



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดสีแบบสวมใส่ได้จากคอมพอสิตไฮโดรเจลของพอลิ
ไวนิลแอลกอฮอล์และแบคทีเรียเซลลูโลส
Development of colorimetric wearable sensor from composite
hydrogel of poly(vinyl alcohol) and bacterial cellulose

ชื่อนิสิต นางสาวฤทัยรักษ์ นันทิยา

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดสีแบบสวมใส่ได้จากคอมพอลิไทไฮโดรเจลของ
พอลิไวนิลแอลกอฮอล์และแบคทีเรียลเซลลูโลส

Development of colorimetric wearable sensor from composite
hydrogel of poly(vinyl alcohol) and bacterial cellulose

โดย

นางสาวฤทัยรักษ์ นันทิยา

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

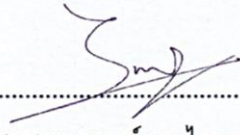
ปีการศึกษา 2560

โครงการ การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดสีแบบสวมใส่ได้จากคอมพิวเตอร์ไฮโดรเจลของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และ
แบคทีเรียลเซลลูโลส

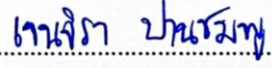
โดย นางสาวกัญญารักษ์ นันทิยา

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพฑูรย์ รัชตะสาคร)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โฮვნ่น)


..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.เจนจิรา ปานชมพู)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดสีแบบสวมใส่ได้จากคอมพอสิตไฮโดรเจลของพอลิไวนิล
แอลกอฮอล์และแบคทีเรียลเซลลูโลส
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวฤทัยรักษ์ นันทิยา เลขประจำตัว 5733151623
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โสเวน
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้สนใจพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดสีแบบสวมใส่ได้จากคอมพอสิตไฮโดรเจลของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่เสริมแรงด้วยเซลลูโลสที่เตรียมได้จากแบคทีเรีย (BC) ซึ่งเตรียมโดยการเชื่อมขวางทางกายภาพ ด้วยเทคนิคการแช่แข็ง-ละลาย (freezing-thawing method) ทำการเตรียมคอมพอสิตไฮโดรเจลที่มีอัตราส่วน PVA: BC ต่างกัน และจำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลายต่างๆ ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมได้ด้วยเทคนิคแอมพเทนนูเอทเทโททอลรีเฟรกชัน-ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (ATR-FTIR) กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (FE-SEM) ปริมาณน้ำในไฮโดรเจล และทดสอบความต้านทานต่อแรงกดจากการทดลองพบว่าปริมาณน้ำในไฮโดรเจลและความต้านทานต่อแรงกดจะแปรเปลี่ยนตามอัตราส่วนของ PVA: BC และจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ละลาย คอมพอสิตไฮโดรเจลที่มีการเติมเอนไซม์แลคเตทออกซิเดสแสดงศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้ โดยสามารถจำแนกความแตกต่างแลคเตททั้งในคนปกติและนักกีฬาได้ นอกจากนี้คอมพอสิตไฮโดรเจลที่มีไคเมทิลไกลอออกซิมยังสามารถวัดปริมาณนิกเกิล(II) ไอออนในน้ำได้ แต่ความเข้มข้นของนิกเกิล(II) ไอออนที่ทำให้สังเกตเห็นการเปลี่ยนสีได้ยังสูงกว่าขีดจำกัดมาตรฐานของความเป็นพิษที่กำหนดไว้ตามมาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรม จึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาพัฒนาระบบเพิ่มเติม

คำสำคัญ: คอมพอสิตไฮโดรเจล, พอลิไวนิลแอลกอฮอล์, แบคทีเรียลเซลลูโลส, อุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้, แลคเตท, นิกเกิล(II) ไอออน

Project Title Development of colorimetric wearable sensor from composite hydrogel of poly(vinyl alcohol) and bacterial cellulose

Student Name Miss Ruetairak Nuntiya Student ID 5733151623

Advisor Name Associate Professor Voravee P. Hoven, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

This research aims to develop colorimetric wearable sensor from composite hydrogel of poly(vinyl alcohol) (PVA) reinforced with bacterial cellulose (BC) which was prepared by physical crosslinking using freeze-thaw method. The PVA/BC composite hydrogels having varied ratio of PVA and BC prepared with different number of freeze-thaw cycle were characterized by attenuated reflection Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR), field emission scanning electron microscopy (FE-SEM), water content and compression test. The result showed that water content and compression modulus can be varied as a function of BC content and number of freeze-thaw cycle. The prepared composite hydrogel incorporated with enzyme lactate oxidase exhibited a strong potential to be further developed into wearable sensor for being distinguishable lactate threshold (LT) of normal people and athletes. Moreover, the composite hydrogel incorporated with dimethylglyoxime can also be used to measure nickel(II) ion in water. However, the nickel(II) ion concentration that yielded obvious visible color change was still higher than the threshold standard of toxicity by Ministry of industry. Further research study is therefore necessary.

