

ทุนโครงการวิจัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๖

โครงการวิจัยเรื่อง การใช้กราฟีนร่วมกับพอลิเมอร์ดัดแปรด้วยไฟฟ้าสำหรับตรวจวิเคราะห์สารบ่งชี้ทางชีวภาพ

สรุปรายงานความก้าวหน้า 12 เดือน

รายงานช่วงระยะตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน 2556 ถึง วันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2557

ชื่อหัวหน้าโครงการ ศาสตราจารย์ ดร. อรรพรรณ ชัยลภากุล

หน่วยงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. การดำเนินงาน: ☒ ได้ดำเนินงานตามแผนที่วางไว้ทุกประการ
☐ ได้เปลี่ยนแปลงแผนงานที่วางไว้ดังนี้คือ
2. วัตถุประสงค์ของโครงการ (โดยสรุป)
พัฒนาเซนเซอร์โดยดัดแปรด้วยไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีนด้วยกราฟีนและพอลิเมอร์นำไฟฟ้าสำหรับตรวจวิเคราะห์สารบ่งชี้ทางชีวภาพ และหาภาวะที่เหมาะสมของด้วยไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นโดยเพิ่มพื้นที่ผิวและการนำไฟฟ้าเพื่อให้การตรวจวัดสารบ่งชี้ทางชีวภาพด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามีความไว และประสิทธิภาพสูงสุด
3. สรุปผลการดำเนินงาน
ได้ดัดแปรด้วยไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีนด้วยกราฟีนและพอลิเมอร์นำไฟฟ้าโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์ เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวหน้าให้กับด้วยไฟฟ้าและมีการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้น สำหรับการตรวจวัดสารสำคัญด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า
4. งบประมาณที่ได้ใช้จ่ายไปแล้วนับตั้งแต่เริ่มโครงการเป็นเงินจำนวนทั้งสิ้น 329,000.00 บาท
5. การดำเนินงานในช่วงต่อไป
ศึกษาหาระบบและสภาวะที่เหมาะสมของด้วยไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรเพื่อนำไปตรวจวัดสารด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าให้มีประสิทธิภาพสูงสุด
6. ระยะเวลาที่คาดว่าจะงานวิจัยจะแล้วเสร็จ ☒ เป็นไปตามแผนที่วางไว้
☐ ไม่เป็นไปตามแผนแต่คาดว่าจะเสร็จ
7. คำชี้แจงเกี่ยวกับอุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไขหรือ ประเด็นที่ต้องการช่วยเหลือสนับสนุน
ไม่มีอุปสรรคในการดำเนินงาน

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

...../...../.....

ผลการดำเนินงานเรื่อง : การพัฒนาตัวรับรู้ชีวภาพบนกระดาษชนิดใหม่ด้วยวัสดุนาโนคอมโพสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์เพื่อตรวจวัดคอเลสเทอรอล

1. คำนำ

ปัจจุบันการพัฒนาตัวรับรู้ชีวภาพที่มีความแม่นยำ ความไว และราคาถูกกำลังเป็นที่ต้องการในการคัดกรองตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของโรคต่างๆ โดยเมื่อไม่นานมานี้ กระดาษกรองชนิดเซลลูโลสเป็นวัสดุที่มีความน่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุรองรับเพื่อตรวจวัดสารต่างๆ เนื่องจากมีข้อดีคือ พื้นที่ผิวสูง ราคาถูก และสามารถออกแบบให้ใช้ได้ทั้ง [1-3] เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุรองรับทั่วไปเช่น แก้ว เซรามิก และพอลิเมอร์ โดยเทคนิคในการตรวจวัดสารที่ได้รับความสนใจคือ เทคนิคเคมีไฟฟ้า เนื่องจากใช้งานง่าย พกพาสะดวก และตรวจวัดได้รวดเร็ว อีกทั้งสามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณในเวลาเดียวกัน [4] ตัวรับรู้ชีวภาพบนกระดาษที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้านี้ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการงานวิจัยหลายด้าน เช่น การวินิจฉัยโรค [2, 4] การควบคุมสิ่งแวดล้อม [1] และการควบคุมคุณภาพของอาหาร [5] โดยปัจจุบันตัวรับรู้ชีวภาพดังกล่าวมีข้อจำกัดที่สำคัญคือ มีความไวในการตรวจวัดต่ำ อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษสามารถเตรียมได้ด้วยหลายวิธี เช่น Photolithography [1-4] การพิมพ์สกรีนແວกซ์ [2] การจุ่มແວกซ์ [3] และการพิมพ์ແວกซ์ [6-7] ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีความจำเป็นในการดัดแปรพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าบนกระดาษด้วยวัสดุที่มีพื้นที่ผิวสูงเพื่อเพิ่มความไวในการตรวจวัด

กราฟีนเป็นวัสดุที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากคุณสมบัติเชิงกายภาพ เชิงเคมี เชิงกล และเชิงไฟฟ้า ซึ่งแกร ฟีนคือ อนุภาคนาโนอัญรูปหนึ่งของคาร์บอนที่มีการจัดเรียงอะตอมของคาร์บอนแบบ sp^2 และมีลักษณะเป็นแผ่นชั้นเดียวใน 2 มิติทำให้มีพื้นที่ผิวสูง [8-10] ซึ่งวัสดุกราฟีนจะมีการนำไฟฟ้าและความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนที่ดีเยี่ยม แต่เนื่องด้วยการใช้งานของกราฟีนมักประสบปัญหาจากการรวมตัวกันเนื่องจากแรงแวนเดอร์วาลส์ ปัจจุบันจึงมีการนำพอลิไวนิลไพโรลิโดน (polyvinylpyrrolidone) มาช่วยให้กราฟีนที่ความเข้มข้นสูงมีการกระจายตัวได้ดีขึ้นในตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ [9, 11, 12] ซึ่งการใช้งานของกราฟีนในรูปของวัสดุนาโนคอมโพสิตของกราฟีนและพอลิเมอร์นำไฟฟ้ามักมีความน่าสนใจกว่าการใช้งานกราฟีนเพียงอย่างเดียวเนื่องจากมีความสะดวกในการประดิษฐ์ขั้วไฟฟ้าและการตรึงตัวตรวจรับชีวภาพ (bio-receptor) โดยพอลิเมอร์นำไฟฟ้าที่สนใจในงานวิจัยนี้คือ พอลิแอนิไลน์ (polyaniline) เนื่องจากนำไฟฟ้าได้ดี สักระยะที่ง่าย อีกทั้งยังประกอบไปด้วยหมู่เอมีน ($-NH_2$) จำนวนมากทำให้สามารถตรึงตัวตรวจรับชีวภาพ เช่น เอนไซม์ และแอนติบอดีได้ง่าย [9, 13-15] ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาตัวรับรู้ทางชีวภาพบนกระดาษที่ดัดแปรด้วยวัสดุนาโนคอมโพสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ โดยในงานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์ (electrospraying) มาประยุกต์ใช้ในการดัดแปรวัสดุนาโนคอมโพสิตลงบนขั้วไฟฟ้าเนื่องจากสามารถทำให้เกิดหยดขนาดนาโนที่พื้นที่ผิวมากของวัสดุนาโนคอมโพสิตบนขั้วไฟฟ้า ซึ่งพื้นที่ผิวที่มากขึ้นส่งผลให้เพิ่มความไวในการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า อีกทั้งยังอาจช่วยให้มีการตรึงตัวตรวจรับชีวภาพได้มากขึ้นอีกด้วย

สารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) คือสารชีวโมเลกุลที่สามารถบ่งชี้ถึงความผิดปกติของกระบวนการต่างๆในร่างกาย ซึ่งหนึ่งในสารบ่งชี้ทางชีวภาพที่สำคัญของโรคหัวใจและความดันเลือดสูงคือ คอเลสเตอรอล โดยเทคนิคทั่วไปในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลคือ สเปกโทรสโคปี แต่เนื่องจากเทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัด เช่น เครื่องมือมีราคาแพงและการเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อนทำให้มีการนำเทคนิคเคมีไฟฟ้ามาใช้งาน โดยมีการใช้งานชีวไฟฟ้าร่วมกับวัสดุนาโนต่างๆเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลให้ดียิ่งขึ้น

งานวิจัยนี้ได้มีการเตรียมวัสดุนาโนคอมโพสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน จากนั้นนำไปดัดแปรลงบนชีวไฟฟ้าบนกระดาษด้วยเทคนิคอิเล็กโทสเปรย์ เพื่อใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคอเลสเตอรอล และนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างจริงของสิ่งมีชีวิต เช่น ซีรุ่มและพลาสมา

