

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

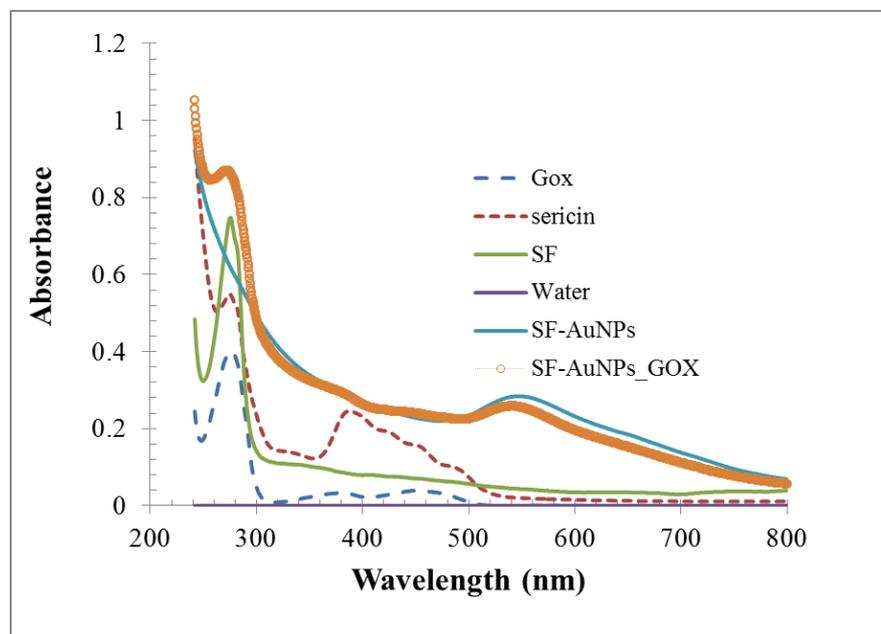
งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวัสดุโกลด์นาโนไอออนเซออร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง มีความเสถียรสูง และมีการตอบสนองที่ดีขึ้น สามารถนำไปใช้เป็นไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัดปริมาณโกลด์นาโนไอออนแบบแอมเพอร์โรเมทรีได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในงานวิจัยนี้จะแบ่งการทดลองเป็น 4 ส่วน ดังนี้

- i) ศึกษาคุณสมบัติของไฟโบรอินที่เตรียมขึ้นได้
- ii) การพัฒนาโกลด์นาโนไอออนเซออร์ ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs
- iii) การพัฒนาโกลด์นาโนไอออนเซออร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS
- iv) การพัฒนาโกลด์นาโนไอออนเซออร์โดยชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE

4.1 การวิเคราะห์เอกลักษณ์

-เทคนิค UV-vis spectrophotometry

จากการนำสารละลายโกลด์นาโนไอออนออกซิเดส (GOx), เซรีซิน (Sericin), ไฟโบรอินจากรังไหม (SF), อนุภาคทองคำนาโนไฟโบรอิน (AuNPs-SF) และ อนุภาคทองคำนาโนไฟโบรอินที่เติมสารละลายโกลด์นาโนไอออนออกซิเดส (AuNPs-SF_Gox) ที่เตรียมได้ มาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.1

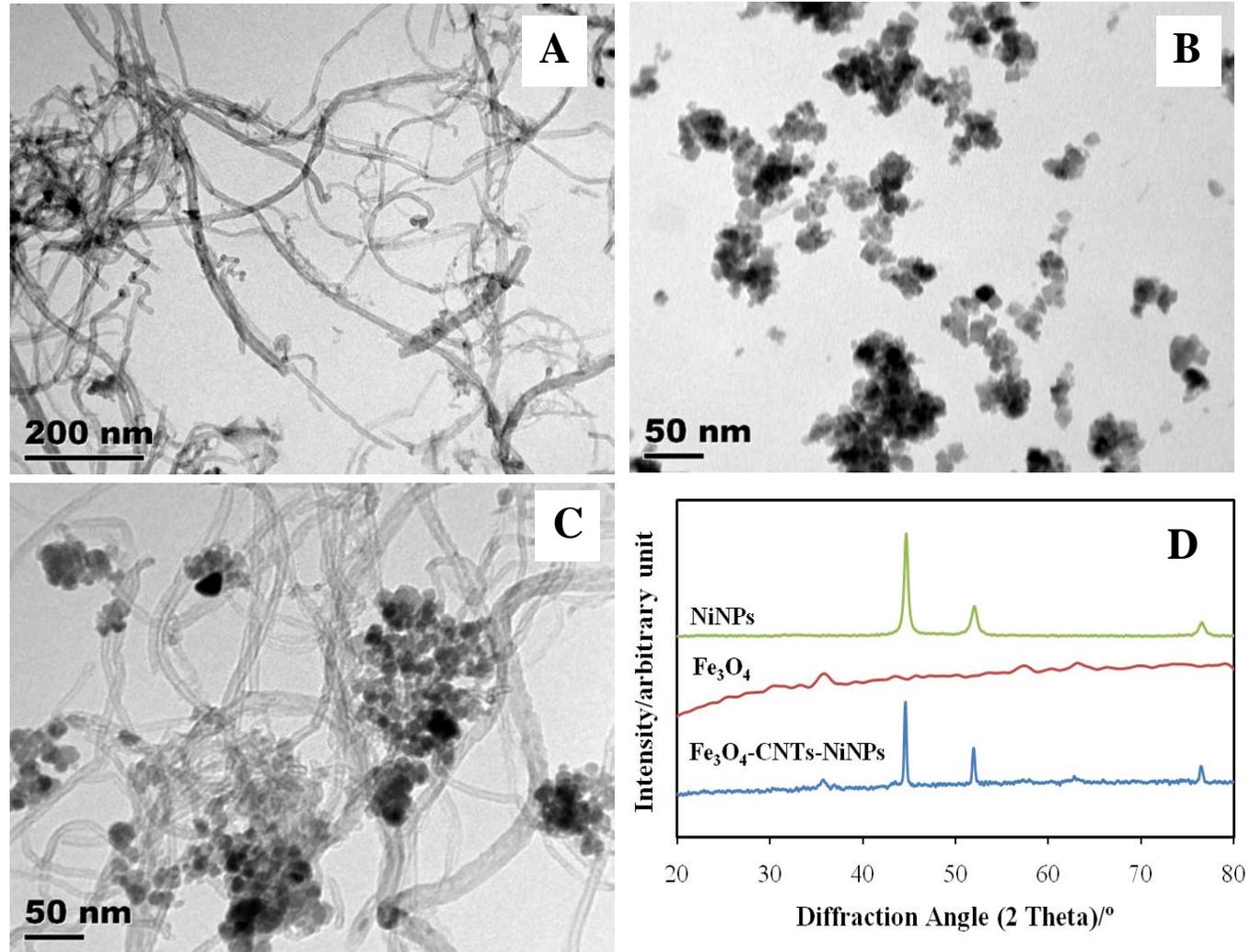


รูปที่ 4.1 UV-vis spectra ของสารละลายโกลด์นาโนไอออนออกซิเดส (Gox), เซรีซิน (Sericin), ไฟโบรอินจากรังไหม (SF), อนุภาคทองคำนาโนไฟโบรอิน (AuNPs-SF) และ อนุภาคทองคำนาโนไฟโบรอินที่เติมสารละลายโกลด์นาโนไอออนออกซิเดส (AuNPs-SF_Gox)

รูปที่ 4.1 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของไฟโบรอินจากรังไหม (SF) มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น (λ_{\max}) 240 nm, ไกลโคสออกซิเดส (Gox) ให้ค่า λ_{\max} ที่ประมาณ 535 nm, อนุภาคทองคำนาโน-ไฟโบรอิน (AuNPs-SF) ให้ค่า λ_{\max} ที่ประมาณ 530 nm ส่วนอนุภาคทองคำนาโน-ไฟโบรอินที่เติมสารละลายไกลโคสออกซิเดส (AuNPs-SF_Gox) ให้ค่า λ_{\max} ที่ประมาณ 240 nm และ 530 nm ตามลำดับ

