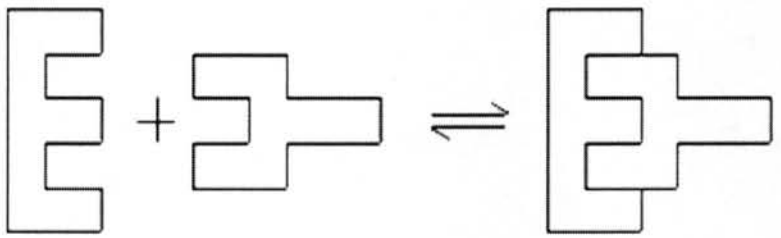
บทที่ 2
ทฤษฎี

2.1 เอนไซม์ (enzyme)

เอนไซม์ คือ กลุ่มโปรตีนที่มีหน้าที่พิเศษแตกต่างจากโปรตีนทั่วไป คือ มีความสามารถเร่งปฏิกิริยาในสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง นอกจากนี้ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้ภาวะไม่รุนแรงซึ่งเหมาะสมอย่างยิ่งกับภาวะภายในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตทั่วไป เอนไซม์ มีโครงสร้างเป็นสามมิติ มีความจำเพาะต่อสารที่ทำปฏิกิริยาซึ่งเรียกว่า สารตั้งต้น (substrate) ดังในรูปที่ 2.1 แสดงลักษณะความจำเพาะของเอนไซม์กับสารตั้งต้น และสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดทั้งเอนไซม์จะเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาได้



รูปที่ 2.1 ลักษณะความจำเพาะของเอนไซม์กับสารตั้งต้น

2.1.1 เอนไซม์ตรึงรูป

การตรึงรูปเอนไซม์เป็นการนำเอนไซม์ไปเกาะหรือฝังตัวอยู่ในวัสดุที่อยู่คนละวัฏภาคกับสารละลายปฏิกิริยา จึงทำให้มีความง่ายต่อการแยกผลิตภัณฑ์ออกจากสารละลายและสามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้อีก นอกจากนี้การตรึงเอนไซม์สามารถรักษาสภาพการทำงานของเอนไซม์ให้มีเสถียรภาพต่ออุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง และแรงสั่นสะเทือน อีกทั้งมีอายุการใช้งานของเอนไซม์ตรึงรูปได้นานกว่าเอนไซม์อิสระโดยที่ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลงเพียงเล็กน้อย

ถึงแม้ว่าการตรึงเอนไซม์จะมีข้อดีในการเพิ่มเสถียรภาพ แต่ก็พบว่ามีข้อเสียในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์อาจช้าลงในบางกรณี โดยอาจมีสาเหตุมาจากการสูญเสียความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เอง หรือมาจากปัญหาในด้านการถ่ายเทมวลสารซึ่งเป็นขั้นตอนที่จำกัดอัตราการเกิดปฏิกิริยา

2.2.2 วิธีการตรึงรูปเอนไซม์

การตรึงเอนไซม์ลงในวัสดุตรึงทำได้หลายวิธีต่างๆ เช่น การยึดด้วยพันธะอิออนิก การยึดด้วยพันธะโควาเลนต์ การครอสลิงค์เอนไซม์ ฯลฯ โดยสามารถจัดจำพวกวิธีการเหล่านี้ตามลักษณะการยึดติดระหว่างเอนไซม์กับวัสดุตรึง ซึ่งจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มหลักๆ ดังนี้

1. การตรึงแบบเคมี (chemical immobilization) เป็นวิธีการตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์

2. การตรึงด้วยแบบกายภาพ (physical immobilization) เป็นวิธีการตรึงเอนไซม์ที่ด้วยแรงทางกายภาพ หรือ การกักเก็บเอนไซม์ไว้ในวัสดุตรึง

1. การตรึงแบบเคมี

- **เป็นการยึดติดด้วยพันธะโควาเลนต์**

โมเลกุลของเอนไซม์ถูกตรึงในวัสดุตรึงที่มีหมู่ฟังก์ชันในการสร้างพันธะโควาเลนต์กับหมู่ฟังก์ชันของเอนไซม์ เช่น หมู่คาร์บอกซิล ไฮดรอกซิล ฟีนอลิค เป็นต้น ส่วนในวัสดุตรึงที่ไม่มีหมู่ฟังก์ชันในการสร้างพันธะโควาเลนต์สามารถเติมสารเคมี เช่น กลูเตอรัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) คาร์โบไดอิไมด์ (carbodiimide) ไซยาโนเจนโบรไมด์ (cyanogen bromide) ฯลฯ เพื่อเป็นตัวเชื่อมระหว่างเอนไซม์กับวัสดุตรึง ดังในตารางที่ 2.1 แสดงการตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนซ์บนวัสดุตรึง โดยพบว่าความแข็งแรงของการยึดเหนี่ยวด้วยวิธีนี้มีความแข็งแรงมากกว่า การยึดด้วยพันธะอิออนิก และการดูดซับทางกายภาพ แต่มีข้อเสียที่สำคัญ คือ เกิดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์จากสารเคมีทำให้ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ช้าลง นอกจากนี้อาจมีการสร้างพันธะโควาเลนต์เชื่อมกับหมู่ฟังก์ชันที่ตำแหน่งกัมมันต์ (active site) ของเอนไซม์ ทำให้การถ่ายเทมวลสารของสารตั้งต้นเป็นไปได้ยาก

