



รายงานฉบับสมบูรณ์
ทุนโครงการวิจัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การใช้กราฟีนร่วมกับพอลิเมอร์ดัดแปรอิเล็กโทรดสำหรับ
ตรวจวิเคราะห์สารบ่งชี้ทางชีวภาพ

(ภาษาอังกฤษ) Graphene-polymer modified electrode for biomarker detection

ชื่อหัวหน้าโครงการ

ศาสตราจารย์ ดร. อรรวรรณ ชัยลภากุล
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนโครงการวิจัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๖

โครงการวิจัยเรื่อง การใช้กราฟีนร่วมกับพอลิเมอร์ดัดแปรด้วยไฟฟ้าสำหรับตรวจวิเคราะห์สารบ่งชี้ทางชีวภาพ

สรุปรายงานความก้าวหน้า 12 เดือน

รายงานช่วงระยะตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน 2556 ถึง วันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2557

ชื่อหัวหน้าโครงการ ศาสตราจารย์ ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล

หน่วยงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. การดำเนินงาน: ได้ดำเนินงานตามแผนที่วางไว้ทุกประการ
 ได้เปลี่ยนแปลงแผนงานที่วางไว้ดังนี้คือ

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ (โดยสรุป)

พัฒนาเซนเซอร์โดยดัดแปรด้วยไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีนด้วยกราฟีนและพอลิเมอร์นำไฟฟ้าสำหรับตรวจวิเคราะห์สารบ่งชี้ทางชีวภาพ และหาภาวะที่เหมาะสมของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นโดยเพิ่มพื้นที่ผิวและการนำไฟฟ้าเพื่อให้การตรวจวัดสารบ่งชี้ทางชีวภาพด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามีความไว และประสิทธิภาพสูงสุด

3. สรุปผลการดำเนินงาน

ได้ดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีนด้วยกราฟีนและพอลิเมอร์นำไฟฟ้าโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์ เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวหน้าให้กับขั้วไฟฟ้าและมีการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้น สำหรับการตรวจวัดสารสำคัญด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า

4. งบประมาณที่ได้ใช้จ่ายไปแล้วนับตั้งแต่เริ่มโครงการเป็นเงินจำนวนทั้งสิ้น 329,000.00 บาท

5. การดำเนินงานในช่วงต่อไป

ศึกษาหาระบบและภาวะที่เหมาะสมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรเพื่อนำไปตรวจวัดสารด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

6. ระยะเวลาที่คาดว่าจะงานวิจัยจะแล้วเสร็จ เป็นไปตามแผนที่วางไว้

ไม่เป็นไปตามแผนแต่คาดว่าจะเสร็จ

7. คำชี้แจงเกี่ยวกับอุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไขหรือ ประเด็นที่ต้องการช่วยเหลือสนับสนุน
ไม่มีอุปสรรคในการดำเนินงาน

.....
(หัวหน้าโครงการวิจัย)
...../...../.....

ผลการดำเนินงานเรื่อง : การพัฒนาตัวรับรู้ชีวภาพบนกระดาษชนิดใหม่ด้วยวัสดุนาโนคอมโพสิตของกราฟีน/
พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิเอนิลีนเพื่อตรวจวัดคอเลสเทอรอล

1. คำนำ

ปัจจุบันการพัฒนาตัวรับรู้ชีวภาพที่มีความแม่นยำ ความไว และราคาถูกกำลังเป็นที่ต้องการในการคัดกรองตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของโรคต่างๆ โดยเมื่อไม่นานมานี้ กระดาษกรองชนิดเซลลูโลสเป็นวัสดุที่มีความน่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุรองรับเพื่อตรวจวัดสารต่างๆ เนื่องจากมีข้อดีคือ พื้นที่ผิวสูง ราคาถูก และสามารถออกแบบให้ใช้ได้ [1-3] เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุรองรับทั่วไปเช่น แก้ว เซรามิก และพอลิเมอร์ โดยเทคนิคในการตรวจวัดสารที่ได้รับความนิยมคือ เทคนิคเคมีไฟฟ้า เนื่องจากใช้งานง่าย พกพาสะดวก และตรวจวัดได้รวดเร็ว อีกทั้งสามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณในเวลาเดียวกัน [4] ตัวรับรู้ชีวภาพบนกระดาษที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคเคมีไฟฟ้านี้ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการงานวิจัยหลายด้าน เช่น การวินิจฉัยโรค [2, 4] การควบคุมสิ่งแวดล้อม [1] และการควบคุมคุณภาพของอาหาร [5] โดยปัจจุบันตัวรับรู้ชีวภาพดังกล่าวมีข้อจำกัดที่สำคัญคือ มีความไวในการตรวจวัดต่ำ อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษสามารถเตรียมได้ด้วยหลายวิธี เช่น Photolithography [1-4] การพิมพ์สกรีนเวกซ์ [2] การจุ่มเวกซ์ [3] และการพิมพ์เวกซ์ [6-7] ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีความจำเป็นในการดัดแปรพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าบนกระดาษด้วยวัสดุที่มีพื้นที่ผิวสูงเพื่อเพิ่มความไวในการตรวจวัด

กราฟีนเป็นวัสดุที่ได้รับความนิยมสูงเป็นอย่างมากเนื่องจากคุณสมบัติเชิงกายภาพ เชิงเคมี เชิงกล และเชิงไฟฟ้า ซึ่งแกรฟีนคือ อนุภาคนาโนอัญรูปหนึ่งของคาร์บอนที่มีการจัดเรียงอะตอมของคาร์บอนแบบ sp^2 และมีลักษณะเป็นแผ่นชั้นเดียวใน 2 มิติทำให้มีพื้นที่ผิวสูง [8-10] ซึ่งวัสดุกราฟีนจะมีการนำไฟฟ้าและความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนที่ดีเยี่ยม แต่เนื่องด้วยการใช้งานของกราฟีนมักประสบปัญหาจากการรวมตัวกันเนื่องจากแรงแวนเดอร์วาลส์ ปัจจุบันจึงมีการนำพอลิไวนิลไพโรลิโดน (polyvinylpyrrolidone) มาช่วยให้กราฟีนที่ความเข้มข้นสูงมีการกระจายตัวได้ดีขึ้นในตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ [9, 11, 12] ซึ่งการใช้งานของกราฟีนในรูปของวัสดุ

นาโนคอมโพสิตของกราฟีนและพอลิเมอร์นำไฟฟ้ามีความน่าสนใจกว่าการใช้งานกราฟีนเพียงอย่างเดียวเนื่องจากมีความสะดวกในการประดิษฐ์ขั้วไฟฟ้าและการตรึงตัวตรวจรับชีวภาพ (bio-receptor) โดยพอลิเมอร์นำไฟฟ้าที่สนใจในงานวิจัยนี้คือ พอลิแอนิไลน์ (polyaniline) เนื่องจากนำไฟฟ้าได้ดี สังเคราะห์ได้ง่าย อีกทั้งยังประกอบไปด้วยหมู่อะมิโน ($-NH_2$) จำนวนมากทำให้สามารถตรึงตัวตรวจรับชีวภาพ เช่น เอนไซม์ และแอนติบอดีได้ง่าย [9, 13-15] ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาตัวรับรู้ทางชีวภาพบนกระดาษที่ดัดแปรด้วยวัสดุนาโนคอมโพสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ โดยในงานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์ (electrospraying) มาประยุกต์ใช้ในการดัดแปรวัสดุนาโนคอมโพสิตลงบนขั้วไฟฟ้า เนื่องจากสามารถทำให้เกิดหยดขนาดนาโนที่พื้นที่ผิวมากของวัสดุนาโนคอมโพสิตบนขั้วไฟฟ้า ซึ่งพื้นที่ผิวที่มากขึ้นส่งผลให้เพิ่มความไวในการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า อีกทั้งยังอาจช่วยให้มีการตรึงตัวตรวจรับชีวภาพได้มากขึ้นอีกด้วย

สารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) คือสารชีวโมเลกุลที่สามารถบ่งชี้ถึงความผิดปกติของกระบวนการต่างๆ ในร่างกาย ซึ่งหนึ่งในสารบ่งชี้ทางชีวภาพที่สำคัญของโรคหัวใจและความดันเลือดสูงคือ คอเลสเตอรอล โดยเทคนิคทั่วไปในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลคือ สเปกโทรสโคปี แต่เนื่องจากเทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัด เช่น เครื่องมือมีราคาแพงและการเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อนทำให้มีการนำเทคนิคเคมีไฟฟ้ามาใช้งาน โดยมีการใช้งานขั้วไฟฟ้าร่วมกับวัสดุนาโนต่างๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลให้ดียิ่งขึ้น

งานวิจัยนี้ได้มีการเตรียมวัสดุนาโนคอมโพสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ จากนั้นนำไปดัดแปรลงบนขั้วไฟฟ้าบนกระดาษด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์ เพื่อใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคอเลสเตอรอล และนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในตัวอย่างจริงของสิ่งมีชีวิต เช่น ซีรัมและพลาสมา

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1. การประดิษฐ์ขั้วไฟฟ้าบนกระดาษ

ในงานวิจัยนี้ได้มีการประดิษฐ์ขั้วไฟฟ้าบนกระดาษโดยใช้วิธีการพิมพ์แว็กซ์ (wax printing) ซึ่งดำเนินการตามงานวิจัยก่อนหน้า [1] และมีการปรับเปลี่ยนเล็กน้อย ดังนี้

- ออกแบบขั้วไฟฟ้าด้วยโปรแกรมโปรแกรมอะโดบี อิลลัสเตรเตอร์ (Adobe Illustrator) จากนั้นพิมพ์เวกซ์ลงบนกระดาษกรองวอชแมน เบอร์ 1 (Whatman no.1) โดยใช้เครื่องพิมพ์แว็กซ์
- ให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที เพื่อละลายแว็กซ์ โดยกระดาษที่พิมพ์แว็กซ์แล้วจะแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ บริเวณที่เคลือบแว็กซ์จะไม่ชอบน้ำ ส่วนบริเวณที่ไม่เคลือบแว็กซ์จะชอบน้ำ

สัญญาเลขที่ R_๐๑๑_๒๕๕๖

- พิมพ์ขั้วไฟฟ้าระบบ 3 ขั้วลงบนกระดาษที่พิมพ์แว็กซ์แล้วข้างต้น โดยขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) และขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) พิมพ์ด้วยหมึกของคาร์บอน ส่วนขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) และส่วนนำไฟฟ้าที่ใช้ต่อกับเครื่องตรวจวัดพิมพ์ด้วยหมึกของซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์

2.2. การตัดแปรขั้วไฟฟ้าบนกระดาษด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลินโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์

2.2.1. การเตรียมสารละลายนาโนคอมพอสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลิน

- สารละลายแอนิลินเตรียมโดยดำเนินการตามขั้นตอนของงานวิจัยก่อนหน้า [2] โดยการละลายพอลิแอนิลินด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (chloroform) จากนั้นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 8 ชม. แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง
- สารละลายของพอลิไวนิลไพโรลิโดนสามารถเตรียมได้โดยละลายพอลิไวนิลไพโรลิโดนด้วยตัวทำละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) จากนั้นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 10 นาที
- เติมกราฟีน 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรลงในสารละลายของพอลิไวนิลไพโรลิโดนจากนั้นสั่นด้วยคลื่นเสียงนาน 6 ชม.
- ผสมสารละลายของพอลิแอนิลินและกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน โดยมีการผสมพอลิสไตรีน (polystyrene) 0.1% ปริมาตรต่อปริมาตร เพื่อช่วยในการขึ้นรูปด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์

2.2.2. การตัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสเปรย์

ระบบของกระบวนการอิเล็กโทรสเปรย์ประกอบด้วย เครื่องปั๊มสารละลาย เครื่องกำเนิดศักย์ไฟฟ้าสูง ฉากรับที่ต่อกับสายดิน เข็มฉีดยาสแตนเลสและหลอดฉีดยา ก่อนกระบวนการอิเล็กโทรสเปรย์ส่วนของขั้วไฟฟ้าช่วยและขั้วไฟฟ้าอ้างอิงจะถูกคลุมป้องกันการตัดแปร จากนั้นสารละลายผสมกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลินที่เตรียมแล้วข้างต้นจะถูกบรรจุลงในหลอดฉีดยา เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าสูงเข้าไปที่สารละลาย จะเกิดหยดละอองขนาดเล็กเคลื่อนที่ไปตัดแปรบนขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ต่อกับฉากรับ โดยสภาวะของกระบวนการอิเล็กโทรสเปรย์ที่ควบคุมคือ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ปลายเข็มห่างจากฉากรับ 5 เซนติเมตร และให้ศักย์ไฟฟ้า 6 กิโลโวลต์

2.3 การเตรียมตัวอย่างซีรัมมนุษย์

ละลายซีรัมมนุษย์มาตรฐานด้วยน้ำปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นตกตะกอนโปรตีนด้วย 10% (w/v)_TCA [16] จากนั้นทำการเติมคอลเลสเตอรอลมาตรฐานลงในตัวอย่างแล้วตรวจวัดโดยใช้ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน และเทคนิคแอมเปโรเมทรี