-การวิเคราะห์เอกลักษณ์โดยใช้เทคนิค Transmission electron microscopy

การตรวจวัดลักษณะทางกายภาพของ nanocomposites จะใช้เทคนิค transmission electron microscopy (TEM) ภาพถ่ายในรูป 4.2 จะเป็น รูปของ (A) CNTs-COOH ที่สังเคราะห์ด้วยเทคนิค co-precipitation, (B) NiNPs ที่สังเคราะห์ได้ และ (C) nanocomposites ของ Fe_3O_4 -CNT-NiNPs และ (D) XRD pattern ของ nanocomposites ที่สังเคราะห์ได้ ผลจากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (TEM) ในรูปที่ 4.2 (A) จะพบลักษณะทางกายภาพของ CNTs ที่มีลักษณะเป็นท่อขนาดเล็ก รูป 4.2 (B) แสดงการกระจายตัวของ NiNPs ที่สังเคราะห์ได้จากการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ Ni^{2+} ด้วยhydrazine ในสภาวะที่มีเอทิลีนไกลคอลเป็นตัวกลางช่วยให้เกิดความเสถียร [34] โดย NiNPs ที่สังเคราะห์ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 21.6 ± 3.2 nm (count = 50) ภาพถ่าย TEM ในรูป 4.2 (C) แสดงให้เห็นลักษณะของการกระจายตัวของอนุภาค Fe_3O_4 และ NiNPs บนพื้นผิวของ ที่มีลักษณะเป็นท่อ CNTs ขนาดอนุภาคที่ deposit บนท่อมีความสม่ำเสมอ และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.3 ± 1.6 nm (count = 50) ส่วนรูป (D) XRD pattern ของ NiNPs, Fe_3O_4 และ Fe_3O_4 -CNTs-NiNPs ที่สังเคราะห์ได้ XRD pattern ของ NiNPs แสดงพีคที่ ค่า 2θ ประมาณ 44.5° , 51.8° and 76.1° ซึ่งเป็น planes ของ (111), (200) และ (220) สำหรับ fcc nickel สอดคล้องกับรายงาน [34] :ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารที่เตรียมได้ เป็น NiNPs ส่วน XRD pattern ของ Fe_3O_4 แสดงพีคที่ค่า 2θ ประมาณ 30.6° , 35.7° , 43.4° , 53.6° , 57.4° และ 63.3° ซึ่งเป็น planes ของ (220), (311) , (400), (422), (511) และ (440) สำหรับ spinel structure สอดคล้องกับงานวิจัยของ [35]. ส่วน XRD pattern ของ Fe_3O_4 -CNTs-NiNPs แสดงพีคที่ค่า 2θ ที่สอดคล้องกับ pattern ของ NiNPs และ Fe_3O_4 แสดงให้เห็นว่าเกิดการกระจายตัวของ Fe_3O_4 และ NiNPs บนพื้นผิวของ CNTs.



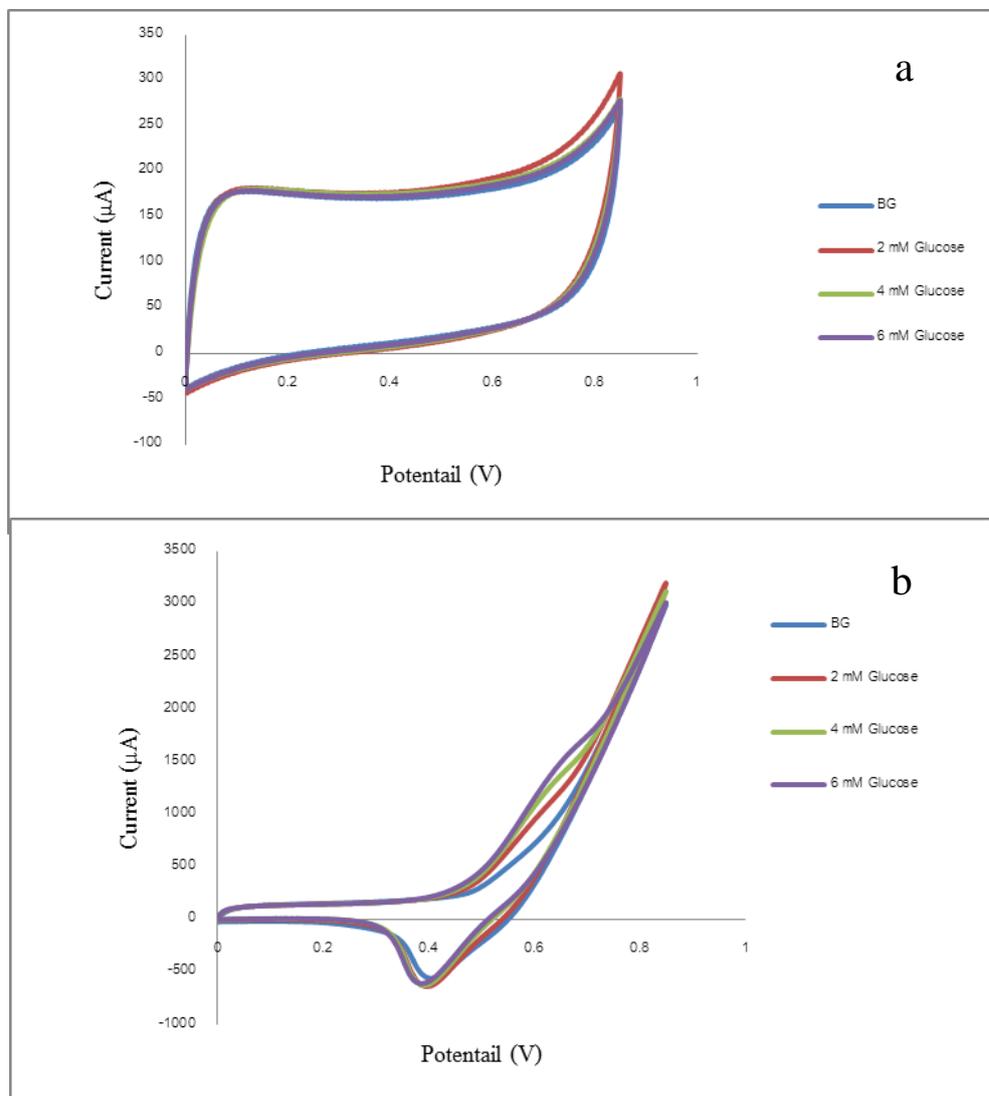
รูปที่ 4.2 TEM images ของ (A) CNTs-COOH (B) NiNPs and (C) Fe₃O₄-CNT-NiNPs.

4.2 การพัฒนาวัสดุโกลโคสเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs

4.2.1 ศึกษาหาค่าประกอบที่เหมาะสมของวัสดุโกลโคสเคมีคัลเซนเซอร์

สัญญาณโกลโคสที่ขั้วไฟฟ้าเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs

ในการศึกษาพัฒนาวัสดุโกลโคสเคมีคัลเซนเซอร์ ทำการศึกษาโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs วัดสัญญาณของโกลโคสที่ขั้วไฟฟ้าโดยใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนูน 2 ชนิด คือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์และ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 3.2 กราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรม ในรูป 3.1a ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนูน ส่วนในรูป 4.3 ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์

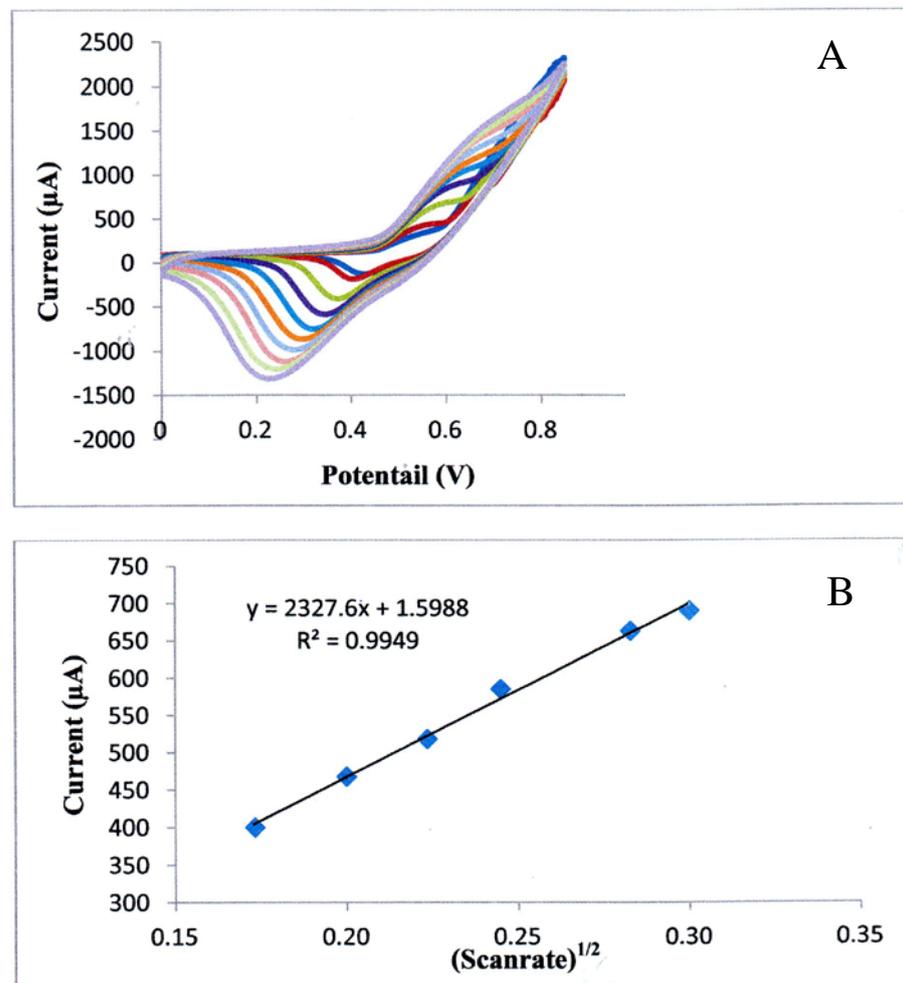


รูปที่ 4.3 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของโกลโคสความเข้มข้น 2, 4 และ 6 mM ที่ขั้วไฟฟ้าชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs เมื่อใช้ a) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7) และ b) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (pH 13) เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนูน

จากผลการศึกษาพัฒนาวัสดุโกลด์นาโนเคลือบคาร์บอนนาโนทิวส์ในรูปที่ 4.3 พบว่าขั้วไฟฟ้าเคมีคาร์บอนนาโนทิวส์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs เมื่อใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือโพแทสเซียมเพอร์คลอเรต (pH 7) จะไม่แสดงสัญญาณของโกลด์ แต่ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (รูปที่ 4.2b) วัสดุโกลด์สามารถเกิดออกซิเดชันได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ 0.6 V โดยค่ากระแสแอมแปร์ที่ได้เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโกลด์ที่เติม

4.2.2 Scan rate dependence study

ผลการทดลองของ scan rate dependence study ของวัสดุโกลด์ที่ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวส์เคลือบคาร์บอนนาโนทิวส์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs แสดงดังรูปที่ 4.4

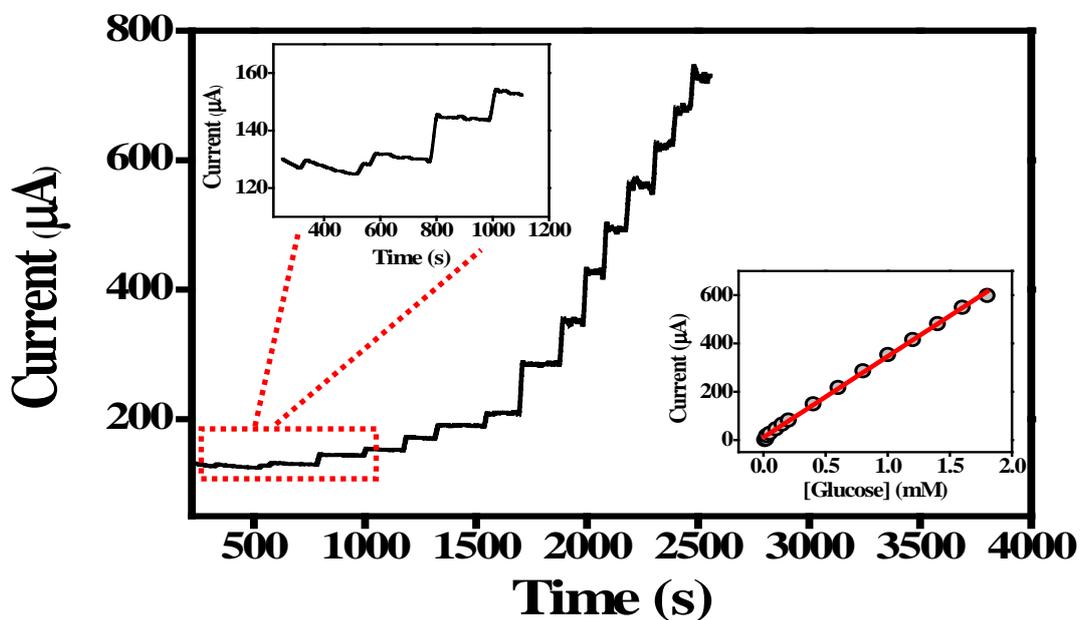


รูปที่ 4.4 A) โวลแทมโมแกรมของวัสดุโกลด์ที่อัตราเร็วในการสแกนค่าต่าง ๆ (0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07 และ 0.08 VS⁻¹) ที่ขั้วไฟฟ้าเคมีคาร์บอนนาโนทิวส์เคลือบคาร์บอนนาโนทิวส์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs B) พล็อตระหว่างค่ากระแสที่ได้กับค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.4 จะเห็นว่าเมื่อใช้อัตราเร็วในการสแกนที่สูงขึ้นจะได้ค่ากระแสที่สูงขึ้น เมื่อนำค่ากระแสที่ได้มาพล็อตกับค่าค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน (ดังรูปที่ 4.4 B) พบว่าค่ากระแสแปรผันตรงกับค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน ($r^2=0.995$) แสดงว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบ diffusion control process และไม่เกิดการดูดซับของผิวของขั้วไฟฟ้า GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs

4.2.3 การตรวจวัดสัญญาณโกลด์นาโนอนุภาคแบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วไฟฟ้าเคมีคัลเซนเซอร์ (GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs)

การทดลองวัดปริมาณโกลด์นาโนอนุภาคแบบแอมเพอร์โรเมทรีด้วยเทคนิค chronoamperometry ที่ขั้วไฟฟ้าเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.55 V ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 A) สัญญาณค่ากระแสของสารละลายโกลด์นาโนอนุภาค ที่ได้จากการทดลองโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs (เติมสารละลายมาตรฐานโกลด์นาโนอนุภาค ทุก ๆ 50 วินาที) รูปแทรก แสดงสัญญาณของค่ากระแสที่ความเข้มข้นของโกลด์นาโนอนุภาคต่ำๆ และกราฟมาตรฐาน

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.5A ค่ากระแสของโกลด์นาโนอนุภาคจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมสารละลายมาตรฐานโกลด์นาโนอนุภาค เมื่อนำค่ากระแสที่ได้มาพล็อตกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 4.5B) พบว่าขั้วไฟฟ้าเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs ที่ได้พัฒนาขึ้นให้สัญญาณที่มีสภาพไวสูง ให้การตอบสนองแบบเป็นเส้นตรงเมื่อมีความเข้มข้นของโกลด์นาโนอนุภาคสูงขึ้น ช่วงความเข้มข้น 0.01 ถึง 1.8 มิลลิโมลาร์ ค่าความชันเท่ากับ 333.25 ไมโครแอมแปร์ต่อมิลลิโมลาร์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r^2) เท่ากับ 0.998

ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (detection limit) มีค่าเท่ากับ 6.7 ไมโครโมลาร์ (3S/N) ค่ากระแสที่ได้จากการวัดมีความเที่ยง (precision) ดีมากคือให้ค่า %RSD เท่ากับ 2.7 (วัดจากสัญญาณของโกลด์นาโนอนุภาคความ

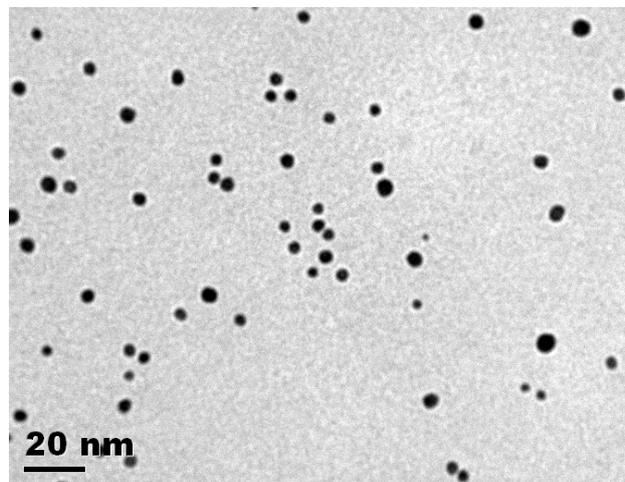
เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ , $n = 5$) เคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs ที่พัฒนาขึ้นมีสภาพไวสูงในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส และให้สัญญาณที่มีความเสถียรสูง

4.3 การพัฒนาอิเล็กโทรดโกลด์-โพลีเอทิลีนไดออกไซด์-คาร์บอนนาโนทิวบ์-นิกเกิลนาโนพาร์ติเคิล/GOx/SF-AuNPs-CS

ในการศึกษาพัฒนาอิเล็กโทรดโกลด์-โพลีเอทิลีนไดออกไซด์-คาร์บอนนาโนทิวบ์-นิกเกิลนาโนพาร์ติเคิล/GOx/SF-AuNPs-CS วัตถุประสงค์ของอิเล็กโทรดที่ขั้วไฟฟ้าโดยใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 7.0) ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 4.5