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1. การประดิษฐ์ชีวไฟฟ้าบนกระดาษ

ในงานวิจัยนี้ได้มีการประดิษฐ์ชีวไฟฟ้าบนกระดาษโดยใช้วิธีการพิมพ์แว็กซ์ (wax printing) ซึ่งดำเนินการตามงานวิจัยก่อนหน้า [1] และมีการปรับเปลี่ยนเล็กน้อย ดังนี้

- ออกแบบชีวไฟฟ้าด้วยโปรแกรมโปรแกรมอะโดบี อิลลัสเตรเตอร์ (Adobe Illustrator) จากนั้นพิมพ์แว็กซ์ลงบนกระดาษกรองวอชแมน เบอร์ 1 (Whatman no.1) โดยใช้เครื่องพิมพ์แว็กซ์
- ให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที เพื่อละลายแว็กซ์ โดยกระดาษที่พิมพ์แว็กซ์แล้วจะแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ บริเวณที่เคลือบแว็กซ์จะไม่ชอบน้ำ ส่วนบริเวณที่ไม่เคลือบแว็กซ์จะชอบน้ำ
- พิมพ์ชีวไฟฟ้าระบบ 3 ขั้วลงบนกระดาษที่พิมพ์แว็กซ์แล้วข้างต้น โดยชีวไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) และชีวไฟฟ้าช่วย (counter electrode) พิมพ์ด้วยหมึกของคาร์บอน ส่วนชีวไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) และส่วนนำไฟฟ้าที่ใช้ต่อกับเครื่องตรวจวัดพิมพ์ด้วยหมึกของซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์

2.2. การดัดแปรชีวไฟฟ้าบนกระดาษด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทสเปรย์

2.2.1. การเตรียมสารละลายนาโนคอมโพสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน

- สารละลายแอนิลีนเตรียมโดยดำเนินการตามขั้นตอนของงานวิจัยก่อนหน้า [2] โดยการละลายพอลิแอนิลีนด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (chloroform) จากนั้นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 8 ชม. แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง
- สารละลายของพอลิไวนิลไพโรลิโดนสามารถเตรียมได้โดยละลายพอลิไวนิลไพโรลิโดนด้วยตัวทำละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) จากนั้นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 10 นาที
- เติมกราฟีน 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรลงในสารละลายของพอลิไวนิลไพโรลิโดน จากนั้นสั่นด้วยคลื่นเสียงนาน 6 ชม.

- ผสมสารละลายของพอลิแอนิซีนและกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน โดยมีการผสมพอลิสไตรีน (polystyrene) 0.1% ปริมาตรต่อปริมาตร เพื่อช่วยในการขึ้นรูปด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสเปรย์

2.2.2. การตัดแปรรูปด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสเปรย์

ระบบของกระบวนการอิเล็กโตรสเปรย์ประกอบด้วย เครื่องปั๊มสารละลาย เครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าสูง ฉากรับที่ต่อกับสายดิน เข็มฉีดยาสแตนเลสและหลอดฉีดยา ก่อนกระบวนการอิเล็กโตรสเปรย์ส่วนของหัวไฟฟ้าช่วยและหัวไฟฟ้าอ้างอิงจะถูกคลุมป้องกันการตัดแปรรูป จากนั้นสารละลายผสมกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิซีนที่เตรียมแล้วข้างต้นจะถูกบรรจุลงในหลอดฉีดยา เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าสูงเข้าไปที่สารละลาย จะเกิดหยดละอองขนาดเล็กเคลื่อนที่ไปตัดแปรรูปหัวไฟฟ้าใช้งานที่ต่อกับฉากรับ โดยสถานะของกระบวนการอิเล็กโตรสเปรย์ที่ถูกควบคุมคือ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ปลายเข็มห่างจากฉากรับ 5 เซนติเมตร และให้ศักย์ไฟฟ้า 6 กิโลโวลต์

2.3 การเตรียมตัวอย่างซีรัมมนุษย์

ละลายซีรัมมนุษย์มาตรฐานด้วยน้ำปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นตกตะกอนโปรตีนด้วย 10% (w/v) TCA [16] จากนั้นทำการเติมคอเลสเทอรอลมาตรฐานลงในตัวอย่างแล้วตรวจวัดโดยใช้หัวไฟฟ้าฐานกระดาษที่ตัดแปรรูปด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิซีน และเทคนิคแอมเปอร์เมทรี

3. ผลของการวิจัย

ตามวัตถุประสงค์ของข้อเสนอโครงการวิจัย คณะวิจัยต้องการพัฒนาไบโอเซนเซอร์โดยตัดแปรรูปหัวไฟฟ้าด้วยกราฟีนและพอลิเมอร์นำไฟฟ้าสำหรับตรวจวิเคราะห์สารบ่งชี้ทางชีวภาพ โดยหาภาวะที่เหมาะสมของหัวไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นโดยเพิ่มพื้นที่ผิวและการนำไฟฟ้าเพื่อให้การตรวจวัดสารบ่งชี้ทางชีวภาพด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามีความไว และประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งจากเดิมคณะผู้วิจัยคาดว่าจะใช้เทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning) แต่เนื่องจากหัวไฟฟ้าที่ออกแบบเพื่อใช้ในงานวิจัยนี้มีขนาดเล็กมาก (วงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร) จึงทำให้ไม่สามารถทำการตัดแปรรูปด้วยเทคนิคดังกล่าวได้ เพราะในการตัดแปรรูปจะต้องนำอลูมิเนียมฟอยด์ที่เจาะรูขนาดเท่ากับหัวไฟฟ้าทำงานมาปิดทับเพื่อบดบังไม่ให้สารไปติดที่หัวไฟฟ้าอื่นๆ ซึ่งหากตัดแปรรูปด้วยเส้นใย เส้นใยซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นใยแบบต่อเนื่องจะพาดอยู่ทั้งบนอลูมิเนียมฟอยด์ที่ใช้เป็น mask และหัวไฟฟ้าทำงาน เมื่อทำการลอกอลูมิเนียมฟอยด์ออก เส้นใยก็จะเกิดการฉีกขาด และไม่ติดอยู่ที่ผิวหน้าของหัวไฟฟ้าทำงาน ทางคณะผู้วิจัยจึงได้มีความคิดที่จะเปลี่ยนแปลงการตัดแปรรูปจากจากเส้นใยเป็นหยดขนาดเล็กแทน ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับการตัดแปรรูปหัวไฟฟ้าที่มีขนาดเล็กมากกว่าเส้นใย ซึ่งหยดขนาดเล็กนี้สามารถเพิ่มพื้นที่ผิวและการนำไฟฟ้าให้หัวไฟฟ้าได้เช่นเดียวกันกับการตัดแปรรูปด้วยเส้นใย ในการตัด

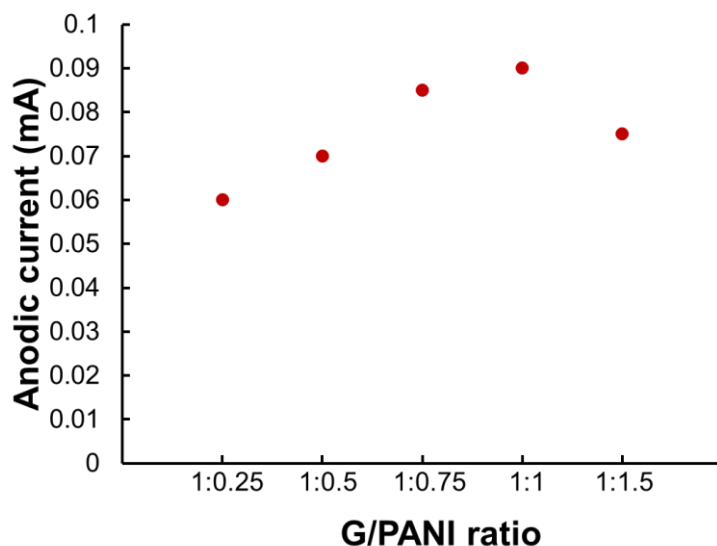
แปรรูปไฟฟ้าด้วยหยดขนาดเล็กจะใช้หลักการเดียวกันกับการดัดแปรด้วยเส้นใย เพียงแต่แตกต่างกันตรงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ออกมา ซึ่งในงานวิจัยนี้ ดัดแปรไฟฟ้าด้วยวัสดุนาโนคอมพอสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ ได้ในรูปของหยดขนาดเล็กจึงเรียกเทคนิคการดัดแปรที่ใช้ว่า เทคนิคการสเปรย์ด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospraying)