3. ผลของการวิจัย

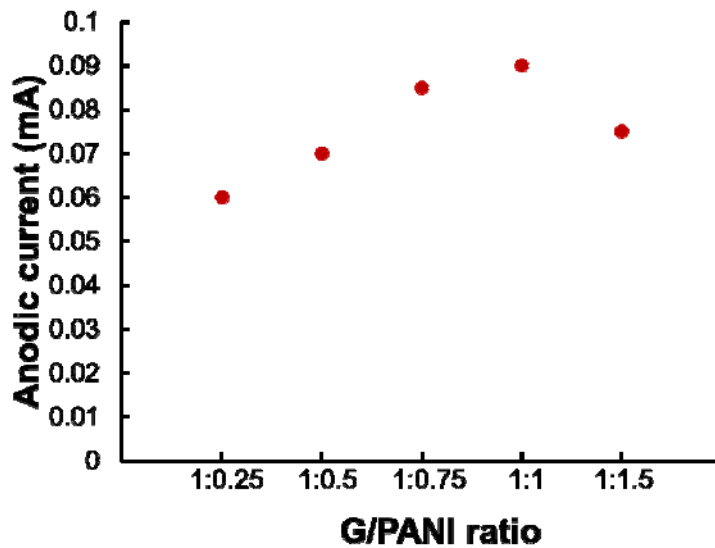
ตามวัตถุประสงค์ของข้อเสนอโครงการวิจัย คณะวิจัยต้องการพัฒนาไบโอเซนเซอร์โดยดัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยกราฟีนและพอลิเมอร์นำไฟฟ้าสำหรับตรวจวิเคราะห์สารบ่งชี้ทางชีวภาพ โดยหาภาวะที่เหมาะสมของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นโดยเพิ่มพื้นที่ผิวและการนำไฟฟ้าเพื่อให้การตรวจวัดสารบ่งชี้ทางชีวภาพด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามีความไว และประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งจากเดิมคณะผู้วิจัยคาดว่าจะใช้เทคนิคการปั่นเส้นใยด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospinning) แต่เนื่องจากขั้วไฟฟ้าที่ออกแบบเพื่อใช้ในงานวิจัยนี้มีขนาดเล็กมาก (วงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร) จึงทำให้ไม่สามารถทำการดัดแปรด้วยเทคนิคดังกล่าวได้ เพราะในการดัดแปรจะต้องนำอลูมิเนียมฟอยด์ที่เจาะรูขนาดเท่ากับขั้วไฟฟ้าทำงานมาปิดทับเพื่อบดบังไม่ให้สารไปติดที่ขั้วไฟฟ้าอื่นๆ ซึ่งหากดัดแปรด้วยเส้นใย เส้นใยซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นใยแบบต่อเนื่องจะพาดอยู่ที่บนอลูมิเนียมฟอยด์ที่ใช้เป็น mask และขั้วไฟฟ้าทำงาน เมื่อทำการลอกอลูมิเนียมฟอยด์ออก เส้นใยก็จะเกิดการฉีกขาด และไม่ติดอยู่ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าทำงาน ทางคณะผู้วิจัยจึงได้มีความคิดที่จะเปลี่ยนแปลงการดัดแปรจากจากเส้นใยเป็นหยดขนาดเล็กแทน ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับการดัดแปรบนขั้วไฟฟ้าที่มีขนาดเล็กมากกว่าเส้นใย ซึ่งหยดขนาดเล็กนี้สามารถเพิ่มพื้นที่ผิวและการนำไฟฟ้าให้ขั้วไฟฟ้าได้เช่นเดียวกันกับการดัดแปรด้วยเส้นใย ในการดัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยหยดขนาดเล็กจะใช้หลักการเดียวกันกับการดัดแปรด้วยเส้นใย เพียงแต่แตกต่างกันตรงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ออกมา ซึ่งในงานวิจัยนี้ ดัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุนาโนคอมพอสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนได้ในรูปของหยดขนาดเล็กจึงเรียกเทคนิคการดัดแปรที่ใช้ว่า เทคนิคการสเปรย์ด้วยไฟฟ้าสถิต (electrospraying)

3.1 ผลของพารามิเตอร์ที่ใช้ในการดัดแปรขั้วไฟฟ้า

ในการดัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุนาโนคอมพอสิตของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน ต้องทำการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของกราฟีน และพอลิแอนิลีน ศักย์ไฟฟ้า เวลาที่ใช้ในการดัดแปร เป็นต้น

3.1.1 ผลของอัตราส่วนของกราฟีน และพอลิแอนิไลน์

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

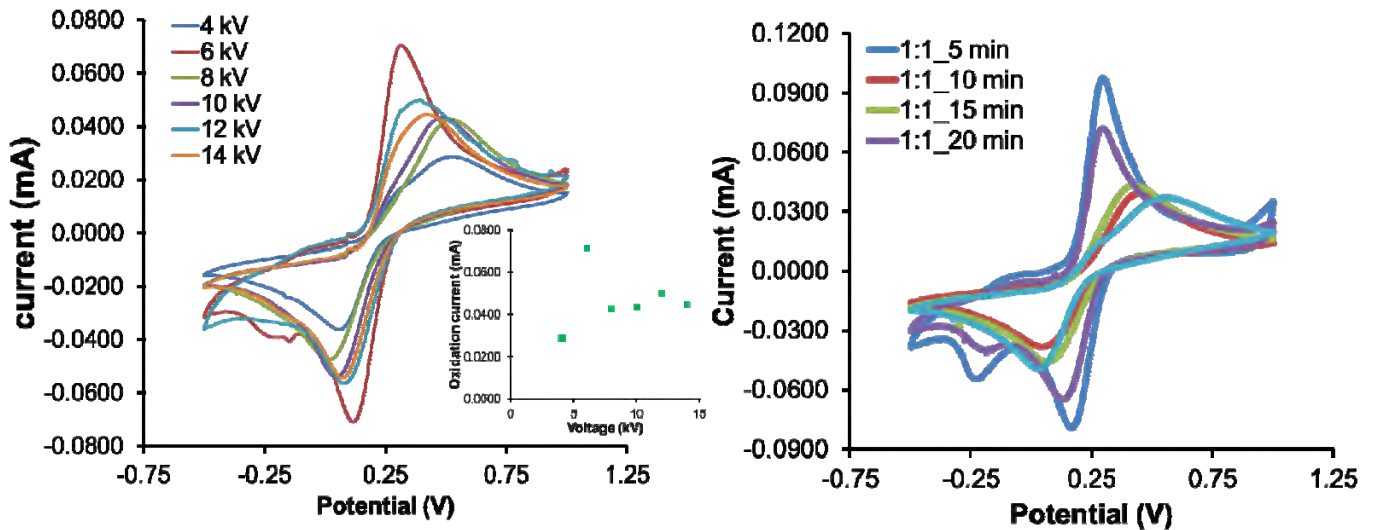


รูปที่ 1 ผลของอัตราส่วนของกราฟีน และพอลิแอนิไลน์ต่อการตรวจวัดสารมาตรฐานเหล็กที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์

3.1.2 ผลของศักย์ไฟฟ้า และเวลาที่ใช้ในการดัดแปร

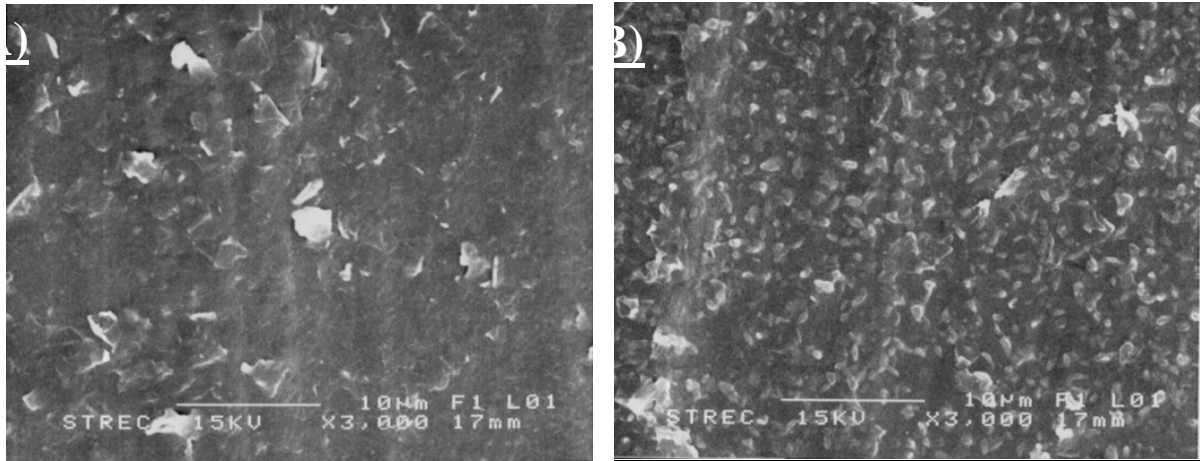
ในการดัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิค electrospray นั้นมีพารามิเตอร์สำคัญที่ส่งผลต่อสภาพนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า คือ ศักย์ไฟฟ้า และเวลา โดยศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการเสปร์ย์ทำการศึกษาดั้ง 4 ถึง 14 กิโลโวลต์ พบว่ากระแสออกซิเดชันของสารละลายเหล็กสูงขึ้นเมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการเสปร์ย์สูงขึ้นตั้งแต่ 4 ถึง 6 กิโลโวลต์จากนั้นจึงลดลงและเกือบคงที่เมื่อศักย์ไฟฟ้าเพิ่มขึ้นถึง 14 กิโลโวลต์ ดังแสดงในรูปที่ 2A ดังนั้น 6 กิโลโวลต์จึงเป็นศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมต่อการดัดแปรขั้วไฟฟ้า

