic carbon dots as a novel approach for bioimaging applications in cancerous cells. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **2018**, *10*, 37835-37845.
- (17) Olympus, Basic concepts in fluorescence, Retrieved from. <https://www.olympus-lifescience.com/en/microscoperesource/primer/techniques/fluorescence/fluorescenceint> (access 18.04.2021)
- (18) Molecular Expressions, Jablonski energy diagram, Retrieved from. <https://micro.magnet.fsu.edu/primer/java/jablonski/lightandcolor/index.html> (access 15.04.2021)
- (19) Chang, L.; Chen, L.; He, X.; Zhang, Y. Mercaptophenylboronic acid-capped Mn-doped ZnS quantum dots for highly selective and sensitive fluorescence detection of glycoproteins. *Sensor and Actuators B: Chemical*, **2017**, *243*, 72-77.
- (20) Ma, P.; Song, D.; Sun, Y.; Wang, X.; Xu, L.; Zhang, F.; Zhao, Q. Dopamine-modified Mn-doped ZnS quantum dots fluorescence probe for the sensing detection of tyrosinase in serum samples and living cells imaging. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2018**, *256*, 1069-1077.
- (21) Jiang, Q.; Hu, J.; Liu, F.; Liu, X.; Liu, Y.; Wang, F.; Yu, Q. Highly sensitive glutathione assay and intracellular imaging with functionalized semiconductor quantum dots. *Nanoscale*, **2019**, *11*, 5014-5020.

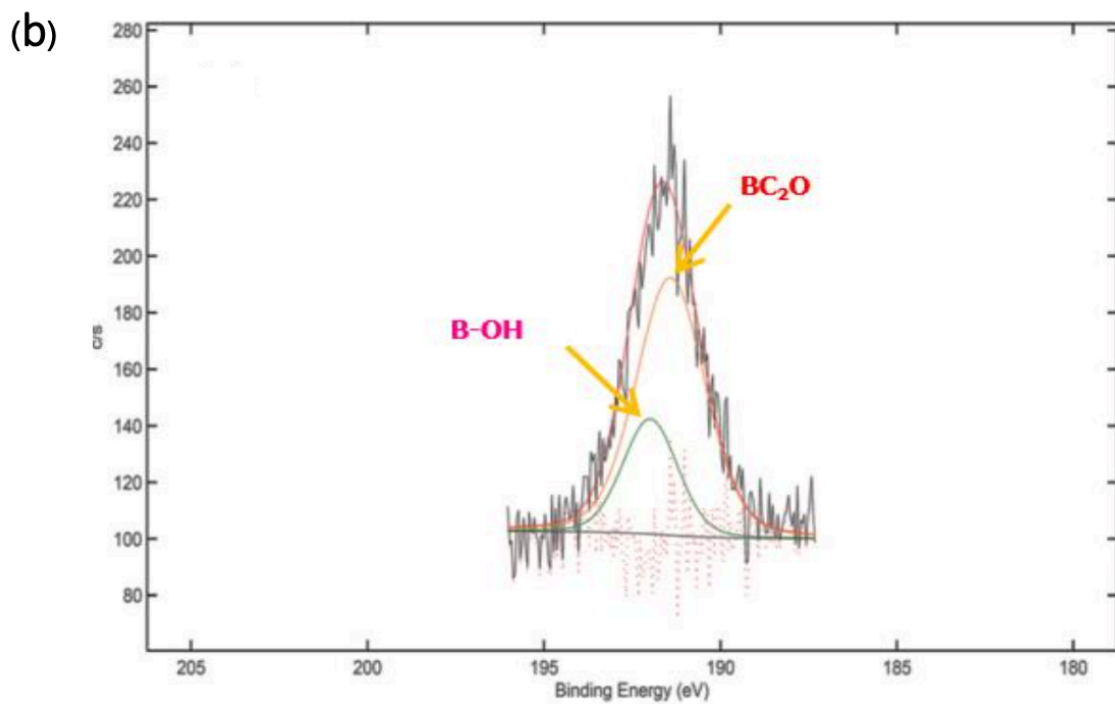
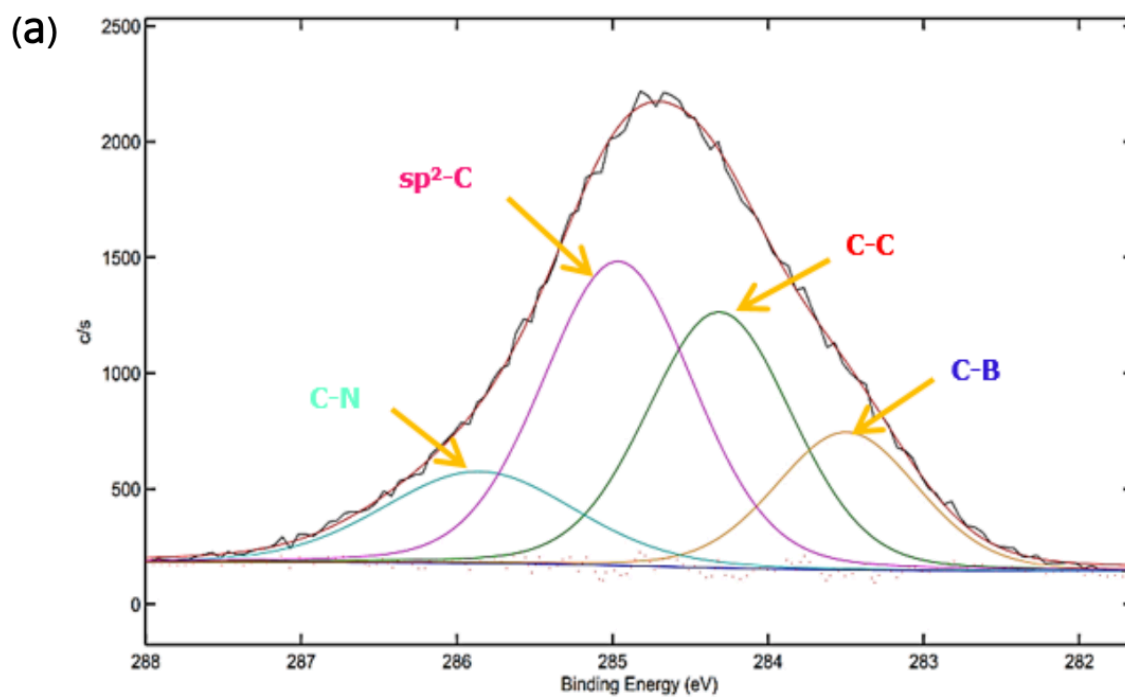
- (22) Chen, M.; Chen, Q.; Li, H.; Liu, Y.; Ouyang, Q.; Zhang, Z. Turn-on fluorescence sensor for Hg²⁺ in food based on FRET between aptamers-functionalized upconversion nanoparticles and gold nanoparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2018**, *66*, 6188-6195.