- **การครอสลิงค์เอนไซม์**

เป็นการเชื่อมโยงของโมเลกุลเอนไซม์ 2 โมเลกุลขึ้นไปเข้าด้วยกันด้วยจนเกิดเป็นพอลิเมอร์ลักษณะเป็นร่างแหตาข่ายขนาดใหญ่ ดังในรูปที่ 2.2 แสดงการครอสลิงค์ของโมเลกุลเอนไซม์ ด้วยการเติมสารเคมี เช่น กลูเตอรัลดีไฮด์ เอทิลีนไกลคอล-ไดซัคซิเนท-ไดเอสเทอ (ethylene glycol disuccinate di(N-succinimidyl) ester (EGS)) เป็นต้น ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมกับหมู่ฟังก์ชันเอนไซม์ ด้วยพันธะโควาเลนต์ จึงมีความแข็งแรงของแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเอนไซม์กับวัสดุตรึงเช่นเดียวกับวิธีการยึดติดด้วยพันธะโควาเลนต์ ทำให้มีการหลุดออกจากวัสดุตรึงได้ยาก แต่ในขณะเดียวกันพบว่าสารเคมีที่เติมมีส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์ได้ เนื่องจากต้องใช้เอนไซม์ในการทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อสร้างพันธะโควาเลนต์ขึ้น

รูปที่ 2.2 แสดงการครอสลิงค์ของโมเลกุลเอนไซม์

(ที่มา: www.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/IMMOB/Immob)

2. การตรึงด้วยแรงทางกายภาพ

- **การดูดซับทางกายภาพ (physical adsorption)**

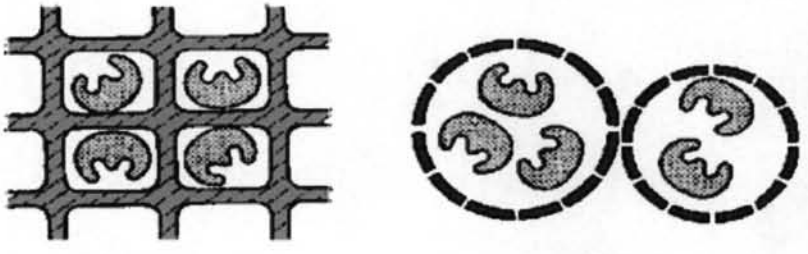
เป็นการดูดซับเอนไซม์บนพื้นผิววัสดุตรึงที่มีลักษณะเป็นรูพรุน ด้วยแรงอย่างอ่อน เช่น วัลเดอวาวล์ โดยวัฏภาคของเหลวของเอนไซม์จะย้ายไปยึดบนวัสดุตรึงในวัฏภาคของแข็ง และสิ้นสุดการย้ายวัฏภาค เมื่อเกิดสมดุลของปริมาณเอนไซม์ในวัฏภาคทั้งสอง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย เอนไซม์ไม่เสื่อมสภาพจากสารเคมี และราคาไม่แพง แต่อย่างไรก็ตามพบว่า วิธีนี้ให้ความแข็งแรงของแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเอนไซม์กับวัสดุตรึงต่ำ จึงทำให้ง่ายต่อการหลุดของเอนไซม์จากวัสดุตรึง

- **การยึดติดด้วยพันธะอิออนิก (ionic-binding)**

เป็นการยึดเอนไซม์กับวัสดุตรึงด้วยการแลกเปลี่ยนอิออน (ion exchang) การตรึงในวิธีพบว่ามีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเอนไซม์กับวัสดุตรึงต่ำกว่าการยึดด้วยพันธะโควาเลนต์ แต่สูงกว่าการดูดซับทางกายภาพ

- **การกักเก็บเอนไซม์ภายในวัสดุตรึง (entrapping enzyme)**

เป็นการกักเอนไซม์ไว้ในวัสดุตรึงที่เป็นแมททริกซ์ (matrix) หรือการห่อหุ้มล้อมรอบเอนไซม์ไว้ในที่จำกัด ดังในรูปที่ 2.3 แสดงการกักและห่อหุ้มเอนไซม์ โดยการตรึงวิธีนี้มีการใช้ปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน ทำให้เกิดเป็นเอนไซม์ตรึงรูปอยู่ภายในพอลิเมอร์เจล จึงทำให้การหลุดออกของเอนไซม์จากวัสดุเป็นไปได้ยาก และเอนไซม์ไม่เกิดการเสื่อมสภาพเนื่องจากสารเคมี



รูปที่ 2.3 แสดงการกักและห่อหุ้มเอนไซม์

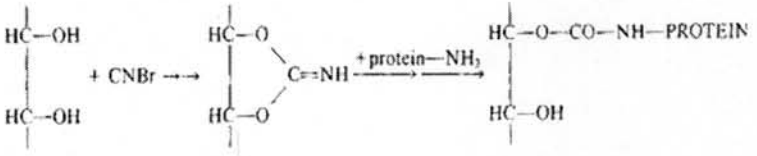
(ที่มา: www.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/IMMOB/Immob)