จากนั้นทำการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสเปรย์ โดยใช้อัตราส่วนกราฟีนและพอลิแอนิลีนที่ 1:1 และ ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการสเปรย์ คือ 6 กิโลโวลต์ โดยทำการศึกษาเวลาที่ใช้ตั้งแต่ 5 ถึง 25 นาที พบว่าที่ 5 นาทีให้ สัญญาณในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานเหล็กสูงที่สุด อีกทั้งยังเป็นเวลาที่สั้นช่วยลดระยะเวลาในการทดลอง ได้เป็นอย่างดีอีกด้วย โดยแสดงผลดังรูปที่ 2B

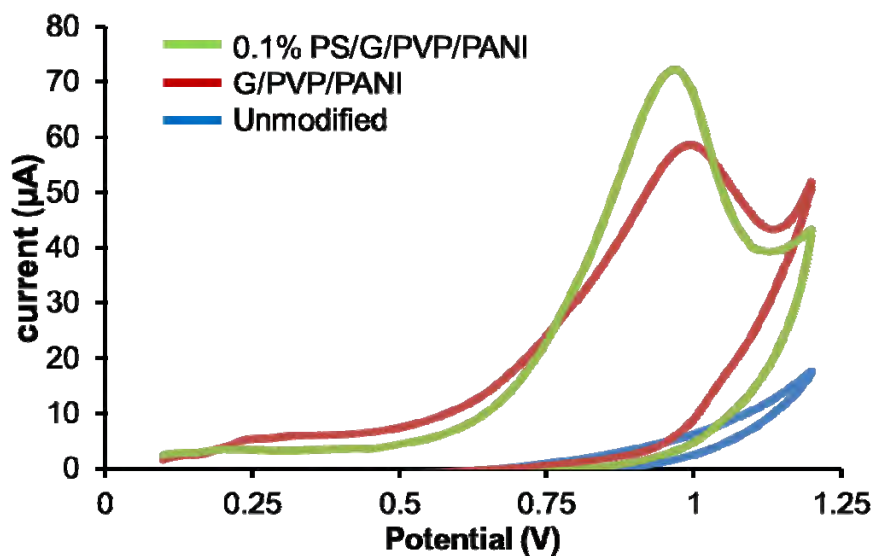


รูปที่ 2 A) ผลของศักย์ไฟฟ้า และ B) เวลาที่ใช้ในการสเปรย์ต่อการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานของเหล็กที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์

ในการตัดแปรด้วยหยดขนาดเล็กของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน โดยใช้เทคนิคการสเปรย์ด้วยไฟฟ้าสถิตย์ พอลิสไตรีน ถูกเลือกเพื่อใช้เป็นพอลิเมอร์ที่ช่วยในการขึ้นรูปเป็นหยด และช่วยทำให้หยดของวัสดุที่ทำการตัดแปรติดอยู่ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าดีขึ้น โดยในงานวิจัยนี้เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของพอลิสไตรีนที่ต่ำๆ คือ 0.1% v/v พอลิสไตรีน เนื่องจากพอลิสไตรีนเป็นพอลิเมอร์ที่เป็นฉนวน ไม่มีความสามารถในการนำไฟฟ้า หากใส่ในปริมาณที่สูงจะทำให้ลดความสามารถในการนำไฟฟ้าของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน โดยพบว่าเมื่อทำขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนที่เติม และไม่เติม 0.1% v/v พอลิสไตรีน ไปศึกษาด้วยเทคนิคสแกนนิ่งอิเล็กตรอนไมโครสโคปี (รูปที่ 3) พบว่าเมื่อเติม 0.1% v/v พอลิสไตรีน มีลักษณะเป็นหยดที่ดีกว่าขั้วที่ตัดแปรโดยไม่เติมพอลิสไตรีน เนื่องจากพอลิสไตรีน เป็น carrier polymer ที่ช่วยในการขึ้นรูป และเมื่อศึกษาสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าในการตรวจวัด 1 mM ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าสัญญาณที่ได้จากขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนที่เติม 0.1% v/v พอลิสไตรีน สูงกว่าที่ไม่ได้เติม 0.1% v/v พอลิสไตรีน ดังแสดงในรูปที่ 4



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

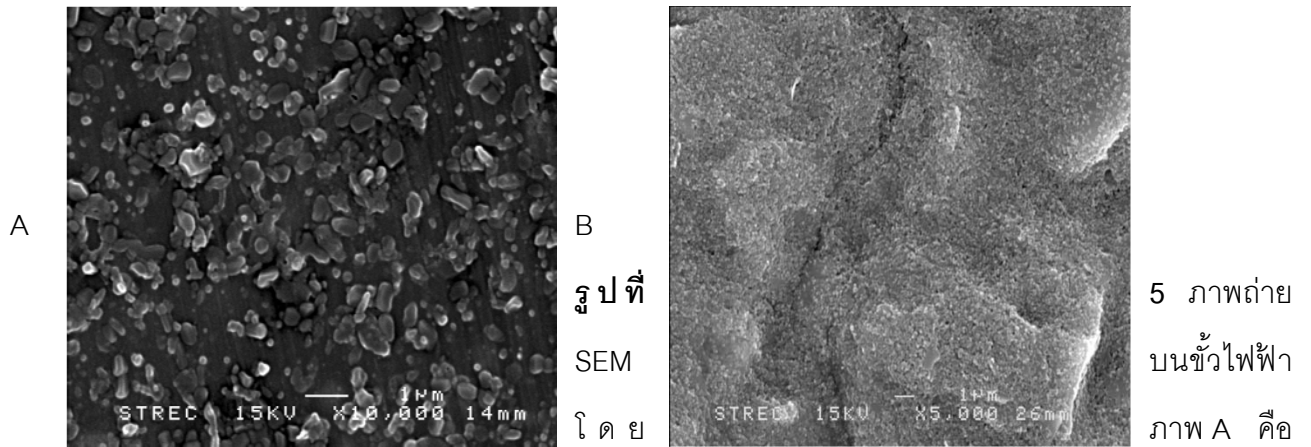


รูปที่ 4 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปร (น้ำเงิน), ขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน (แดง) และขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วย 0.1% พอลิสไตรีน/กราฟีน/พอลิแอนิลีน (เขียว) ในการตรวจวัด 1 มิลลิโมลาร์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

3.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการกระจายตัวของวัสดุนาโนคอมโพสิตที่ดัดแปรบนขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้น