4.3.1 เทคนิค Transmission electron microscopy

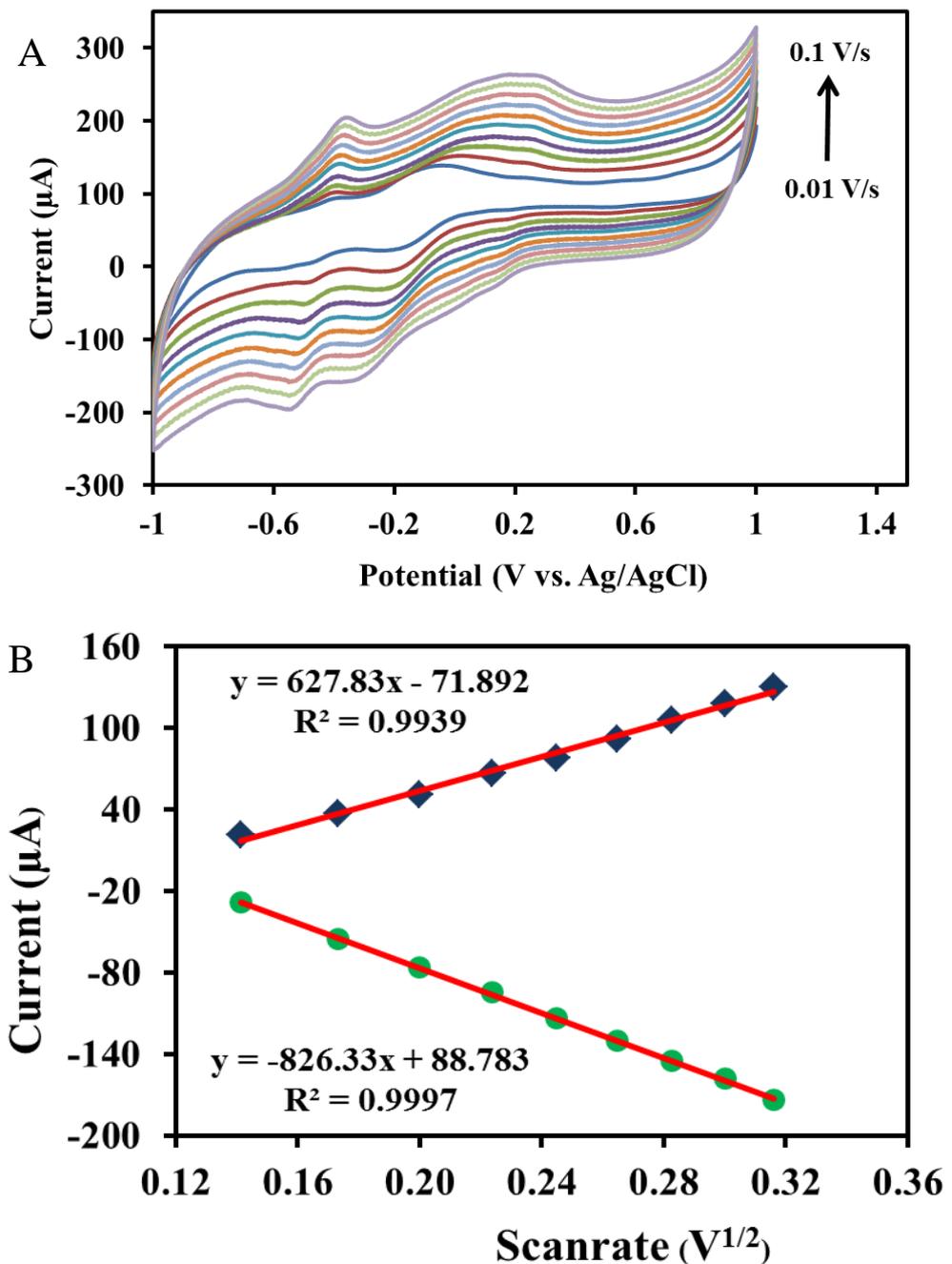
ภาพถ่ายในรูป 4.6 จะเป็นรูปของการตรวจวัดลักษณะทางกายภาพของอนุภาคทองคำนาโน-โพลีเอทิลีนไดออกไซด์ (AuNPs-SF) ที่สังเคราะห์ได้จะใช้เทคนิค TEM ผลจากการวิเคราะห์ด้วยภาพถ่ายพบว่าอนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) ซึ่งเตรียมมาจากการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของไอออน Au⁴⁺ ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และถูกทำให้เสถียรในสารละลายโพลีเอทิลีนไดออกไซด์ (SF) มีขนาดเฉลี่ยเท่ากับ 4.3 ± 0.8 นาโนเมตร ($n=50$ particles) และจะเห็นว่าอนุภาคขนาดนาโนที่เตรียมได้มีขนาดเล็ก มีการกระจายตัวอยู่ในสารละลายอย่างสม่ำเสมอ ไม่เกิดการรวมตัวกัน (aggregation)



รูปที่ 4.6 TEM images ของอนุภาคทองคำนาโน-โพลีเอทิลีนไดออกไซด์ (AuNPs-SF) ที่สังเคราะห์ได้

4.3.2 Scan rate dependence study

ผลการทดลองของ scan rate dependence study ของอิเล็กโทรดที่ขั้วกลูโคส-โพลีเอทิลีนไดออกไซด์-คาร์บอนนาโนทิวบ์-นิกเกิลนาโนพาร์ติเคิล/GOx/SF-AuNPs-CS แสดงดังรูปที่ 4.7

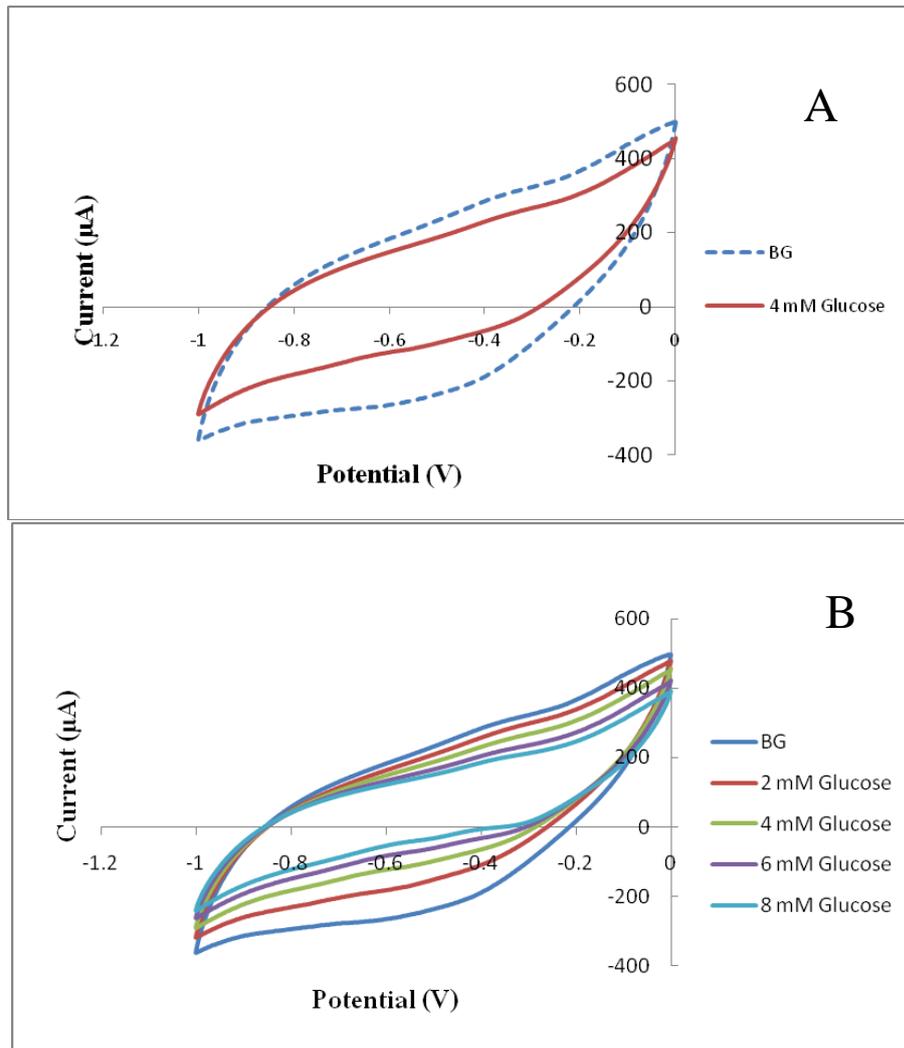


รูปที่ 4.7 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ขั้วไปโอเซนเซอเรอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS ของ A) ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของกลูโคสที่อัตราเร็วในการสแกนค่าต่าง ๆ (0.01- 0.10 V S⁻¹) B) พล็อตระหว่างค่ากระแสที่ได้กับค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.7 จะเห็นว่าเมื่อใช้อัตราเร็วในการสแกนที่สูงขึ้นจะได้ค่ากระแสที่สูงขึ้น เมื่อนำค่ากระแสที่ได้มาพล็อตกับค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน (ดังรูป 7.4 B) พบว่าค่ากระแสแอโนดิกและแคโทดิกแปรผันตรงกับค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน ค่า $r^2=0.994$ และ 0.999 ตามลำดับ แสดงว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบ diffusion control process และไม่เกิดการดูดซับของที่ผิวของขั้วไปโอเซนเซอเรอร์ GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS

4.3.3 สัญญาณกลูโคสที่ขั้วอิเล็กโทรดไบโอเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS

ในการพัฒนาอิเล็กโทรดไบโอเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS จะนำขั้วไบโอเซนเซอร์ที่เตรียมได้มาวัดสัญญาณของกลูโคส โดยใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 7.0) ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 โวลแทมโมแกรมที่ขั้วไบโอเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS ของ A) กลูโคสความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ และสัญญาณค่ากระแสพื้น (background; BG) เมื่อใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (พีเอช 7) เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือโพแทสเซียม และ B) กลูโคสความเข้มข้น 2, 4, 6 และ 8 มิลลิโมลาร์

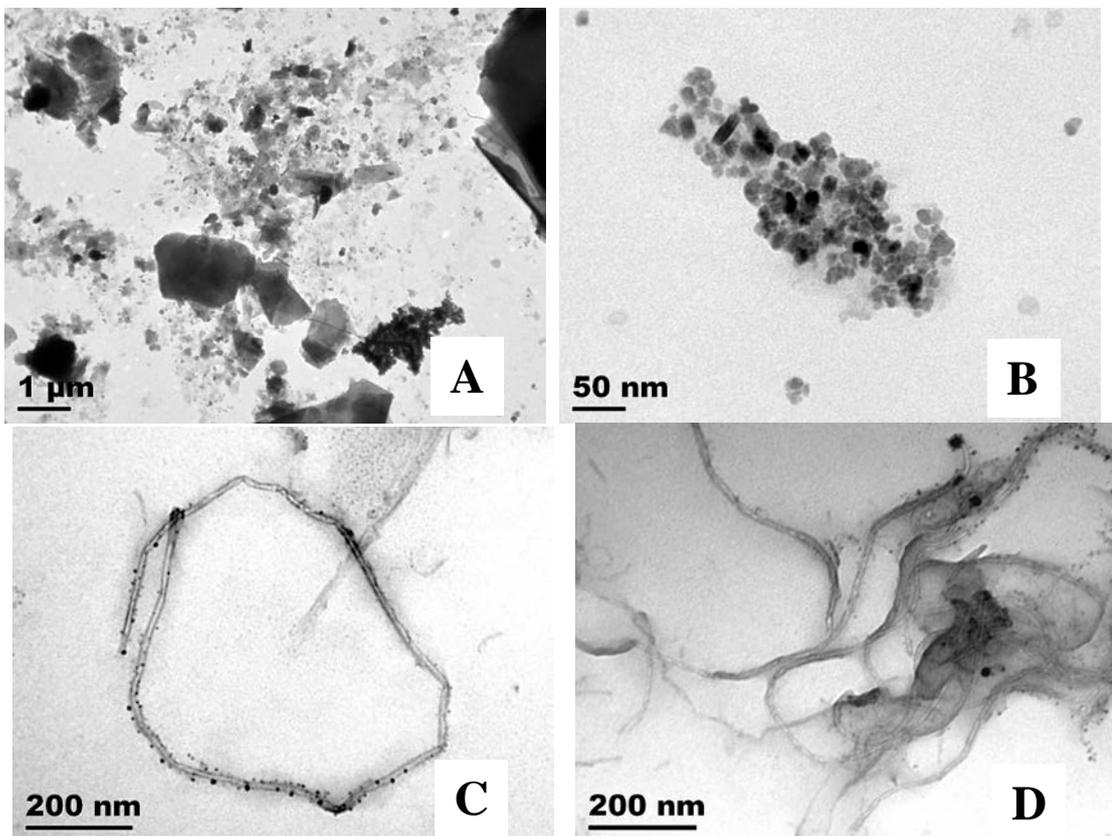
จากกราฟรูป 4.8 A จะเห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้ระหว่างสัญญาณค่ากระแสพื้น (background; BG) และสัญญาณของกลูโคส พบว่าค่ากระแสลดลงเมื่อมีการเติมกลูโคสลงในสารละลาย เมื่อทำการทดลองซ้ำโดยการเตรียมอิเล็กโทรดขึ้นมาใหม่ และนำไปวัดสัญญาณของกระแสพื้นเทียบกับสัญญาณของกลูโคสได้ผลการทดลองดังรูป 4.8 B จากรูป CVs พบว่าเมื่อเติมกลูโคสปริมาณมากขึ้น

ค่ากระแสที่ได้กลับลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของขั้วไฟฟ้ายังไม่เหมาะสม หรือมีการหลุดของอนุภาคนาโนที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และหรือมีการหลุดของเอนไซม์ GOx ทำให้ค่ากระแสที่วัดได้มีค่าลดลง

4.4 การพัฒนาขั้วไฟฟ้าไกลูโคสไบโอเซนเซอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE

4.4.1 การวิเคราะห์เอกลักษณ์ของวัสดุเชิงประกอบขนาดนาโนด้วย TEM

ลักษณะโดยทั่วไปของพื้นผิว CNTs มีความเป็นไฮโดรโฟบิกสูง ทำให้ของเหลวที่มีค่าแรงตึงผิว (surface tension) สูงกว่า $100\text{-}200\text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ ไม่สามารถที่จะเข้าไปสัมผัสที่พื้นผิวได้ [21] และทำให้โลหะส่วนมากไม่สามารถเข้าไปเกาะที่พื้นผิวของท่อ CNTs ได้ ในงานวิจัยนี้จะอาศัยโพลิเมอร์ ชนิด PDDA ที่มีประจุบวกในการนำ PtNPs เข้าไปกระจายตัวที่พื้นผิวของท่อ CNTs โดยเริ่มต้นจะนำ CNTs-COOH ซึ่งมีประจุเป็นลบมา coated ด้วยโพลิเมอร์ PDDA ตามด้วยการ deposit ของ PtNPs จะได้อนุภาค CNTs-PDDA-PtNPs เมื่อนำสารต่าง ๆ ที่สังเคราะห์ได้มาตรวจสอบลักษณะทางกายภาพด้วยเทคนิค TEM ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 TEM images ของ (A) graphite (B) PtNPs (C) CNTs-PDDA-PtNPs และ (D) CNTs-PDDA-PtNPs-GOx-graphite

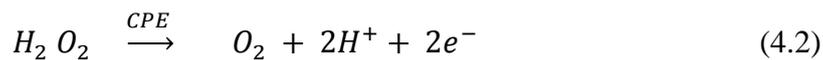
รูปที่ 4.9 เป็นภาพถ่าย TEM ของ (A) graphite ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นที่เรียงซ้อนทับกัน รูป (B) แสดงลักษณะของ PtNPs ที่เตรียมจากการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ Pt^{4+} ด้วย ascorbic acid และ potassium iodide ในสภาวะที่มี CTAB เป็นตัวกลางช่วยให้เกิดความเสถียร [22] โดย PtNPs ที่สังเคราะห์ได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ $12.7\pm 2.7\text{ nm}$ (count = 100). รูป 4.9(C) ซึ่งเป็นภาพถ่ายของ CNTs-PDDA-PtNPs

แสดงให้เห็นการกระจายตัวของ PtNPs ที่เกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอตลอดทั่วพื้นผิวของท่อของ CNTs และรูป 4.9 (D) แสดง CNTs-PDDA-PtNPs-GOx-graphite ซึ่งจะเห็นชั้นบาง ๆ ของเอนไซม์ GOx ที่เคลือบอยู่บนพื้นผิวของ CNTs-PDDA-PtNPs-Graphite ประจุลบของ CNTs จะดึงดูดประจุบวกของ PDDA และทำให้ PtNPs และเอนไซม์ GOx เข้ามาติดซับที่พื้นผิวของวัสดุเชิงประกอบขนาดนาโนนี้ได้