- (23) Donmez, M.; Kilbas, B.; Yilmaz, M.D. Fluorescent detection of dipicolinic acid as a biomarker of bacterial spores using lanthanide-chelated gold nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials*, **2017**, *324*, 593-598.
- (24) Chen, B.; Guo, B.; Li, H.; Liu, Y.; Zhang, Y. Gold nanoclusters as switch-off fluorescent probe for detection of uric acid based on the inner filter effect of hydrogen peroxide-mediated enlargement of gold nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics*, **2017**, *91*, 734-740.
- (25) Chen, Y.; Tan, H. Silver nanoparticle enhanced fluorescence of europium (III) for detection of tetracycline in milk. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2012**, *173*, 262-267.
- (26) Chen, X.; Li, H.; Liu, D.; Liu, M.; Lu, Q.; Wu, C.; Yao, S.; Zhang, Y. Highly sensitive and selective determination of copper (III) based on a dual catalytic effect and by using silicon nanoparticles as a fluorescent probe. *Microchimica Acta*, **2018**, *188*, 1-7.
- (27) Chen, X.; Li, H.; Liu, D.; Liu, M.; Lu, Q.; Yao, S.; Zhang, Y. A turn-on fluorescent probe for vitamin C based on the use of a silicon/CoOOH nanoparticle system. *Microchimica Acta*, **2019**, *186*, 1-8.
- (28) Cen, Y.; Chu, X.; Kong, X.; Liu, C.; Wu, S.; Yu, S.; Yuan, J. MnO₂-nanosheet-modified upconversion nanosystem for sensitive turn-on fluorescence detection of H₂O₂ and glucose in blood. *ACS Applied Materials and Interface*, **2015**, *7*, 10548-10555.
- (29) Chen, G.; Guo, X.; Liu, D.; Qu, F.; You, J. Dual-emission carbon nanodots as a ratiometric nanosensor for the detection of glucose and glucose oxidase. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2016**, *233*, 320-327.
