รายงานผลการประดิษฐ์
ทุนอุดหนุนโครงการสิ่งประดิษฐ์

เรื่อง

เครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

681.761
M445r1

โดย

มานะ ศรียุทธศักดิ์

2533

รายงานฉบับสมบูรณ์
โครงการสิ่งประดิษฐ์

เรื่อง

เครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส
(Glucose sensor system)

โดย

มานะ ศรียุทธศักดิ์

สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เสนอ

ฝ่ายวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ธันวาคม พ.ศ. 2533

I18409441 15 S.A. 2542

บทคัดย่อ

เครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสแบบวัดกระแสไฟฟ้าได้ถูกประดิษฐ์ขึ้นโดยมีส่วนประกอบ 3 ส่วนคือ ผิวชั้นตรวจวัด หัววัดหรือทรานสดิวเซอร์ และเครื่องวัดสัญญาณ ทรานสดิวเซอร์นั้นเป็นแบบแผ่นฟิลม์บาง ทำโดยการประยุกต์เอาเทคโนโลยีของการสร้างสิ่งประดิษฐ์สารกึ่งตัวนำเข้ามาใช้โดยการระเหยทองขาวลงบนแผ่นกระจกด้วยเครื่องระเหยแบบใช้ลำอิเล็กตรอน

เอนไซม์กลูโคสอ๊อกซิเดส(glucose oxidase) ถูกตรึงลงบนทรานสดิวเซอร์ที่สร้างขึ้นเพื่อใช้เป็นผิวชั้นตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสโดยทำการตรึงร่วมกับสารส่งผ่านอิเล็กตรอน

ส่วนของเครื่องวัดสัญญาณนั้นออกแบบให้ทำหน้าที่เป็นโพเทนทิโอสตัต(potentiostat) เพื่อใช้ในการวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในปฏิกริยา โดยมีกำลังขยายสัญญาณได้จาก 10^3 ถึง 10^7 เท่า และสามารถใช้ในการศึกษาจลน์ศาสตร์ของระบบสารละลายได้

ระบบเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้สามารถใช้ในการวัดสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นในช่วง 0 - 5 mg/ml ได้โดยไม่มีผลของน้ำตาลฟรุกโตสและน้ำตาลซูโคสเข้ามารบกวน และสามารถละเลยผลของสัญญาณรบกวนจากกรดยูริคและกรดแอสคอบิคได้

ABSTRACT

Amperometric glucose sensor was fabricated. The system is composed of sensing membrane, transducer and measuring system. Semiconductor technology was applied to fabricate the transducers. The transducer is a thin film electrode which was prepared by evaporating platinum onto slide glasses using electron beam evaporator.

An enzyme, glucose oxidase, was then immobilized together with electron mediator onto the transducers to form a sensing membrane for glucose detection.

The measuring system was designed to work as a commercial potentiostat with an amplifying factor from 10^3 to 10^7. It can also be used to study a kinetic of solution system.

The fabricated glucose sensor can measure glucose solution with concentration in the range of 0 to 5 mg/ml without any interference from fructose and sucrose. The interference signal from uric acid and ascorbic acid can also negligible.

ประกาศกิตติกรรม

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการสิ่งประดิษฐ์ ฝ่ายวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผู้วิจัยจึงขอแสดงความขอบคุณฝ่ายวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ณ ที่นี้

การดำเนินการวิจัยนี้สำเร็จได้โดยได้รับความร่วมมือในการใช้สถานที่และเครื่องมือจากสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และห้องปฏิบัติการวิจัยสิ่งประดิษฐ์สารกึ่งตัวนำ ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ คุณศิริลักษณ์ ธีระดากร สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังโดยวิธีการวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรมิเตอร์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ		i
ประกาศกิตติกรรม		ii
บทที่ 1	บทนำ	1
1.1	สถานภาพของเครื่องตรวจวัดและไบโอเซนเซอร์	1
1.2	ความสำคัญของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส	3
1.3	วัตถุประสงค์ของการวิจัยและพัฒนา	3
บทที่ 2	หลักการประดิษฐ์เครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส	4
2.1	หลักการวัดน้ำตาลกลูโคสโดยการใช้สเปคโตรมิเตอร์	4
2.2	หลักการวัดน้ำตาลกลูโคสโดยการใช้หัวตรวจวัด	4
บทที่ 3	ขั้นตอนการประดิษฐ์เครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส	6
3.1	การประดิษฐ์ทรานสดิวเซอร์	6
3.2	การประดิษฐ์ส่วนทำปฏิกริยา	10
	3.2.1 หลักการตรึงเอนไซม์	10
	3.2.2 การทดลองตรึงเอนไซม์	10
3.3	การประดิษฐ์ส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผล	14
3.4	การประเมินต้นทุนการประดิษฐ์	16
บทที่ 4	การทดสอบสมรรถนะของเครื่องวัดน้ำตาลกลูโคส	17
4.1	การทดสอบการทำงานเบื้องต้นของทรานสดิวเซอร์และเครื่องวัด	17
4.2	การทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานในการวัดน้ำตาลกลูโคส	19
บทที่ 5	การหาปริมาณที่เหมาะสมของการตรึงเอนไซม์และสารส่งผ่านอิเล็กตรอน	23
5.1	การหาปริมาณที่เหมาะสมของของเอนไซม์	23
5.2	การหาปริมาณที่เหมาะสมของสารส่งผ่านอิเล็กตรอน	26
บทที่ 6	การศึกษาการใช้งานของหัววัดน้ำตาลกลูโคส	29
6.1	การศึกษาค่าการเปลี่ยนแปลงของการวัดแบบต่อเนื่อง	29

สารบัญ (ต่อ)

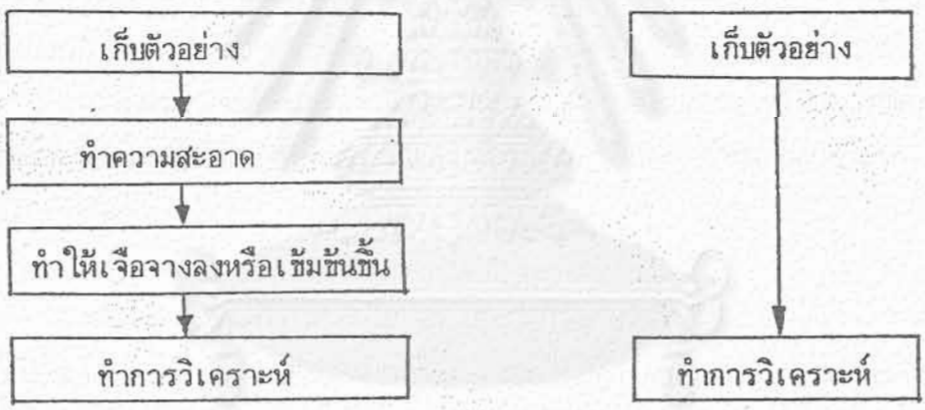
		หน้า
6.2	การศึกษาผลของอ๊อกซิเจนต่อการวัดน้ำตาลกลูโคส	30
6.3	การศึกษาความจำเพาะในการวัดน้ำตาล	32
6.4	การศึกษาผลของสารรบกวน	33
บทที่ 7	การประยุกต์ใช้งานในกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ	34
7.1	การประยุกต์ใช้งานในกระบวนการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากแป้งมันสำปะหลัง	34
บทที่ 8	บทสรุป	36
เอกสารอ้างอิง		40
เอกสารเผยแพร่ตีพิมพ์		40
ภาคผนวก		41
วิธีใช้เครื่องตรวจวัดน้ำตาล		
ข้อควรระวังในการวัด		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1 บทนำ

1.1 สถานภาพของเครื่องตรวจวัดและไบโอเซนเซอร์

ไบโอเซนเซอร์(Biosensor) คือสิ่งประดิษฐ์ที่รวมเอาสารทางชีวภาพเข้ามาประกอบกับหัวตรวจวัด(ทรานสดิวเซอร์ : transducer)ทางฟิสิกส์หรือหัวตรวจวัดทางเคมี ไบโอเซนเซอร์ได้ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารทางชีวภาพในสารละลายตัวอย่าง เพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคในทางการแพทย์, อุตสาหกรรม, เกษตร, การควบคุมกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ และสิ่งแวดล้อม เนื่องจากไบโอเซนเซอร์สามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็วกว่าเพราะสามารถลดขั้นตอนของกระบวนการวิเคราะห์ให้สั้นลงได้ดังแสดงในรูปที่ 1.1 ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้แทนการวิเคราะห์โดยทางเคมี หรือชีวเคมีในห้องปฏิบัติการซึ่งกินเวลานาน



รูปที่ 1.1 การเปรียบเทียบการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการและการใช้ไบโอเซนเซอร์

ไบโอเซนเซอร์นั้นสามารถแบ่งออกเป็นหมวดใหญ่ๆตามชนิดของสารทางชีวภาพที่ใช้ในการประดิษฐ์ ได้แก่

1) เอนไซม์เซนเซอร์(enzyme sensor) คือ ไบโอเซนเซอร์ที่ทำการตรึงเอนไซม์เข้าร่วมกับทรานสดิวเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจวัด

2) อิมมูโนเซนเซอร์(immunosensor) คือไบโอเซนเซอร์ที่ทำการตรึงแอนติบอดี้หรือแอนติเจนเข้าร่วมกับทรานสดิวเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจวัดแอนติเจนหรือแอนติบอดี้

3) ไมโครเบียลเซนเซอร์(microbial sensor) คือ ไบโอเซนเซอร์ที่ทำการตรึง

จุลินทรีย์เข้าร่วมกับทรานสดิวเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจวัด

นอกจากนี้ไบโอเซนเซอร์ยังสามารถแบ่งออกเป็นหมวดตามชนิดของทรานสดิวเซอร์ที่ใช้ในการวัดสัญญาณได้ดังนี้คือ

1) แบบวัดแรงดันไฟฟ้า(potentiometric) เป็นการวัดแรงดันไฟฟ้าหรือไดโปล(dipole)ที่เกิดขึ้นหรือที่เปลี่ยนแปลงในปฏิกริยาอันเนื่องมาจากสารที่จะทำการวัดนั้นๆ โดยใช้โวลต์มิเตอร์, ทรานซิสเตอร์แบบสนามไฟฟ้า(Field Effect Transistor) หรือ อิเล็กโตรด

2) แบบวัดกระแสไฟฟ้า(amperometric) เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในปฏิกริยาอันเนื่องมาจากสารที่จะทำการวัดนั้นโดยใช้โพเทนทิโอสตัต เป็นต้น

3) แบบวัดแสง(photometric) เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนแสงหรือขนาดของแสงที่เปล่งออกมาในปฏิกริยาอันเนื่องมาจากสารที่จะทำการวัดนั้นโดยใช้โฟโตดีเทคเตอร์(photodetector)

4) แบบวัดอุณหภูมิ(pyrrolytic) เป็นการวัดอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงในปฏิกริยาอันเนื่องมาจากสารที่จะทำการวัดนั้นโดยใช้เทอร์มิสเตอร์(thermistor) หรือ เทอร์โมคัปเปิล(thermocouple) เป็นต้น

5) แบบวัดมวล(mechanical and acoustic impedance) เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงของมวลสารในปฏิกริยาอันเนื่องมาจากสารที่จะทำการวัดนั้นโดยใช้ผลึกควอร์ต(quartz crystal) เป็นต้น

ดังนั้นในการที่จะนำเอาไบโอเซนเซอร์ไปใช้งานนั้นจึงต้องคำนึงถึงว่า สารที่จะทำการวัดนั้นสามารถทำปฏิกริยากับสารใดได้บ้าง และในปฏิกริยานั้นจะต้องสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณทางฟิสิกส์ที่จะสามารถวัดได้ เช่น การวัดอินซูลินนั้นจะสามารถทำได้โดยใช้แอนตี้อินซูลิน(anti-insulin) เพื่อให้อินซูลินซึ่งเป็นแอนติเจน(antigen)จับตัวกับแอนตี้อินซูลินซึ่งเป็นแอนติบอดี้(antibody) หรือการวัดยูเรีย(urea)ในน้ำปัสสาวะนั้นจะทำได้โดยการใช้เอนไซม์ยูริเอส(urease)ให้ทำปฏิกริยาย่อยสลายยูเรีย จากนั้นจึงเลือกหาทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสมเพื่อที่จะทำการวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้น จากตัวอย่างข้างต้นในกรณีของอินซูลินนั้นอาจจะทำการวัดการเปลี่ยนแปลงของแรงดันไฟฟ้าหรือการเปลี่ยนแปลงของประจุไฟฟ้าอันเนื่องมาจากการรวมตัวของอินซูลินกับแอนตี้อินซูลิน ส่วนในกรณีของยูเรียนั้นอาจจะทำการวัดการเปลี่ยนแปลงของไฮโดรเจนอิออน(H^+)ที่ถูกใช้ไปในปฏิกริยา หรือแอมโมเนียมอิออนที่เกิดขึ้นในปฏิกริยา โดย pH electrode หรือ ammonium electrode

1.2 ความสำคัญของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

ในบรรดาไบโอเซนเซอร์ทั้งหลายเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส(Glucose sensor)มีความสำคัญมาก ในด้านการแพทย์ได้ถูกนำไปใช้ในการวินิจฉัยโรคเบาหวาน(diabetes), น้ำตาลในโลหิตสูง(hyper glycaemia) ส่วนในทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพนั้นเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเช่น การผลิตเครื่องดื่มเสริมพลังงาน, ลูกกวาดและอื่นๆ และในการวิจัยและพัฒนาสาขาเทคโนโลยีชีวภาพนั้นเครื่องวัดชนิดนี้จะมีประโยชน์มากในการวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสซึ่งใช้เป็นแหล่งอาหารประเภทคาร์บอนได้ด้วย

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัยและพัฒนา

อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนั้นต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ ซึ่งมีราคาแพง และยังไม่มีการผลิตขายขึ้นภายในประเทศ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การสร้างและพัฒนาเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสขึ้นเองภายในประเทศ โดยประยุกต์เอาเทคโนโลยีการสร้างสิ่งประดิษฐ์สารกึ่งตัวนำเข้ามาใช้ในการสร้างทรานสดิวเซอร์ อันจะทำให้สามารถผลิตได้ครั้งละจำนวนมาก ซึ่งจะทำให้ราคาถูกและสามารถนำไปใช้ได้อย่างกว้างขวาง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2 หลักการประดิษฐ์เครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

2.1 หลักการวัดน้ำตาลกลูโคส

การวัดน้ำตาลกลูโคสในปัจจุบัน โดยทั่วไปแล้วใช้ปฏิกิริยาทางเคมีของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ซึ่งจะสลายน้ำตาลกลูโคสให้เป็นกรดกลูโคนิค(gluconic acid) และจะเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังสมการที่ (2.1) และ (2.2)

$$H_2O + \text{glucose} + \text{GOD[FAD]} \longrightarrow \text{gluconic acid} + \text{GOD[FADH]} \qquad (2.1)$$

$$O_2 + \text{GOD[FAD]} \longrightarrow H_2O_2 + \text{GOD[FAD]} \qquad (2.2)$$

GOD[FAD] : oxidized form ของ Glucose oxidase

GOD[FADH] : reduced form ของ Glucose oxidase

ในห้องปฏิบัติการเคมีจะใช้ได(dye) เข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังสมการที่ (2.3) แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงของสีของได(dye) โดยการใช้สเปคโตมิเตอร์(spectrometer)วัดการดูดกลืนแสง

$$H_2O_2 + \text{dye} \longrightarrow H_2O + \text{dye'} \qquad (2.3)$$

2.2 หลักการวัดน้ำตาลกลูโคสโดยการใช้หัววัดตรวจวัด

ในกรณีที่ใช้เซนเซอร์วัดนั้นจะทำการวัดปริมาณของออกซิเจนที่ถูกใช้ไปในปฏิกิริยาโดยใช้หัววัดออกซิเจน(oxygen probe) หรือวัดปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาโดยใช้หัววัดไฮโดรเปอร์ออกไซด์(hydrogen peroxide probe)