ตารางที่ 2.1 แสดงการตรึงรูปเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนซ์บนวัสดุตรึง

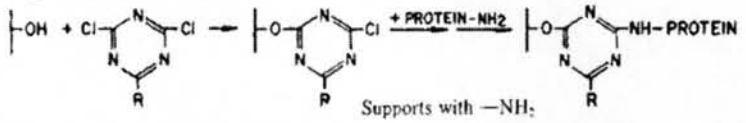
(Shuler และ Kargi,1992)

Supports with —OH

(ก) Using cyanogen bromide

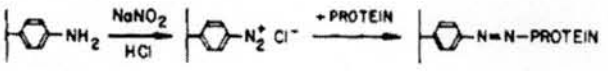


(ข) Using *S*-triazine derivatives

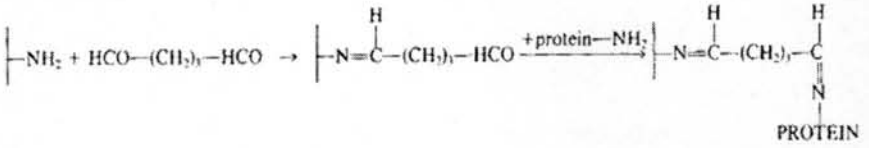


Supports with $-NH_2$

(ก) By diazotization

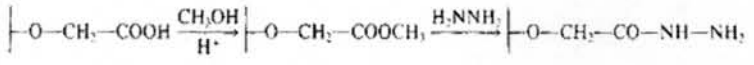


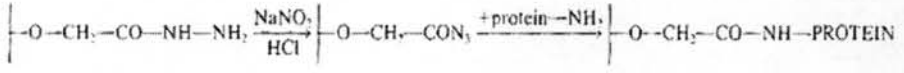
(ข) Using glutaraldehyde



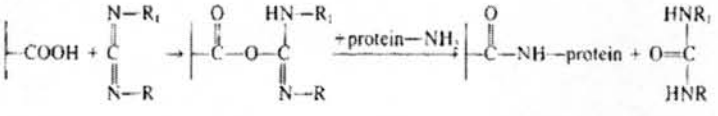
Supports with —COOH

(ก) Via azide derivative

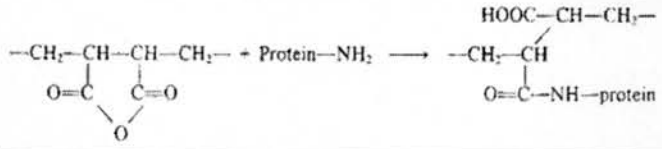
1) 

2) 

(ข) Using a carbodiimide



Supports containing anhydrides



จากวิธีที่กล่าวมาข้างต้นพบว่าการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีการดูดซับทางกายภาพและการยึดติดด้วยพันธะอิออนิก เป็นเทคนิคที่ง่าย และไม่มีการเสื่อมสภาพของเอนไซม์จากสารเคมี แต่มีข้อเสียคือ ความแข็งแรงในการยึดเหนี่ยวเอนไซม์ต่ำ เนื่องจากเป็นการยึดติดเอนไซม์ที่ผิวหน้าวัสดุตรึงด้วยแรงที่อ่อน เมื่อมีแรงกระทำจากภายนอก เช่น การปั่นกวนสารที่ความเร็วรอบสูง มากระทำจึงทำให้เอนไซม์หลุดออกจากผิววัสดุตรึงได้ง่าย

ในขณะที่วิธีการยึดติดด้วยพันธะโควาเลนต์ การครอสลิงค์เอนไซม์และการกักเก็บเอนไซม์ มีการหลุดออกของเอนไซม์จากวัสดุตรึงได้น้อย เนื่องจากมีความแข็งแรงในการยึดเหนี่ยวเอนไซม์กับวัสดุตรึงสูง อย่างไรก็ตามวิธีการยึดติดด้วยพันธะโควาเลนต์ และการครอสลิงค์เอนไซม์ มีข้อเสียที่สำคัญ คือ การเสื่อมสภาพเอนไซม์จากสารเคมีที่เติม เนื่องจากเอนไซม์เกิดปฏิกิริยาเคมีเพื่อสร้างพันธะโควาเลนต์ขึ้นทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์ได้ง่าย หรือเกิดจากตัวคุณสมบัติของสารเคมีเองที่เป็นพิษ ดังนั้นในการเลือกใช้วิธีการตรึงเอนไซม์จึงจำเป็นต้องเปรียบเทียบคุณสมบัติต่างๆให้เหมาะสมกับการนำไปใช้งานในแต่ละงาน ดังในตารางที่ 2.2 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะที่แตกต่างกันของการตรึงรูปเอนไซม์ด้วยวิธีการต่างๆ

ตารางที่ 2.2 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะที่แตกต่างกันของการตรึงรูปเอนไซม์ด้วยวิธีการต่างๆ