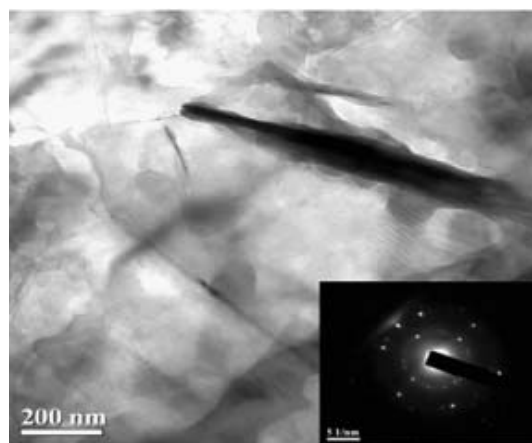
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรศึกษาโดยใช้เทคนิคสแกนนิ่งอิเล็กตรอนไมโครสโกปี (Scanning electron

microscopy; SEM) ดังแสดงในรูปที่ 5A และ 5B ตามลำดับ จากรูปที่ 5 พบว่าเกิดหยดละอองแบบ 3 มิติ ของกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์กระจายตัวอยู่บนขั้วไฟฟ้า โดยแต่ละหยดละอองจะมีขนาดเฉลี่ย 160 ± 1.02 นาโนเมตร



ขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์, ภาพ B คือขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ไม่ได้ดัดแปร

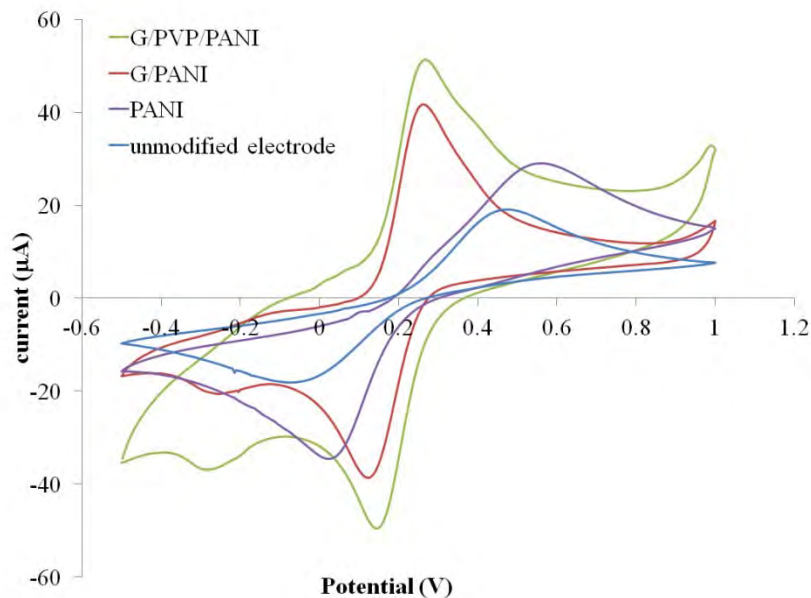
ลักษณะการกระจายตัวของวัสดุนาโนคอมโพสิตศึกษาโดยใช้เทคนิคทรานสมิสชันอิเล็กตรอนไมโครสโกปี (Transmission electron microscopy; TEM) พบว่ากราฟีนมีการกระจายตัวที่ดีในวัสดุนาโนคอมโพสิตโดยไม่มี การรวมตัวกันดังรูปที่ 6 นอกจากนี้ภาพอิเล็กตรอนดิฟแฟรกชันแพทเทิร์น (electron diffraction pattern) ของกราฟีนในภาพเล็กมีความคล้ายคลึงกันผลงานวิจัยก่อนหน้านี้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



รูปที่ 6 ภาพถ่าย TEM แสดงการกระจายตัวของกราฟีนในวัสดุนาโนคอมโพสิต, ภาพเล็กแสดงอิเล็กตรอนดิฟแฟรกชันแพทเทิร์นของกราฟีน

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่พัฒนาขึ้น

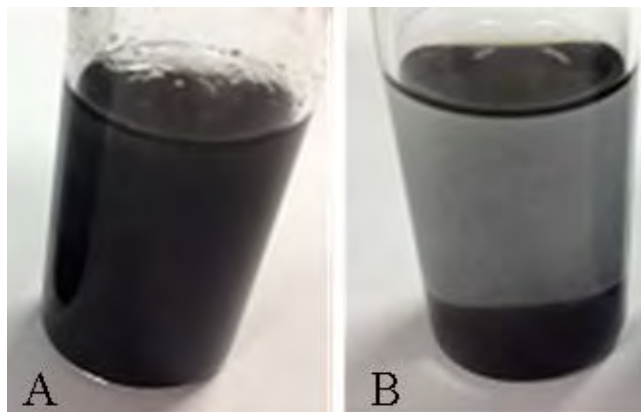
การศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นสามารถศึกษาด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีในสารละลายมาตรฐาน เฟอร์โรไซยาไนด์ โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ตัดแปร, ขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยพอลิแอนิลีน, ขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิแอนิลีน และขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน ดังแสดงในไซคลิกโวลแทมแกรมรูปที่ 7 จากผลการทดลองพบว่า ขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน (เส้นสีเขียว) แสดงผลของค่ากระแสของทั้งพีคแอนอดิกและแคโทดิกที่สูงที่สุด แสดงถึงความไวในการตรวจวัดสูง ส่วนขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิแอนิลีน, ขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยพอลิแอนิลีนและขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ตัดแปร มีการลดลงของค่ากระแสตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยพอลิแอนิลีนเพียงอย่างเดียว (เส้นสีม่วง) การเพิ่มส่วนของกราฟีนเข้าไปในวัสดุนาโนคอมโพสิตช่วยเพิ่มค่ากระแสให้สูงขึ้น (เส้นสีแดง) อีกทั้งยังลดระยะห่างระหว่างพีค (peak-to-peak potential separation; ΔE_p) แสดงว่าการเพิ่มกราฟีนเข้าไปในวัสดุนาโนคอมโพสิตจะช่วยเพิ่มอัตราเร็วในการส่งผ่านอิเล็กตรอนให้สูงขึ้น (electron transfer kinetics) นอกจากนี้จะสังเกตเห็นได้ว่าการใช้พอลิไวนิลไพโรลิโดนเพื่อช่วยให้กราฟีนกระจายตัวดีขึ้นส่งผลให้ค่ากระแสมีค่าสูงขึ้นดังแสดงในรูป (ระหว่างเส้นสีเขียวและสีแดง)



รูปที่ 7 ไซคลิกโวลแทมเมแกรมของขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ตัดแปร (น้ำเงิน), ขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยพอลิแอนิลีน (ม่วง), ขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิแอนิลีน (แดง) และขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน (เขียว)