อย่างไรก็ตาม ในปฏิกิริยาข้างต้นนั้นมีออกซิเจนเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย (สมการ (2.2)) หมายความว่าผลของปริมาณของออกซิเจนที่มีอยู่ในสารละลาย (dissolve oxygen) ที่จะทำการวัดนั้นจะมีผลต่อการวัด ดังนั้นถ้าสามารถหาสารที่มีคุณสมบัติในการออกซิเดชั่น(oxidation)เหมือนกับออกซิเจน แต่ไม่ถูกใช้ไปในปฏิกิริยาได้แล้วก็จะสามารถแก้ปัญหาปริมาณออกซิเจนในสารละลายได้

นอกจากนี้การวัดปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นั้นจำเป็นต้องใช้ความต่างศักย์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ของขั้วทรานสดิวเซอร์สูงถึง 0.7 โวลต์ อันจะทำให้มีการรบกวนโดยสารกลุ่มรีดิวซิ่งค์(reducing agent) อันได้แก่ กรดยูริค(uric acid)และวิตามินซี(ascorbic acid)

ได้มีการพบว่า สามารถนำเอาสารกลุ่มที่สามารถถ่ายเทอิเลคตรอนที่เรียกว่า สารส่งผ่านอิเล็กตรอน(mediator)มาใช้แทนอ๊อกซิเจนได้ ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเป็น

$$H_2O + \text{glucose} + \text{GOD[FAD]} \longrightarrow \text{gluconic acid} + \text{GOD[FADH]} \qquad (2.4)$$

$$2\ Med_{ox} + \text{GOD[FADH]} \longrightarrow 2\ Med_{red} + \text{GOD[FAD]} \qquad (2.5)$$

$$2\ Med_{red} \longrightarrow Med_{ox} + 2\ e^- \qquad (2.6)$$

Med_{ox} : oxidized form ของ mediator

Med_{red} : reduced form ของ mediator

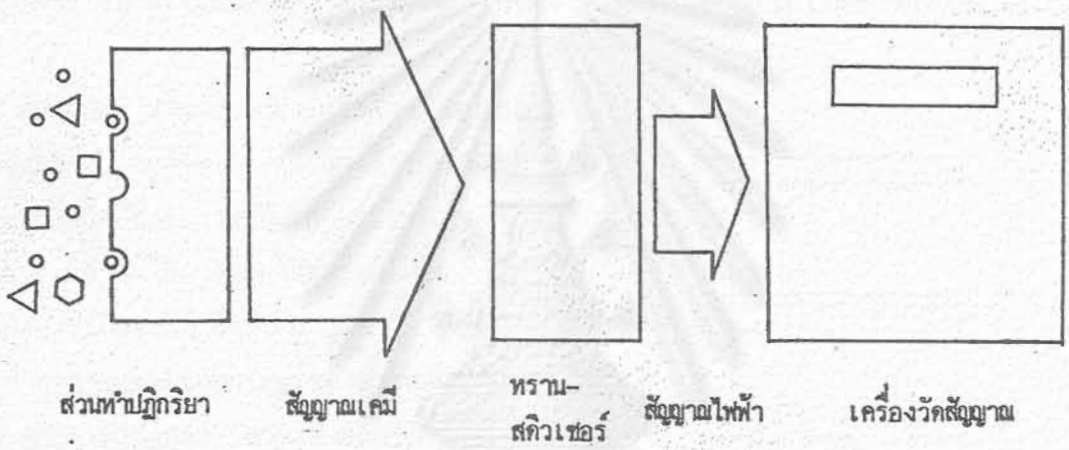
ซึ่งสามารถทำการวัดได้ที่ความต่างศักย์ต่ำได้

สารส่งผ่านอิเล็กตรอนนั้นได้แก่ สารกลุ่มเฟอร์โรซีน ในการประดิษฐ์หัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนี้ก็จะทำการตรึงสารส่งผ่านอิเล็กตรอนเข้าไปพร้อมๆกับเอนไซม์ดังจะกล่าวในบทที่ 3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3 ขั้นตอนการประดิษฐ์เครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในบทนำว่าไบโอเซนเซอร์คือสิ่งประดิษฐ์ที่รวมเอาสารทางชีวภาพเข้ามาประกอบร่วมกับทรานสดิวเซอร์ ดังนั้นองค์ประกอบของไบโอเซนเซอร์โดยทั่วๆไปนั้นสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 หลักการของไบโอเซนเซอร์ (Biosensor)

กล่าวคือ ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ 3 ส่วนดังนี้

(1) ส่วนทำปฏิกริยาหรือชั้นเยื่อตรวจวัด (sensing membrane)
(2) ส่วนรับส่งสัญญาณหรือทรานสดิวเซอร์ (transducer)
(3) ส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผล (measuring system)

ในบทที่ 3 นี้จะกล่าวถึงการประดิษฐ์ส่วนประกอบทั้ง 3 ข้างต้นนี้

3.1 การประดิษฐ์ทรานสดิวเซอร์

การออกแบบสร้างเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนั้นต้องประดิษฐ์ทรานสดิวเซอร์ที่สามารถรับอิเลคตรอนที่ถูกถ่ายเทมาจากสารส่งผ่านอิเล็กตรอนได้ดังสมการที่ (2.6) และเนื่อง

จากทรานสดิวเซอร์นี้ต้องถูกใช้ในสารละลายที่จะทำการวัด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้วัสดุที่มีเสถียรภาพที่ดีและสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนได้ ซึ่งในโครงการนี้เลือกใช้ทองขาว(platinum) แต่เนื่องจากทองขาวมีราคาแพง การที่จะนำเอาทองขาวแผ่นหรือก้อน(bulk)มาใช้สร้างทรานสดิวเซอร์นี้จะทำให้ราคาของต้นทุนการผลิตสูง ดังนั้นโครงการนี้จะใช้เทคโนโลยีของการสร้างสิ่งประดิษฐ์สารกึ่งตัวนำมาใช้ โดยจะใช้เทคโนโลยีการระเหยโลหะที่มีจุดหลอมเหลวสูงมาใช้ในการระเหยทองขาวเพื่อให้ได้แผ่นฟิลม์ทองขาวที่บาง และสามารถสร้างทรานสดิวเซอร์นี้ได้คราวละจำนวนมาก

ในทางปฏิบัติใช้เครื่องระเหยโลหะแบบใช้ลำอิเล็กตรอน(electron beam evaporator) แผ่นฐาน(substrate)ที่ใช้เป็นตัวรองรับทองขาวที่ระเหยนั้นเพื่อความสะดวกในการใช้งานจึงใช้แผ่นแก้ว รายละเอียดของการสร้างทรานสดิวเซอร์เป็นดังต่อไปนี้

(1) ตัดแผ่นแก้วสไลด์แบ่งครึ่ง แล้วล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาด, อะซีโตน แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด

(2) หยดโฟโตรีซีสแบบโพซิทีฟ(positive photo resist)แล้วทำให้บางโดยใช้เครื่องเหวี่ยง(spinner)แล้วอบให้แห้งที่ 80 องศา

(3) ทำรูปร่าง(patterning)ของทรานสดิวเซอร์โดยใช้ Mask aligner ฉายแสงอุลตร้าไวโอเลต แล้วทำการล้าง(develope)

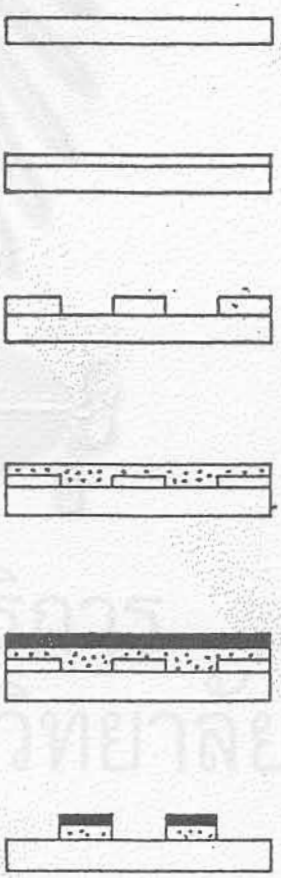
(4) ระเหยทิทาเนียม 250 อังสตรอมโดยใช้เครื่องระเหยโลหะแบบใช้ลำอิเล็กตรอนที่ความดัน $6*10^{-7}$ Torr

(5) ระเหยทองขาว 700 อังสตรอมโดยใช้เครื่องระเหยโลหะแบบใช้ลำอิเล็กตรอนที่ความดัน $6*10^{-7}$ Torr

(6) ละลายโฟโตรีซีสออกให้เหลือแต่ส่วนที่เป็นทองขาว

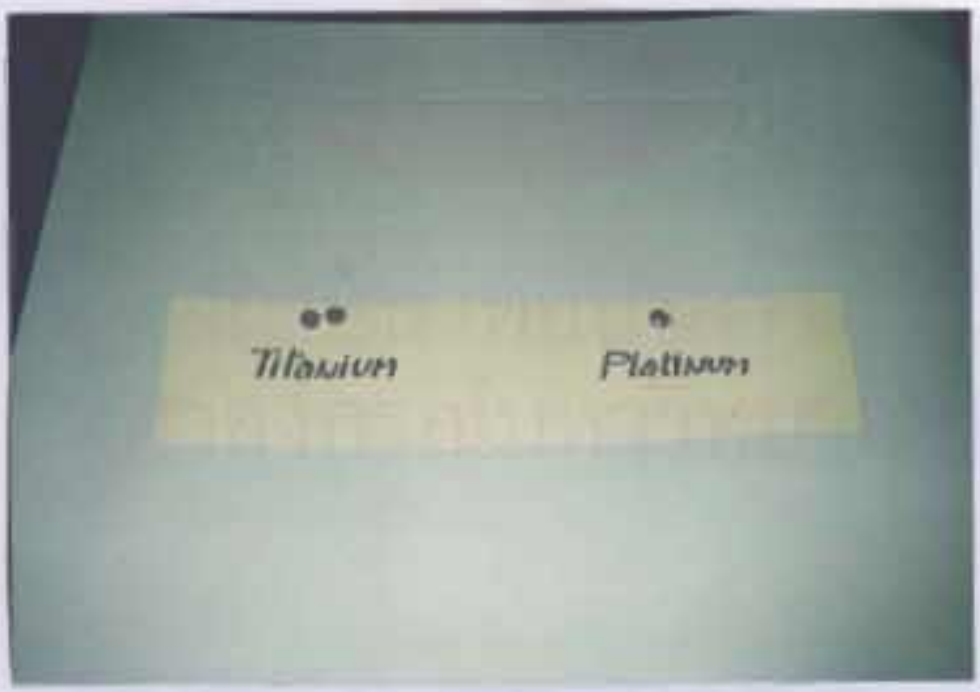
(7) ตัดทรานสดิวเซอร์ออกเป็นตัว ๆ

(8) ต่อสายไฟเพื่อส่งสัญญาณไปยังเครื่องแปลง-ขยายสัญญาณ และแสดงผล

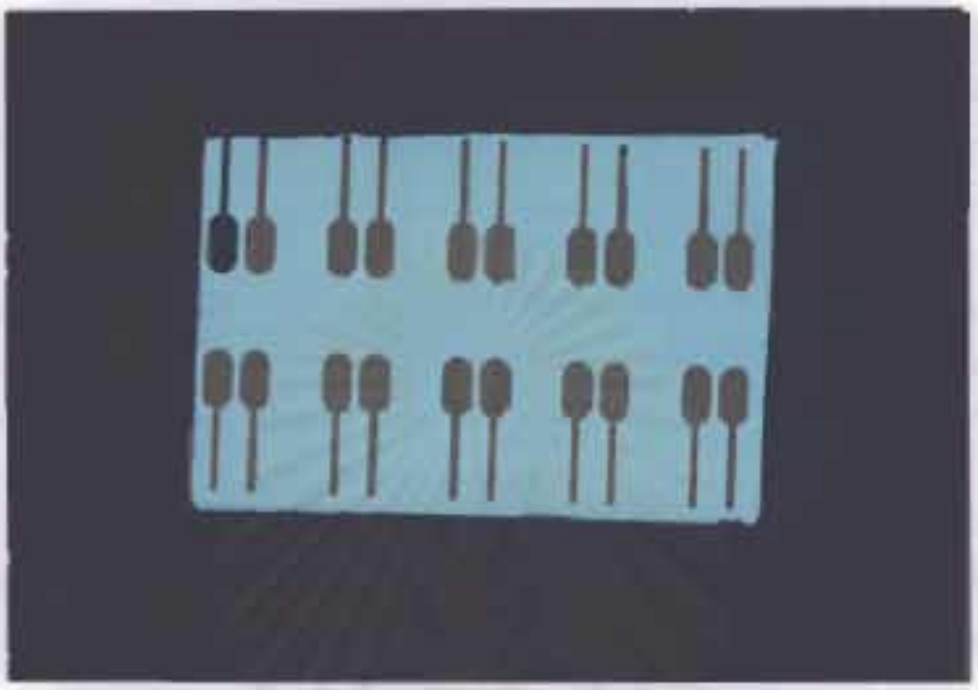


รูปที่ 3.2 กระบวนการสร้างทรานสดิวเซอร์

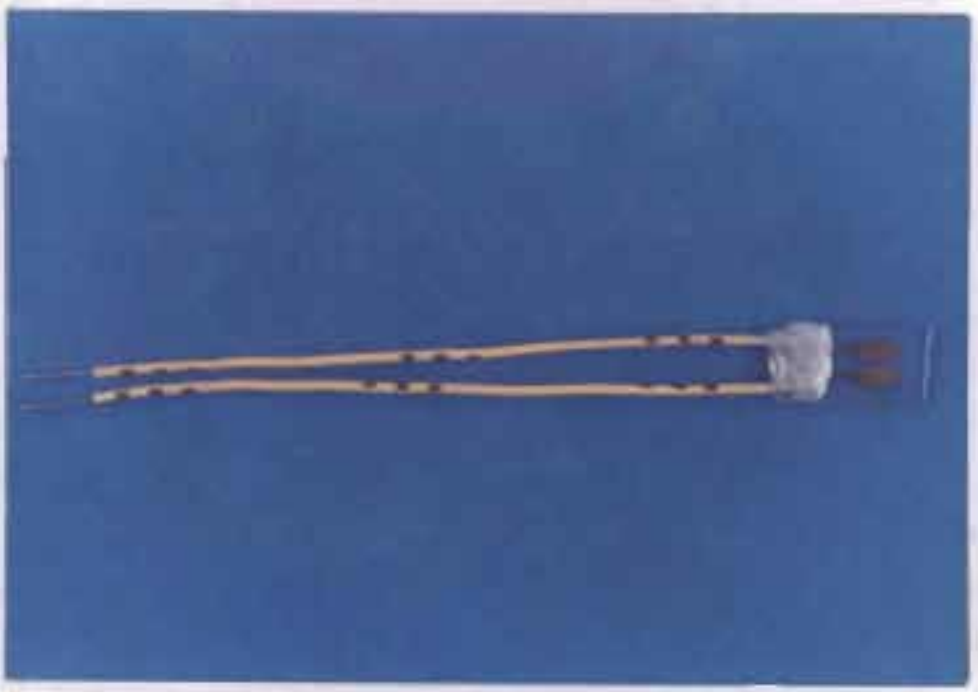
รูปที่ 3.3 เครื่องระเหยโลหะแบบใช้ลำอิเล็กตรอน



รูปที่ 3.4 ทองขาวและทิตาเนียมที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการทำทรานสดิวเซอร์



รูปที่ 3.5 ทรานสดิวเซอร์ที่ผลิตขึ้นในจำนวนทั้งหมดที่ทำขึ้นในครั้งหนึ่ง
จำนวนของทรานสดิวเซอร์ที่สามารถทำได้ในครั้งหนึ่งในการทดลองนี้เป็น 300 ตัว



รูปที่ 3.6 แสดงรูปร่างลักษณะของทรานสดิวเซอร์ที่ประกอบเสร็จแล้ว

3.2 การประดิษฐ์ส่วนทำปฏิกริยา

3.2.1 หลักการตรึงเอนไซม์

การตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนั้น อาศัยหลักการของการทำปฏิกริยาที่มีความจำเพาะสูงระหว่างเอนไซม์กลูโคสอ๊อกซิเดส(glucose oxidase) กับน้ำตาลกลูโคส แล้ว ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในปฏิกริยาดังที่ได้กล่าวมาแล้วในบทที่ 2

ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในห้องปฏิบัติการนั้น โดยทั่วไปในการวิเคราะห์น้ำตาล 1 ตัวอย่างจำเป็นต้องใช้เอนไซม์จำนวนหนึ่ง ซึ่งเมื่อเสร็จสิ้นการวิเคราะห์แล้ว เอนไซม์จำนวนนี้ก็จะถูกทิ้งไปพร้อมกับสารตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์นั้นซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองเอนไซม์โดยเปล่าประโยชน์ เพราะเอนไซม์นั้นมิได้สูญเสียไปในปฏิกริยา ดังนั้นจึงสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

การที่จะใช้ประโยชน์จากเอนไซม์อย่างมีประสิทธิภาพนั้น สามารถกระทำได้โดยวิธีการตรึงเอนไซม์(enzyme immobilization) การตรึงเอนไซม์นั้นหมายถึงวิธีการยึดเอนไซม์ลงบน ผิวของฐานรองรับ(supporter) ชนิดใดชนิดหนึ่งให้เอนไซม์อยู่ในสภาพที่ไม่ละลายน้ำได้ แล้วใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ที่ถูกตรึงนั้น โดยการให้เกิดปฏิกริยาชีวเคมีที่ผิวของฐานรองรับนั้นได้หลายๆครั้งอย่างมีประสิทธิภาพ

การตรึงเอนไซม์ โดยทั่วไปมี 4 วิธีด้วยกันคือ

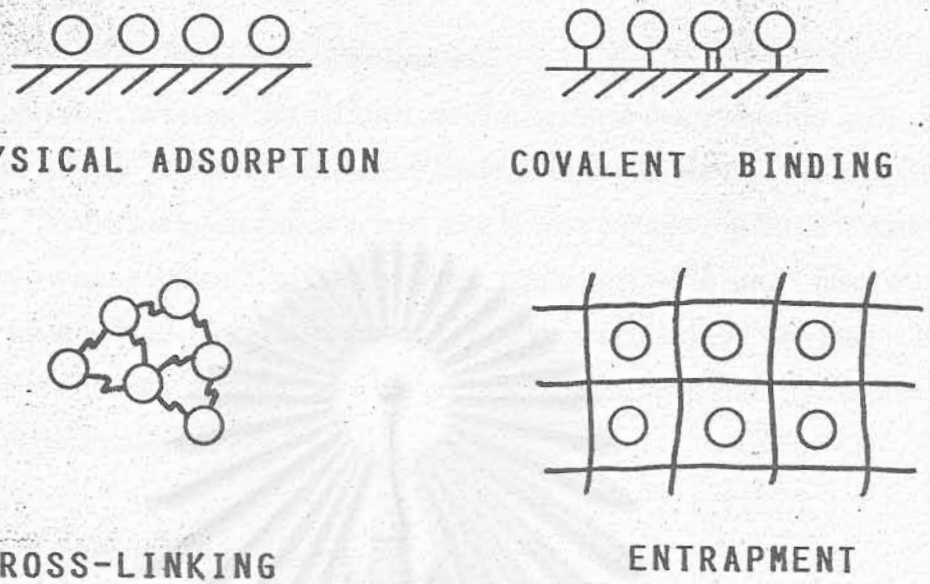
1) การดูดซับทางฟิสิกส์(physical adsorption)
2) การยึดเกาะทางเคมี(chemical adsorption, covalent binding)
3) การยึดเกาะเป็นสายใยตาข่าย(cross linking)
4) การฝังในช่องของชิ้นเนื้อเยื่อ(entrapment)

ดังแสดงในรูปที่ 3.7

3.2.2 การทดลองตรึงเอนไซม์

การสร้างส่วนทำปฏิกริยาหมายถึงการตรึงเอนไซม์ให้อยู่ในสภาวะที่ไม่ละลายน้ำเพื่อที่สามารถใช้เอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และที่สำคัญก็คือการตรึงเอนไซม์นั้นต้องสามารถ กระทำได้บนทรานสดิวเซอร์ได้ด้วย เพราะว่าถ้าไม่สามารถทำการตรึงเอนไซม์ลงบนทรานสดิวเซอร์ได้แล้ว ก็จะทำให้การส่งผ่านสัญญาณเป็นไปอย่างไม่สะดวกและยุ่งยากต่อการใช้งาน

นอกจากนี้แล้ว ดังได้กล่าวมาแล้วในบทที่ 2 ว่า ในการประดิษฐ์หัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนี้จะทำโดยการนำเอาสารส่งผ่านอิเล็กตรอน(mediator)เข้ามาประยุกต์ใช้ด้วย เพื่อแก้ปัญหาของอ๊อกซิเจนในสารละลายที่จะทำการวัดและลดการรบกวนของสัญญาณจากสารกลุ่มรีดิวซิ่งค์ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการตรึงสารส่งผ่านอิเล็กตรอนนี้พร้อมๆกับการตรึงเอนไซม์ด้วย



รูปที่ 3.7 วิธีการตรึงเอนไซม์แบบต่างๆ

จากข้อบังคับเหล่านี้ การที่จะตรึงเอนไซม์ และสารส่งผ่านอิเล็กตรอนพร้อมๆกันนั้น จึงไม่สะดวกนักที่จะทำโดยวิธีการดูดซับทางฟิสิกส์ เพราะคุณสมบัติของสารทั้งสองอย่างนั้นแตกต่างกัน นอกจากนี้การดูดซับทางฟิสิกส์นั้นแม้จะไม่มีผลเสียต่อโครงสร้างของโมเลกุลของเอนไซม์ก็ตาม แต่การดูดซับนั้นไม่ค่อยจะเสถียรภาพนัก ส่วนการยึดเกาะทางเคมีนั้นไม่สะดวกและยากต่อการปฏิบัติเพราะจะต้องทำให้โมเลกุลของเอนไซม์และสารส่งผ่านอิเล็กตรอน มี functional group ที่สามารถทำปฏิกริยายึดเกาะเข้ากับฐานรองรับได้ ซึ่งเป็นวิธีที่ยุ่งยาก

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกวิธีการตรึงเอนไซม์แบบยึดเกาะเป็นสายใยตาข่าย และแบบฝังในช่องของชั้นเนื้อเยื่อ เนื่องจากทั้งสองวิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวกและง่ายต่อการปฏิบัติเพราะเอนไซม์และสารส่งผ่านอิเล็กตรอน สามารถตรึงได้โดยการละลายเอนไซม์และสารส่งผ่านอิเล็กตรอนร่วมเข้าไปในวัสดุที่จะใช้ทำแผ่นฟิลม์นั้นพร้อมๆกันได้

การตรึงเอนไซม์(Enzyme Immobilization) แบบต่างๆ

ในการทดลองนี้ได้พยายามที่จะทำการตรึงเอนไซม์โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นโพลีเมอร์ เพื่อที่จะได้ทำการตรึงเอนไซม์โดยวิธีการฝังเอนไซม์ลงไปในช่องของชั้นเนื้อเยื่อของฟิลม์

หรือในสายใยตาข่ายของสายโพลีเมอร์ โดยได้ทดลองวิธีต่างๆดังต่อไปนี้

1. การตรึงเอนไซม์โดยใช้ bis-acrylamide

วิธีนี้เป็นการตรึงเอนไซม์ลงไปในช่องของชั้นเนื้อเยื่อของ acrylamide gel ซึ่งได้ทำขึ้นมาจากการทำปฏิกริยาระหว่าง bis-acrylamide กับ Tetra-methylene diamine (TEMED) ขนาดของรูเนื้อเยื่อนั้นสามารถควบคุมได้โดยการควบคุมปริมาณเปอร์เซนต์ของ TEMED จากการทดลองเปลี่ยนปริมาณเปอร์เซนต์ของ TEMED พบว่าจะได้ gel ที่มีความหนาบาง แข็งอ่อน แตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามพบว่าไม่ว่าจะเปลี่ยนปริมาณของสารต่างๆอย่างไรก็ตาม gel ที่ได้จะมีลักษณะคล้ายวุ้นแข็ง แต่ไม่สามารถยึดเกาะกับแผ่นรองรับที่เป็นแก้วได้จึงไม่สามารถนำมาใช้กับทรานสดิวเซอร์ได้

2. การตรึงโดยการใช้ Na - algenate

วิธีนี้เป็นการตรึงเอนไซม์ลงไปในช่องของชั้นเนื้อเยื่อของ algenate gel ในทำนองเดียวกับแบบแรก การแข็งตัวของ gel นั้นทำได้โดยการให้สารละลาย Na-algenate สัมพันธ์กับสารละลายที่มี Ca^{2+} อยู่ วิธีนี้สามารถทำให้เป็นแผ่นฟิลม์บางได้โดยการ screen สารละลาย Na-algenate ลงบนแผ่นรองรับก่อน หลังจากทิ้งให้แห้งมาดแล้วจึงเทสารละลาย Ca^{2+} ลงไปข้างบนแผ่นฟิลม์นั้น ก็จะได้เป็นแผ่นฟิลม์บางได้

แม้ว่าวิธีนี้จะทำให้ได้แผ่นฟิลม์ที่สามารถตรึงเอนไซม์ได้ก็ตาม แต่ก็พบปัญหาเช่นเดียวกับวิธีแรกคือ แผ่นฟิลม์ที่ได้นั้นไม่สามารถที่จะยึดเกาะติดกับแผ่นรองรับได้ จึงไม่สามารถที่จะตรึงแผ่นฟิลม์เอนไซม์นี้ลงบนทรานสดิวเซอร์ได้

3. การตรึงโดยการใช้อีพ็อกซีเรซิน(epoxy resin)

การตรึงเอนไซม์โดยวิธีนี้เป็นการตรึงเอนไซม์ลงไปในระหว่างช่องตาข่ายของสายใยโพลีเมอร์ของอีพ็อกซีเรซิน การเตรียมนั้นทำโดยการละลายอีพ็อกซีเรซิน สำเร็จรูปโดยใช้เอทธิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายแล้วใช้เป็นสารละลายอีพ็อกซี ส่วนเอนไซม์กลูโคสอ๊อกซิเดสนั้นจะทำการละลายโดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์แล้วจึงผสมรวมเข้ากับสารละลาย ในกรณีที่ต้องการผสมสารส่งผ่านอิเล็กตรอนเข้าไปด้วยนั้นจะทำการใส่สารส่งผ่านอิเล็กตรอนลงไปในสารละลายอีพ็อกซีก่อนแล้วจึงจะทำการผสมกับสารละลายของเอนไซม์ อัตราส่วนผสมของสารละลายอีพ็อกซีกับสารละลายเอนไซม์นั้นโดยทั่วไปจะกำหนดให้เป็น สารละลายอีพ็อกซี : สารละลายเอนไซม์ = 100 mg/ml : 20 mg/ml ส่วนความเข้มข้นของสารส่งผ่านอิเล็กตรอนนั้นจะคิดเป็นโมล

การทำสารละลายผสมที่ได้นี้ให้เป็นแผ่นฟิลม์นั้นทำโดยวิธี spin coating กล่าวคือทำการหยดสารละลายที่ผสมเสร็จแล้วนั้นลงไปบนแผ่นแก้ว หรือบนทรานสดิวเซอร์ 50 ul จาก

นั้นก็ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 20 วินาที แล้วทิ้งไว้ราว 10 นาที ก็จะได้ฟิล์มที่แข็งสนิทติดกับแผ่นแก้วหรือทรานสดิวเซอร์ได้ดี

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงจะใช้วิธีการตรึงโดยการใช้เอนไซม์ในการตรึงเอนไซม์ลงบนทรานสดิวเซอร์เพื่อประกอบให้เป็นตัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

รูปที่ 3.8 แสดงทรานสดิวเซอร์ก่อนและหลังที่ทำการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส

รูปที่ 3.8 ทรานสดิวเซอร์ก่อนและหลังทำการตรึงเอนไซม์

3.3 ส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผล

ส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผลนั้น เป็นส่วนของเครื่องวัดที่ต้องประกอบไปด้วยส่วนต่างๆดังนี้คือ

(1) ส่วนรับส่งสัญญาณ

(2) ส่วนที่ทำการแปลง-ขยายสัญญาณ

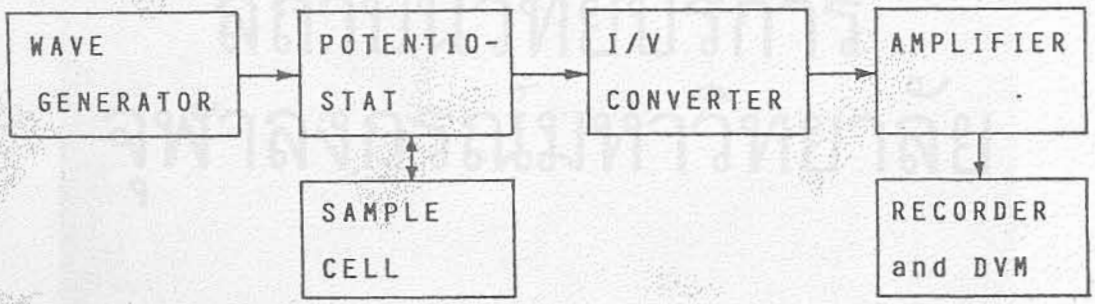
(3) ส่วนควบคุมการรับสัญญาณ

ส่วนควบคุมการรับสัญญาณนั้นออกแบบให้สามารถควบคุมความต่างศักย์ของขั้วทรานสดิวเซอร์ให้คงที่ได้ในช่วง -2.970 ถึง + 2.850 โวลต์และสามารถวัดจลน์ศาสตร์(kinetic) ของระบบได้ในลักษณะเช่นเดียวกับเครื่องโพเทนทิโอสตัต(potentiostat) โดยสามารถสร้างคลื่นสามเหลี่ยมที่มีความถี่ในช่วง 0 ถึง 0.05 H_z และมีขนาดชจัด(amplitude) ถึง $\pm$ 2 โวลต์

ส่วนแปลง-ขยายสัญญาณนั้นออกแบบให้เปลี่ยนอิเล็กตรอนที่ไหล(กระแส)ในปฏิกิริยาให้เป็นแรงดันไฟฟ้าที่มีค่าสูงพอที่จะวัดได้ง่าย ๆ ซึ่งขยายสัญญาณได้ตั้งแต่ 10^3 ถึง 10^7 เท่า

ส่วนแสดงผลนั้น ออกแบบให้สามารถต่อเข้ากับเครื่องบันทึกผล (recorder) และแสดงออกมาเป็นตัวเลขบนหน้าจอของเครื่องวัดได้

บล็อกไดอะแกรม(Block diagram)ของส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผลนี้แสดงไว้ในรูปที่ 3.9 และ รูปที่ 3.10 แสดงส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผลที่ประกอบเสร็จแล้ว



รูปที่ 3.9 บล็อกไดอะแกรมของส่วนแปลง-ขยายสัญญาณ

รูปที่ 3.10 ส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผลที่ประกอบเสร็จแล้ว

รูปที่ 3.11 รูปแสดงการเปรียบเทียบเครื่องวัดน้ำตาลกลูโคสที่ขายโดยบริษัท Yellow Springs instrument (ซ้ายมือ) กับ เครื่องวัดน้ำตาลกลูโคสที่ทำขึ้น (ขวามือ)

3.4 การประเมินต้นทุนการประดิษฐ์

เนื่องจากจุดประสงค์อันหนึ่งของโครงการนี้คือการผลิตเครื่องวัดน้ำกลูโคสขึ้นในประเทศเพื่อลดการนำเข้า ดังนั้นการประเมินต้นทุนการผลิตนั้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นซึ่งต้นทุนการผลิตของแต่ละส่วน โดยจะคำนวนหาต้นทุนในการประดิษฐ์ใน 1 กระบวนการ หรือใน 1 ล็อต

ต้นทุนการประดิษฐ์ทรานสดิวเซอร์ใน 1 กระบวนการ

สารเคมี (photoresist, solvent)	=	100	บาท
ทองขาว, ทิทาเนียม	=	400	บาท
ไฟ + น้ำ + ไนโตรเจนเหลว	=	100	บาท
รวม	=	600	บาท