- (30) Ding, Y.; Liu, Li.; Tang, Y.; Wu, T.; Yang Q.; Yu, B. Fluorescence enhancement of Cadmium Selenide quantum dots assembled on Silver nanoparticles and its application to glucose detection. *Langmuir*, **2014**, *30*, 6324-6330.
- (31) Jiang, K.; Wang C.; Wang X.; Wu, Q.; Zhang, C. One-step synthesis of water-soluble and highly fluorescent MoS₂ quantum dots for detection of hydrogen peroxide and glucose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2017**, *252*, 183-190.

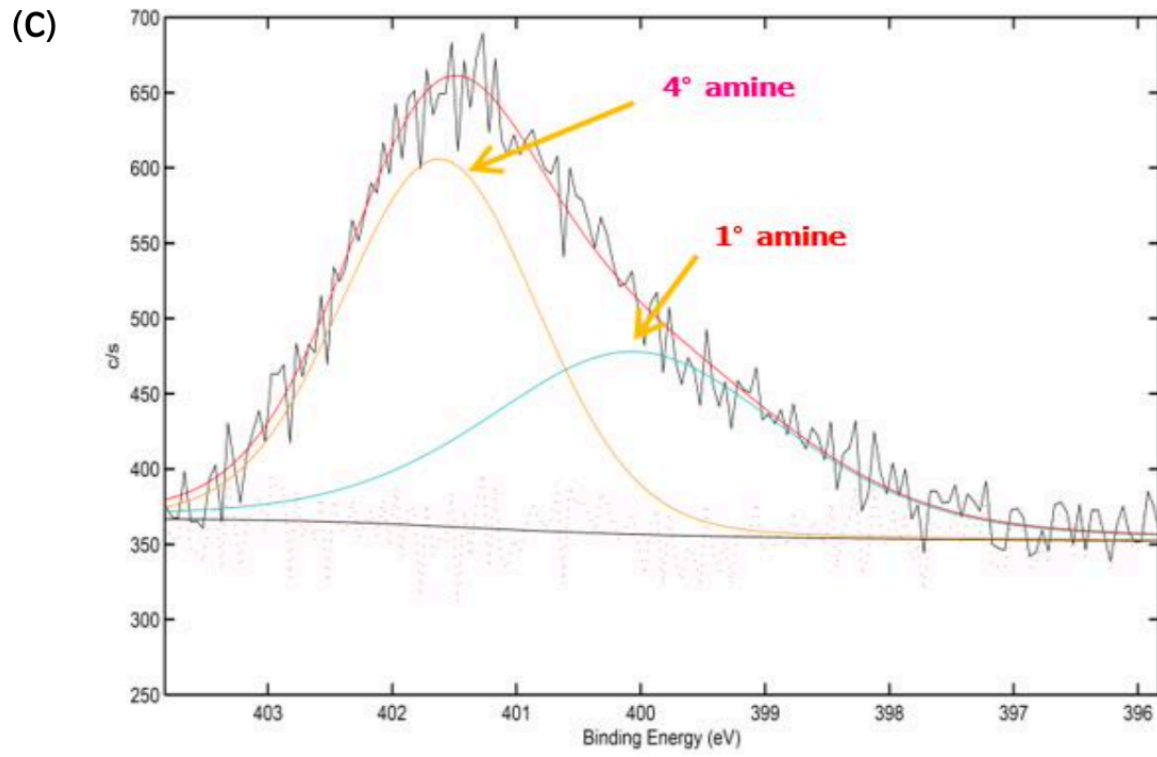
- (32) Chowdhuri, A.R.; Karmakar, P.; Kumar, A.; Laha, D.; Mahto, T.K.; Sahu, S.K. Green synthesis of carbon dots from *Ocimum sanctum* for effective fluorescent sensing of Pb^{2+} ions and live cell imaging. *Sensors and Actuators: B. Chemical*, **2017**, *242*, 679-686.
- (33) Bano, D.; Hasan, S.H.; Kumar, V.; Singh, V.K. Green synthesis of fluorescent carbon quantum dots for the detection of mercury (II) and glutathione. *New Journal of Chemistry*, **2018**, *42*, 5814-5821.