(Bailey และ Ollis, 1986)

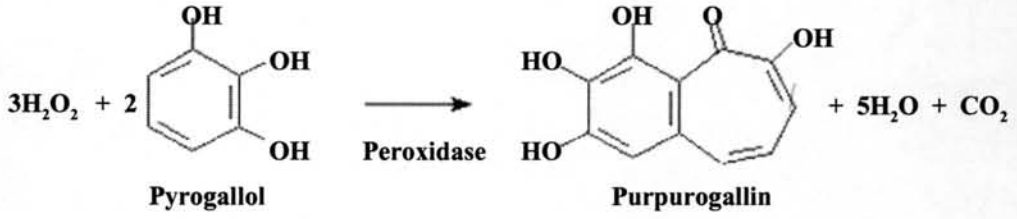
	Carrier bind				
Characteristic	**Physical adsorption**	**Ionic binding**	**Covalent binding**	**Cross-linking method**	**Entrapping method**
Preparation	Easy	Easy	Difficult	Difficult	Difficult
Enzyme activity	Low	High	High	Moderate	High
Substrate specificity	Unchangeable	Unchangeable	Changeable	Changeable	Unchangeable
Binding force	Weak	Moderate	Strong	Strong	Strong
Regeneration	Possible	Po ssible	Impossible	Impossible	Impossible
General Applicability	Low	Moderate	Moderate	Low	High
Cost of Immobilization	Low	Low	High	Moderate	Low

2.2 เอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส

ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสเป็นเอมไซม์ที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มออกซิเดส ซึ่งมีการทำงานของเอนไซม์เพื่อเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน โดยการเคลื่อนย้ายอะตอมของออกซิเจน ไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอน จากสารตั้งต้นตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่ง เป็นเอนไซม์ที่สกัดแยกจาก horseradish roots (*Amoracia rusticana*) มีน้ำหนักโมเลกุล 44,000 ดัลตัน (dalton) (Xu และคณะ ,2006) เอนไซม์ชนิดนี้จะเป็นสายโซ่เดี่ยวโพลีเปปไทด์ประกอบไปด้วย 4 สายของสารประกอบไดซัลไฟด์ ซึ่งจะเป็นไกลโคโปรตีนที่มีคาร์โบไฮเดรต 18 % และในคาร์โบไฮเดรตจะมีองค์ประกอบย่อยๆเช่น กาแลคโตส อะราบิโนส ไซโรส แมสโนส ฟูโคส แมนโนสซามีน และกาแลคโตสซามีน เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความจำเฉพาะของเอมไซม์แต่ละชนิด โดยเอมไซม์นี้จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตั้งต้น เช่น ไพโรแกลลอล ฟีนอล เป็นต้น สภาวะความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของเอนไซม์อยู่ในช่วง 6.5-8.0 (Fernades และคณะ,2004) โดยเอนไซม์ชนิดนี้จะถูกนำไปใช้ประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์หาสารเคมีที่ปนเปื้อนในอาหาร ใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย (Chen และคณะ,2006 ; Lai และคณะ, 2005) เป็นต้น

ปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์

ปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์กับสารตั้งต้นไพโรแกลลอล แสดงได้ดังนี้

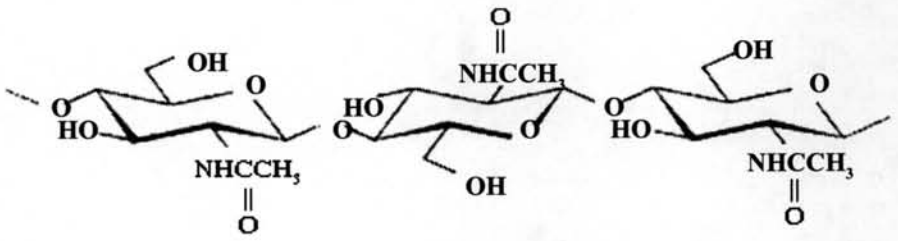


รูปที่ 2.4 ตัวอย่างปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส

(ที่มา: www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Biochemicals)

2.3 ไคโตซาน

ไคตินเป็นสารพอลิเมอร์ชีวภาพ ประเภทพอลิแซคคาไรด์ จัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ประเภทโครงสร้างที่เป็นเส้นใยคล้ายคลึงกับเซลลูโลสจากพืช คือ เป็นเส้นใยที่ยาว ดังรูปที่ 2.5 และมีชื่อทางเคมีว่า poly [β-(1 4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose]

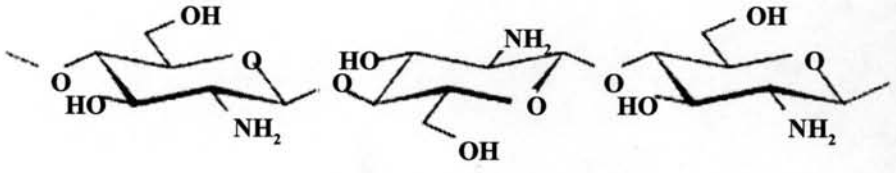


รูปที่ 2.5 โครงสร้างของไคติน

(Krajewska ,2004)