เนื่องจากในการทดลองนี้ได้ตัวรับส่งสัญญาณ 300 ตัว ดังนั้นราคาของส่วนรับส่งสัญญาณ จะเป็นตัวละราว 2.00 บาท ซึ่งราคานี้สามารถลดต่ำลงได้อีกโดยการเพิ่มจำนวนการผลิตในหนึ่งครั้ง

ต้นทุนการประดิษฐ์ส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผล

ชิ้นส่วน-อุปกรณ์ของวงจรไฟฟ้า	=	610	บาท
กล่อง	=	120	บาท
รวม	=	730	บาท

ผลจากการประเมินต้นทุนการประดิษฐ์ทรานสดิวเซอร์และส่วนแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผล จะเห็นได้ว่าต้นทุนการผลิตโดยวิธีข้างต้น สามารถทำได้ในราคาถูกเมื่อเทียบกับของที่ขายในท้องตลาด ตัวอย่างเช่น หัวตรวจวัดและเครื่องวัดในลักษณะเดียวกัน ซึ่งผลิตโดยบริษัท Yellow Springs Instrument จะมีราคาราว 20,000 บาท

บทที่ 4 การทดสอบสมรรถนะของเครื่องวัดน้ำตาลกลูโคส

ในบทนี้จะกล่าวถึงการทดสอบสมรรถนะของเครื่องวัดน้ำตาลกลูโคสที่ได้ประดิษฐ์ขึ้นตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วในบทที่ 3

4.1 การทดสอบการทำงานเบื้องต้นของทรานสดิวเซอร์และเครื่องวัด

เพื่อทดสอบความสามารถในการถ่ายเทอิเล็กตรอนของทรานสดิวเซอร์ และส่วนแปลงขยายสัญญาณและแสดงผล จึงได้ทำการทดลองใช้ทรานสดิวเซอร์ในการวัดไฮโดรเจนเปอร์อ๊อกไซด์ การวัดทำโดยใส่ทรานสดิวเซอร์ที่ยังไม่ได้ทำการตรึงเอนไซม์ลงในหลอดทดลองเล็กที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตรและต่อเข้ากับส่วนแปลง-ขยายสัญญาณ และตั้งความต่างศักย์ระหว่างขั้วทั้งสองเป็น 0.7 โวลต์ จากนั้นทำการฉีดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์อ๊อกไซด์ลงไปในหลอดทดลอง แล้ววัดกระแสที่ไหลเนื่องจากการสลายตัวของไฮโดรเจนเปอร์อ๊อกไซด์

ผลการวัดกระแสไฟฟ้า แสดงไว้ในรูปที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์อ๊อกไซด์กับกระแสไฟฟ้า

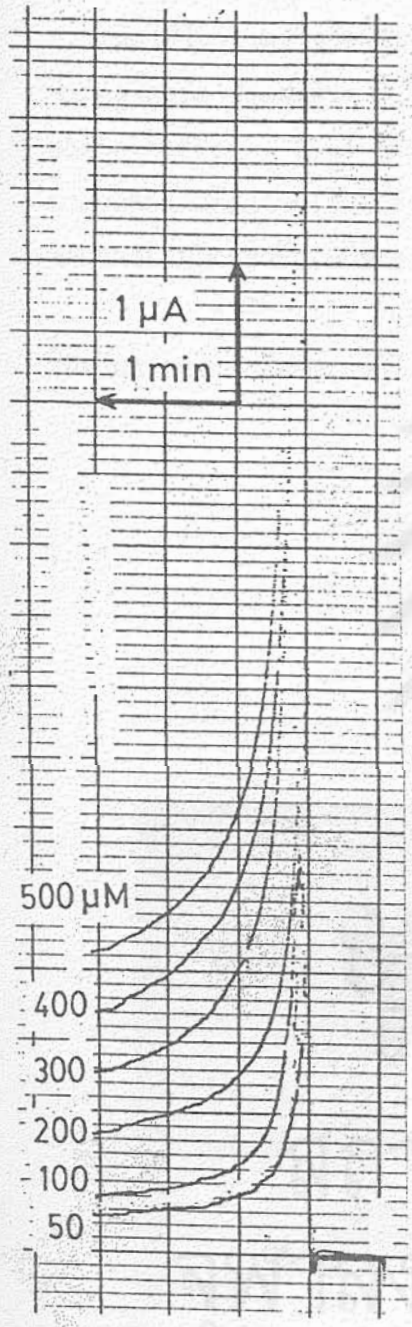
จากผลการทดลองใช้ทรานสดิวเซอร์และส่วนแปลง-ขยายสัญญาณในการวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์อ๊อกไซด์ จะเห็นได้ว่าทั้งสองส่วนทำงานได้ดี (รูปที่ 4.1, 4.2) และจากการคำนวณหาประสิทธิภาพในการวัดโดยใช้ linear regression จะได้ความไว(sensitivity)ในการวัดเป็น

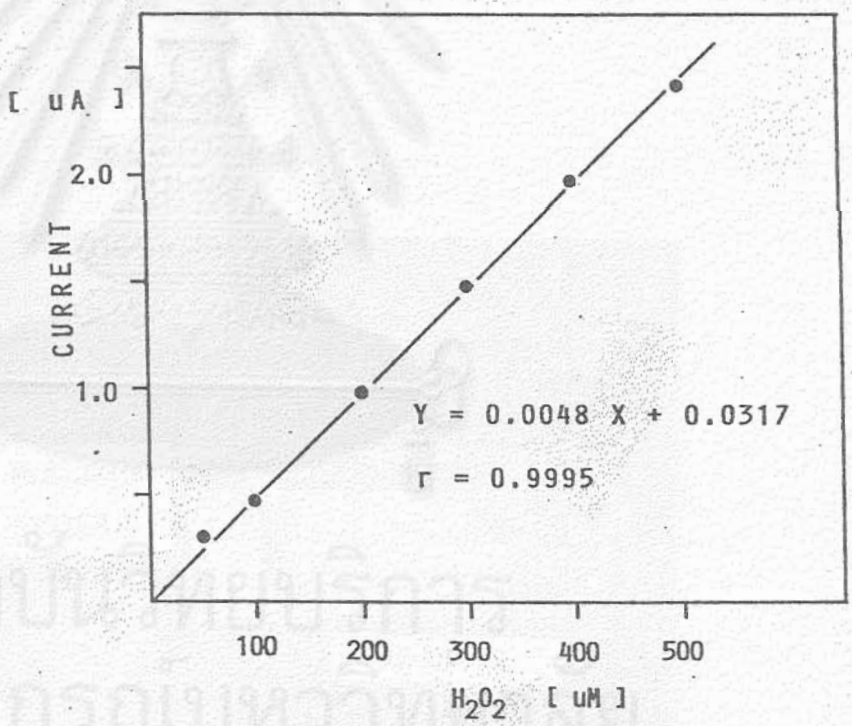
$$Y = 0.004793 * x + 0.0317 \qquad (\text{uA})$$

โดย Y : กระแสไฟฟ้าที่วัดได้เป็นไมโครแอมแปร์ (uA)

X : ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์อ๊อกไซด์เป็นไมโครโมล (uM)

และ correlation coefficient (r_{xy}) เท่ากับ 0.9995





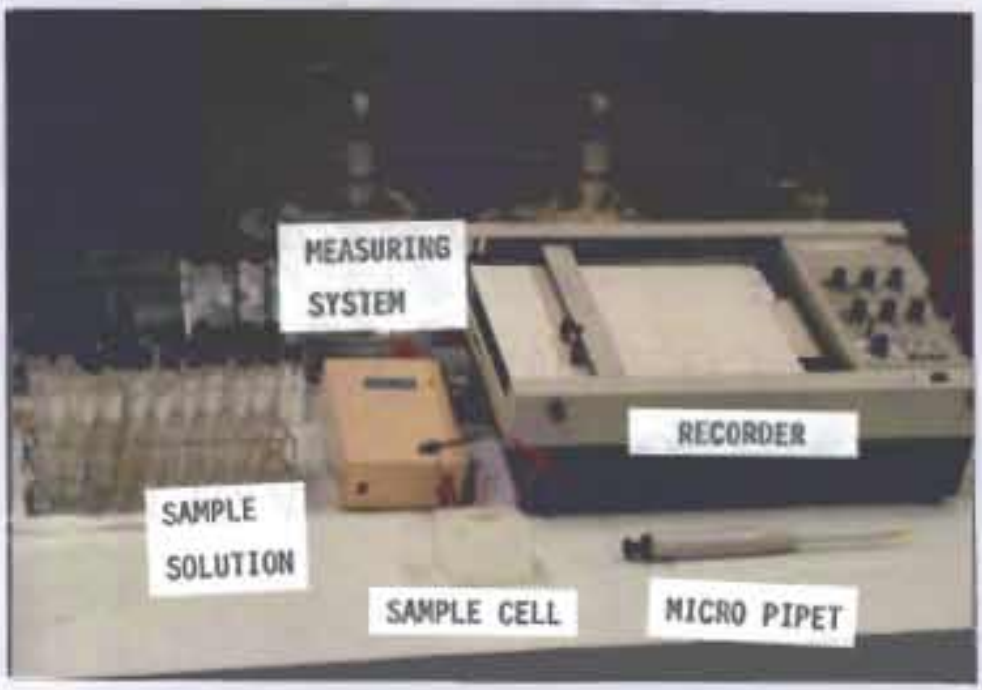
รูปที่ 4.1 ผลการวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกระแสไฟฟ้าที่ไหล

4.2 การทดสอบคุณสมบัติพื้นฐานในการวัดน้ำตาลกลูโคส

การทดลองนำเอาหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่ประดิษฐ์ขึ้นโดยวิธีที่กล่าวมาแล้วในบทที่ 3 เมื่อใช้ในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนั้นได้ กระทำโดยการจุ่มกราฟติดเซอร์ที่ทำการดึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสแล้วลงไปในหลอดทดลองขนาดเล็กที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์(phosphate buffer) 2 ml ที่มีความเข้มข้น 0.01M, pH 7.2 จากนั้นจึงทำการผสมสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นต่างๆให้ลงไป แล้วทำการบันทึกวัดกระแสไฟฟ้าที่ไหลอันเนื่องมาจากการทำปฏิกริยาชีวเคมีของเอนไซม์ และปฏิกริยาเคมีไฟฟ้าที่กราฟติดเซอร์

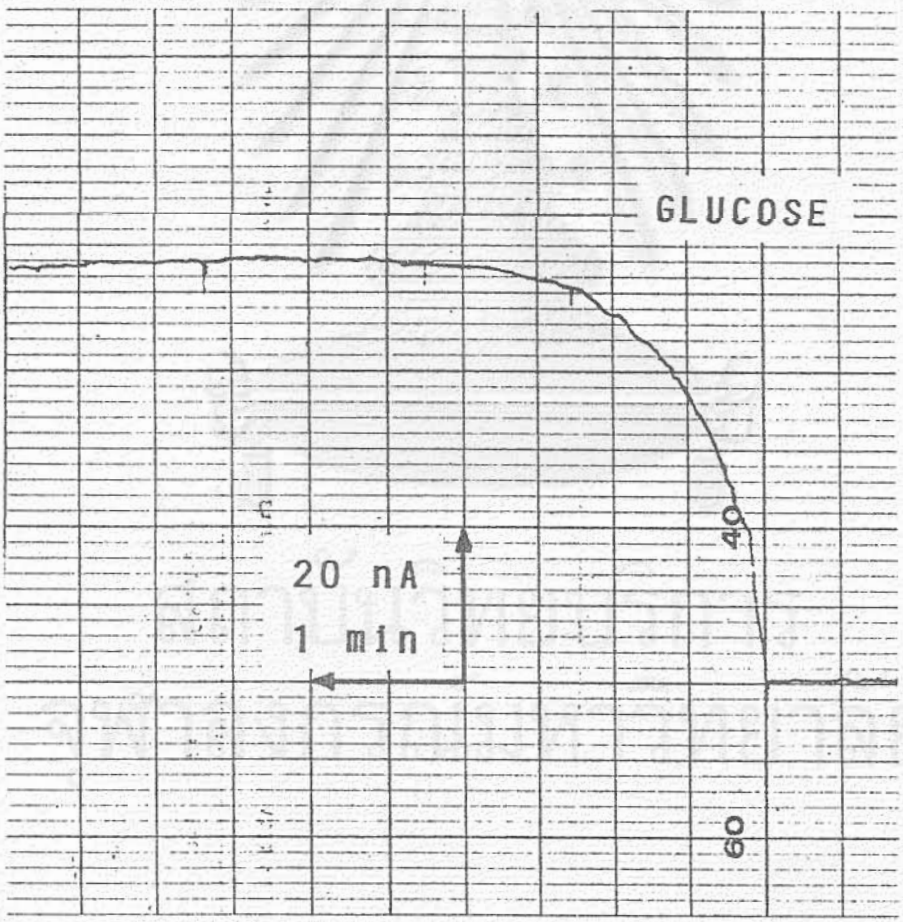
รูปที่ 4.3 แสดงภาพรวมของระบบวัดและบันทึกผลของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในการทดสอบลักษณะสมบัติต่างๆ



รูปที่ 4.3 ภาพรวมของระบบวัดและบันทึกผล

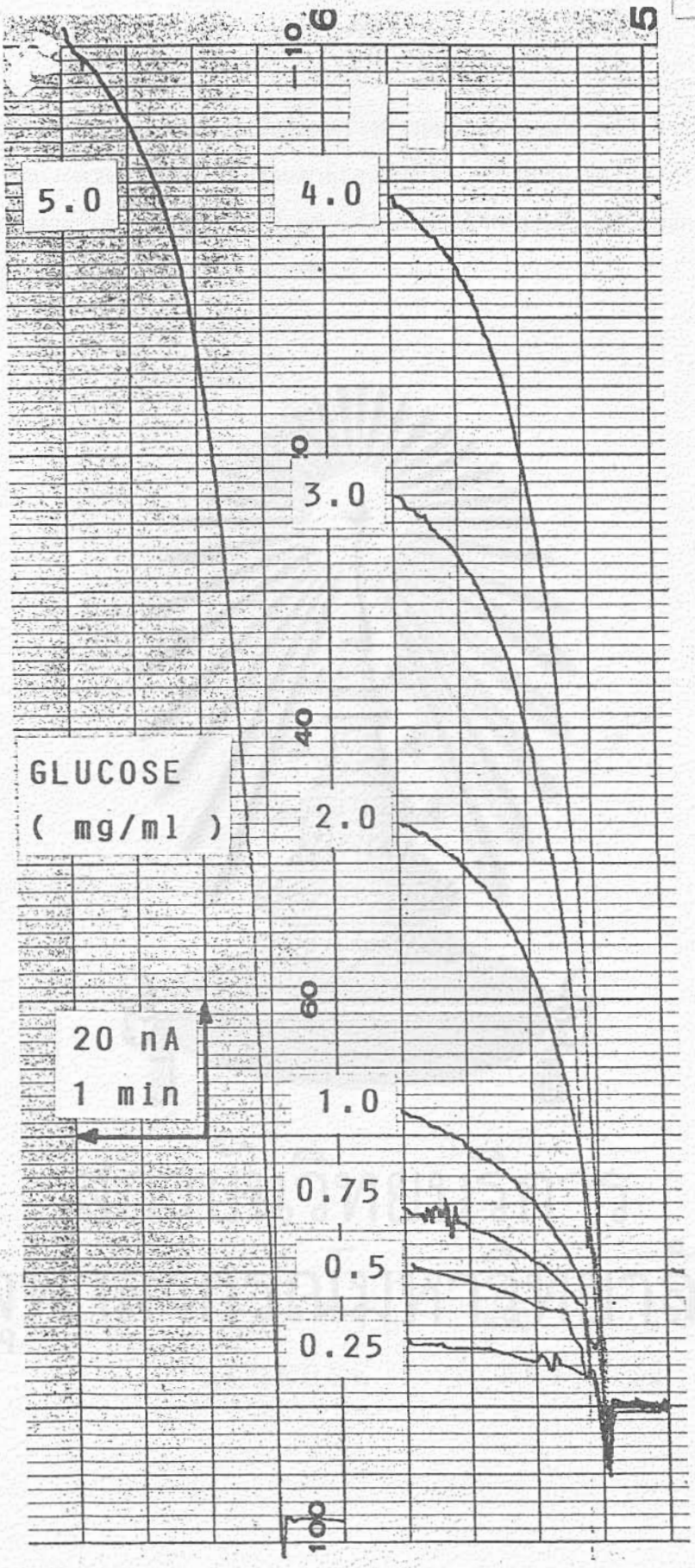
รูปที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าเมื่อฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสลงไป โดยทั่วไปแล้วขนาดของกระแสไฟฟ้าที่วัดได้นี้ จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามเวลาและจะคงที่ที่จุดๆหนึ่ง ซึ่งเวลาที่กระแสไฟฟ้าจะคงที่นั้น แตกต่างไปตามความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ฉีดเข้าไป และ ยังขึ้นกับคุณสมบัติของชั้นเยื่อตรวจวัด (sensing membrane) อีกด้วย ดังนั้นเพื่อเป็นมาตรฐานในการวัด และเพื่อความสะดวกในขณะนำไปใช้งาน จึงจะทำการกำหนดเวลาที่จะวัดกระแสไฟฟ้าเป็นเวลา 1 นาทีหลังจากที่ฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสเข้าไป กล่าวคือ จะหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสกับกระแสไฟฟ้าที่เวลา 1 นาทีหลังจากที่ทำการฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสเข้าไปแล้ว