- (34) Ali, H.R.H.; El-Wekil, M.M.; Hassan, A.I.; Hassan, Y.F. Development of dual function polyamine-functionalized carbon dots derived from one step green synthesis for quantitation of Cu^{2+} and S^{2-} ions in complicated matrices with high selectivity. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2020**, *412*, 1353-1363.
- (35) Gao, H.; Hu, R.; Li, B.; Li, Y.; Liu, F.; Sun, H.; Tang, S.; Tian, Lu.; Qiao, C.; Wei, H.; Yang, B.; Yuan, W.; Zhang, J.; Zhang, H. Strongly green-photoluminescent graphene quantum dots for bioimaging applications. *Chemical Communications*, **2011**, *47*, 6858-6860.
- (36) Ning, Y.; Song, Y.; Wan, H.; Wang, J.; Yang, B.; Zhang, Y.; Zhu, S. Photoluminescence mechanism in graphene quantum dots: quantum confinement effect and surface/edge state. *Nano Today*, **2017**, *13*, 10-14.
- (37) Branca, C.; Galvagno, S.; Giofre, S.V.; Iannazzo, D.; Pietro, A.D.; Pistone, A.; Romeo, R.; Salamo, M.; Visalli, G. Graphene quantum dots for cancer targeted drug delivery. *International of Journal of Pharmaceutics*, **2017**, *518*, 185-192.
- (38) Chen, X.; Feng, J.; Hai, X.; Wang, J. Tuning the optical properties of graphene quantum dots for biosensing and bioimaging. *Journal of Materials Chemistry B*, **2018**, *6*, 3219-3234.
- (39) Lau, S.P.; Tang, L.; Teng, K.S.; Tian, P. Graphene quantum dots from chemistry to applications. *Materials Today Chemistry*, **2018**, *10*, 221-258.
- (40) Chen, T.; Gooding, J.J.; Li, M.; Liu, J. Review of carbon and graphene quantum dots for sensing. *ACS Sensors*, **2019**, *4*, 1732-1748.
- (41) Bacon, M.; Bradley, S.J.; Nann, T. Graphene quantum dots. *Particle & Particle Systems Characterization*, **2014**, *31*, 415-428.
- (42) Graphene-info, Graphene quantum dots: introduction and market news. Retrieved from. <https://www.graphene-info.com/graphene-quantum-dots> (access 19.04.2021)
- (43) Merck. Quantum dots. Retrieved from. <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/materials-science/nanomaterials/quantum-dots.html> (access 19.04.2021)

- (44) Li, C.; Shen, J.; Yang, X.; Zhu, Y. Graphene quantum dots: emergent nanolights for bioimaging, sensors, catalysis and photovoltaic devices. *Chemical Communications*, **2012**, *48*, 3686-3699.
- (45) Afkhami, A.; Kashani, H.M.; Madrakian, T. Highly fluorescent nitrogen-doped graphene quantum dots as a green, economical and facile sensor for the determination of sunitinib in real samples. *New Journal of Chemistry*, **2017**, *41*, 6875-6882.
- (46) Fan, L.; Fan, Z.; Fang, D.; Li, X.; Li, Y.; Yang, S.; Zhou, S. Surrounding media sensitive photoluminescence of boron-doped graphene quantum dots for highly fluorescent dyed crystals, chemical sensing and bioimaging. *Carbon*, **2014**, *70*, 149-156.
- (47) Chen, J.; Feng, H.; Ma, J.; Shan, X.; Shao, L.; Qian, Z. Highly luminescent N-doped carbon quantum dots as an effective multifunctional fluorescence sensing platform. *Chemistry A European Journal*, **2014**, *20*, 2254-2263.
- (48) Chen, W.; Ju, J. Synthesis of highly fluorescent nitrogen-doped graphene quantum dots for sensitive, label-free detection of Fe (III) in aqueous media. *Biosensors and Bioelectronics*, **2014**, *58*, 219-225.
- (49) Gu, L.; Lan, R.; Qu, Z.; Shi, G.; Sun, D.; Yu, D. Boronic acid functionalized graphene quantum dots as a fluorescent probe for selective and sensitive glucose determination in microdialysate. *Chemical Communications*, **2013**, *49*, 9830-9832.
- (50) Ma, R.; Shi, L. Phenylboronic acid-based glucose-responsive polymeric nanoparticles: synthesis and applications in drug delivery. *Polymer Chemistry*, **2014**, *5*, 1503.