โดยพบเป็นองค์ประกอบของเปลือกแข็งที่หุ้มเซลล์ของรา ยีสต์ และจุลินทรีย์หลายชนิด หรือพบเป็นโครงสร้างแข็งของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง จำพวกแมลง กุ้ง ปู ปลาหมึก เป็นต้น ไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่มีสายยาวมีองค์ประกอบของหน่วยย่อยเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสมีชื่อว่า N-acetyl glucosamine ไคตินเป็นสารที่ละลายยากหรือไม่ค่อยละลาย โดยจะละลายได้ในกรดอนินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก และกรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ แต่ไม่ละลายในด่างเจือจาง

ไคโตซาน คือ สารพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไคติน คือ การนำเอาอนุพันธ์ของไคตินที่ตัดเอาหมู่ acetyl ของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine ออกไปซึ่งเรียกว่ากระบวนการ deacetylation มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.6 และมีชื่อทางเคมีว่า poly [β-(1 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose]



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของไคโตซาน

(Krajewska ,2004)

โดยทั่วไปไคโตซานจะไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทั้งหมด และในน้ำที่มีพีเอชเป็นกลางหรือด่าง แต่ไคโตซานจะละลายได้ดีในกรดอ่อน เช่น กรดน้ำส้ม กรดแลคติก และกรดอินทรีย์อื่นๆ เกือบทุกชนิดที่มีพีเอชน้อยกว่า 6.5 (Krajewska ,2004) สารละลายของไคโตซานจะมีความข้นเหนียวแต่ใสคล้ายวุ้น หรือพลาสติกใส ยืดหยุ่นได้เล็กน้อยจึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการขึ้นรูปได้ดี โดยเฉพาะถ้าต้องการทำเป็นแผ่นฟิล์มหรือเยื่อบางๆเป็นเจล หรือรูปร่างเป็นเม็ด เกล็ด เส้นใย สารเคลือบและคอลลอยด์ เป็นต้น ไคโตซานจะเป็นวัสดุที่มีความเป็นรูพรุนสูงและมีหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (-OH)และหมู่อะมิโน(-NH_2) ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สามารถยึดติดกับเอนไซม์หรืออนุภาคโลหะต่างๆจึงทำให้มีคุณสมบัติในการยึดติดที่ดี (Chang และคณะ,2005)และนอกจากนี้ไคโตซานจะช่วยหลีกเลี่ยงการเกาะรวมตัวกันของเกลือของโลหะ (metal salt) ในสารละลายได้(Yang และคณะ,2006) และย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ (biodegradable) ไม่มีความเป็นพิษ ทำให้ไม่เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม จึงมีความเหมาะสมในการนำไปเป็นวัสดุที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ (Krajewska ,2004)

2.4 อนุภาคนาโนเงิน

เป็นโลหะเงินที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาโดยการดัดแปลงการจัดเรียงตัวของอะตอมหรือโมเลกุลในช่วงขนาด 1-100 นาโนเมตร ซึ่งเล็กกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นผมประมาณ 1 แสนเท่า โดยมีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าได้ดี มีความสามารถในการดูดติดเอนไซม์ที่แข็งแรง (Xu และคณะ,2004) จึงสามารถนำอนุภาคนาโนเงินมาประยุกต์ใช้ในหลายๆงาน เช่น ไบโอเซนเซอร์ ซึ่งมีอนุภาคนาโนเงินเป็นส่วนประกอบในไบโอรีเซฟเตอร์(bioreceptor) เพื่อช่วยให้มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนไปยังอิเล็กโทรดซึ่งจะแปลงสัญญาณไปเป็นข้อมูลได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้มีผลิตภัณฑ์ที่นำอนุภาคนาโนเงินมาเป็นส่วนประกอบในการผลิตเป็นเครื่องใช้ไฟฟ้าต่างๆ เช่น ตู้เย็น เครื่องซักผ้า โดยอนุภาคนาโนเงินจะเป็นตัวช่วยในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยทำให้ยืดอายุอาหารที่เราแช่ตู้เย็นที่มีองค์ประกอบของอนุภาคนาโนเงินนี้ได้นานขึ้นกว่าตู้เย็นปกติ ส่วนในเครื่องซักผ้านั้นเสื้อผ้าก็ถูกทำความสะอาดหมดจดปลอดเชื้อโรคตกค้าง