รูปที่ 4.5 แสดงการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าเมื่อฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นต่างๆลงไป จะเห็นได้ว่าขนาดของกระแสไฟฟ้าที่วัดได้นั้นเปลี่ยนแปลงแปรผันตามความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคส



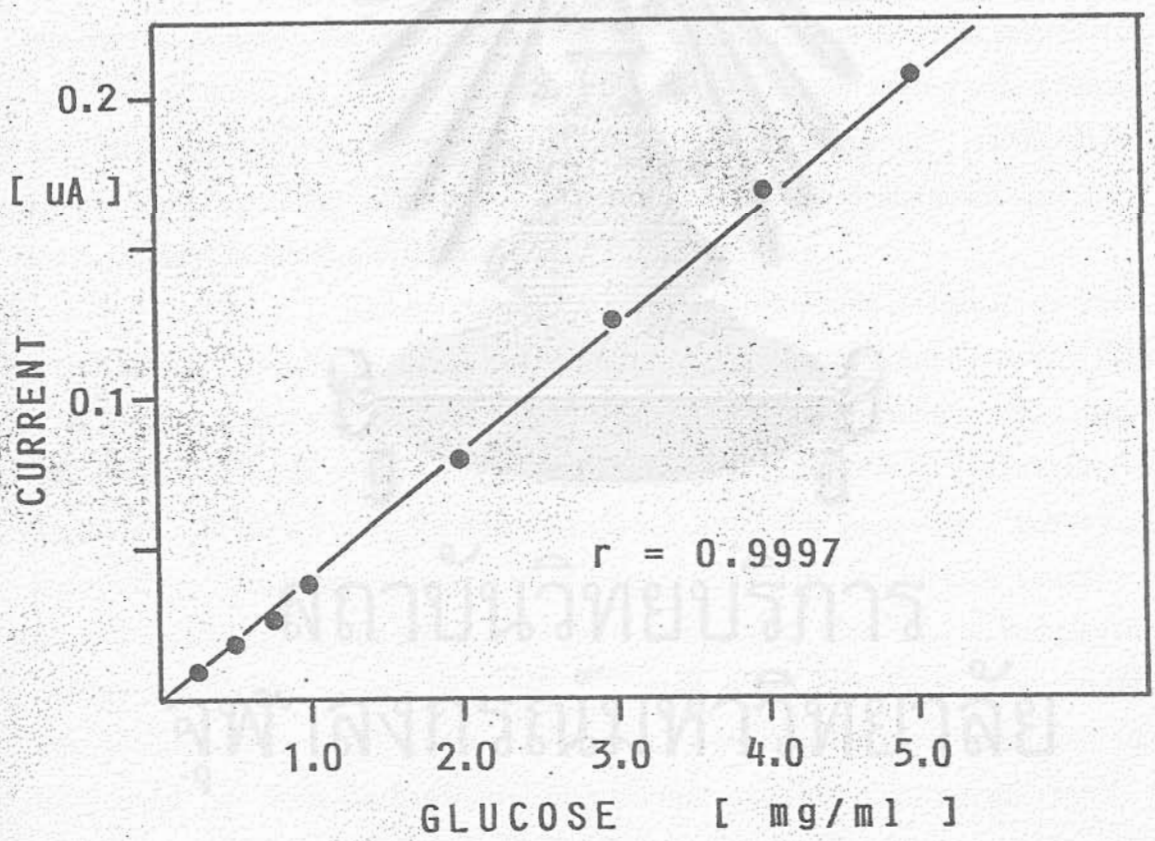
รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าเมื่อฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสลงไป

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคส

รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารละลายน้ำตาลกลูโคสกับกระแสไฟฟ้าที่วัดได้ที่เวลา 1 นาที หัวตรวจวัดนี้ใช้สารละลายเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 20 mg/ml และความเข้มข้นของสารส่งผ่านอิเล็กตรอนเป็น 100 mM ซึ่งจะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์นั้นมีลักษณะเป็นเชิงเส้น โดยมีความเป็นเส้นตรงเป็น r = 0.9997



รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างสารละลายน้ำตาลกลูโคสกับกระแสไฟฟ้าที่วัดได้ที่เวลา 1 นาที

บทที่ 5 การหาปริมาณที่เหมาะสมของการตรึงเอนไซม์และสารส่งผ่านอิเล็กตรอน

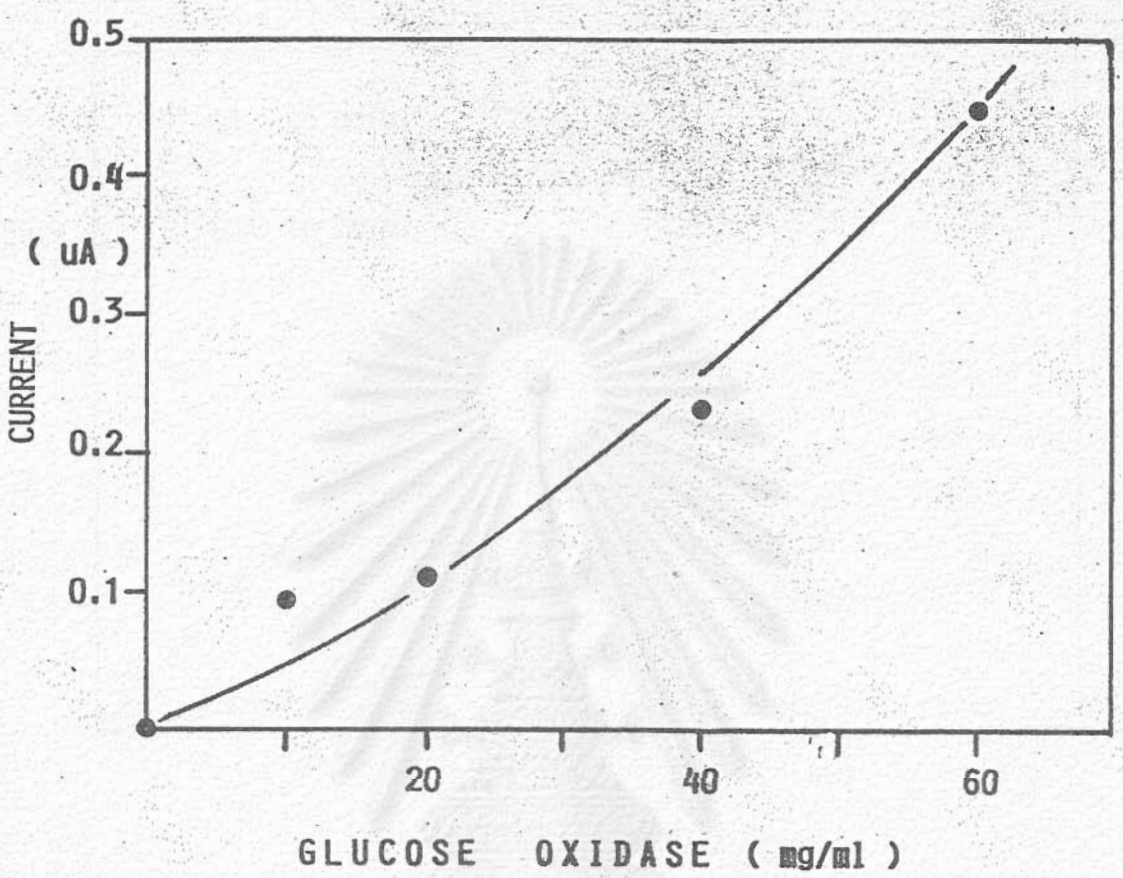
ในบทที่ 4 ได้กล่าวถึงลักษณะสมบัติพื้นฐานของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่ประดิษฐ์ขึ้นมาแล้ว ดังนั้นเพื่อที่จะหาปริมาณที่เหมาะสมของเอนไซม์และสารส่งผ่านอิเล็กตรอนที่ใช้ในการตรึงจึงจะทำการเปลี่ยนปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 0 ถึง 60 mg/ml และเปลี่ยนความเข้มข้นของ เฟอร์โรซีน (ferrocene) ที่ใช้เป็นสารส่งผ่านอิเล็กตรอน จาก 0 ถึง 100 mM

5.1 การหาปริมาณที่เหมาะสมของเอนไซม์

ในขั้นแรกจะทำการเปลี่ยนความเข้มข้นของเอนไซม์จาก 0 ถึง 60 mg/ml โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของเฟอร์โรซีนให้คงที่เท่ากับ 100 mM สาเหตุที่จำกัดความเข้มข้นของเอนไซม์ไว้เพียง 60 mg/ml นั้นก็เพื่อเป็นการประหยัดเอนไซม์ จากการวิเคราะห์หาแอคติวิตี้(activity)ของเอนไซม์โดยใช้กลูโคสอ๊อกซิเดส(glucose oxidase), เปอร์อ๊อกซิเดส(peroxidase), ฟีนอล(phenol) และ 4-อะมิโนแอนตี้พิริน (4-aminoantipyrin) พบว่าเอนไซม์กลูโคสอ๊อกซิเดสที่ใช้นี้มีแอคติวิตี้เท่ากับ 12 unit/mg

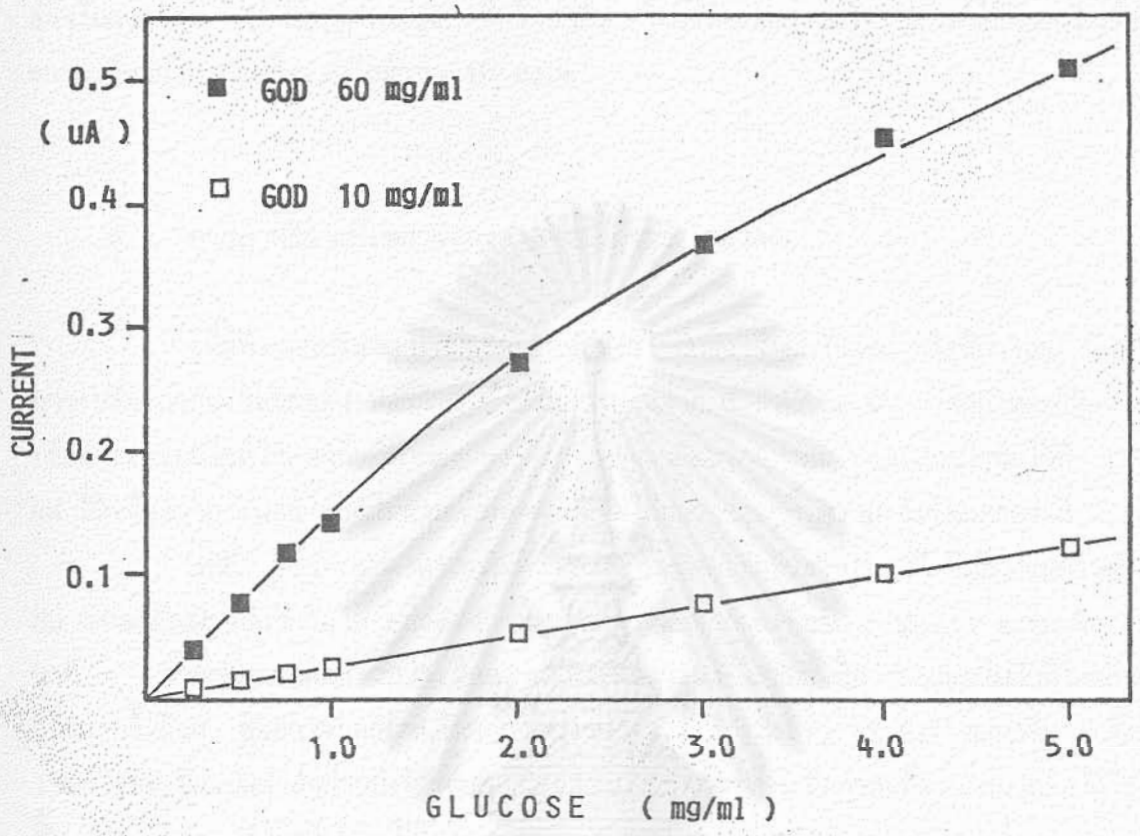
รูปที่ 5.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าที่บันทึกได้เมื่อฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้น 5 mg/ml ลงไปแล้ว 1 นาที กับ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ในการตรึงไว้ที่ทรานสดิวเซอร์ จากรูปจะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์มีค่ามากขึ้น กระแสไฟฟ้าที่วัดบันทึกได้ก็จะมีค่าสูงขึ้นด้วย ซึ่งอาจจะอธิบายได้ว่าเนื่องมาจากเมื่อปริมาณของเอนไซม์มากขึ้น เอนไซม์ที่เข้าทำปฏิกริยากับสารละลายน้ำตาลกลูโคสก็จะเพิ่มมากขึ้น เพราะว่าปริมาณของน้ำตาลกลูโคสนั้นมีมากเกินพอกว่าที่เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกริยาได้ กล่าวคือ เอนไซม์ 1 unit สามารถสลายน้ำตาลกลูโคสได้ 1 uM ใน 1 นาที ดังนั้น แม้จะใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ในการตรึงถึง 60 mg/ml(720 unit) แต่ก็คาดว่ามีเอนไซม์ที่ถูกตรึงลงบนทรานสดิวเซอร์จริงน้อยกว่า 5 unit(เพราะเวลาที่ทำการตรึงเอนไซม์นั้นใช้สารละลายผสมเพียง 50 ul เท่านั้น) ดังนั้น ถึงแม้จะทำการวัดสารละลายน้ำตาลกลูโคส 0.25 mg/ml (ราว 1 mM) ก็ยังมากกว่าที่เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกริยาได้หมดภายใน 1 นาที

ดังนั้นจากรูปที่ 5.1 อาจจะสรุปได้ว่า ถ้าต้องการได้กระแสที่สูง ซึ่งหมายความว่าหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสมีความไว(sensitivity) สูงนั้น ก็ควรทำการตรึงเอนไซม์ให้มีปริมาณมากๆไว้จะดี



รูปที่ 5.1 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้า กับ ความเข้มข้นของเอนไซม์

รูปที่ 5.2 แสดงการเปรียบเทียบผลของการวัดน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ของหัวตรวจ วัดที่มีการตรึงเอนไซม์ไว้มาก (60 mg/ml) กับหัวตรวจวัดที่ตรึงเอนไซม์ไว้น้อย (10mg/ml) ซึ่งพบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น กระแสไฟฟ้าที่บันทึกได้ก็จะมีค่าสูงขึ้น และหัวตรวจวัดที่มีการตรึงเอนไซม์ไว้มากจะวัดบันทึกค่าของกระแสไฟฟ้าได้สูงกว่าหัวตรวจวัดที่ตรึงเอนไซม์ไว้น้อยกว่า อย่างไรก็ตามเมื่อสังเกตุช่วงของการวัด (dynamic range) แล้ว พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสกับกระแสไฟฟ้าที่บันทึกได้ของหัวตรวจวัดที่มีการตรึงเอ็นไซม์ไว้ต่ำนั้น จะมีลักษณะเป็นเส้นตรงตลอดจนถึงความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสที่ 5 mg/ml และค่าความเป็นเส้นตรงนั้นเป็น r = 0.9995 ในขณะที่หัวตรวจวัดที่มีการตรึงเอ็นไซม์ไว้สูงนั้น แม้จะบันทึกกระแสไฟฟ้าได้ค่าที่มากกว่าก็ตาม แต่ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสกับกระแสไฟฟ้าที่



รูปที่ 5.2 การเปรียบเทียบความไว(sensitivity) และ ช่วงกว้างของการวัด(dynamic range) ของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่มีการตรึงเอนไซม์ไว้มาก(60 mg/ml) กับหัวตรวจวัดที่ตรึงเอนไซม์ไว้น้อย(10mg/ml)

บันทึกได้นั้นจะเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 1 mg/ml เท่านั้น ที่ความเข้มข้นที่สูงไปกว่านี้เส้นแสดงความสัมพันธ์จะมีลักษณะเป็นเส้นโค้ง โดยค่าความเป็นเส้นตรงนั้นเป็น r = 0.9918 ซึ่งหมายความว่าหัวตรวจวัดที่มีการตรึงเอนไซม์ไว้น้อยจะมีช่วงกว้างในการวัด(dynamic range) กว้างกว่าหัวตรวจวัดที่มีการตรึงเอนไซม์ไว้มาก แม้จะมีความไวในการวัด(sensitivity)ที่ต่ำกว่าก็ตาม

เพราะฉะนั้นจากรูปที่ 5.1 และ 5.2 สามารถกล่าวสรุปได้ว่าในกรณีที่ต้องการหัวตรวจวัดที่มีความไว (sensitivity) สูง แต่ใช้ในการวัดความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีค่าต่ำ และทำการวัดในช่วงแคบๆนั้น ควรทำการตรึงเอนไซม์ไว้มากๆโดยใช้ความเข้มข้น

060827

ของเอนไซม์ในการตรึงมากราว 60 mg/ml

ส่วนในกรณีที่ต้องการวัดสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูงๆ หรือต้องการช่วงในการวัด(dynamic range)ที่กว้างๆนั้น ก็ควรที่จะทำการตรึงเอนไซม์ไว้น้อยๆโดยใช้ความเข้มข้นในการตรึงเอนไซม์ราว 10 mg/ml

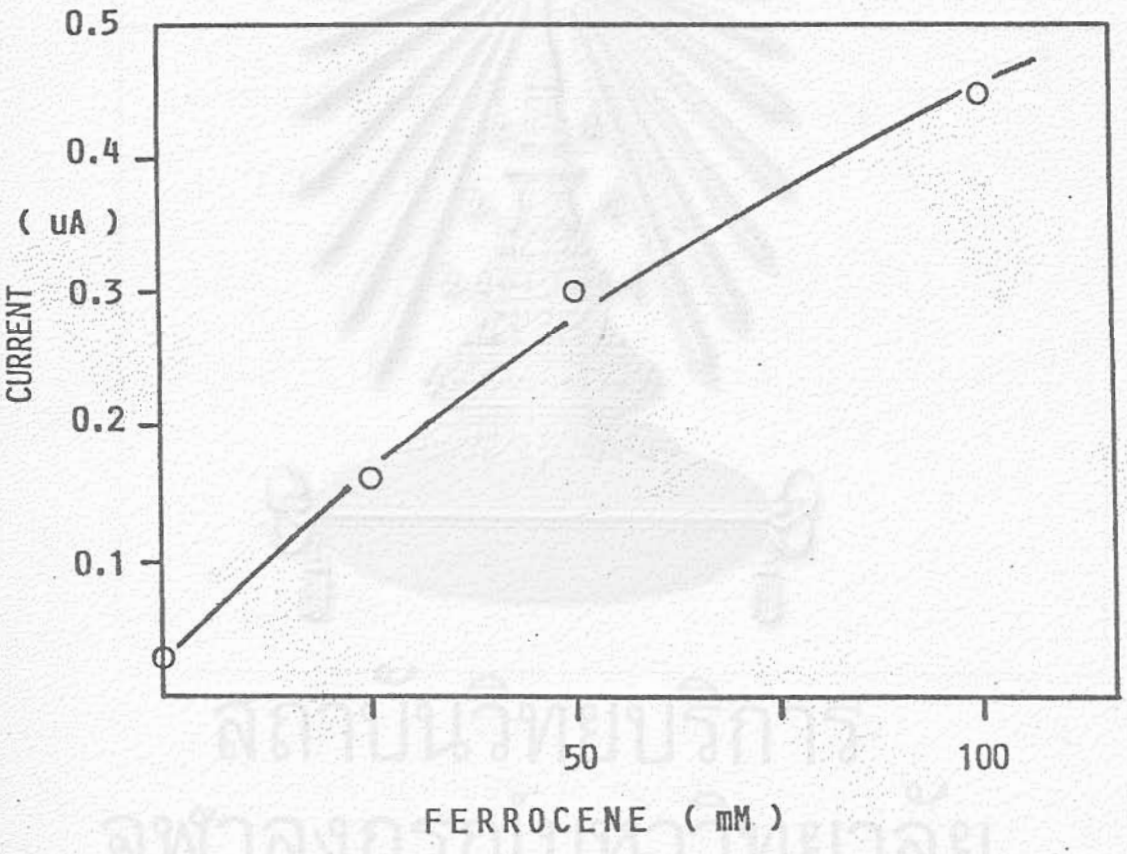
5.2 การหาปริมาณที่เหมาะสมของสารส่งผ่านอิเล็กตรอน

เพื่อที่จะหาปริมาณที่เหมาะสมของเฟอร์โรซีนซึ่งใช้เป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอน จึงทำการเปลี่ยนความเข้มข้นของเฟอร์โรซีนที่ใช้ในการตรึงจาก 0 ถึง 100 mM โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของเอนไซม์ให้คงที่ที่ 60 mg/ml สาเหตุที่จำกัดความเข้มข้นของเฟอร์โรซีนไว้ที่ 100 mM นั้นเนื่องจาก เฟอร์โรซีนไม่สามารถที่จะละลายได้อย่างง่ายๆที่ ความเข้มข้นมากกว่านี้

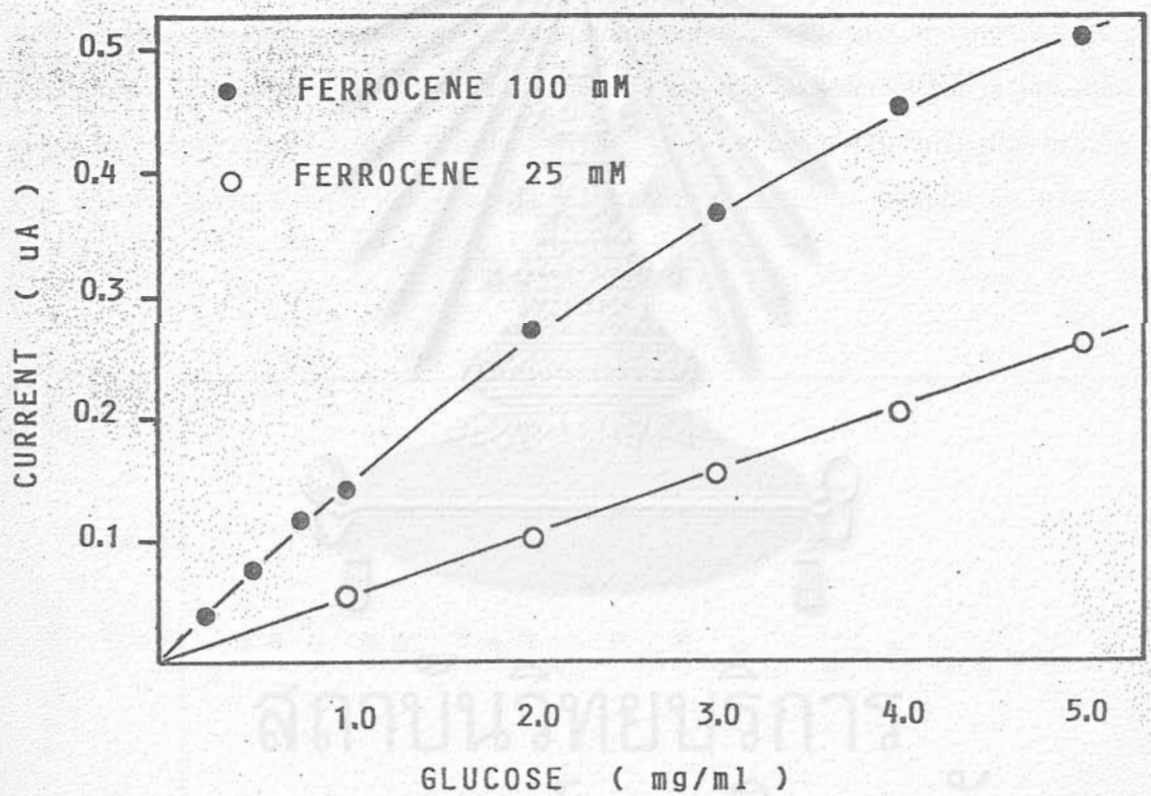
รูปที่ 5.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเฟอร์โรซีนที่ใช้ในการตรึงกับ กระแสไฟฟ้าที่บันทึกวัดได้ เมื่อฉีดสารละลายกลูโคสที่มีความเข้มข้น 5 mg/ml ลงไปแล้ว 1 นาที จากผลการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเฟอร์โรซีนสูงขึ้น กระแสไฟฟ้าที่ไหลก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วย ซึ่งอาจจะอธิบายได้จากสมการที่ (2.4), (2.5), (2.6) กล่าวคือ เมื่อมีเฟอร์โรซีน ซึ่งเป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนเพิ่มมากขึ้น การส่งผ่านอิเล็กตรอนก็จะสามารถทำได้ดียิ่งขึ้น ทำให้กระแสไฟฟ้าที่บันทึกได้มีค่ามากขึ้น

รูปที่ 5.4 แสดงการเปรียบเทียบของกระแสไฟฟ้าที่บันทึกได้เมื่อใช้เฟอร์โรซีน 25 mM และ 100mM ในการตรึงที่หัวตรวจวัด ซึ่งจะพบว่าผลของความเข้มข้นของเฟอร์โรซีนนั้นมีลักษณะทำนองเดียวกับผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ กล่าวคือ ในกรณีที่ความเข้มข้นของเฟอร์โรซีนมีค่าต่ำ กระแสไฟฟ้าที่บันทึกได้ก็จะมีค่าต่ำ(sensitivity ต่ำ) แต่จะมีช่วงกว้างของการวัดที่กว้างกว่า(dynamic range กว้าง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5.3 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเฟอร์โรซีน กับ กระแสไฟฟ้า



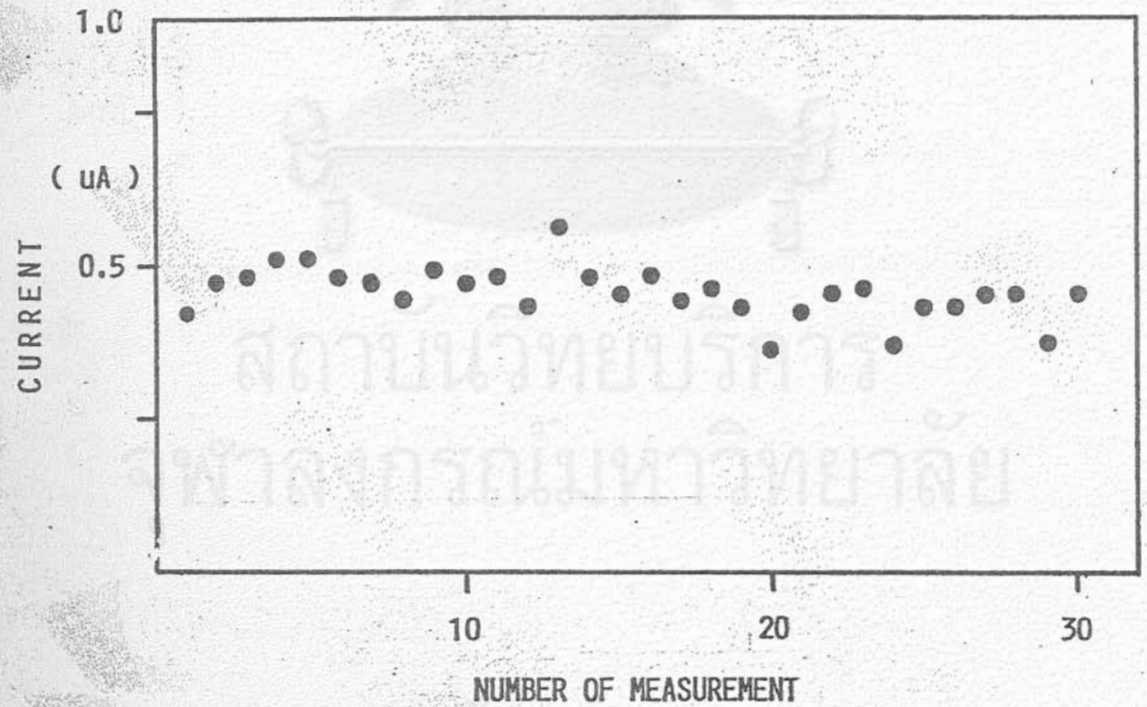
รูปที่ 5.4 การเปรียบเทียบกระแสไฟฟ้าที่บันทึกได้ของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่ใช้เฟอร์โรซีน 25 mM และ 100mM

บทที่ 6 การศึกษาการใช้งานของหัววัดน้ำตาลกลูโคส

ในบทนี้จะกล่าวถึงการทดสอบลักษณะสมบัติต่างๆในการใช้งานของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

6.1 การศึกษาค่าการเปลี่ยนแปลงของการวัดแบบต่อเนื่อง

รูปที่ 6.1 แสดงผลการวัดอย่างต่อเนื่องของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่ประดิษฐ์ขึ้น โดยทำการวัดติดต่อกัน 30 ครั้ง โดยการใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้น 1 mg/ml เนื่องจากการวัดนั้น กระทำในลักษณะที่เป็น batch กล่าวคือทำการฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสลงไปในหลอดทดลองที่มีหัวตรวจวัดอยู่ การวัดในลักษณะนี้จะมีผลของตำแหน่งที่ทำการฉีดสารละลายเข้าไป เพราะตำแหน่งต่างกันจะทำให้ผลตอบสนองของการวัดแตกต่างกันไปบ้างเล็กน้อยดังจะเห็นจากรูปผลการทดลองว่าผลการวัดนั้นขึ้นลงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามจากข้อมูลของการวัดพบว่าค่าการเปลี่ยนแปลงของการวัด(coefficient of variation) ติดต่อกัน 30 ครั้งเป็น 5.6 %