3.1 ผลของพารามิเตอร์ที่ใช้ในการดัดแปรไฟฟ้า

ในการดัดแปรไฟฟ้าด้วยวัสดุนาโนคอมพอสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ ต้องทำการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของกราฟีน และพอลิแอนิไลน์ ศักย์ไฟฟ้า เวลาที่ใช้ในการดัดแปร เป็นต้น

3.1.1 ผลของอัตราส่วนของกราฟีน และพอลิแอนิไลน์

ทำการศึกษาอัตราส่วนของกราฟีน และพอลิแอนิไลน์เพื่อใช้ในการดัดแปรไฟฟ้า เพื่อเพิ่มสภาพนำไฟฟ้าให้ขั้วไฟฟ้า โดยศึกษาในอัตราส่วนระหว่าง 1:0.5 ถึง 1:1.5 ของ พอลิแอนิไลน์:กราฟีน พบว่ากระแสในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานหลักเพิ่มสูงขึ้นเมื่อสัดส่วนของกราฟีนเพิ่มมากขึ้นจาก 0.25 ถึง 1 จากนั้นลดลง ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งสาเหตุของการลดลงอาจเนื่องมาจากเมื่อปริมาณกราฟีนสูงเกินไป กราฟีนอาจเกิดการเกาะกลุ่มหรือรวมตัวกันกลายเป็นกราฟไฟต์ จึงทำให้สัญญาณในการตรวจวัดลดลง ดังนั้นอัตราส่วนที่เหมาะสมของพอลิแอนิไลน์:กราฟีน คือ 1:1

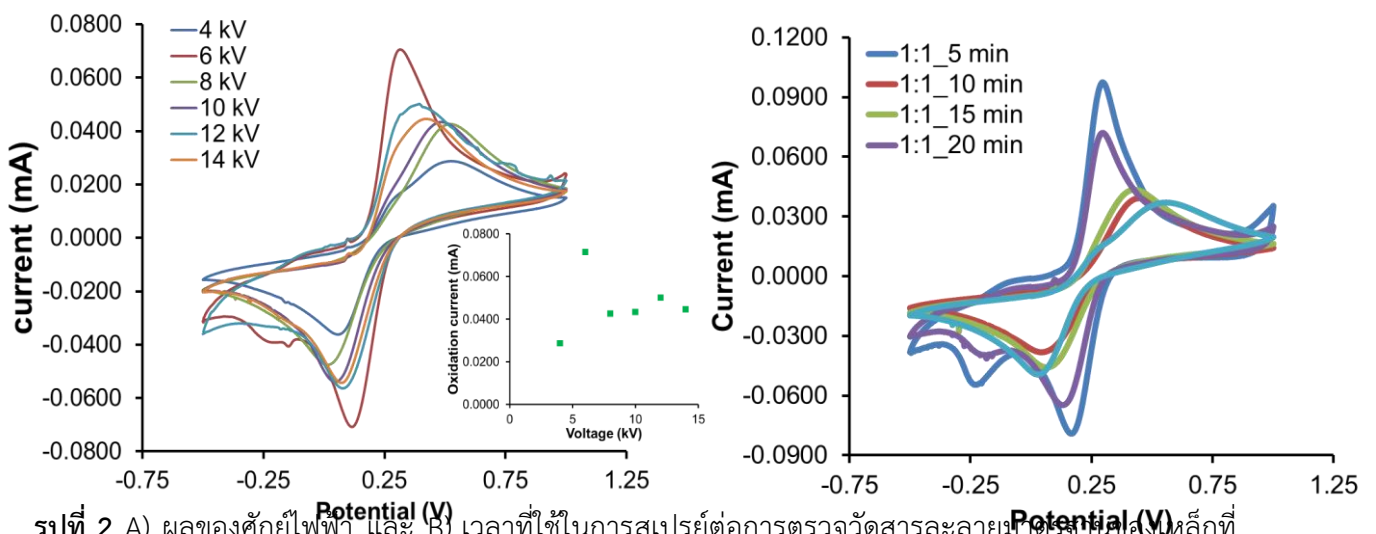


รูปที่ 1 ผลของอัตราส่วนของกราฟีน และพอลิแอนิไลน์ต่อการตรวจวัดสารมาตรฐานหลักที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์

3.1.2 ผลของศักย์ไฟฟ้า และเวลาที่ใช้ในการดัดแปร

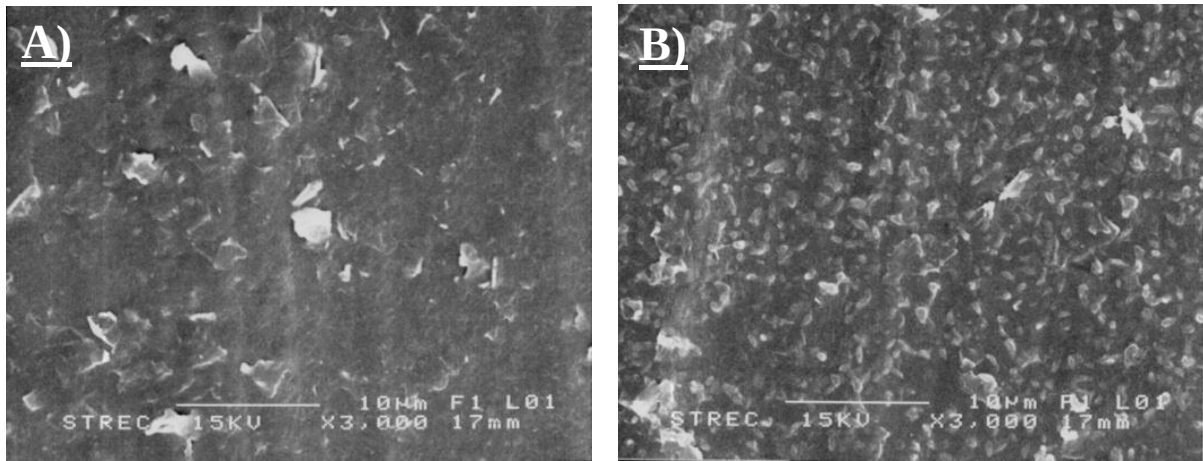
ในการดัดแปรชีวไฟฟ้าด้วยเทคนิค electrospray นั้นมีพารามิเตอร์สำคัญที่ส่งผลต่อสภาพนำไฟฟ้าของชีวไฟฟ้า คือ ศักย์ไฟฟ้า และเวลา โดยศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการสเปรย์ทำการศึกษาคั้ง 4 ถึง 14 กิโลโวลต์ พบว่ากระแสออกซิเดชันของสารละลายเหล็กสูงขึ้นเมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการสเปรย์สูงขึ้นตั้งแต่ 4 ถึง 6 กิโลโวลต์จากนั้นจึงลดลงและเกือบคงที่เมื่อศักย์ไฟฟ้าเพิ่มขึ้นถึง 14 กิโลโวลต์ ดังแสดงในรูปที่ 2A ดังนั้น 6 กิโลโวลต์จึงเป็นศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมต่อการดัดแปรชีวไฟฟ้า

จากนั้นทำการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสเปรย์ โดยใช้อัตราส่วนกราฟีนและพอลิแอนิลีนที่ 1:1 และศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการสเปรย์ คือ 6 กิโลโวลต์ โดยทำการศึกษาเวลาที่ใช้ตั้งแต่ 5 ถึง 25 นาที พบว่าที่ 5 นาทีให้สัญญาณในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานเหล็กสูงที่สุด อีกทั้งยังเป็นเวลาที่สั้นช่วยลดระยะเวลาในการทดลองได้เป็นอย่างดีอีกด้วย โดยแสดงผลดังรูปที่ 2B

