สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

2. Executive summary

ปริมาณกลูโคสในซีรัมเป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้ในการบ่งชี้ภาวะการเป็นโรคเบาหวาน ซึ่งความเข้มข้นเฉลี่ยของกลูโคสในซีรัมของคนปกติจะอยู่ระหว่าง 4 ถึง 7 มิลลิโมลาร์ (Park *et al.*, 2006) โดยองค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ได้รายงานไว้ว่าขณะนี้มีประชากรทั่วโลกจำนวนไม่น้อยกว่า 220 ล้านคนที่ป่วยด้วยโรคเบาหวาน และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าในช่วงปี 2548–2573 (WHO, 2011) ดังนั้นเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสที่ให้ผลถูกต้อง แม่นยำ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการวินิจฉัยโรคของแพทย์ นอกจากนี้การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสมีความสำคัญต่องานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและการควบคุมกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากในกระบวนการหมักหรือการเลี้ยงเชื้อส่วนใหญ่จะใช้กลูโคสเป็นองค์ประกอบสำคัญในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงมีความจำเป็นต้องตรวจวัดปริมาณกลูโคสให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อหรือเซลล์ที่ต้องการ (Blake and McLean, 1989)

เทคนิคที่นิยมใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส ส่วนใหญ่จะอาศัยการวัดผลจากปฏิกิริยาระหว่างกลูโคส (ซับเสตรท) กับเอนไซม์ซึ่งใช้เป็นวัสดุชีวภาพ และเนื่องจากเอนไซม์จะจับกันอย่างจำเพาะเจาะจงกับซับเสตรทที่เข้าคู่กันเท่านั้น จึงทำให้เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์เหมาะสำหรับการตรวจวัดกลูโคสแม้ว่าในตัวอย่างนั้นจะมีองค์ประกอบที่ค่อนข้างซับซ้อน อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ยังมีข้อจำกัดหลายประการด้วยกัน ความเสถียรของเอนไซม์ซึ่งเป็นวัสดุชีวภาพเป็นปัญหาหลักที่เกิดขึ้นเพราะเอนไซม์เป็นวัสดุชีวภาพซึ่งจะมีการเสื่อมสภาพตามเวลา และแม้ว่าเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสซึ่งนิยมใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสจะเป็นเอนไซม์ที่มีความเสถียรค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ ก็ตาม แต่ก็ยังมีข้อจำกัดคือไม่สามารถใช้งานได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียสเพราะความร้อนทำให้เกิดการสูญเสียประสิทธิภาพอย่างรวดเร็ว (Park *et al.*, 2006) ทำให้ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์กลูโคสในกระบวนการหมักหรือการตรวจวัดที่ต้องมีการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง (sterilization) (Park *et al.*, 2006) นอกจากนี้ปัญหาเรื่องปริมาณออกซิเจนละลาย (dissolved oxygen) เป็นอีกปัญหาหนึ่งที่พบได้บ่อย เนื่องจากเอนไซม์ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสแล้วส่งผ่านอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นไปยังออกซิเจนที่มีอยู่ในสารละลาย (Wu *et al.*, 2004) ดังนั้นปริมาณออกซิเจนละลายที่อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์จึงมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสและความถูกต้องของผลการวิเคราะห์ ทำให้ต้องควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายให้มีค่าคงที่ (Park *et al.*, 2006)

ด้วยข้อจำกัดเหล่านี้ทำให้มีการพัฒนาเทคนิคการตรวจวัดปริมาณกลูโคสแบบไม่ใช้เอนไซม์ขึ้น โดยสารตัวหนึ่งที่นิยมใช้ คือ กรดฟีนิลโบโรนิคซึ่งเป็นแอฟฟินิตีลิแกนด์ (affinity ligand) ที่สามารถเกิดพันธะโควาเลนต์แบบผันกลับได้ (reversible covalent bond) อย่างจำเพาะเจาะจงกับหมู่ไดออลของกลูโคส

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ที่มีการจัดวางตำแหน่งแบบซิส (*cis*-configuration) (Lorand and Edwards, 1959) และเมื่อนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับสมาร์ท พอลิเมอร์เจล (smart polymer gel) ที่สามารถเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพหรือทางเคมีเมื่อมีการเร้าจากปัจจัยภายนอก (Annaka and Tanaka, 1992; Ivanov *et al.*, 2005; Kataoka *et al.*, 1998; Suzuki and Tanaka, 1990) ทำให้สามารถพัฒนาเป็นสมาร์ทพอลิเมอร์เจล ที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกลูโคสได้ (Alexeev *et al.*, 2003; Gabai *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2004; Matsumoto *et al.*, 2004a; Matsumoto *et al.*, 2004b)

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาการทำพอลิเมอร์เจลให้อยู่ในรูปที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดตลอดจนการตรวจวัดผลที่เกิดขึ้น ส่วนใหญ่ใช้เทคนิคที่ค่อนข้างยุ่งยาก เช่น การตรวจวัดความถี่ของการสั่นที่เปลี่ยนแปลงไป (ควอซคริสตัล ไมโครบาลานซ์) การเปลี่ยนแปลงของมุมสะท้อน (เซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์) การเปลี่ยนแปลงของค่าอิมพิแดนซ์ (อิมพิดิเมทตรี) (Gabai *et al.*, 2001) หรือการใช้กล้อง CCD (CCD camera) สำหรับถ่ายภาพเพื่อสังเกตการบวมตัวของเจล (Matsumoto et al., 2004a) นอกจากนี้ยังใช้เวลาในการวิเคราะห์ค่อนข้างนานอีกด้วย เช่น ในการวิเคราะห์กลูโคสที่ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ใช้เวลาประมาณ 40 นาทีต่อการวิเคราะห์หนึ่งตัวอย่าง (Gabai *et al.*, 2001) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาและพัฒนาสมาร์ทพอลิเมอร์เจลสำหรับการวิเคราะห์กลูโคสที่สามารถใช้งานได้ง่าย มีขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ไม่ยุ่งยากและใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น โดยมีแนวคิดในการนำเทคนิคคาปิลลารีอิเล็กโทรโครมาโทกราฟี (capillary electrochromatography) มาประยุกต์ใช้

เนื่องจากกรดฟีนิลโบโรนิคสามารถเกิดพันธะกับสารที่มีหมู่ไดออลที่จัดวางตัวในตำแหน่งซิสได้ทุกชนิด จึงสามารถจับกับน้ำตาลได้หลายชนิด ดังนั้นเพื่อพัฒนาระบบการตรวจวัดกลูโคสมีความจำเพาะเจาะจงมากขึ้น จึงเพิ่มส่วนของคอลัมน์ในการแยกน้ำตาลแต่ละชนิดออกจากกันก่อนที่จะเข้าสู่ระบบของการตรวจวัด จากการค้นข้อมูลเกี่ยวกับค่าคงที่ในการเกิดพันธะระหว่างกรดฟีนิลโบโรนิคกับน้ำตาลชนิดต่าง ๆ พบว่ามีค่าแตกต่างกัน (Lorand and Edwards, 1959; Springsteen and Wang, 2002) ดังนั้นจึงมีความต้องการที่จะสังเคราะห์มอนอลิทคอลัมน์ที่มีกรดฟีนิลโบโรนิคเป็นหมู่ฟังก์ชัน เพื่อใช้ในการแยกน้ำตาลแต่ละชนิดก่อนการตรวจวัด ส่งผลได้ระบบการตรวจวัดที่พัฒนาขึ้น มีความจำเพาะเจาะจงสำหรับการตรวจวัดกลูโคสมากยิ่งขึ้น