การสังเคราะห์อนุภาคนาโน ด้วยวิธีการดังนี้

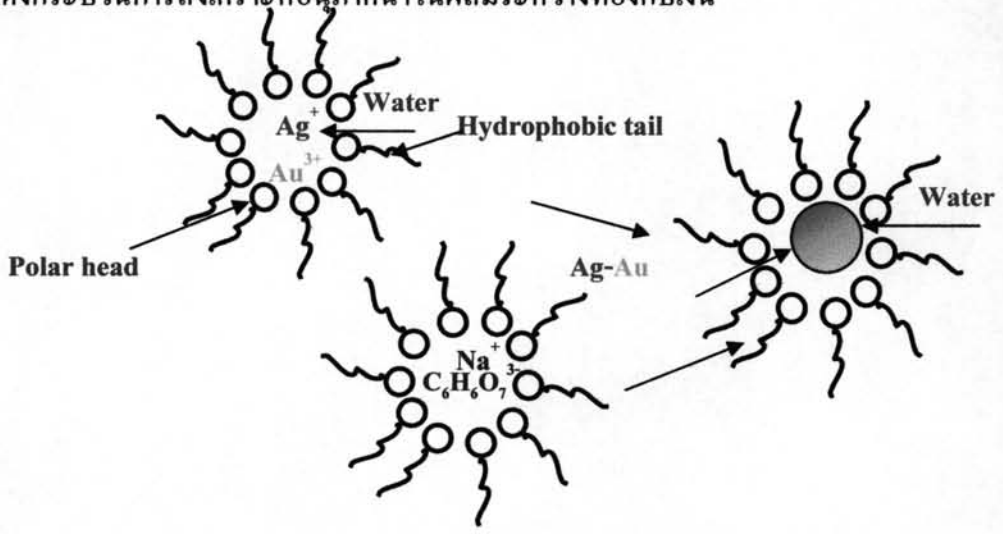
2.4.1. การใช้ตัวรีดิวซ์ (reducing agent)

การใช้รีดิวซ์ เช่น โซเดียมโบโรไฮไดร์ ($NaBH_4$) หรือ ไตร์โซเดียมซิเตท ($Na_3C_6H_5O_7$) ฯลฯ ใส่ลงไปในสารละลายโลหะ เช่น $AgNO_3$ หรือ $HAuCl_4$ เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันเกิดเป็นอนุภาคนาโนของโลหะ โดยขนาดของอนุภาคนาโนของโลหะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายโลหะต่อความเข้มข้นของตัวรีดิวซ์ เช่น การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินโดยใช้โซเดียมโบโรไฮไดร์เป็นตัวรีดิวซ์ ซึ่งจะแสดงปฏิกิริยาเคมีดังกล่าวตามสมการที่ 2.1

$$4AgNO_3 + NaBH_4 \longrightarrow 4Ag + 4HNO_3 + NaB \quad \text{---------- (2.1)}$$

2.4.2. การใช้กระบวนการรีเวิสไมเซลล์ (reverse micelles)

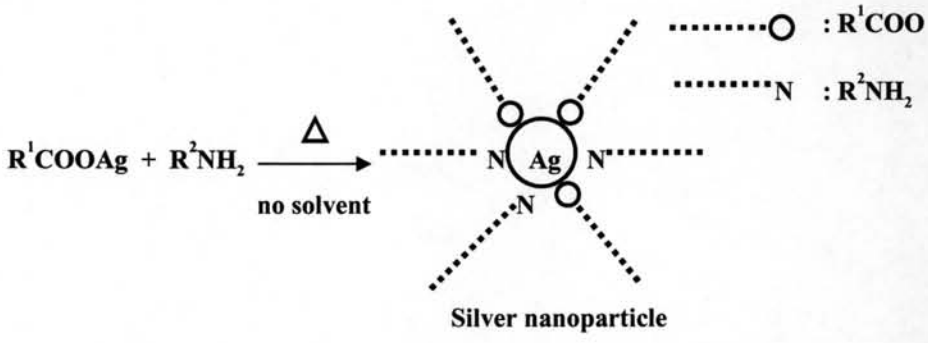
เป็นวิธีที่สังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะให้อยู่ในลักษณะรีเวิสไมเซลล์ ซึ่งเตรียมสารละลายส่วนแรก โดยการนำสารละลายโลหะ เช่น $AgNO_3$ หรือ $HAuCl_4$ ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสารลดแรงตึงผิว(surfactant) อยู่ด้วย โดยสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ เช่น sodium-bis-(2-ethylhexyl) sulfosuccinate (AOT) หรือ sodium dodecylsulfate (SDS) เป็นต้น และเตรียมสารละลายส่วนที่ 2 โดย นำตัวรีดิวซ์ เช่น โซเดียมโบโรไฮไดร์ หรือ ไตร์โซเดียมซิเตท ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสารลดแรงตึงผิวอยู่ด้วย จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองส่วนเข้าด้วยกัน จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันเกิดเป็นอนุภาคนาโนของโลหะอยู่ภายในไมเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.7 แสดงกระบวนการสังเคราะห์อนุภาคนาโนผสมระหว่างทองกับเงิน



รูปที่ 2.7 แสดงกระบวนการสังเคราะห์อนุภาคนาโนผสม
ระหว่างทองกับเงินในรีเวิสไมเซลล์
(Ren และคณะ , 2005)

2.4.3. การควบคุมด้วยความร้อน (controlled thermolysis)

เป็นการใช้ความร้อนในควบคุมการสังเคราะห์อนุภาคนาโน ตัวอย่างเช่น การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงิน ซึ่งทำโดยการใส่สาร alkylamin เช่น C_8NH_2 $C_{12}NH_2$ และโซเดียมไฮรอกไซด์ลงในน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$)] ลงไป จะเกิดอนุภาคนาโนเงินขึ้น และตกตะกอนลงมา ดังรูปที่ 2.8 แสดงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนด้วยวิธีควบคุมด้วยความร้อน