รูปที่ 6.1 แสดงผลการวัดอย่างต่อเนื่องของหัวตรวจวัดที่ประดิษฐ์ขึ้น

6.2 การศึกษาผลของอ๊อกซิเจนต่อการวัดสารละลายน้ำตาลกลูโคส

รูปที่ 6.2 แสดงผลของการวัดสารละลายน้ำตาลกลูโคสในกรณีที่ในสารละลายที่จะทำการวัดนั้นอยู่ในสภาพปกติ(มีอ๊อกซิเจน) กับกรณีที่ทำการไล่อ๊อกซิเจนออกไปโดยการไล่(bubbling)ด้วยไนโตรเจน(ไม่มีอ๊อกซิเจน) จากการทดลองจะเห็นว่า ในกรณีที่ไม่มีการไล่(bubbling)(มีอ๊อกซิเจน) นั้นกระแสไฟฟ้าที่บันทึกได้เมื่อทำการฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสเข้าไปจะมีค่ามากกว่าในกรณีที่ทำการไล่อ๊อกซิเจน(ไม่มีอ๊อกซิเจน) ซึ่งอาจจะเข้าใจได้ว่า ในกรณีที่ไม่มีอ๊อกซิเจนนั้นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนในปฏิกริยาจะได้แก่เฟอร์โรซีนเพียงอย่างเดียว แต่ในกรณีที่มีอ๊อกซิเจนนั้นทั้งเฟอร์โรซีนและอ๊อกซิเจนจะเป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนในปฏิกริยา ดังนั้นในกรณีที่มีอ๊อกซิเจนจึงได้ค่าของกระแสไฟฟ้าที่สูงกว่ากรณีที่ไม่มีอ๊อกซิเจน จากกราฟจะคำนวนค่าความไว(sensitivity) ของหัวตรวจวัดในกรณีที่อ๊อกซิเจนได้เป็น

$$Y = 100.8 * X + 37.1$$

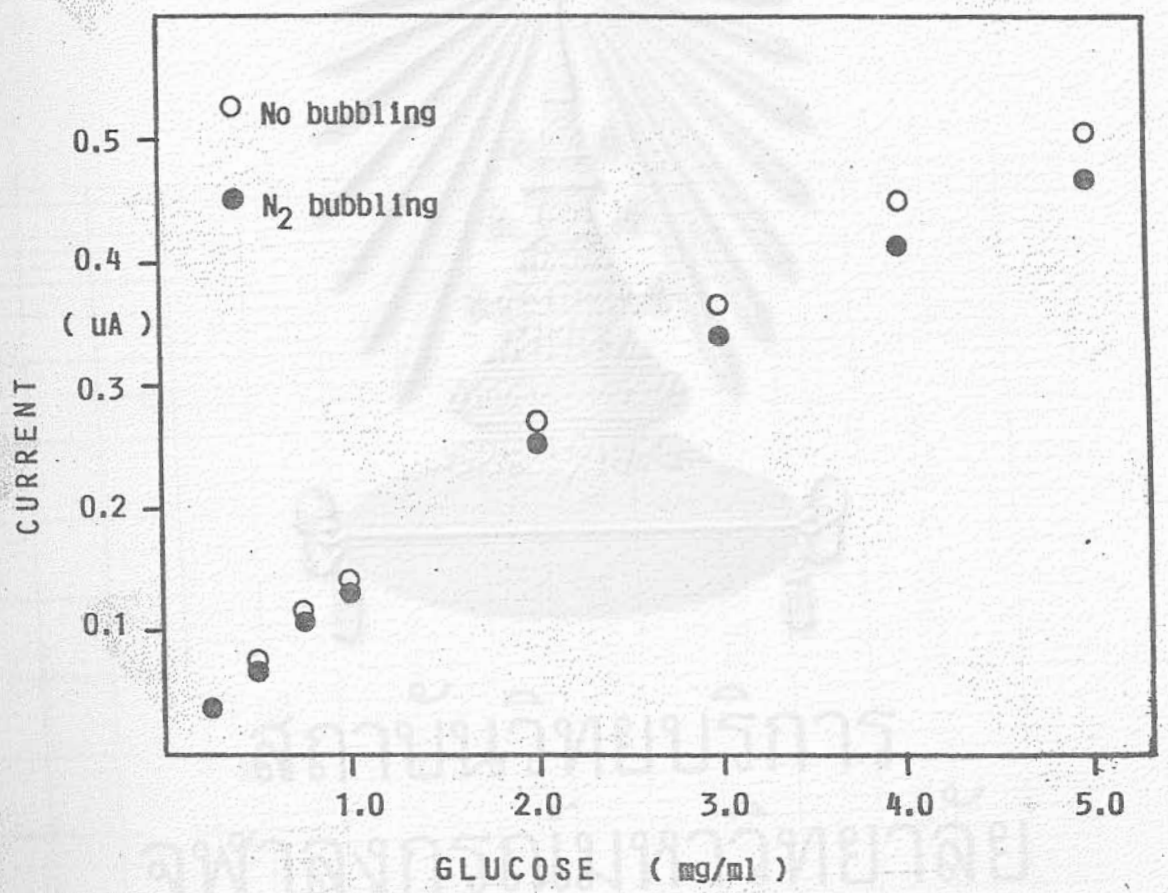
และค่าความไวของหัวตรวจวัดในกรณีที่ไม่มีอ๊อกซิเจนเป็น

$$Y = 93.5 * X + 33.1$$

โดยที่ Y : กระแสไฟฟ้าที่วัดได้เป็นนาโนแอมแปร์ (nA)

X : ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml)

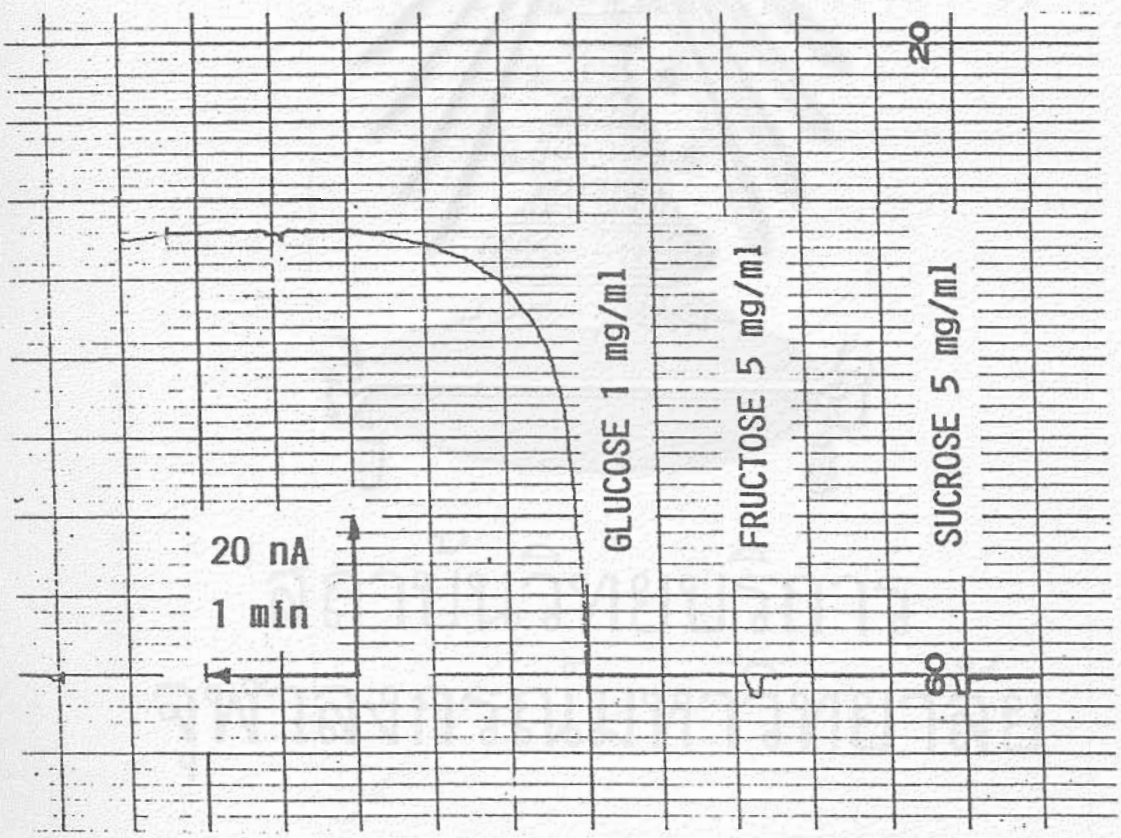
เพราะฉะนั้นความคลาดเคลื่อนในการวัดในกรณีที่มีอ๊อกซิเจนกับกรณีที่ไม่มีอ๊อกซิเจนจะเป็น 7.3 นาโนแอมแปร์/(mg/ml glucose) หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 7.2 %



รูปที่ 6.2 ผลของการวัดสารละลายน้ำตาลกลูโคสในกรณีที่ในสารละลายมีอ๊อกซิเจน กับกรณีที่ไม่มีอ๊อกซิเจน

6.3 การศึกษาความจำเพาะในการวัดน้ำตาลของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

เพื่อที่จะทำการทดสอบความจำเพาะในการวัด(selectivity)ของหัวตรวจวัดที่ประดิษฐ์ขึ้น ได้ทำการทดลองฉีดสารละลายน้ำตาลซูโคส(sucrose : น้ำตาล 2 โมเลกุลของกลูโคสกับฟรุกโตส) และน้ำตาลฟรุกโตส(fructose : น้ำตาลที่มีสูตรเคมีเช่นเดียวกันกับน้ำตาลกลูโคส) แล้วทำการบันทึกค่าของกระแสไฟฟ้า ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 6.3 ซึ่งจะเห็นได้ว่า หัวตรวจวัดที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้จะตอบสนองแต่เพียงน้ำตาลกลูโคสอย่างเดียวเท่านั้น โดยจะไม่ตอบสนองต่อน้ำตาลซูโคส และฟรุกโตส ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าหัวตรวจวัดนี้มีความจำเพาะในการวัดชนิดของน้ำตาลสูง

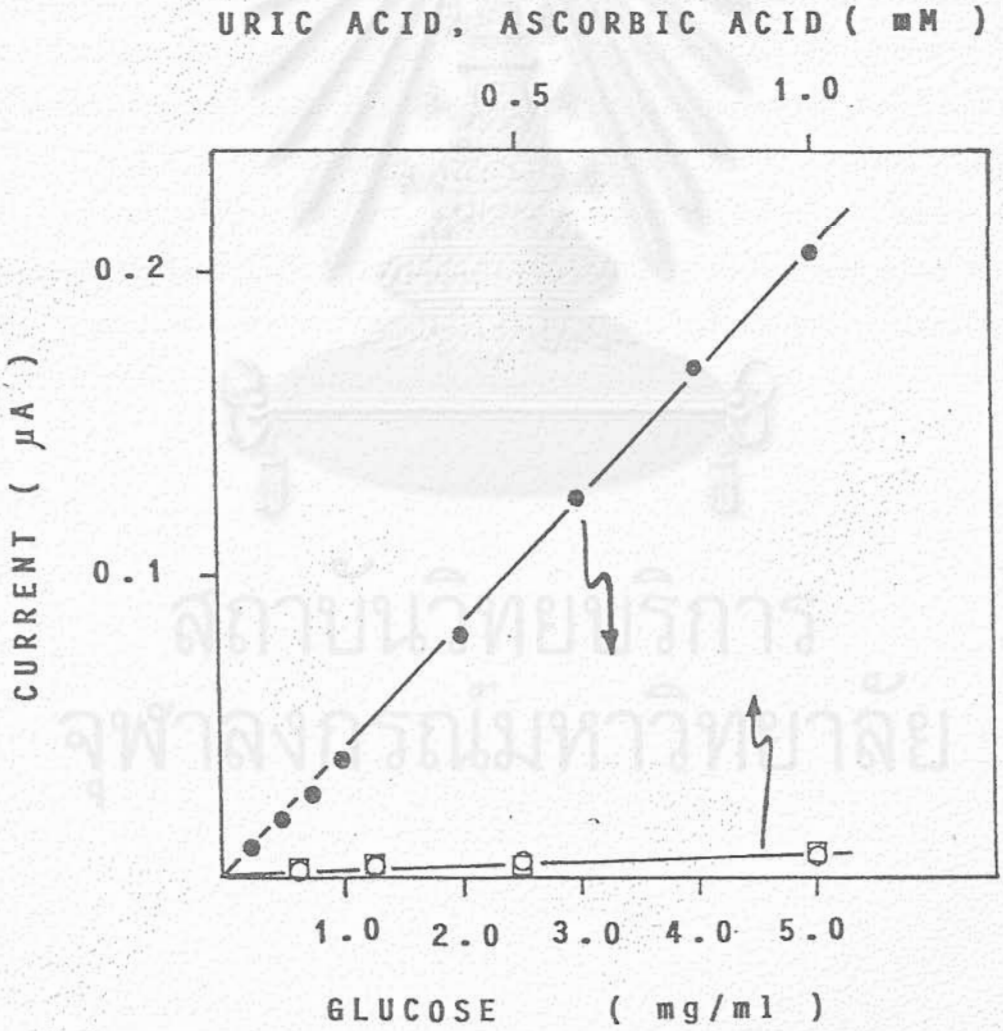


รูปที่ 6.3 ความจำเพาะในการวัดชนิดของน้ำตาลของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส

6.4 การศึกษาผลของสารรบกวน(interfering substances)

เพื่อที่จะศึกษาผลการตอบสนองของหัวตรวจวัดที่ประดิษฐ์ขึ้นต่อสารรบกวนในการวัดน้ำตาล อันได้แก่ กรดยูริค(uric acid) และวิตามินบี(ascorbic acid) ซึ่งเป็นสารที่รบกวนการตอบสนองของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในด้านการแพทย์ จึงได้ทำการทดลองวัดการตอบสนองของสารทั้งสอง

รูปที่ 6.4 แสดงผลการทดลองที่บันทึกได้ เมื่อเปรียบเทียบกระแสไฟฟ้าเมื่อฉีดสารละลายของกรดยูริคหรือวิตามินบี กับเมื่อฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสแล้วจะเห็นว่า การตอบสนองของหัวตรวจวัดนี้ต่อกรดยูริคและวิตามินบีนั้นมีค่าต่ำมาก หรืออาจจะกล่าวได้ว่าผลการรบกวนจากกรดยูริคและวิตามินบีนั้นสามารถละเลยได้โดยไม่มีผลต่อการวัด



รูปที่ 6.4 การตอบสนองของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสต่อกรดยูริค และวิตามินบี

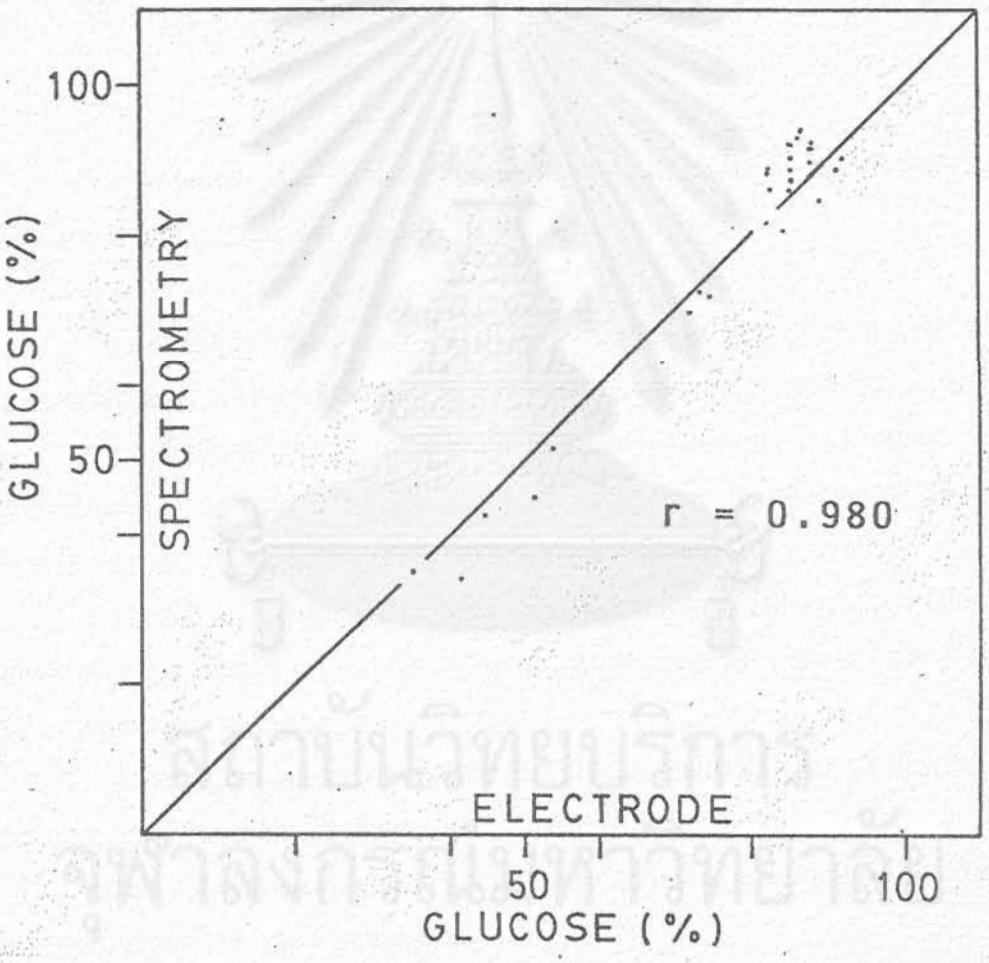
บทที่ 7 การประยุกต์ใช้งานในกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ

7.1 การประยุกต์ใช้งานในกระบวนการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากแป้งมันสำประหลัง

ในกระบวนการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากแป้งมันสำประหลังนั้น การตรวจวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลกลูโคสที่ได้ในระหว่างการผลิตนั้นเป็นสิ่งที่สำคัญมาก เพื่อที่จะสามารถหยุดกระบวนการผลิตได้ในเวลาที่เหมาะสม ซึ่งเป็นการประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการผลิตได้ โดยทั่วไปแล้วการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในกระบวนการนี้จะทำโดยการใช้เอนไซม์กลูโคสอ๊อกซิเดส, เปอร์อ๊อกซิเดสและไดในการทำปฏิกริยากับน้ำตาลกลูโคส การวัดนั้นจะต้องทำการอินคูเบต(incubate)เป็นเวลา 30 นาทีก่อนที่จะทำการวัดการดูดกลืนแสงของได โดยการใช้สเปคโตรมิเตอร์(spectrometer) ซึ่งเสียเวลามาก นอกจากนี้เอนไซม์ที่ใช้แล้วจะถูกทิ้งไปด้วย ซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองโดยเปล่าประโยชน์ ในการทดลองนี้จึงได้นำเอาหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ไปทดลองใช้วัดปริมาณของน้ำตาลกลูโคสในกระบวนการผลิตข้างต้น

รูปที่ 7.1 แสดงผลการวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสจากกระบวนการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากแป้ง การทดลองได้ทำการวัดในกระบวนการผลิต 4 กระบวนการด้วยกัน โดยการเปรียบเทียบผลของการวัดโดยการใช้หัวตรวจวัดที่ประดิษฐ์ขึ้น กับการวิเคราะห์โดยการวัดการดูดกลืนของแสง จากรูปจะเห็นได้ว่าการวัดทั้ง 2 วิธีนี้มีความสัมพันธ์กันเป็นเส้นตรง และมีค่าความสัมพันธ์ ของวิธีวัดทั้ง 2 (corelation coefficient) เป็น 0.980

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7.1 การเปรียบเทียบผลของการวัดน้ำตาลกลูโคสในกระบวนการผลิตโดยการใช้หัวตรวจวัดที่ประดิษฐ์ขึ้น กับการวิเคราะห์โดยการวัดการดูดกลืนของแสง

บทที่ 8 บทสรุป

จากรายละเอียดของการวิจัยและพัฒนาการประดิษฐ์หัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่กล่าวมาแล้ว สามารถสรุปหัวข้อสำคัญได้ดังต่อไปนี้

1. ได้ทำการประดิษฐ์ทรานสดิวเซอร์แบบแผ่นฟิลม์บางสำหรับวัดน้ำตาลกลูโคส
2. ได้ทำการตรึงเอนไซม์กลูโคสอ๊อกซิเดสแบบต่างๆ และพบว่าการใช้อีพ๊อกซีเรซินนั้นได้ผลดีในการตรึงเอนไซม์ลงบนทรานสดิวเซอร์
3. ได้ทำการประดิษฐ์เครื่องแปลง-ขยายสัญญาณและแสดงผลสำหรับการวัดน้ำตาลกลูโคส

และจากผลการทดลองใช้หัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ในการวัดสารละลายน้ำตาลกลูโคส สามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

1. ในกรณีที่ต้องการวัดน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นต่ำ(น้อยกว่า 1 mg/ml) และช่วงของการวัดนั้นแคบ ควรจะทำการตรึงเอนไซม์ด้วยความเข้มข้นที่สูง(ราว 60 mg/ml)
2. ในกรณีที่ต้องการวัดน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูง(มากกว่า 1 mg/ml) และช่วงของการวัดนั้นกว้าง(ถึง 5 mg/ml) ควรจะทำการตรึงเอนไซม์ด้วยความเข้มข้นที่ต่ำ(น้อยกว่า 10 mg/ml) ซึ่งค่าความเป็นเส้นตรงของการวัดจะเป็นราว 0.9995
3. ผลของความเข้มข้นของเฟอร์โรซีน ซึ่งเป็นสารส่งผ่านอิเล็กตรอนนั้นจะมีลักษณะเช่นเดียวกับผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นของเฟอร์โรซีนมีค่าต่ำจะทำให้ช่วงกว้างของการวัด(dynamic range)กว้าง
4. ค่าการเปลี่ยนแปลงในการวัดแบบ batch โดยทำต่อเนื่อง 30 ครั้งนั้นเป็น 5.6% จึงสามารถกล่าวได้ว่าอายุการใช้งานนั้นมากกว่า 30 ครั้ง
5. หัวตรวจวัดที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้มีความจำเพาะในการวัดน้ำตาลกลูโคสสูงโดยจะไม่มีการตอบสนองต่อน้ำตาลซูโคส และน้ำตาลฟรุกโตส
6. หัวตรวจวัดที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ไม่ถูกรบกวนจากสารรบกวน(interfering substance)อันได้แก่ กรดยูริค และวิตามินบี
7. ผลของอ๊อกซิเจนที่มีและไม่มีอยู่ในสารละลายจะมีผลทำให้การวัดนั้นมีความคลาดเคลื่อน 7.3 นาโนแอมแปร์ ต่อ กลูโคส 1 mg/ml ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซนต์แล้วจะเป็น 7.2 %
8. หัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้สามารถนำไปใช้ในการวัดน้ำตาลกลูโคสในกระบวนการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากแป้งมันสำประหลังได้ โดยเมื่อเทียบผลกับการวิเคราะห์โดย

การใช้สเปคโตรมิเตอร์แล้วได้ค่าความสัมพันธ์ระหว่างวิธีทั้งสอง(corelation coefficient) เป็น 0.980

แม้ว่างานที่ได้ดำเนินไปดังที่กล่าวมาแล้วนี้จะได้ผลดีพอสมควร แต่ในทางปฏิบัตินั้นยังมีอุปสรรคบางอย่างซึ่งถ้าทำการแก้ไขแล้วจะได้หัวตรวจวัดที่มีลักษณะสมบัติที่ดียิ่งขึ้น และยังมีงานบางอย่างซึ่งนอกเหนือไปจากขอบข่ายงานวิจัยนี้ซึ่งหากดำเนินการปฏิบัติแล้วอาจจะทำให้สามารถนำเอาหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนี้ไปใช้อย่างกว้างขวางได้ อันได้แก่

1. การตรึงเอนไซม์โดยใช้อีพ็อกซีเรซินนี้ แม้ว่าโดยทั่วๆไปจะได้ผลพอใช้ได้ แต่ในการประดิษฐ์แต่ละล็อตนั้นก็ยังมีความแตกต่างกัน ซึ่งในกรณีที่เลวมากก็จะมีความแตกต่างมากกว่า 50 %

2. การทดลองวัดลักษณะสมบัติของหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนี้ได้ทำในลักษณะของ batch ซึ่งทำให้การวัดมีความคลาดเคลื่อนราว 5.6 %

3. หากได้มีการนำเอาหัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสนี้ไปทดลองวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสในเลือดหรือปัสสาวะ ก็อาจจะสามารถนำหัวตรวจวัดนี้ไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ในการตรวจแบบฉุกเฉินในโรงพยาบาล หรือการตรวจสุขภาพตัวเองที่บ้านได้ นอกเหนือจากการใช้วัดในกระบวนการผลิตทางเทคโนโลยีชีวภาพ

การแก้ปัญหาของอุปสรรคข้างต้นอาจจะทำได้โดยการปฏิบัติดังต่อไปนี้

1. การแก้ปัญหาของความคลาดเคลื่อนในแต่ละล็อตนั้นอาจจะทำได้โดยการทำ calibration curve หรือ ทำ point calibrate หัวตรวจวัดแต่ละตัวก่อนการใช้ทุกครั้งในทำนองเดียวกับการใช้ pH มิเตอร์ หรือทำการวิจัยหาวิธีการตรึงเอนไซม์นอกเหนือจาก 3 วิธีข้างต้นที่ได้ทำมาแล้ว

2. การแก้ปัญหาของความคลาดเคลื่อนในการวัดแต่ละครั้งนั้นอาจจะทำได้หากทำการแก้ไขระบบวัดให้เป็นแบบ Flow Injection โดยการใช้ peristatic pump เข้าช่วยในการฉีดสารละลายตัวอย่าง ซึ่งคาดว่าจะสามารถลดค่าความคลาดเคลื่อน และอาจจะประหยัดเวลาวัดให้สั้นลงได้

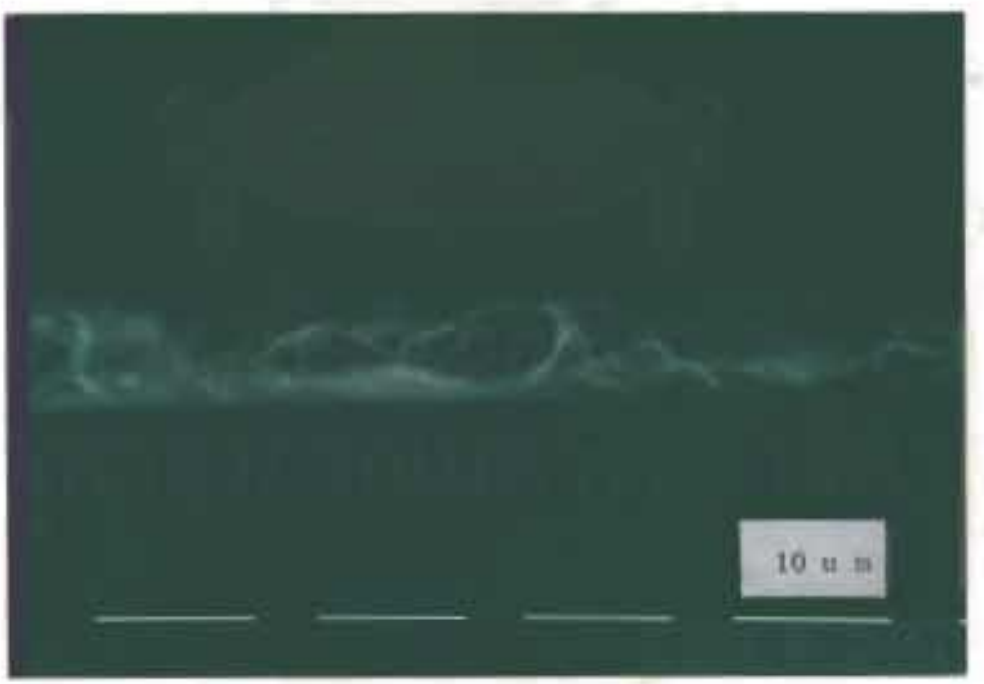
3. ขอความร่วมมือจากหน่วยงานพยาบาลในการนำเอาหัวตรวจวัดนี้ไปทำการทดลองวัดเลือด หรือปัสสาวะคนไข้ เพื่อเก็บข้อมูลอันจะได้เป็นแนวทางที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์

การที่ผลของการประดิษฐ์เซนเซอร์ในแต่ละล็อตมีความแตกต่างกันอยู่มากนั้นคาดว่าเนื่องมาจากการที่แผ่นฟิล์มที่ได้มาจากการตรึงเอนไซม์โดยการใช้อีพือกซีเรซินนั้นมีความหนาไม่คงที่ ดังจะเห็นได้จากรูปที่ 3.8 ว่าเซนเซอร์ที่มีแผ่นฟิล์มเอนไซม์อยู่นั้นจะมองเห็นเป็นจุดสะท้อนมีสีขาวทั่วผิว ความไม่เรียบของแผ่นฟิล์มนี้จะเห็นได้ชัดเจนมากขึ้นเมื่อมองด้วยกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนดังแสดงในรูปที่ 8.1 ซึ่งเป็นภาพถ่ายจากมุมเอียงราว 15 องศาจากแนวระนาบ จะเห็นได้ว่าแผ่นฟิล์มมีลักษณะเป็นรูปคลื่น และภาพที่ 8.2 แสดงภาพตัดขวางของแผ่นฟิล์มโดยทางด้านล่างของภาพเป็นแผ่นฐานรองรับ(substrate) และทางด้านบนคือแผ่นฟิล์ม จากภาพสามารถคำนวนความหนาของแผ่นฟิล์มได้ว่ามีความหนาอยู่ในช่วงราว 1 ถึง 5 ไมโครเมตร

อย่างไรก็ตามการที่จะหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาของแผ่นฟิล์มกับขนาดของสัญญาณขาออกของเซนเซอร์นั้นเป็นการยากเพราะแผ่นฟิล์มไม่เรียบดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น วิธีการแก้ปัญหานี้ก็คือ 1) การทำการ calibration ก่อนการวัดดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น หรือ 2) เปลี่ยนวิธีการตรึงเอนไซม์โดยวิธีอื่น เช่น การใช้ Langmuir-Blodgett Film หรือ การตรึงโดยวิธี electro-polymerization เป็นต้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 8.1 ภาพถ่ายของแผ่นฟิล์มที่มุมเอียงราว 15 องศา



รูปที่ 8.2 ภาพตัดขวางของแผ่นฟิล์ม

เอกสารอ้างอิง

1) Cass,A.E.G., Davis,G., Francis,G.D., Hill,.H.A.O., Aston,W.J., Higgin,I.J., Plotkin,.E.V., Scott,L.D.L., Turner.A.P.F., Anal.Chem., 56 (1984) 667.

2) Ikeda,T., Hamada,H., Miki,K., Senda,., Agric. Biol. Chem., 49 (1985) 541.

3) Miyahara,Y., Moriizumi,T., Ichimura,K., Sensors and Actuator, 7 (1985) 1.

4) Brooks,S.L., Ashby,R.E., Turner,A.P.F., Calder,M.R., Clark,D.J., Biosensor 3 (1987) 45

5) Sriyudthsak,M., Yamagishi,H., Moriizumi,T., Thin Solid Films, 160 (1988) 463.

เอกสารตีพิมพ์และเผยแพร่

มานะ ศรียุทธศักดิ์ "การประดิษฐ์หัวตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสแบบโซลิดสเตตและระบบเครื่องวัด" การประชุมวิชาการวิศวกรรมไฟฟ้าครั้งที่ 13, หน้า 71-80, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 8-9 พฤศจิกายน 2533

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีใช้เครื่องตรวจวัดน้ำตาล

1. เสียบปลักของเครื่องวัดเข้ากับแหล่งจ่ายไฟ 220 V.

2. ในกรณีที่ต้องการบันทึกข้อมูลลง recorder ให้ต่อสายจากด้านหลังของเครื่องวัดเข้ากับ recorder โดยต่อขั้ว I(กระแส)เข้ากับแกน Y ของ recorder และต่อขั้ว V(แรงดัน)เข้ากับแกน X

3. ต่อทรานสดิวเซอร์เข้ากับขั้วสำหรับทรานสดิวเซอร์ที่อยู่ด้านหน้าของตัวเครื่อง

4. จุ่มทรานสดิวเซอร์ลงไปในหลอดทดลองขนาดเล็กที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์(pH 7.2, 0.01M phosphate buffer)ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร

5. รอจนกระทั่งกระแสไฟฟ้าลดลงมาคงที่แล้วจึงฉีดสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/ml จำนวน 100 ul ลงไปตามลำดับเพื่อทำ calibration curve โดยทำการวัดค่าของกระแสไฟฟ้าที่เวลา 1 นาที

6. ล้างทรานสดิวเซอร์ทุกครั้งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์แล้วจึงเริ่มทำการวัดกระแสไฟฟ้า

7. ทำการวัดสารละลายที่ต้องการรู้ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเช่นเดียวกันกับวัดสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

ข้อควรระวังในการวัด

1. หลังทำการวัดให้เก็บรักษาทรานสดิวเซอร์ในตู้เย็นที่อุณหภูมิราว 4 องศาเซลเซียส

2. ทำ calibration curve ทุกครั้งก่อนทำการวัดสารละลายตัวอย่าง

3. การทำ calibration curve นั้นอาจทำโดยวิธีข้างต้น หรือทำเป็นแบบ point calibration ก็ได้แล้วแต่ชนิดและจำนวนของตัวอย่าง