- (51) Huang, T.; Li, H.; Liu, M.; Lu, Q.; Wu, C.; Yao, S.; Zeng, Y.; Zhang, Y.; Zhou, J. Limitation-induced fluorescence enhancement of carbon nanoparticles and their application for glucose detection. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2021**, *244*, 118893.
- (52) Huang, J.; Li, Y.; Liang, R.; Qiu, J.; Zhang, L. Fluorescent graphene quantum dots with a boronic acid appended bipyridinium salt to sense monosaccharides in aqueous solution. *Chemical Communications*, **2013**, *49*, 5180.
- (53) Froesch, E.; McWilliams, B.; Renold, A. Specific enzymatic determination of glucose in blood and urine using glucose oxidase. *Diabetes*, **1956**, *5*, 1-6.
- (54) Chen, X.D.; Wong, C.M.; Wong, K.H. Glucose oxidase: natural occurrence, function, properties and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2008**, *78*, 927-938.

- (55) Wannajuk, K.; Jamkatoke, M.; Tuntulani, T.; Tomapatanaget, B.; Highly specific-glucose fluorescence sensing based on boronic anthraquinone derivatives via the GOx enzymatic reaction. *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 8899-8904.
- (56) Khachonwongwattana, A.; Preparation of boronic acid functionalized carbon dots for glucose detection via enzymatic reaction of glucose oxidase, A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science program in Chemistry, **2016**.
- (57) Ananthanarayan, L.; Bankar, S.B.; Bule, M.V.; Singhal, R.S. Glucose oxidase – an overview. *Biotechnology Advances*, **2009**, *27*, 489-501.
- (58) Li, C.; Li, Z.; Liu, H.; QIN, Y.; Wang, C.; Wang, J.; Wang, Z.; Yang, F. A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. *RSC Advances*, **2018**, *8*, 7533-7549.
- (59) Billah, S. M.; Haque, O.; Mondal, I. H.; Pervez, M.N.; Somoal, S.H. Enzyme-responsive hydrogels. *Polymers and Polymeric Composites A Reference Series*, **2019**.
- (60) Kim, S.; Hwang, S.; Kim, M.; Shin, D.; Shin, D.; Kim, C.; Yang, S.; Park J.; Hwang E.; Choi, S.; Ko, G.; Sim, S.; Sone, C.; Choi, H.; Bae, S.; Hong, B. Anomalous behaviors of visible luminescence from graphene quantum dots: interplay between size and shape. *Journal of American Chemistry Society*, **2012**, *6*, 8203-8208.
- (61) Venkatesh, V.; Mishra, N.; Romero-Canelon, I.; Vernooij, R.; Shi, H.; Coverdale, J.; Habtemariam, A.; Verma, S.; Sadler, P. Supramolecular photoactivatable anticancer hydrogels. *Journal of American Chemistry Society*, **2017**, *139*, 5656-5659.
- (62) Zheng, X.; Ananthanarayanan A.; Luo, K.; Chen, P. Glowing graphene quantum dots and carbon dots: properties, synthesis and biological applications. *Small*, **2015**, *11*, 1620-1636.
- (63) Solvent polarity table, Properties of organic solvents. Retrieved from.
<https://sites.google.com/site/miller00828/in/solvent-polarity-table> (access 22.04.2021)
- (64) Simpson, C.; Jordaan, J.; Gardiner, N.S.; Whiteley, C. Isolation, purification and characterization of a novel glucose oxidase from *Penicillium* sp. CBS 120262 optimally active at neutral pH. *Protein Expression and Purification*, **2007**, *51*, 260-266.

ภาคผนวก





รูปที่ S1 สเปกตรัม xps high resolution C1s (a) B1s (b) และ N1s (c) ของโมเลกุลเซ็นเซอร์ BGQDs ⁽⁵⁶⁾

ประวัติผู้วิจัย

นางสาว ปัทธรรพภา จันทกิจ เกิดเมื่อวันที่ 28 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2541 ที่จังหวัดจันทบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬารัตนราชวิทยาลัย ชลบุรี จังหวัดชลบุรี เมื่อปีการศึกษา 2559 เคยได้รับรางวัลชมเชย การแข่งขันเคมีโอลิมปิกระดับชาติ ครั้งที่ 12 เมื่อ พ.ศ. 2559 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2560 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 7 ถนนสุนทรโวหาร 12 ตำบลทางเกวียน อำเภอแกลง จังหวัดระยอง รหัสไปรษณีย์ 21110 อีเมล pattarapapa.moji@gmail.com