รูปที่ 2.8 แสดงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนด้วยวิธีควบคุมด้วยความร้อน
(Kashiwagi และคณะ,2006)

2.5 ไบโอเซนเซอร์

ไบโอเซนเซอร์เป็นเครื่องมือวิเคราะห์สำเร็จรูปประเภทหนึ่ง ซึ่งจะมีหน่วยทางชีวภาพ เช่น เอนไซม์ สารปฏิชีวนะ จุลินทรีย์ หรือ ดีเอนเอ ทำหน้าที่ในการตรวจวิเคราะห์ซึ่งอาจบรรจุสำเร็จหรือเป็นอุปกรณ์ที่ติดมากับตัวแปลงสัญญาณ จุดประสงค์เพื่อใช้ส่งสัญญาณทางอิเล็กทรอนิคแบบต่อเนื่อง หรือกึ่งต่อเนื่อง ซึ่งเป็นสัดส่วนกับสารตัวอย่างเฉพาะ หรือกลุ่มของสารตัวอย่าง ไบโอเซนเซอร์มีทั้งแบบติดตั้งถาวรและแบบพกพาที่ให้ข้อมูลทางด้านชนิดและปริมาณของสารที่วิเคราะห์ มีการใช้งานมากมายในหลายๆ ด้าน เช่น การแพทย์ อุตสาหกรรม การทหาร และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น โดยไบโอเซนเซอร์จะมีส่วนประกอบหลัก 2 ส่วน คือ ไบโอรีเซฟเตอร์ (bioreceptor) และตัวแปลงสัญญาณ (transducer)

2.5.1 ไบโอรีเซฟเตอร์

เป็นโมเลกุลชีวภาพที่มีความสามารถในการจดจำตัวถูกวิเคราะห์ (target analyte) ได้อย่างเฉพาะเจาะจง ได้แก่ เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก แอนติบอดี้ (antibody) และโปรตีนรีเซฟเตอร์ (receptor protein) ฯลฯ ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาเฉพาะกับสารที่ถูกวิเคราะห์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีฟิสิกส์ เช่น การผลิตไอออน อิเล็กตรอน การใช้แก๊ส ความร้อน การเปลี่ยนแปลงมวล

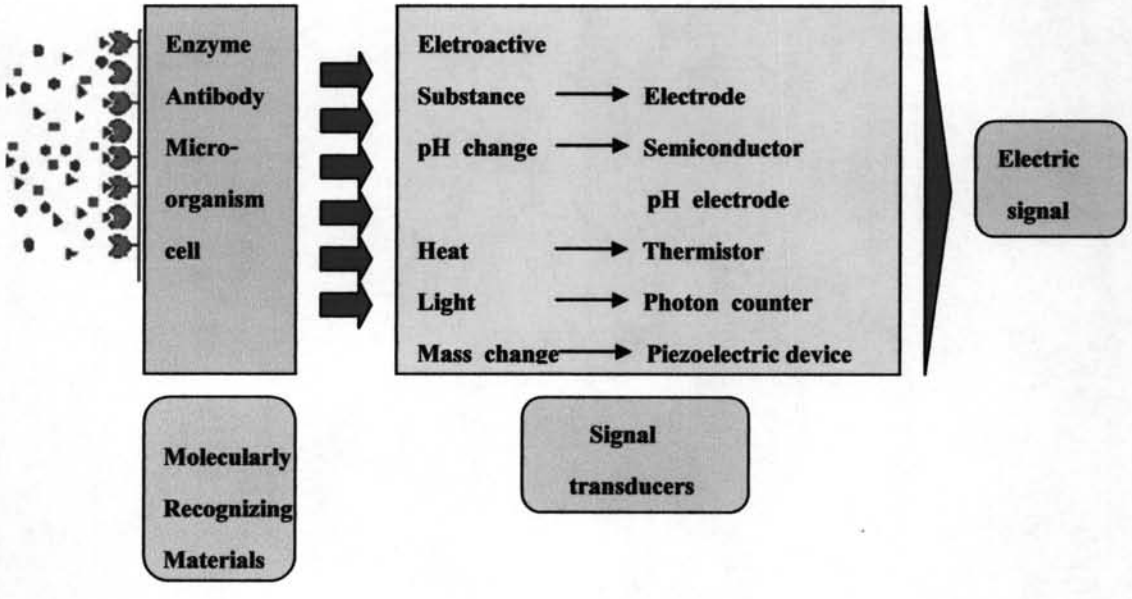
คุณสมบัติของสีหรือแสง โดยไบโอรีเซฟเตอร์จะถูกตรึงด้วยวิธีทางกายภาพหรือวิธีทางเคมีกับตัวแปลงสัญญาณ