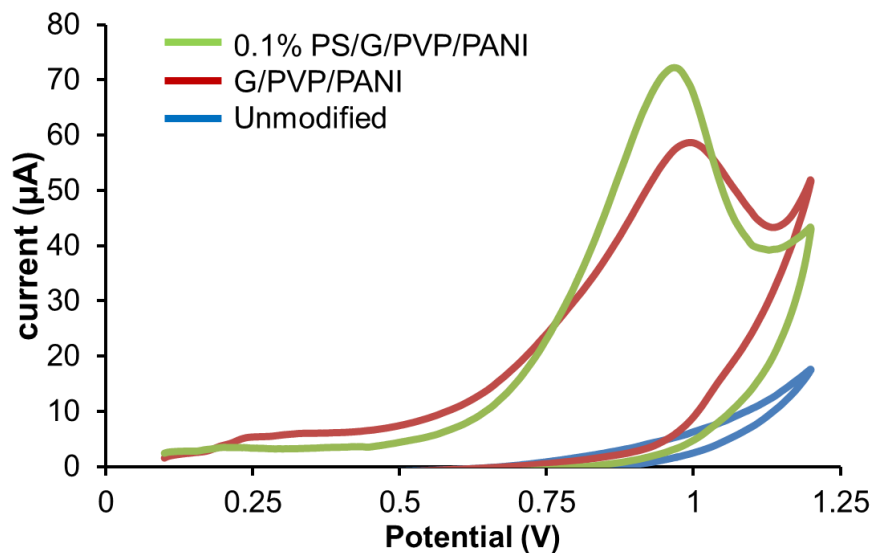


รูปที่ 2 A) ผลของศักย์ไฟฟ้า และ B) เวลาที่ใช้ในการสเปรย์ต่อการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานของเหล็กที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์

ในการดัดแปรด้วยหยดขนาดเล็กของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน โดยใช้เทคนิคการสเปรย์ด้วยไฟฟ้าสถิตย์ พอลิสไตรีน ถูกเลือกเพื่อใช้เป็นพอลิเมอร์ที่ช่วยในการขึ้นรูปเป็นหยด และช่วยให้หยดของวัสดุที่ทำการดัดแปรติดอยู่ที่ผิวหน้าของชีวไฟฟ้าดีขึ้น โดยในงานวิจัยนี้เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของพอลิสไตรีนที่ต่ำๆ คือ 0.1% v/v พอลิสไตรีน เนื่องจากพอลิสไตรีนเป็นพอลิเมอร์ที่เป็นฉนวน ไม่มีความสามารถในการนำไฟฟ้า หากใส่ในปริมาณที่สูงจะทำให้ลดความสามารถในการนำไฟฟ้าของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน โดยพบว่าเมื่อทำชีวไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนที่เติมและไม่เติม 0.1% v/v พอลิสไตรีน ไปศึกษาด้วยเทคนิคสแกนนิ่งอิเล็กตรอนไมโครสโคปี (รูปที่ 3) พบว่าเมื่อเติม 0.1% v/v พอลิสไตรีน มีลักษณะเป็นหยดที่ดีกว่าชีวไฟฟ้าที่ดัดแปรโดยไม่เติมพอลิสไตรีน เนื่องจากพอลิสไตรีนเป็น carrier polymer ที่ช่วยในการขึ้นรูป และเมื่อศึกษาสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าในการตรวจวัด 1 mM ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าสัญญาณที่ได้จากชีวไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนที่เติม 0.1% v/v พอลิสไตรีน สูงกว่าที่ไม่ได้เติม 0.1% v/v พอลิสไตรีน ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 3 ภาพถ่าย SEM บนขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนที่ A) ไม่เติม และ B) เติม 0.1% พอลิสไตรีน

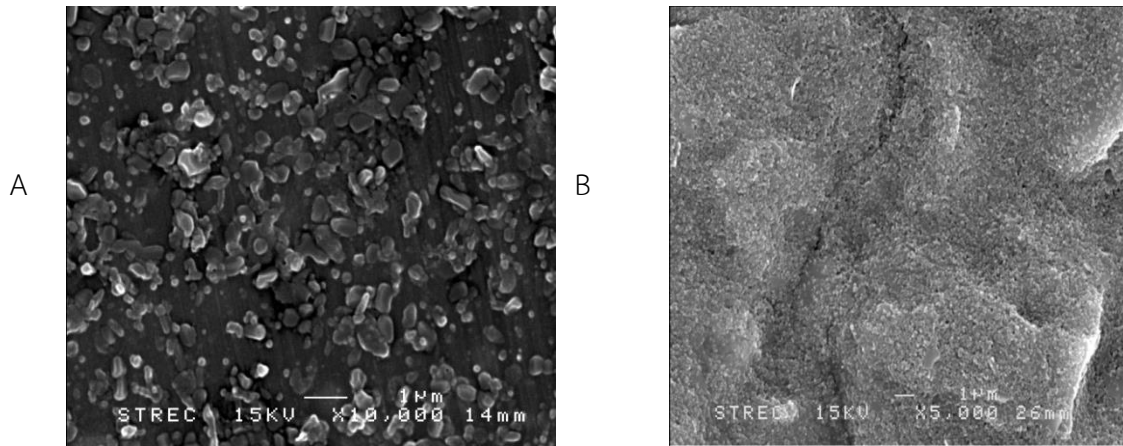


รูปที่ 4 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปร (น้ำเงิน), ขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน (แดง) และขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วย 0.1% พอลิสไตรีน/กราฟีน/พอลิแอนิลีน (เขียว) ในการตรวจวัด 1 มิลลิโมลาร์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

3.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการกระจายตัวของวัสดุนาโนคอมโพสิตที่ดัดแปรบนขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้น

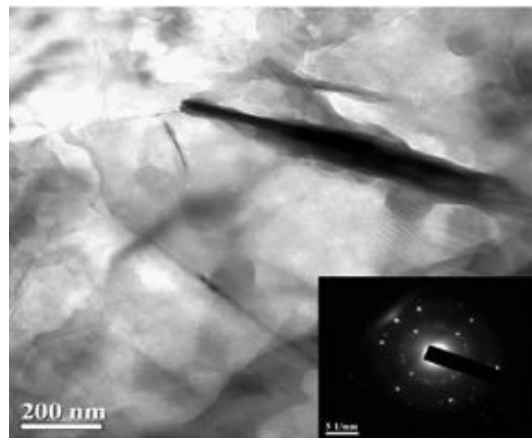
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรศึกษาโดยใช้เทคนิคสแกนนิ่งอิเล็กตรอนไมโครสโคปี (Scanning electron microscopy; SEM) ดังแสดงในรูปที่ 5A และ 5B ตามลำดับ จากรูปที่ 5 พบว่าเกิดหยดละอองแบบ 3 มิติ

ของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิซีนกระจายตัวอยู่บนขั้วไฟฟ้า โดยแต่ละหยดละอองจะมีขนาดเฉลี่ย 160 ± 1.02 นาโนเมตร



รูปที่ 5 ภาพถ่าย SEM บนขั้วไฟฟ้า โดยภาพ A คือ ขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ตัดแปรร่วมด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิซีน, ภาพ B คือขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ไม่ได้ตัดแปรร่วม

ลักษณะการกระจายตัวของวัสดุนาโนคอมโพสิตศึกษาโดยใช้เทคนิคทรานสมิสชันอิเล็กตรอนไมโครสโกปี (Transmission electron microscopy; TEM) พบว่ากราฟีนมีการกระจายตัวที่ดีในวัสดุนาโนคอมโพสิต โดยไม่มีการรวมตัวกันดังรูปที่ 6 นอกจากนี้ภาพอิเล็กตรอนดิฟแฟรกชันแพทเทิร์น (electron diffraction pattern) ของกราฟีนในภาพเล็กมีความคล้ายคลึงกันผลงานวิจัยก่อนหน้านี้ [3]

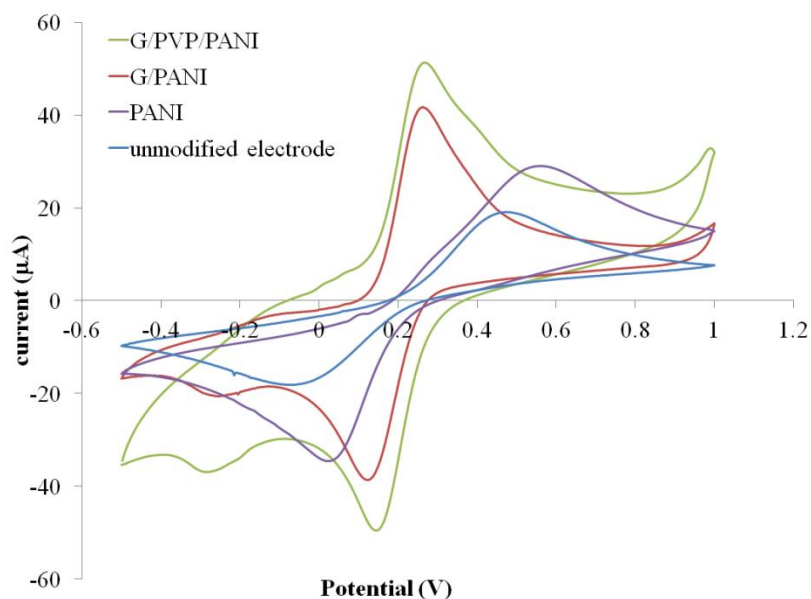


รูปที่ 6 ภาพถ่าย TEM แสดงการกระจายตัวของกราฟีนในวัสดุนาโนคอมโพสิต, ภาพเล็กแสดงอิเล็กตรอนดิฟแฟรกชันแพทเทิร์นของกราฟีน