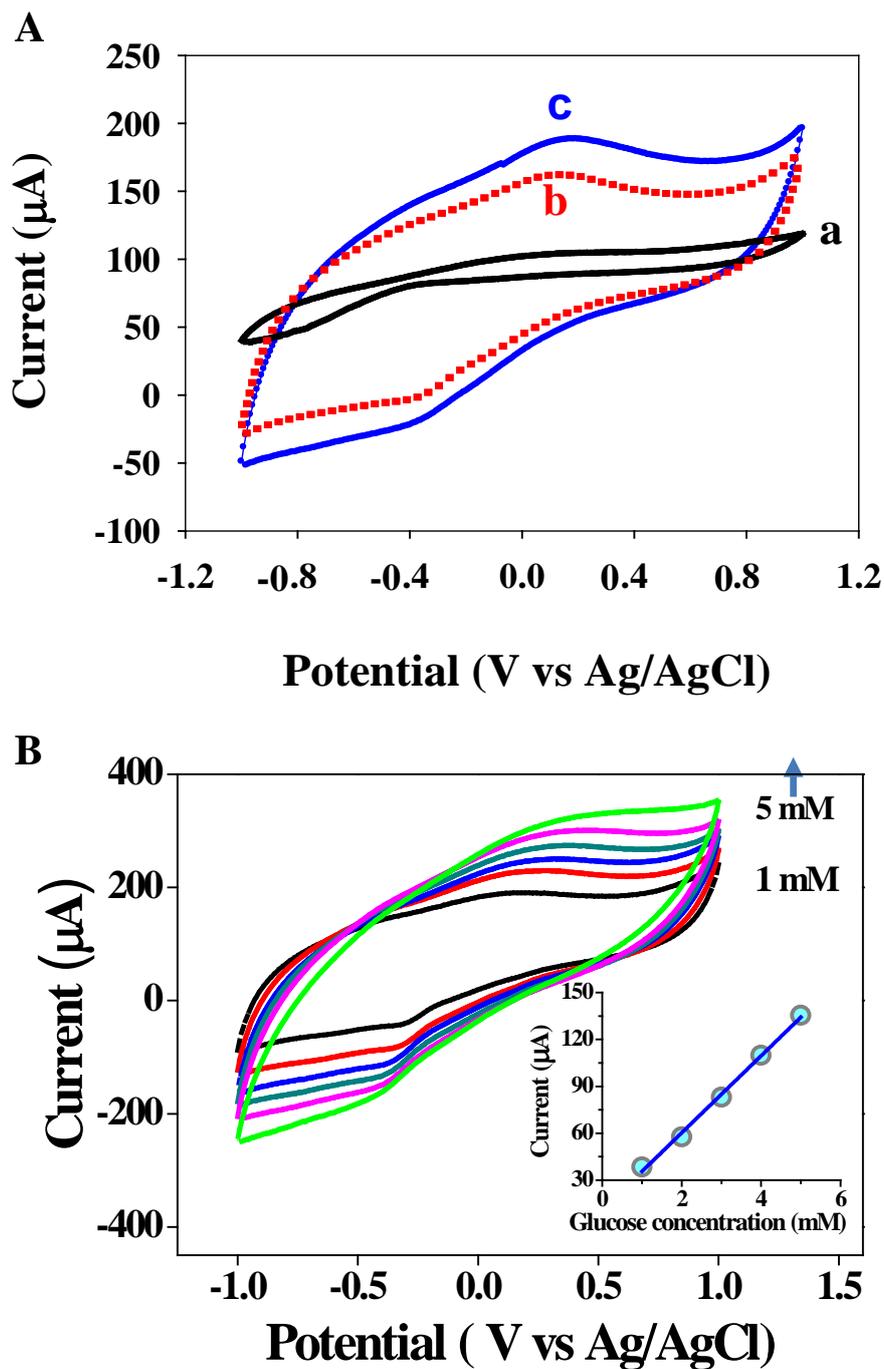
4.4.2 สัญญาณของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE

ในการพัฒนาขั้วไฟฟ้ากลูโคสไบโอเซนเซอร์โดยการเตรียมเป็นคาร์บอนเพลสดีเล็กโทรดที่ไม่ดีฟายด์ด้วยนาโนคอมโพสิตของ CNTs-PDDA-PtNPs-GOx เมื่อนำขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้มาทดสอบสัญญาณของกลูโคสพบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.10

จากผลการศึกษาพัฒนาวัสดุโกลด์นาโนอนุภาคไฮดรอกซีออกไซด์ในรูปที่ 4.10 A พบว่าขั้วไฟฟ้าชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE แสดงสัญญาณค่ากระแสของกลูโคสสูงที่สุด โดยกลูโคสจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ 0.37 V ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงได้ดังสมการ



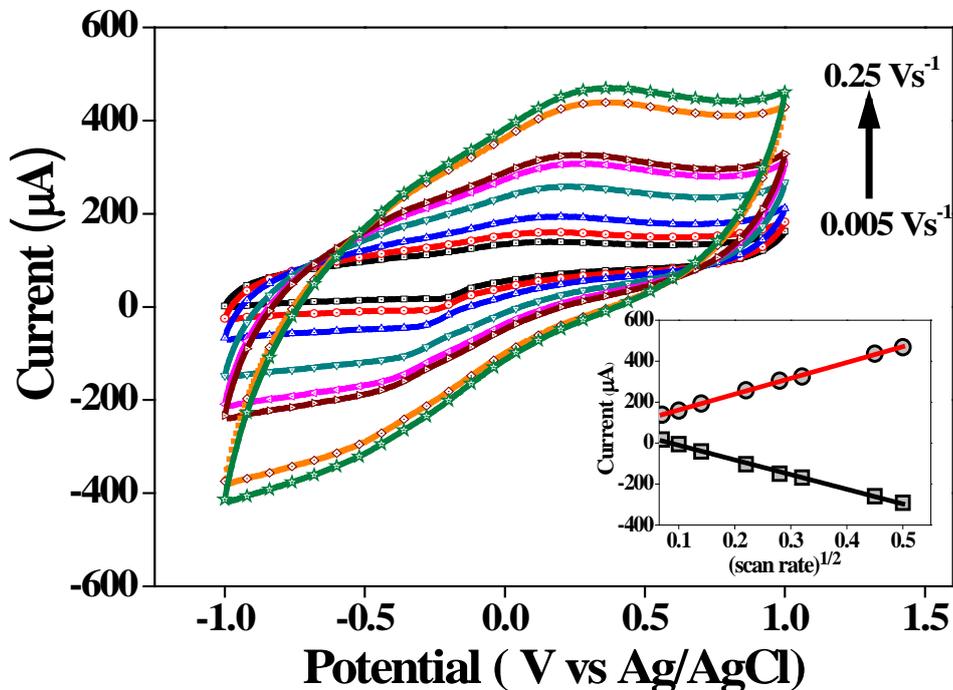
เมื่อนำขั้วไฟฟ้ากลูโคสไบโอเซนเซอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE มาวัดปริมาณผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.10 B พบว่าค่ากระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมแปรผันตรงกับความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมลงไป รูปแทรกใน 4.10 B แสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากสัญญาณค่ากระแสและปริมาณของกลูโคสในช่วงความเข้มข้น 1- 5 มิลลิโมลาร์ ซึ่งจะได้สมการเส้นตรงที่มีค่าความชัน เท่ากับ $24.7 \mu\text{A mM}^{-1}$ และค่า $r^2=0.997$ ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้ากลูโคสไบโอเซนเซอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE เหมาะสำหรับนำมาวัดปริมาณกลูโคส



รูปที่ 4.10 cyclic voltammogram ของ (A) กลูโคสความเข้มข้น 2 mM ที่ขั้วไฟฟ้ากลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่เตรียมจากองค์ประกอบต่างๆ ดังนี้ (a) PtNPs-GOx/CPE, CNTs-PDDA-GOx/CPE (b) และ (c) CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE; scan rate: 0.05 Vs^{-1} และ (B) สัญญาณที่ขั้วไฟฟ้าชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE เมื่อมีกลูโคสความเข้มข้น ความเข้มข้น 1- 5 mM เมื่อใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนึ่ (รูปแทรกแสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม)

4.4.3 Scan rate dependence study

ผลการทดลองของ scan rate dependence study ของวัสดุโกลด์นาโนไอออนเซอเรอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE แสดงดังรูปที่ 4.11