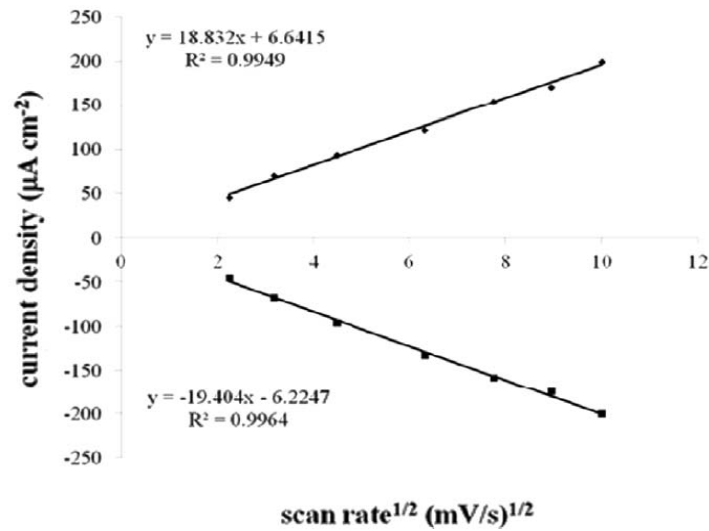
สัญญาเลขที่ R_๐๑๑_๒๕๕๖

ข้อดีอีกประการของการใช้พอลิไวนิลไพโรลิโดนคือ สามารถช่วยลดระยะเวลาในการเตรียมสารละลายกราฟีน ซึ่งสามารถลดระยะเวลาในการสั่นด้วยคลื่นเสียงของกราฟีนจาก 24 ชม. เป็น 6 ชม. ดังภาพแสดงการเปรียบเทียบของสารละลายกราฟีนในตัวทำละลายที่ไม่ใส่พอลิไวนิลไพโรลิโดนและใส่พอลิไวนิลไพโรลิโดนดังรูปที่ 8 แสดงให้เห็นว่าหากไม่ใช้พอลิไวนิลไพโรลิโดนจะต้องใช้เวลาในการสั่นด้วยคลื่นเสียงของ กราฟีนเป็นเวลานาน เพื่อป้องกันการรวมตัวกันเป็นแกรไฟต์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการใช้พอลิไวนิลไพโรลิโดน 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการเตรียมสารละลายกราฟีน



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

นอกจากนี้ยังมีการทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นนี้โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีในสารละลายมาตรฐานเฟอร์ริเฟอไซยาไนด์ ซึ่งมีการทดสอบที่อัตราเร็วในการสแกนต่างๆ ดังรูปที่ 9 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราเร็วในการสแกน ($V^{1/2}$) และค่ากระแส พบว่าค่ากระแสของทั้งพีค แอนโอดิกและแคโทดิกมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับรากที่สองของอัตราเร็วในการสแกน แสดงให้เห็นว่ากระบวนการรีดอกซ์ของเฟอร์ริเฟอไซยาไนด์บนขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีการควบคุมโดยกระบวนการแพร่ (diffusion controlled process)



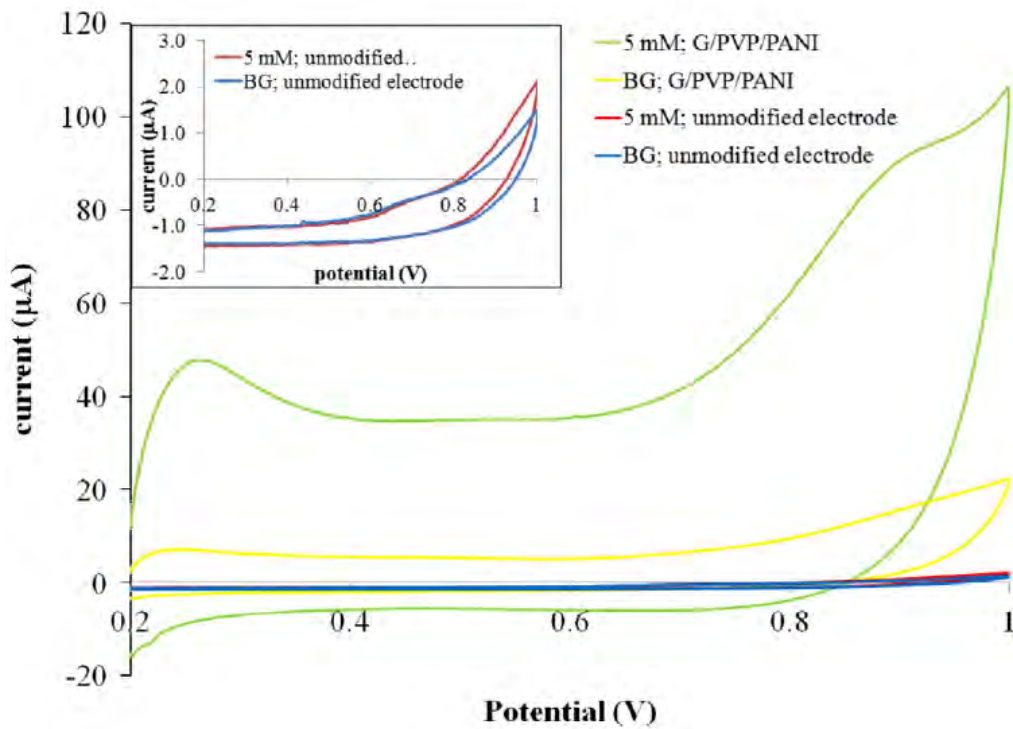
รูปที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราเร็วในการสแกน ($V^{1/2}$) และค่ากระแสของพีค โดยวัดตั้งแต่ 5 – 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

3.4 การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคอเลสเทอรอล

การตรวจวัดคอเลสเทอรอลทางอ้อมสามารถทำได้โดยการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเทอรอล [4-5] ดังนั้นในเบื้องต้น ขั้วไฟฟ้าบนกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้จะถูกทดสอบด้วยการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคอเลสเทอรอลตามลำดับ โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

3.4.1 การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

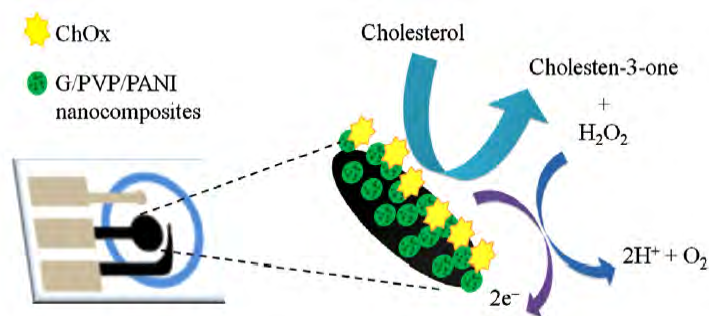
ไซคลิกโวลแทมเมทรีของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนและขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรดังแสดงในรูปที่ 10 จากผลการวิจัยพบว่า ขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีนสามารถตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ โดยมีค่ากระแสของพีคแอนอดิกสูงกว่าขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรถึง 40 เท่า แสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าที่ได้พัฒนาขึ้นนี้อาจจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลได้



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

3.4.2 การตรวจวัดคอเลสเตอรอล

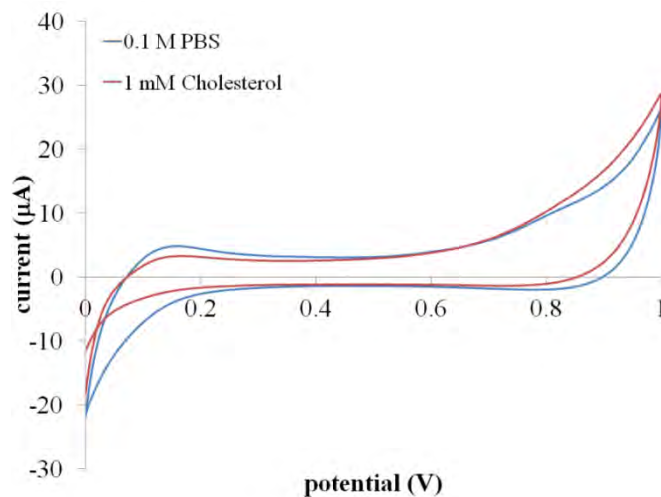
การตรวจวัดคอเลสเตอรอลทางอ้อมจะทำการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างคอเลสเตอรอลและเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสดังกลไกรูปที่ 11