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่พัฒนาขึ้น

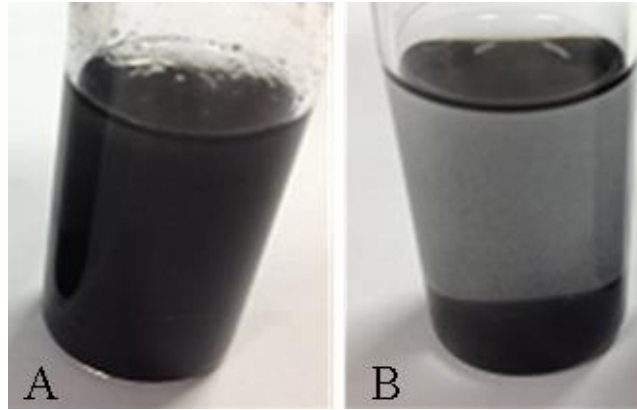
การศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นสามารถศึกษาด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีในสารละลายมาตรฐาน เฟอร์โรไซยาไนด์ โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ตัดแปรร่วม, ขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรร่วมด้วยพอลิแอนิซีน, ขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรร่วมด้วยกราฟีน/พอลิแอนิซีน และขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรร่วมด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิซีน ดังแสดงในไซคลิกโวลแทมแกรมรูปที่ 7 จากผลการทดลองพบว่า ขั้วไฟฟ้าที่ตัด

แปรรูปด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน (เส้นสีเขียว) แสดงผลของค่ากระแสของทั้งพีคแอโนดิกและแคโทดิกที่สูงที่สุด แสดงถึงความไวในการตรวจวัดสูง ส่วนช่วงไฟฟ้าที่ดัดแปรรูปด้วยกราฟีน/พอลิแอนิลีน, ช่วงไฟฟ้าที่ดัดแปรรูปด้วยพอลิแอนิลีนและช่วงไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรรูป มีการลดลงของค่ากระแสตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงไฟฟ้าที่ดัดแปรรูปด้วยพอลิแอนิลีนเพียงอย่างเดียว (เส้นสีม่วง) การเพิ่มส่วนของกราฟีนเข้าไปในวัสดุนาโนคอมโพสิตช่วยเพิ่มค่ากระแสให้สูงขึ้น (เส้นสีแดง) อีกทั้งยังลดระยะห่างระหว่างพีค (peak-to-peak potential separation; ΔE_p) แสดงว่าการเพิ่มกราฟีนเข้าไปในวัสดุนาโนคอมโพสิตจะช่วยเพิ่มอัตราเร็วในการส่งผ่านอิเล็กตรอนให้สูงขึ้น (electron transfer kinetics) นอกจากนี้จะสังเกตเห็นได้ว่าการใช้พอลิไวนิลไพโรลิโดนเพื่อช่วยให้กราฟีนกระจายตัวดีขึ้นส่งผลให้ค่ากระแสมีค่าสูงขึ้นดังแสดงในรูป (ระหว่างเส้นสีเขียวและสีแดง)



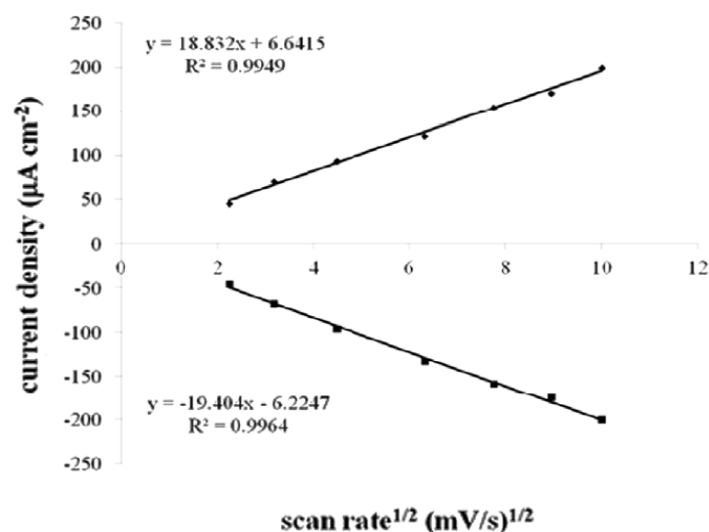
รูปที่ 7 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของช่วงไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรรูป (น้ำเงิน), ช่วงไฟฟ้าที่ดัดแปรรูปด้วยพอลิแอนิลีน (ม่วง), ช่วงไฟฟ้าที่ดัดแปรรูปด้วยกราฟีน/พอลิแอนิลีน (แดง) และช่วงไฟฟ้าที่ดัดแปรรูปด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน (เขียว)

ข้อดีอีกประการของการใช้พอลิไวนิลไพโรลิโดนคือ สามารถช่วยลดระยะเวลาในการเตรียมสารละลายกราฟีน ซึ่งสามารถลดระยะเวลาในการสั่นด้วยคลื่นเสียงของกราฟีนจาก 24 ชม. เป็น 6 ชม. ดังภาพแสดงการเปรียบเทียบของสารละลายกราฟีนในตัวทำละลายที่ไม่ใส่พอลิไวนิลไพโรลิโดนและใส่พอลิไวนิลไพโรลิโดนดังรูปที่ 8 แสดงให้เห็นว่าหากไม่ใช้พอลิไวนิลไพโรลิโดนจะต้องใช้เวลาในการสั่นด้วยคลื่นเสียงของกราฟีนเป็นเวลานานเพื่อป้องกันการรวมตัวกันเป็นแกรไฟต์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการใช้พอลิไวนิลไพโรลิโดน 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการเตรียมสารละลายกราฟีน



รูปที่ 8 แสดงการกระจายตัวของกราฟีนในตัวทำละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) ภาพ A คือ มีพอลิไวนิลไพโรลิโดน และภาพ B คือ ไม่มีพอลิไวนิลไพโรลิโดน ซึ่งมีการสั่นด้วยคลื่นเสียงเป็นเวลา 6 ชม.

นอกจากนี้ยังมีการทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นนี้โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีในสารละลายมาตรฐานเฟอร์โรไฮยาไนด์ ซึ่งมีการทดสอบที่อัตราเร็วในการสแกนต่างๆ ดังรูปที่ 9 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราเร็วในการสแกน ($V^{1/2}$) และค่ากระแส พบว่าค่ากระแสของทั้งพีคแอโนดิกและแคโทดิกมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับรากที่สองของอัตราเร็วในการสแกน แสดงให้เห็นว่ากระบวนการรีดอกซ์ของเฟอร์โรไฮยาไนด์บนขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีการควบคุมโดยกระบวนการแพร่ (diffusion controlled process)