2.5.2 ตัวแปลงสัญญาณ

เป็นส่วนที่ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีฟิสิกส์จากส่วนไบโอรีเซฟเตอร์ แปลงสัญญาณเฉพาะต่างๆ เช่น อิเล็กตรอน แสง เป็นสัญญาณไฟฟ้าเพื่อเป็นดัชนีระบุถึงปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยตัวแปลงสัญญาณที่มีการใช้กันมากสำหรับเครื่องไบโอเซนเซอร์ ได้แก่ amperometry ที่ใช้ในการวัด H_2O_2 ที่เกิดขึ้นหรือ O_2 ที่ใช้ในปฏิกิริยา potentiometry ใช้ในการวัดค่า pH และ pI ผลของความแตกต่างของความเข้มข้นของ H และphotometry ใช้วัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีหรือให้แสงเรือง fluorescent หรือ luminescent โดยมีการใช้งานของ optic fiber เพื่อช่วยในการชักนำ(สะท้อน) แสงจากแหล่งกำเนิดแสงไปยังเครื่องตรวจวัด

2.5.3 หลักการทำงานของไบโอเซนเซอร์

สารที่ต้องการวิเคราะห์จะผ่านเข้ามาสู่ส่วนไบโอรีเซฟเตอร์ซึ่งจะมีโมเลกุลชีวภาพที่ถูกตรึงอยู่ทำหน้าที่จับกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้อย่างจำเพาะเจาะจง ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีและมีการถ่ายทอดสัญญาณเฉพาะซึ่งอาจเป็นอิเล็กตรอน โปรตรอน แสง และอื่นๆ เข้าสู่ตัวแปลงสัญญาณ โดยตัวแปลงสัญญาณจะรับและเปลี่ยนสัญญาณเฉพาะเป็นสัญญาณไฟฟ้าทำให้สามารถอ่านค่าได้ ซึ่งแสดงหลักการทำงานดังในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 แสดงหลักการทำงานของไบโอเซนเซอร์

(ที่มา: www.gpo.or.th/rdi/htmls/biosensor)

2.5.4 การใช้งานไบโอเซนเซอร์

1. ด้านการแพทย์

การประยุกต์เทคโนโลยีตัวรับส่งสัญญาณ (sensor) มาใช้ในวินิจฉัยโรคต่างๆ ที่เกิดจากแบคทีเรีย ไวรัส การวัดปริมาณแก๊ส ไอออน และสารเมตาบอไลท์ในเลือด และการประเมินสภาวะของสารเมตาบอไลท์ในผู้ป่วยที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับสารชีวเคมีอย่างรวดเร็ว เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวานซึ่งจะควบคุมระดับกลูโคสให้อยู่ในระดับปกติด้วยกลูโคสเซนเซอร์ (glucose sensor)

2. ด้านอุสาหกรรม

มีการใช้ไบโอเซนเซอร์ในการควบคุมกระบวนการผลิต โดยเฉพาะในกระบวนการหมักและการวิเคราะห์การปนเปื้อน ซึ่งประโยชน์ในปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ เพิ่มผลิตผล ลดปัญหาการผลิตที่เกิดจากความแปรปรวนของวัตถุดิบ ลดการสูญเสียผลิตภัณฑ์และเป็นการใช้พลังงานอย่างมีประสิทธิภาพ โดยไบโอเซนเซอร์ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมการหมัก เช่น การตรวจวัดปริมาณกรดแลคเตทเพื่อควบคุมคุณภาพของไวน์และโยเกิร์ต การตรวจวัดปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งการควบคุมกระบวนการหมักเอทธานอลในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มอัลกอฮอล์ และในอุตสาหกรรมอาหารใช้ในการตรวจวัดสารปนเปื้อนหรือสารพิษในวัตถุดิบ ตรวจวัดปริมาณของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหาร ตรวจวัดความเข้มข้นของกลูโคสในสตอเบอร์รี่ ไอศกรีม น้ำเชื่อม เป็นต้น

3. ด้านสิ่งแวดล้อม

ใช้ในการวิเคราะห์สารปนเปื้อนที่เป็นมลพิษในน้ำและอากาศ ของเสียจากโรงงาน เช่น การวัดค่าปริมาณการใช้ O_2 ของจุลินทรีย์ (BOD) ในการวัดคุณภาพน้ำ วัดค่าพีเอช ค่าการนำไฟฟ้า สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์

4. ด้านการทหาร

ใช้ในการวิเคราะห์และตรวจสอบอันตรายที่ไม่ทราบในสนามรบ เช่น การวิเคราะห์แก๊สซาริน(sarin) ซึ่งเป็นแก๊สที่มีผลต่อระบบประสาท และการทดสอบ dipstick ซึ่งพัฒนาโดยกองทัพสหรัฐสำหรับการทดสอบสารต่างๆ เช่น Q fever สารที่มีผลต่อระบบประสาท ฝนเหลืองจากเชื้อรา เป็นต้น โดยอาศัยการทำงานที่เฉพาะของ monoclonal antibody การวิเคราะห์วัตถุระเบิดด้วยวิธี photo-immunoassay โดยการใช้ luciferase สามารถตรวจสอบสาร TNT ที่มีความเข้มข้นต่ำถึง10-18 M และการใช้ acetylcho-line receptor สำหรับการตรวจสอบสารพิษ