รูปที่ 11 แสดงกลไกปฏิกิริยาของเอนไซม์ระหว่างคอเลสเตอรอลและเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสบนขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราไฟท์/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน

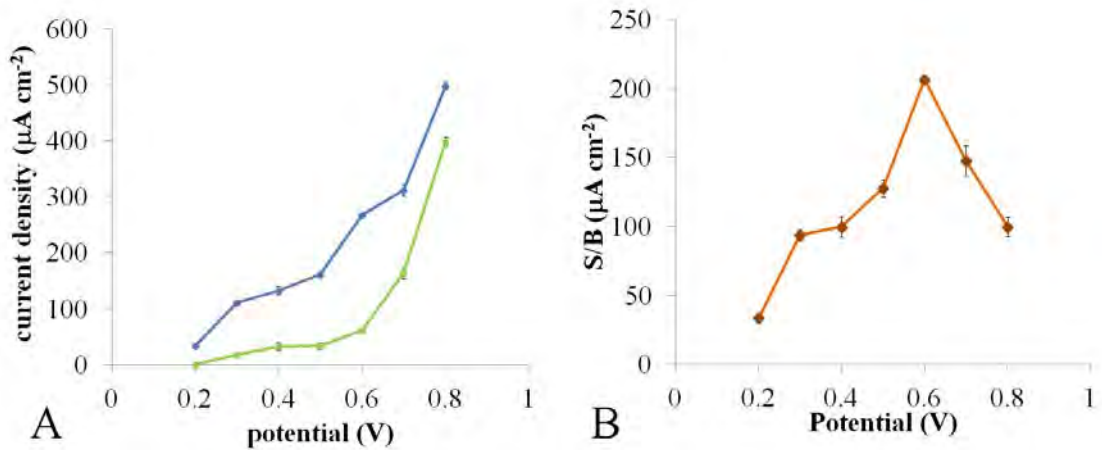
สัญญาเลขที่ R_๐๑๑_๒๕๕๖

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



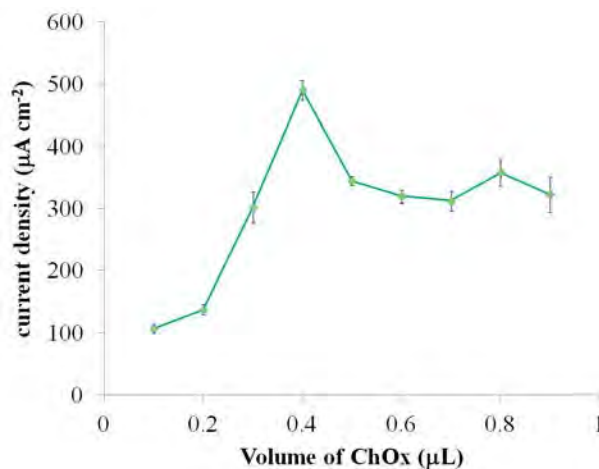
รูปที่ 12 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของคอเลสเตอรอลและไม่มีคอเลสเตอรอล (0.1 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ ที่สภาวะ pH 7.0 และอัตราเร็วในการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

เทคนิคแอมเปโรเมทรีเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคอเลสเตอรอล โดยพารามิเตอร์ที่มีความสำคัญต่อการตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเปโรเมทรี คือ ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัด หรือ การศึกษาไฮโดรไดนามิกโวลแทมเมตรี แสดงในรูปที่ 13 โดยพบว่าเมื่อทำการเพิ่มศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดกระแสแอนอดิกของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ (เส้นสีฟ้า รูปที่ 13) แต่กระแสของแบคกราว (เส้นสีเขียว รูปที่ 13) ก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงต้องทำการสร้างกราฟโดยนำกระแสของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ตรวจวัดได้มาหักลบกับกระแสของแบคกราว ดังแสดงในรูปที่ 13B พบว่าที่ศักย์ไฟฟ้า +0.6 โวลต์ ให้สัญญาณการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงที่สุด ดังนั้นศักย์ไฟฟ้าในการตรวจวัดที่ +0.6 โวลต์ จึงถูกเลือกเป็น ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในงานวิจัยนี้



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

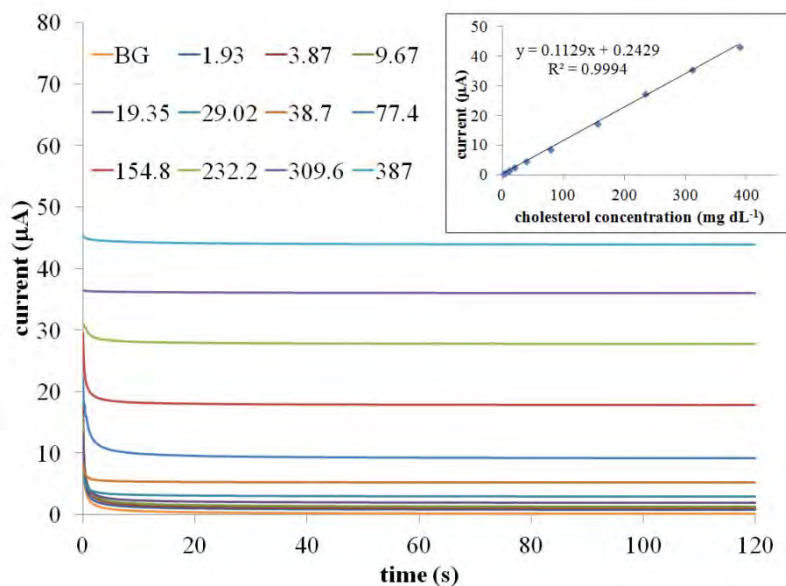
ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอล จะทำการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาของคอเลสเทอรอลกับเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดส ดังนั้นปริมาณของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดสจึงมีความสำคัญต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอล และจำเป็นต้องทำการศึกษา โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดส ในช่วง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



รูปที่ 14 ผลของปริมาณของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดส (418 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) ต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) pH 7.0

3.3 ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์

การศึกษาประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ ทำได้โดยการตรวจวัดคอเลสเตอรอลที่ความเข้มข้นต่างๆ และบันทึกสัญญาณที่ตรวจวัดได้จากเทคนิคแอมแปโรเมทรี โดยที่การตรวจวัดสัญญาณที่เวลา 100 วินาที จากนั้นนำผลที่ได้มาทำการสร้างกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 15 โดยพบว่าขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์สามารถตรวจวัดคอเลสเตอรอลได้ในช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงระหว่าง 50 ไมโครโมลาร์ ถึง 10 มิลลิโมลาร์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ 0.9993 และเมื่อหาค่าความไว (sensitivity) ที่ของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์ พบว่ามีความไวที่ 34.77 ไมโครแอมป์/มิลลิโมลาร์.ตารางเซนติเมตร และมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และหาปริมาณได้ (LOQ) อยู่ที่ 1 ไมโครโมลาร์และ 50 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) หาจากความเข้มข้นคอเลสเตอรอลที่ให้สัญญาณในการตรวจวัดสูงเป็นสามเท่าของสัญญาณแบคกราวด์