รูปที่ 9

แสดง

ความสัมพันธ์

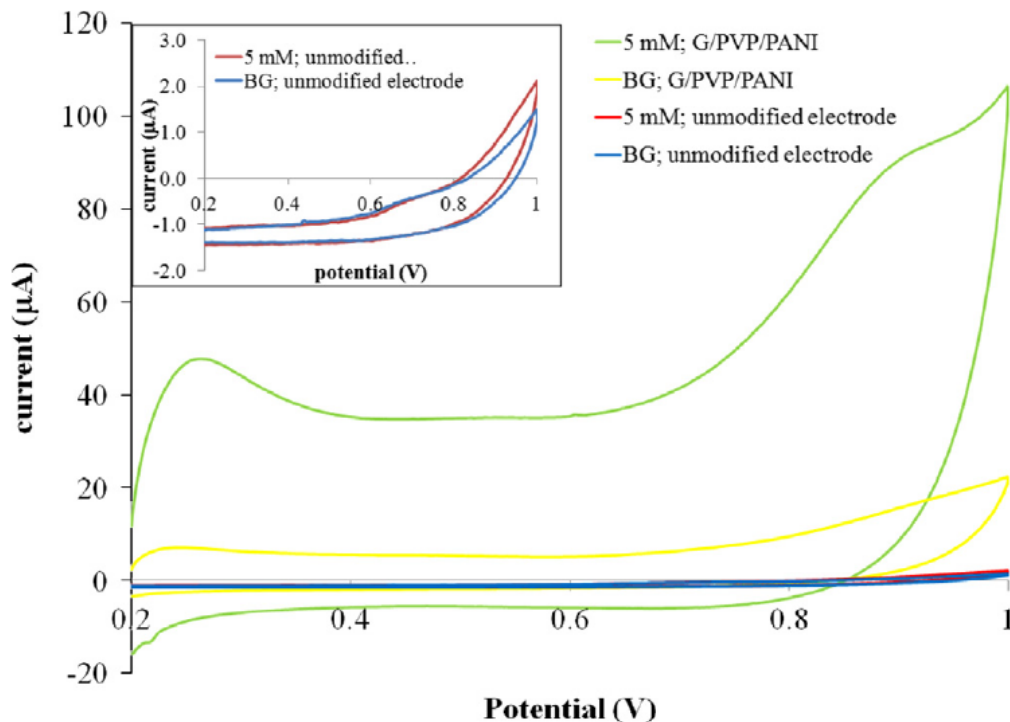
ระหว่างรากที่สองของอัตราเร็วในการสแกน ($V^{1/2}$) และค่ากระแสของพีค โดยวัดตั้งแต่ 5 – 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

3.4 การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคอเลสเทอรอล

การตรวจวัดคอเลสเทอรอลทางอ้อมสามารถทำได้โดยการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเทอรอล [4-5] ดังนั้นในเบื้องต้น ขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้จะถูกทดสอบด้วยการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคอเลสเทอรอลตามลำดับ โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

3.4.1 การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

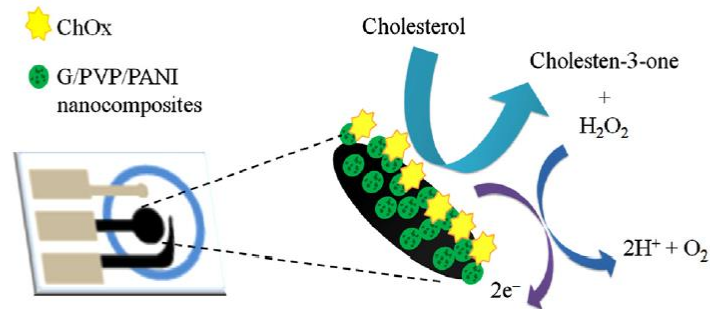
ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนและขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรแสดงในรูปที่ 10 จากผลการวิจัยพบว่า ขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนสามารถตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ โดยมีค่ากระแสของพีคแอนอดิกสูงกว่าขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรถึง 40 เท่า แสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าที่ได้พัฒนาขึ้นนี้อาจจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลได้



รูปที่ 10 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 5 มิลลิโมลาร์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ใน 0.1 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS) pH 7.0 จากขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน (เขียว) และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปร (แดง) ที่อัตราเร็วในการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

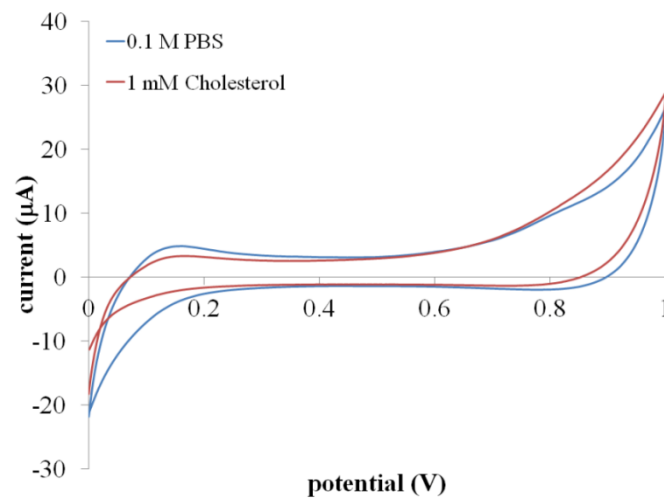
3.4.2 การตรวจวัดคอเลสเทอรอล

การตรวจวัดคอเลสเตอรอลทางอ้อมจะทำการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างคอเลสเตอรอลและเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสดังกลไกรูปที่ 11



รูปที่ 11 แสดงกลไกปฏิกิริยาของเอนไซม์ระหว่างคอเลสเตอรอลและเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสบนขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์

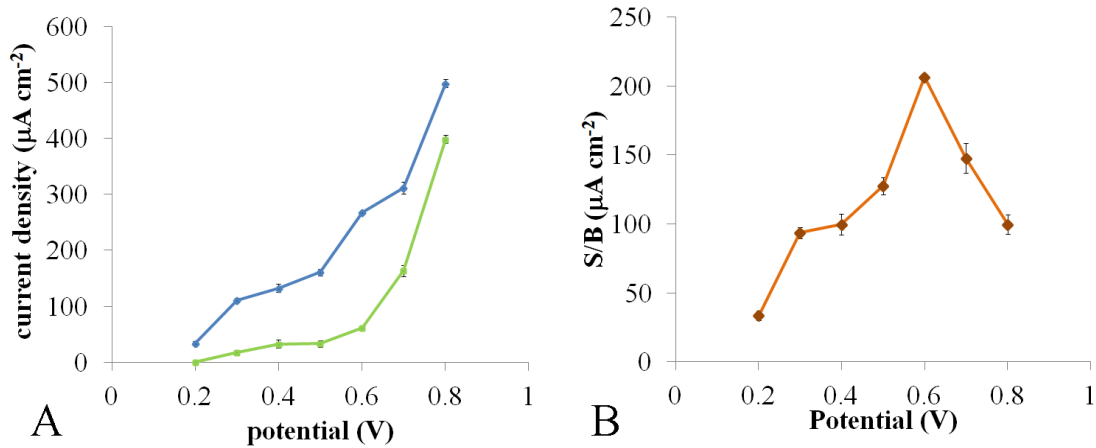
โดยในการตรวจวัดจะทำการหยดเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสลงบนขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ แล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นตรวจวัดคอเลสเตอรอลด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี จากภาพไซคลิกโวลแทมโมแกรมของคอเลสเตอรอลดังรูปที่ 12 พบว่าขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์สามารถตรวจวัดคอเลสเตอรอลได้สัญญาณสูงกว่าสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ไม่มีคอเลสเตอรอล (blank) แสดงให้เห็นว่าระบบของขั้วไฟฟ้าที่ได้พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลได้จริง



รูปที่ 12 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของคอเลสเตอรอลและไม่มีคอเลสเตอรอล (0.1 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ ที่สภาวะ pH 7.0 และอัตราเร็วในการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

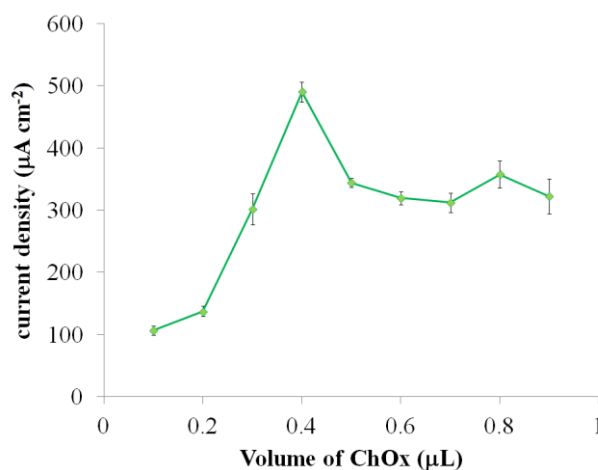
เทคนิคแอมเปอร์โอมเมทรีเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคอเลสเตอรอล โดยพารามิเตอร์ที่มีความสำคัญต่อการตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเปอร์โอมเมทรี คือ ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัด หรือ การศึกษาไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมเมทรี แสดงในรูปที่ 13 โดยพบว่าเมื่อทำการเพิ่มศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดกระแสแอโนดิกของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ (เส้นสีฟ้า รูปที่ 13) แต่กระแส

