หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมและศึกษาสมบัติของอนุภาคนาโนเพื่อใช้ตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลา
หน่วยกิต	12
ผู้เขียน	นางสาวศศิธร อำนาจรุ่งตระกูล
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดร. ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์
หลักสูตร	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาประยุกต์
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
พ.ศ.	2551

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การเตรียมอนุภาคนาโนซิลิกาที่มีสีเรืองแสง (RuBpy) อยู่ภายในและควบคุมขนาดได้ เพื่อนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลา ด้วยกระบวนการโซล-เจลร่วมกับเทคนิคไมโครอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน ที่มี tetraethylorthosilicate (TEOS 50-700 μL), ตัวเร่งปฏิกิริยา (NH_4OH 30-120 μL), cyclohexane, *n*-hexanol และ Triton X-100 เป็นองค์ประกอบ เมื่อวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) พบว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็ก 35±3 นาโนเมตร สามารถเตรียมได้จากการใช้ TEOS และ NH_4OH ที่ความเข้มข้นต่ำ การวิเคราะห์ปริมาณธาตุในอนุภาคนาโนซิลิกาด้วยเทคนิค Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) ยืนยันว่ามีโมเลกุลของสีเรืองแสงแทรกตัวอยู่ภายในโครงร่างซิลิกา ทำให้อนุภาคนาโนเรืองแสงได้และมีความคงตัวของสีเรืองแสงสูง เมื่อกระตุ้นด้วย 150W xenon lamp เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่ามีการ Bleaching เพียง 0.16% เท่านั้น เมื่อทำการดัดแปลงพันธะเคมีที่บริเวณผิวของอนุภาคนาโนโดยการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลให้เป็นหมู่เอมีนและหมู่คาร์บอกซิล แล้วนำอนุภาคไปเชื่อมกับโมเลกุลของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อซัลโมเนลลาด้วยพันธะโควาเลนท์ พบว่าอนุภาคนาโนสามารถจับอย่างจำเพาะเจาะจงกับเชื้อซัลโมเนลลาและเรืองแสงได้ดีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนท์ ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) ยืนยันว่ามีอนุภาคนาโนเกาะอยู่บนผิวของเชื้อซัลโมเนลลา ผลจากการวิจัยนี้สามารถนำไปพัฒนาเป็นวิธีที่รวดเร็วในการตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาในตัวอย่างอาหารต่อไป

คำสำคัญ : ซัลโมเนลลา / อนุภาคนาโน / โซล-เจล / ไมโครอิมัลชัน แบบน้ำในน้ำมัน / การดัดแปลงพื้นผิวของอนุภาค

Thesis Title	Preparation of bioconjugated fluorescent nanoparticles for the detection of *Salmonella* spp.
Thesis Credits	12
Candidate	Miss Sasitorn Amnatrungtrakool
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Pravate Tuitemwong
Program	Master of Science
Field of Study	Applied Microbiology
Department	Microbiology
Faculty	Science
B.E.	2551

Abstract

This research work was to prepare bioconjugated fluorescent silica nanoparticles (NPs) with a well controlled size for the detection of *Salmonella* spp. The RuBpy [tris (2,2'-bipyridyl) dichlororuthenium (II) hexahydrate]–doped silica nanoparticles were prepared *via* a sol-gel process coupled with w/o microemulsion technique containing tetraethyl-orthosilicate (TEOS 50-700 μL), ammonium hydroxide (NH_4OH 30-120 μL), cyclo-hexane, *n*-hexanol and Triton X-100. The NPs were characterized by transmission electron microscopy (TEM). The results showed that smaller particle size (35±3 nm in diameter) was obtained at low content of TEOS and NH_4OH. Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) study confirmed that the dye molecules were entrapped inside the silica matrix that made NPs bright with good photostability (0.16% Bleaching) after irradiated with 150W xenon lamp for 2 hours. The surface of NPs was then modified by using amine and carboxyl group before covalently immobilized by monoclonal antibody against *Salmonella* onto the NPs surface with high specificity. The scanning electron microscopy (SEM) images of the *Salmonella* cells after incubation with the NPs showed that the antibody-conjugated NPs bound to the bacterial cell wall and they were fluoresced under the fluorescent microscope. The results obtained from this study enabled the further development of sensitive and rapid test kit for detection of *Salmonella* spp. in food samples.

Keywords : *Salmonella* / Nanoparticles / Sol-Gel / Water-in-oil Microemulsion / Surface Modification