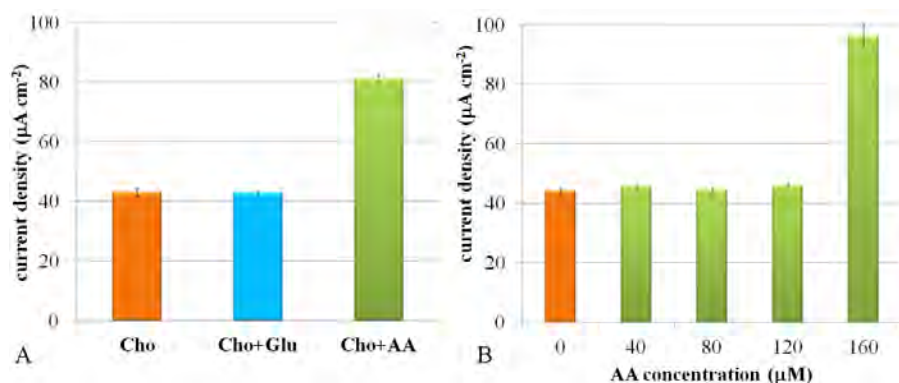
รูปที่ 15 กราฟมาตรฐานในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลที่ความเข้มข้นระหว่าง 0-837 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิไลน์

The national cholesterol education program (NCEP) ได้รายงานระดับของคอเลสเตอรอลที่ปกติในเลือดของมนุษย์ต้องมีระดับไม่เกิน 5.18 มิลลิโมลาร์ หรือ 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร [1] จากข้อมูลดังกล่าวจึงสรุป

ได้ว่าขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลิน ที่พัฒนาขึ้นในงานนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลในตัวอย่างจริงทางชีวภาพได้ และเมื่อนำประสิทธิภาพในการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ไปทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้า พบว่าขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่พัฒนาขึ้นนี้มีความไวในการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าค่อนข้างสูง มีช่วงในการตรวจวัดกว้าง และความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยที่ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้สามารถเตรียมได้ง่าย ราคาถูก และอาจจะพัฒนาให้เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลได้อย่างดีในอนาคต

3.4 ผลของสารรบกวน

สารรบกวนที่พบในตัวอย่างซีรัมของมนุษย์ที่มีรบกวนต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอล คือ กลูโคส และกรดแอสคอบิก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการศึกษาการตรวจวัดคอเลสเทอรอลในสภาวะที่มีกลูโคสและกรดแอสคอบิกร่วมอยู่ด้วย โดยในการศึกษาจะใช้ความเข้มข้นที่สูงที่สุดของกลูโคส และกรดแอสคอบิก ที่พบในซีรัม (5.3 มิลลิโมลาร์ และ 80 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) ซึ่งพบว่ากลูโคสไม่มีผลรบกวนในการตรวจวัดคอเลสเทอรอล แต่กรดแอสคอบิกพบสัญญาณรบกวนเกิดขึ้น โดยทำให้สัญญาณในการตรวจวัดคอเลส เทอรอลสูงขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 16 ในการแก้ปัญหาสัญญาณรบกวนของกรดแอสคอบิก สารลดแรงตึงผิวประจุลบของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต (SDS) ได้ถูกนำมาใช้เคลือบบนผิวของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลิน ซึ่งจากงานวิจัยที่ได้ทำการสืบค้นก่อนหน้านี้พบว่าสารลดแรงตึงผิวประจุลบจะเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิตกับประจุลบของกรดแอสคอบิกทำให้ช่วยป้องกันการรบกวนของกรดแอสคอบิกได้ในช่วงความเข้มข้น 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 ที่ความเข้มข้น

สัญญาเลขที่ R_๐๑๑_๒๕๕๖

ต่างๆ (0-160 ไมโครโมลาร์) ต่อการตรวจวัดคอเลสเทอรอล 1 มิลลิโมลาร์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอนิลีน ที่เคลือบด้วยสารลดแรงตึงผิวประจุลบของโซเดียมโดเดกซิลซัลเฟต

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	(Eguilaz 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-mercaptoundecanoic acid; PDDA, poly-(diallyldimethyl-ammonium chloride); MWCNTs, multi-walled carbon nanotubes

3.5. ความสามารถในการทำซ้ำ และความเสถียรของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอมินีน

ความสามารถในการวัดซ้ำและความเสถียรของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอมินีน ได้ถูกศึกษา โดยพบว่าค่ามาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) เมื่อทำการตรวจวัดคอเลสเตอรอลซ้ำ 5 ครั้ง ที่ความเข้มข้นในช่วงของความเป็นเส้นตรง อยู่ระหว่าง 1.05% และ 9.37% ($n=5$) ซึ่งเป็นค่าที่สามารถรับได้ และความเสถียรของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาษที่พัฒนาขึ้น ทำการศึกษาโดยการตรวจวัดคอเลสเตอรอลเมื่อทำการเก็บรักษาข้าวไว้นาน 2 สัปดาห์ พบว่ามีสัญญาณการตรวจวัดที่ 89.1% เมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณที่ได้จากข้าวที่เตรียมขึ้นใหม่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวไฟฟ้าฐานกระดาษมีเสถียรภาพที่ดี

3.6 Sample analysis

ทดสอบความสามารถในการใช้งานจริงของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอมินีนโดยการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในซีรัมมนุษย์ด้วยการใส่คอเลสเตอรอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ (0.05, 0.10, 0.25, 1.00, และ 5.00 มิลลิโมลาร์) ลงในซีรัมมาตรฐานแล้วทำการตกตะกอนโปรตีนด้วย TCA จากนั้นจึงทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรี พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การคืนกลับอยู่ระหว่าง 100.0-102.0 เปอร์เซ็นต์ และมีค่ามาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแม่นยำในการตรวจวัดของข้าวไฟฟ้าฐานกระดาษที่ดัดแปรด้วยกราฟีน/พอลิไวนิลไพโรลิโดน/พอลิแอมินีนที่ถูกพัฒนาขึ้น

ตารางที่ 2 การตรวจวัดปริมาณคอเลสเตอรอลในตัวอย่างซีรัมมนุษย์

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/พอลิแอนิลีนที่ใช้ในการดัดแปรช่วยเพิ่มการนำไฟฟ้า และพื้นที่ผิวของขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษทำให้มีความไวทางเคมีไฟฟ้าในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากขึ้น และจากสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองทำให้ช่วยเพิ่มความไว ช่วงความเป็นเส้นตรง และความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอล และผลของสารรบกวน เช่น กลูโคส และกรดแอสคอบิก สามารถกำจัดได้โดยการใช้สารลดแรงตึงผิวประจุลบของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต (SDS) นอกจากนี้ขั้วไฟฟ้าฐานกระดาษที่ถูกพัฒนาขึ้นยังสามารถตรวจวัดคอเลสเทอรอลในตัวอย่างซีรัมมนุษย์ได้อีกด้วย ซึ่งงานวิจัยนี้อาจนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นเครื่องมือที่ง่าย ราคาถูก ใช้แล้วทิ้ง ในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลได้

5 วิจารณ์ผลของการวิจัย

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. Laiwattanapaisal, 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. NatureMaterials 6 (3), 183–191.
9. Liu, S., Xing, X.R., Yu, J.H., Lian, W.J., Li, J., Cui, M., Huang, J.D., 2012. Biosensorsand 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