ของแบคทีเรีย (เส้นสีเขียว รูปที่ 13) ก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงต้องทำการสร้างกราฟโดยนำกระแสของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ตรวจวัดได้มาหักลบกับกระแสของแบคทีเรีย ดังแสดงในรูปที่ 13B พบว่าที่ศักย์ไฟฟ้า +0.6 โวลต์ ให้สัญญาณการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงที่สุด ดังนั้นศักย์ไฟฟ้าในการตรวจวัดที่ +0.6 โวลต์ จึงถูกเลือกเป็นศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลในงานวิจัยนี้



รูปที่ 13 (A) ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ (เส้นสีฟ้า) และแบคทีเรีย (เส้นสีเขียว) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.0 จากข้อไฟฟ้าฐานกระดาดที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิซีน และ (B) ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของสัญญาณที่หักลบแบคทีเรีย (S/B) โดยใช้ข้อมูลจากรูปที่ 9A

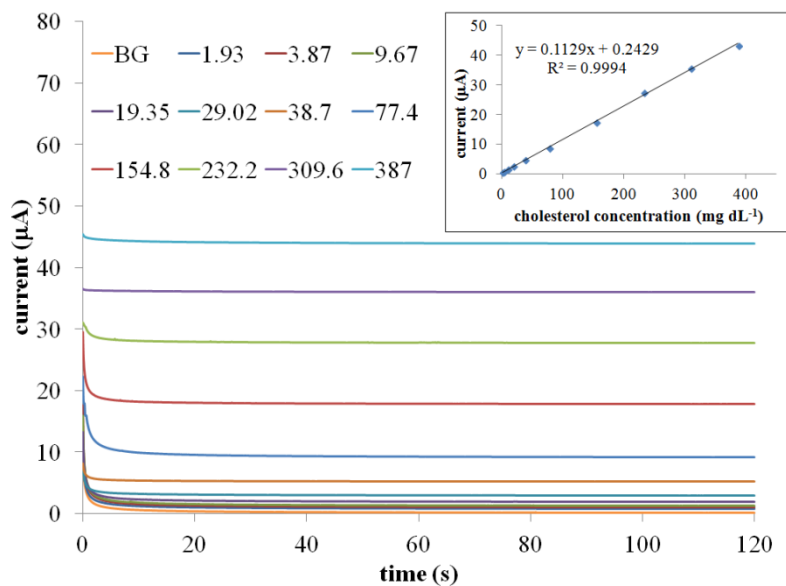
ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอล จะทำการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาของคอเลสเทอรอลกับเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดส ดังนั้นปริมาณของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดสจึงมีความสำคัญต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอล และจำเป็นต้องทำการศึกษา โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดส ในช่วง 0.1-1.0 ไมโครลิตร ที่ทำการหยดและปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องบนผิวหน้าข้อไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิซีน โดยพบว่า 0.4 ไมโครลิตร ของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดส ให้สัญญาณในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลสูงที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 14



รูปที่ 14 ผลของปริมาณของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดส (418 หน่วยต่อมิลลิกรัม) ต่อการตรวจวัดคอเลสเตอรอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.0

3.3 ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลิน

การศึกษาประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลิน ทำได้โดยการตรวจวัดคอเลสเตอรอลที่ความเข้มข้นต่างๆ และบันทึกสัญญาณที่ตรวจวัดได้จากเทคนิคแอมเพโรเมทรี โดยที่การตรวจวัดด้วยสัญญาณที่เวลา 100 วินาที จากนั้นนำผลที่ได้มาทำการสร้างกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 15 โดยพบว่าขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลินสามารถตรวจวัดคอเลสเตอรอลได้ในช่วงความเข้มข้นเป็นเส้นตรงในช่วงระหว่าง 50 ไมโครโมลาร์ ถึง 10 มิลลิโมลาร์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ 0.9993 และเมื่อหาค่าความไว (sensitivity) ที่ของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลิน พบว่ามีความไวที่ 34.77 ไมโครแอมป์/มิลลิโมลาร์.ตารางเซนติเมตร และมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และหาปริมาณได้ (LOQ) อยู่ที่ 1 ไมโครโมลาร์และ 50 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) หาจากความเข้มข้นคอเลสเตอรอลที่ให้สัญญาณในการตรวจวัดสูงเป็นสามเท่าของสัญญาณแบคกราว



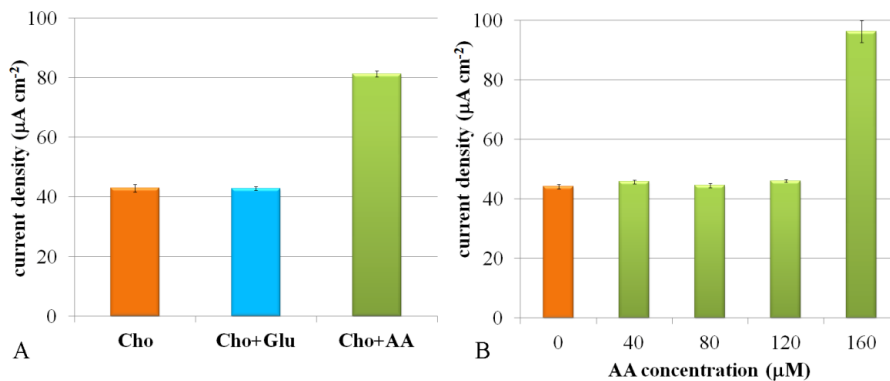
รูปที่ 15 กราฟมาตรฐานในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลที่ความเข้มข้นระหว่าง 0-387 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลิน

The national cholesterol education program (NCEP) ได้รายงานระดับของคอเลสเตอรอลที่ปกติในเลือดของมนุษย์ต้องมีระดับไม่เกิน 5.18 มิลลิโมลาร์ หรือ 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร [1] จากข้อมูลดังกล่าวจึงสรุปได้ว่าขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลิน ที่พัฒนาขึ้นในงานนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างจริงทางชีวภาพได้ และเมื่อนำ

ประสิทธิภาพในการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ไปทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้า พบว่าขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่พัฒนาขึ้นนี้มีความไวในการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าค่อนข้างสูง มีช่วงในการตรวจวัดกว้าง และความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆดังแสดงในตารางที่ 1 โดยที่ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้สามารถเตรียมได้ง่าย ราคาถูก และอาจจะพัฒนาให้เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลได้อย่างดีในอนาคต

3.4 ผลของสารรบกวน

สารรบกวนที่พบในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ที่มีรบกวนต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอล คือ กลูโคส และกรดแอสคอบิก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการศึกษาการตรวจวัดคอเลสเทอรอลในสภาวะที่มีกลูโคสและกรดแอสคอบิกร่วมอยู่ด้วย โดยในการศึกษาจะใช้เวลาความเข้มข้นที่สูงที่สุดของกลูโคส และกรดแอสคอบิก ที่พบในซีรัม (5.3 มิลลิโมลาร์ และ 80 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) ซึ่งพบว่ากลูโคสไม่มีผลรบกวนในการตรวจวัดคอเลสเทอรอล แต่กรดแอสคอบิกพบสัญญาณรบกวนเกิดขึ้น โดยทำให้สัญญาณในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลสูงขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 16 ในการแก้ปัญหาสัญญาณรบกวนของกรดแอสคอบิก สารลดแรงดึงผิวประจุลบของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต (SDS) ได้ถูกนำมาใช้เคลือบบนผิวของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิเอนิลีน ซึ่งจากงานวิจัยที่ได้ทำการสืบค้นก่อนหน้านี้พบว่าสารลดแรงดึงผิวประจุลบจะเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิตกับประจุลบของกรดแอสคอบิกทำให้ช่วยป้องกันการรบกวนของกรดแอสคอบิกได้ในช่วงความเข้มข้น 0-120 ไมโครโมลาร์ เมื่อทำการตรวจวัดคอเลสเทอรอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ดังแสดงในรูปที่ 11B



รูปที่ 16 (A) ผลของกลูโคส 5.3 มิลลิโมลาร์ (Glu) และกรดแอสคอบิก 80 ไมโครโมลาร์ ascorbic acid (AA) ต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอล 1 มิลลิโมลาร์ ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.0 และ(B) ผลของ AA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0-160 ไมโครโมลาร์) ต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอล 1 มิลลิโมลาร์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิเอนิลีน ที่เคลือบด้วยสารลดแรงดึงผิวประจุลบของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบตัวตรวจวัดคอเลสเทอรอลที่ดัดแปรด้วยวัสดุนาโนและพอลิเมอร์