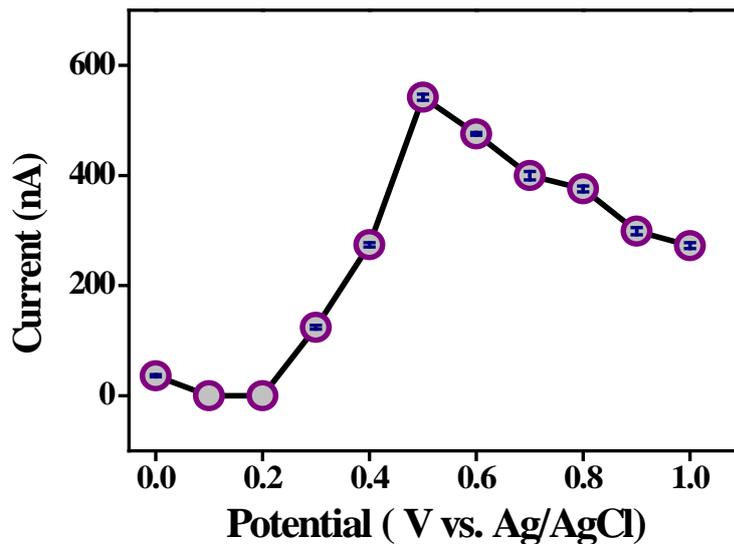
รูปที่ 4.11 โวลแทมโกรมของวัสดุโกลด์นาโนไอออนเซอเรอร์ที่อัตราเร็วในการสแกนค่าต่าง ๆ (0.05-0.25 V s⁻¹) ของวัสดุโกลด์นาโนไอออนเซอเรอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE รูปแทรกแสดงการพล็อตระหว่างค่ากระแสที่ได้ I_{p,a} และ I_{p,c} กับค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.11 จะเห็นว่าเมื่อใช้อัตราเร็วในการสแกนที่สูงขึ้นจะได้ค่ากระแสที่สูงขึ้น เมื่อนำค่ากระแสที่ได้ I_{p,a} และ I_{p,c} มาพล็อตกับค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน (ดังรูปแทรก) พบว่าค่ากระแสแปรผันตรงกับค่าสแควร์รูทของอัตราเร็วในการสแกน โดยมีค่า r²=0.999 และ 0.997 ตามลำดับ แสดงว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบ diffusion control process และไม่เกิดการดูดซับของที่ผิวของขั้วไฟฟ้า CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE

4.4.4 เอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วโกลด์นาโนไอออนเซอเรอร์ที่พัฒนาขึ้น (CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE) ในระบบที่มีการไหล

การศึกษาหาคักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมใน

การนำเทคนิคโพลินเจคชันมาใช้ร่วมกับการตรวจวัดแบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วโกลด์นาโนไอออนเซอเรอร์ที่พัฒนาขึ้น (CNTs-PDDA-AuNPs/GC) จะทำให้ได้เทคนิคในการตรวจวัดโกลด์ ที่สะดวก รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูง ตัวแปรแรกในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม คือคักย์ไฟฟ้าในการตรวจวัด กระแสจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของโกลด์ ผลการทดลองดังรูปที่ 4.12

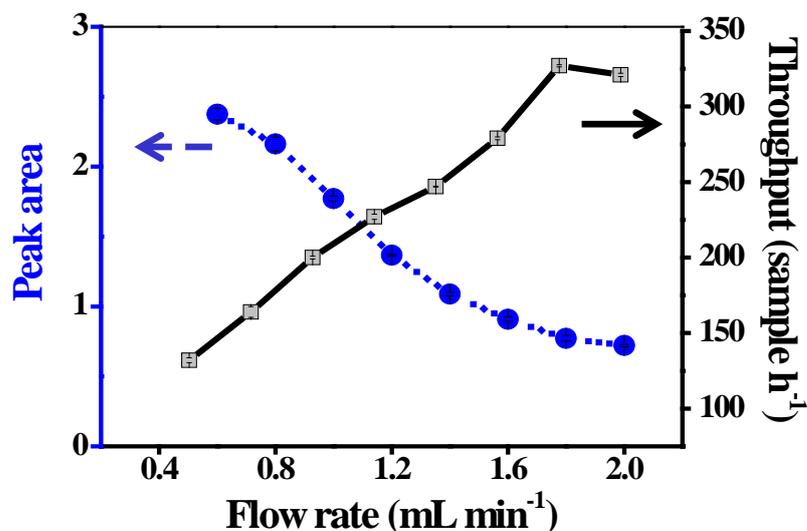


รูปที่ 4.12 ผลของศักย์ไฟฟ้าที่ให้ต่อการตอบสนองของค่ากระแสของวัสดุโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE ที่พัฒนาขึ้นในระบบโพลีเมอร์เจคชั่น

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.12 พบว่าเมื่อเพิ่มศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ +0.0 ถึง +0.5 โวลต์ ค่ากระแสที่ได้จะเพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นถึงการตอบสนองที่ดีขึ้นของวัสดุโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์ที่ถูกควบคุมโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันของโกลด์นาโนอนุภาคที่เกิดขึ้น ทำให้ค่ากระแสที่ได้เพิ่มมากขึ้น และเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้ามากกว่า +0.5 โวลต์ ค่ากระแสจะลดลง โดยที่ศักย์ไฟฟ้าที่ +0.5 โวลต์ จะให้ค่ากระแสสูงสุด จึงเป็นศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการวัดการตอบสนองของวัสดุโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์

ศึกษาหาอัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่เหมาะสม

ในการศึกษาอัตราการไหล (flow rate) ของสารละลายตัวพา หรือ carrier solution (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์, พีเอช 7.0) ที่เหมาะสมจะศึกษาในช่วงอัตราการไหล 0.5-2.0 mL min⁻¹ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.13

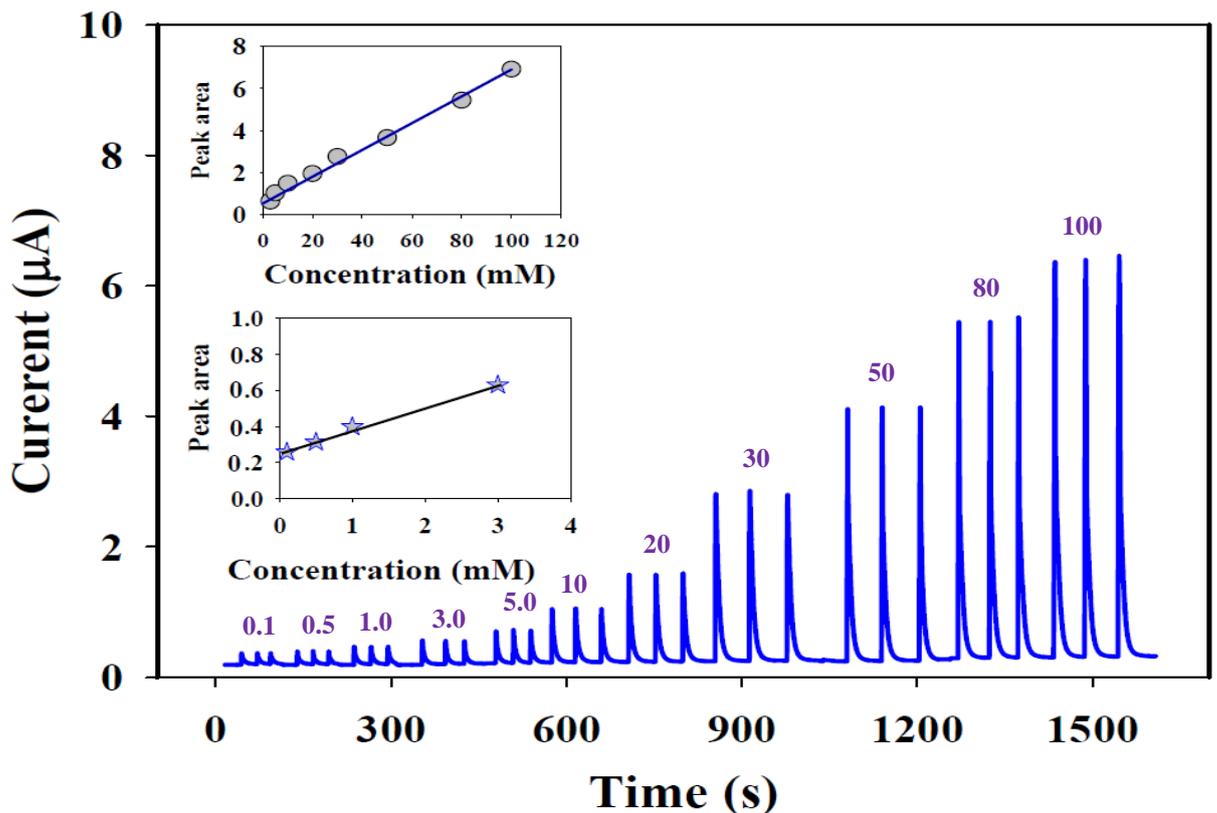


รูปที่ 4.13 ผลของอัตราการไหลต่อการตอบสนองของค่ากระแสและ sample throughput ของวัสดุโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE

ผลการทดลองจากรูปที่ 4.13 พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายตัวพาจะทำให้ได้ค่ากระแสที่ต่ำลง แต่ใช้เวลาในการตรวจวัดสารตัวอย่างสั้นลงซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้ทั่วไปของการวิเคราะห์แบบ enzyme-based assay ในระบบที่มีการไหล สอดคล้องกับผลการศึกษางานวิจัยที่เคยตีพิมพ์มาก่อน [36-38] คือเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายตัวพาเพิ่มขึ้นจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมง (sample throughput) มีค่าสูงขึ้น ดังนั้นเพื่อพัฒนาระบบวิเคราะห์ที่สามารถตรวจวัดได้รวดเร็ว ดังนั้นจึงพิจารณาข้อมูลของ throughput พบว่าเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้นจาก $0.5-2.0 \text{ mL min}^{-1}$ สามารถตรวจวัดตัวอย่างได้จำนวนมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เพื่อให้ได้ระบบวิเคราะห์ที่มีสภาพไวสูงและจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงสูง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกอัตราการไหลที่ 1.0 mL min^{-1} เป็นค่าที่เหมาะสมและนำไปใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากสามารถตรวจวัดตัวอย่างได้รวดเร็วถึง 200 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

4.4.5 คุณลักษณะของวัสดุโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์ (CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE)

ได้ทดลองเพื่อหาคุณลักษณะของระบบโพลีเมอร์นาโนอนุภาคโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์ที่มีระบบตรวจวัดแบบแอมเพอโรเมทรีที่วัสดุโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE ที่พัฒนาขึ้น ตัวอย่างสัญญาณที่ได้จากการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 ตัวอย่างสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยระบบโพลีเมอร์นาโนอนุภาคโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์ที่มีระบบตรวจวัดแบบแอมเพอโรเมทรีที่วัสดุโกลด์นาโนอนุภาคโพลีเมอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE) ศักย์ไฟฟ้าในการวัด: +0.5 V (เทียบกับ Ag/AgCl), สารละลายตัวพา: ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0, อัตราการไหล: 1.0 mL.min^{-1}

ในการศึกษาคุณลักษณะของระบบวิเคราะห์แบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วเกลือโคสไปโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น พบว่ากราฟมาตรฐานของขั้วเกลือโคสไปโอเซนเซอร์มีการตอบสนองแบบเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานเกลือโคสอยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-100 มิลลิโมลาร์ โดยมีความสัมพันธ์แบบเป็นเส้นตรงสองช่วงความเข้มข้นดังนี้ ช่วงแรก ความเข้มข้น 0.1 ถึง 3 มิลลิโมลาร์ ค่าความชันเท่ากับ 0.127 ไมโครแอมแปร์ต่อ มิลลิโมลาร์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r^2) เท่ากับ 0.995 ช่วงที่สอง ความเข้มข้น 5 ถึง 100 มิลลิโมลาร์ ค่าความชันเท่ากับ 0.06 ไมโครแอมแปร์ต่อ มิลลิโมลาร์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.997

ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Detection limit) คำนวณจาก (3S/N) มีค่าเท่ากับ 0.015 มิลลิโมลาร์ ค่ากระแสที่ได้จากการวัดมีความเที่ยง (precision) ตีมากคือให้ค่า %RSD เท่ากับ 2.8 (วัดจากสัญญาณเกลือโคสความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์, $n = 15$) ระบบวิเคราะห์แบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วเกลือโคสไปโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีช่วงการตอบสนองแบบเป็นเส้นตรงในช่วงที่กว้าง เหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณเกลือโคสในตัวอย่างต่าง ๆ เช่น เครื่องดื่มบำรุงกำลัง น้ำเกลือแร่ และผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ เป็นต้น

4.4.6 การศึกษาผลของตัวรบกวนและการประยุกต์ใช้ในตัวอย่างจริง

ในการศึกษาผลของตัวรบกวนที่มีผลต่อระบบการวิเคราะห์แบบแอมเพอร์โรเมทรีที่พัฒนาขึ้น ตัวรบกวนที่ทำการศึกษาได้แก่ sodium chloride, sodium carbonate, maltose, fructose, sucrose และ ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อนำผลการทดลองของเอฟไอแอมแกรมที่ได้จากการทดลองตรวจวัดสารละลายผสมที่เติมตัวรบกวนที่ความเข้มข้นต่างๆมาเปรียบเทียบกับสัญญาณกระแสที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานเกลือโคสที่ไม่มีตัวรบกวน ถ้าสัญญาณกระแสที่ตรวจวัดได้มีความแตกต่างกัน $\pm 5\%$ แสดงว่ามีการรบกวนของสารตัวรบกวนที่เติมลงไปต่อระบบการวิเคราะห์ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาผลของตัวรบกวน เมื่อฉีดสารละลายมาตรฐานเกลือโคส ความเข้มข้น 1 mM ($n=3$)

Foreign species/added as	Results ^a (mM)
Cl ⁻ /NaCl	50
CO ₃ ²⁻ /H ₂ CO ₃	25
Maltose/C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	50
Fructose/C ₆ H ₁₂ O ₆	25
Sucrose/C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	25
Ascorbic acid/C ₈ H ₈ O ₆	5

^a Greater than a $\pm 5\%$ change in the signal is classified as interference.

จากตารางที่ 4.3 พบว่าตัวรบกวนที่ทำการศึกษาทั้ง 6 ชนิด ตัวรบกวน sodium chloride และ maltose มีค่า Tolerance limit เท่ากับ 50 มิลลิโมลาร์ ส่วน fructose, sucrose และ sodium carbonate มีค่า Tolerance limit เท่ากับ 25 มิลลิโมลาร์ ส่วน ascorbic acid มีค่า Tolerance limit

เท่ากับ 5 มิลลิโมลาร์ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากค่าความเข้มข้นของกลูโคส และสารรบกวนเหล่านี้ในตัวอย่างต่าง ๆ เช่น เครื่องดื่มบำรุงกำลัง น้ำเกลือแร่ และผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ที่จะนำมาวิเคราะห์ ปริมาณสารรบกวนเหล่านี้จะไม่แสดงการรบกวนต่อระบบการวิเคราะห์ ประกอบกับตัวอย่างจะถูกเจือจางที่ประมาณ 100 ถึง 1,000 เท่าก่อนการวิเคราะห์ ดังนั้นสารรบกวนเหล่านี้จึงไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์

ประเมินประสิทธิภาพของระบบโพลีเมอร์อินเจคชันอะนาไลซิสที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น (CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE) โดยการนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่ม (A-C) ตัวอย่างน้ำผึ้ง (D-F) และสารละลายกลูโคสสำหรับฉีดเข้าร่างกาย (F-H) นำผลลัพธ์วิเคราะห์ที่ได้จากระบบโพลีเมอร์อินเจคชันอะนาไลซิสที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น มาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานได้แก่ เครื่องตรวจวัดปริมาณกลูโคส (glucose meter) พบว่าได้ผลการทดลองตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่าผลลัพธ์วิเคราะห์ของปริมาณกลูโคสที่วิเคราะห์ได้จากในตัวอย่างเครื่องดื่ม (A-C) ตัวอย่างน้ำผึ้ง (D-F) และสารละลายกลูโคสสำหรับฉีดเข้าร่างกาย (F-H) จากการวิเคราะห์ด้วยระบบโพลีเมอร์อินเจคชันอะนาไลซิสที่มีระบบตรวจวัดแบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วไฟฟ้า CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE (our FI method) ค่าที่ระบุไว้ข้างขวด (labeled content) และค่าที่ได้จากเครื่องตรวจวัดปริมาณกลูโคส (comparative method) วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

Sample name	Sample type	Glucose content (% w/v)		
		Labeled content	Our FI method	Comparative method
A	Energy drink	2.1	2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1
B		4.0	3.8 ± 0.2	3.8 ± 0.2
C		8.0	8.0 ± 0.1	7.9 ± 0.1
D	Honey	-	32.4 ± 0.2	31.1 ± 0.6
E		-	20.0 ± 0.4	20.1 ± 0.3
F	Glucose for injection	50	49.3 ± 0.3	48.7 ± 0.4
G		50	50.5 ± 0.4	49.7 ± 0.5
H		50	50.4 ± 0.3	49.3 ± 0.5

จากการทดลองพบว่าปริมาณกลูโคสที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างเครื่องดื่ม (A-C) ตัวอย่างน้ำผึ้ง (D-F) และสารละลายกลูโคสสำหรับฉีดเข้าร่างกาย (F-H) ด้วยระบบโพลีเมอร์อินเจคชันอะนาไลซิสที่มีระบบตรวจวัดแบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วไฟฟ้า CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE ไม่แตกต่างกันมีนัยสำคัญกับผลลัพธ์วิเคราะห์

ที่ได้จากเทคนิคมาตรฐาน (จากเครื่องตรวจวัดปริมาณกลูโคส) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($t_{\text{observed}} = 2.5613$, เมื่อ $t_{\text{critical}} = 3.4995$)