Modified electrode	Detection method	Sensing element	Method of enzyme immobilization	LOD (μM)	Linear range (mM)	Sensitivity ($\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$)	Reference
NiFe ₂ O ₄ /CuO/FeO-Ch/ChOx	DPV	ChOx	Physical adsorption	0.0313	0.13–12.95	16.54	(Singh et al., 2012)
Ti/NPAu/ChOx–HRP–ChE	CV	ChOx/ChEt	Entrapment	12.95	0.97–7.8	29.33	(Ahmadalinezhad and Chen, 2011)
AuE/dithiol/AuNPs/MUA/ChOx	CV	ChOx	Covalent attachment	34.6	0.04–0.22	45.96	(Saxena et al., 2011)
ChOx-FG/G	Amperometry	ChOx	Covalent attachment	5	0.05–0.35	–	(Manjunatha et al., 2012)
AuPt–Ch–IL/GCE	Amperometry	ChOx	Cross-linking	10	0.05–6.2 and 6.2–11.2	90.7	(Safavi and Farjami, 2011)
AuNPs/f-G modified GCE	Amperometry	ChOx	Physical adsorption	–	0–0.135	314	(Aravind et al., 2011)
CSNF–AuNPs/ChOx	Amperometry	ChOx	Physical adsorption	0.5	0.001–0.045	1.02	(Gomathi et al., 2011)
ChOx/HRP/AuNPs/PDDA/MWCNTs/GCE	Amperometry	ChOx	Physical adsorption	2.2	0.01–1.05	18.6	(Eguílaz et al., 2011)
G/PVP/PANI nanocomposites	Amperometry	ChOx	Physical adsorption	1	0.05–10	34.90	Present work

Abbreviations: nPt, platinum nanoparticle; GCE, glassy carbon electrode; Au, gold nanoparticles; f-G, functionalize graphene nanoplatelets; IL, ionic liquid; Ch, chitosan; HRP, horseradish peroxidase; ChEt, cholesterol esterase; CSNF, chitosan nanofibers; AuE, gold electrode; MUA, 11-mercaptopundecanoic acid; PDDA, poly-(diallyldimethyl-ammonium chloride); MWCNTs, multi-walled carbon nanotubes

3.5. ความสามารถในการทำซ้ำ และความเสถียรของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาศที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิเอนิลีน

ความสามารถในการวัดซ้ำและความเสถียรของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาศที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิเอนิลีน ได้ถูกศึกษา โดยพบว่าค่ามาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) เมื่อทำการตรวจวัดคอเลสเทอรอลซ้ำ 5 ครั้ง ที่ความเข้มข้นในช่วงของความเป็นเส้นตรง อยู่ระหว่าง 1.05% และ 9.37% ($n=5$) ซึ่งเป็นค่าที่สามารถรับได้ และความเสถียรของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาศที่พัฒนาขึ้น ทำการศึกษาโดยการตรวจวัดคอเลสเทอรอลเมื่อทำการเก็บรักษาข้าวไว้นาน 2 สัปดาห์ พบว่ามีสัญญาณการตรวจวัดที่ 89.1% เมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณที่ได้จากข้าวที่เตรียมขึ้นใหม่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวไฟฟ้าฐานกระดาศมีเสถียรภาพที่ดี

3.6 Sample analysis

ทดสอบความสามารถในการใช้งานจริงของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาศที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิเอนิลีนโดยการตรวจวัดคอเลสเทอรอลในซีรัมมนุษย์ด้วยการใส่คอเลสเทอรอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.05, 0.10, 0.25, 1.00, และ 5.00 มิลลิโมลาร์) ลงในซีรัมมาตรฐานแล้วทำการตกตะกอนโปรตีนด้วย TCA จากนั้นจึงทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเปโรเมทรี พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การคืนกลับอยู่ระหว่าง 100.0-102.0 เปอร์เซ็นต์ และมีค่ามาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแม่นยำในการตรวจวัดของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาศที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิเอนิลีนที่ถูกพัฒนาขึ้น

ตารางที่ 2 การตรวจวัดปริมาณคอเลสเทอรอลในตัวอย่างซีรัมมนุษย์

Cholesterol (mg dL ⁻¹)		% Recovery	% RSD
added	found		
1.93	1.91 ± 0.04	98.9	2.1
3.87	3.79 ± 0.08	97.9	2.1
9.67	9.73 ± 0.30	100.6	3.1
38.7	39.36 ± 1.05	101.7	2.7
193.5	194.06 ± 2.84	100.3	1.4

4 สรุปผลของการวิจัย

วัสดุผสมของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิเอนิลีนที่ใช้ในการดัดแปรช่วยเพิ่มการนำไฟฟ้า และพื้นที่ผิวของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาศทำให้มีความไวทางเคมีไฟฟ้าในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากขึ้น และจากสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองทำให้ช่วยเพิ่มความไว ช่วงความเป็นเส้นตรง และความเข้มข้น

ต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอล และผลของสารรบกวน เช่น กลูโคส และกรดแอสคอบิก สามารถกำจัดได้โดยการใช้สารลดแรงตึงผิวประจุลบของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต (SDS) นอกจากนี้ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ถูกพัฒนาขึ้นยังสามารถตรวจวัดคอเลสเทอรอลในตัวอย่างซีรัมมนุษย์ได้อีกด้วย ซึ่งงานวิจัยนี้อาจนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นเครื่องมือที่ง่าย ราคาถูก ใช้แล้วทิ้ง ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลได้

5 วิจัยรณผลของการวิจัย

จากที่ได้เสนอโครงการวิจัยในโครงการ “การใช้กราฟีนร่วมกับพอลิเมอร์ดัดแปรขั้วไฟฟ้าสำหรับตรวจวิเคราะห์สารบ่งชี้ทางชีวภาพ” พบว่างานวิจัยได้ดำเนินการตามแผนงานที่วางไว้ทุกประการ และไม่มีอุปสรรคในการดำเนินงาน

เอกสารอ้างอิง

1. Apilux, W. Dungchai, W. Siangproh, N. Praphairaksit, C. S. Henry ,O. Chailapakul, 2010. Anal. Chem. 82 (5), 1727-1732.
2. W. Dungchai, O. Chailapakul ,C. S. Henry, 2011. Analyst 136 (1), 77-82.
3. T. Songjaroen, W. Dungchai, O. Chailapakul ,W. Laiwattanapaisa, 2011. Talanta 85 (5), 2587-2593.
4. W. Dungchai, O. Chailapakul ,C. S. Henry, 2009. Anal. Chem. 81 (14), 5821-5826.
5. S. M. Z. Hossain, R. E. Luckham, M. J. McFadden ,J. D. Brennan, 2009. Anal. Chem. 81 (21), 9055-9064.
6. Y. Lu, W. W. Shi, J. H. Qin ,B. C. Lin, 2010. Anal. Chem. 82 (1), 329-335.
7. M. M. Mentele, J. Cunningham, K. Koehler, J. Volckens ,C. S. Henry, 2012. Anal. Chem. 84 (10), 4474-4480.
8. Geim, A.K., Novoselov, K.S., 2007. Nature Materials 6 (3), 183-191.
9. Liu, S., Xing, X.R., Yu, J.H., Lian, W.J., Li, J., Cui, M., Huang, J.D., 2012. Biosensors and Bioelectronics 36 (1), 186-191.
10. Potts, J.R., Dreyer, D.R., Bielawski, C.W., Ruoff, R.S., 2011. Polymer 52 (1), 5-25.
11. Wajid, A.S., Das, S., Irin, F., Ahmed, H.S.T., Shelburne, J.L., Parviz, D., Fullerton, R.J., Jankowski, A.F., Hedden, R.C., Green, M.J., 2012. Carbon 50 (2), 526-534.
12. Mano, N., Heller, A., 2005. Analytical Chemistry 77 (2), 729-732.
13. Arya, S.K., Dey, A., Bhansali, S., 2011. Biosensors and Bioelectronics 28 (1), 166-173.
14. Huang, J.D., Lin, Q., Zhang, X.M., He, X.R., Xing, X.R., Lian, W.J., Zuo, M.M., Zhang, Q.Q., 2011. Food Research International 44 (1), 92-97.
15. Qiu, J.D., Shi, L., Liang, R.P., Wang, G.C., Xia, X.H., 2012. Chemistry-a European Journal 18 (25), 7950-7959.

6 การดำเนินงานในช่วงถัดไป

ไม่มี