Keywords: composite hydrogel, poly(vinyl alcohol) , bacterial cellulose, wearable sensor, lactate, Nickel(II) ion

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์ รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิร์ โยเว่น อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ ในการทำวิจัย ตลอดจนตรวจทาน แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความใส่ใจตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ อีกทั้งยังได้ให้ข้อคิดและกำลังใจยามท้อแท้ ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ ดร.นาฏนัตดา รอดทองคำ ที่ให้ความรู้ทางด้านการตรวจวัดแลคเตทโดยใช้เอนไซม์ที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงสี และคำแนะนำต่างๆ ในการทำวิจัย ขอขอบคุณ ดร.พรเพ็ญ แซ่อึ้ง ตลอดจนนิสิตปริญญาโทและเอกในกลุ่มงานวิจัยของรองศาสตราจารย์ ดร.วรวิร์ โยเว่น และนิสิตปริญญาเอกในกลุ่มงานวิจัยของ ดร.นาฏนัตดา รอดทองคำ ที่ให้ความรู้ในการใช้เครื่องมือตลอดจนแนะนำเทคนิคการทำงานวิจัย

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ ประสบการณ์ และเทคนิคปฏิบัติการอันเป็นพื้นฐานในการทำงานวิจัยตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา และขอขอบคุณกำลังใจและความช่วยเหลือจากครอบครัวและเพื่อนๆ รวมถึงบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนามมา ณ ที่นี้ จนสามารถดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตารางประกอบ	ช
สารบัญรูปประกอบ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	6
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
บทที่ 2 การทดลอง	7
2.1 สารเคมี	7
2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	7
2.3 การเตรียมคอมพอสิตไฮโดรเจลของ PVA เสริมแรงด้วย BC (PVA/BC)	8
2.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของไฮโดรเจล	9
2.4.1 ATR-FTIR	9
2.4.2 FE-SEM	9
2.4.3 การทดสอบความต้านทานต่อแรงกด (Compression test)	9
2.5 การหาปริมาณน้ำในไฮโดรเจล (Water content)	9
2.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล	9
2.7 การนำคอมพอสิตไฮโดรเจลมาประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสี	10
2.7.1 การตรวจวัดปริมาณเอนไซม์แลคเตท	10
2.7.2 การตรวจวัดปริมาณโลหะนิกเกิล(II) ไอออน	10
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	
3.1 การเตรียมและพิสูจน์เอกลักษณ์ของ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล	12
3.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล	17
3.3 การนำคอมพอสิตไฮโดรเจลมาประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสี	18
3.3.1 การตรวจวัดปริมาณแลคเตท	18
3.3.2 การตรวจวัดปริมาณโลหะนิกเกิล(II) ไอออน	19

บทที่ 4 สรุปลงการทดลอง
เอกสารอ้างอิง
ประวัติผู้วิจัย

21
22
25



สารบัญตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
2.1	อัตราส่วนโดยปริมาตรในการเตรียมคอมพอสิตไฮโดรเจลของ PVA/BC และจำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลาย	8
3.1	ภาพ FE-SEM การตัดขวางของ PVA/BC ไฮโดรเจลที่อัตราส่วนต่างๆ ที่กำลังขยาย 500x และ 3000x	14



สารบัญรูปประกอบ

รูปที่	หน้า
1.1 อุปกรณ์สำหรับสวมใส่เพื่อติดตามค่าพีเอชของเหงื่อสำหรับนักกีฬา	1
1.2 ลักษณะการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดจากคอมพอลิโอสีระหว่าง PDMS และ SWCN	2
1.3 ลักษณะของฟิล์ม PU มีสมบัติกันน้ำและความสามารถในการซึมผ่านของอากาศของฟิล์ม และการใช้ PU ร่วมกับการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิบนผิวหนังของมนุษย์	2
1.4 แบบแผนของการเตรียมเซ็นเซอร์ตรวจวัดสีสำหรับการหาความเข้มข้นของแอมโมเนียในลมหายใจมนุษย์	3
1.5 การสังเคราะห์ Pt nanoparticles/3D graphene hydrogel (Pt/GOH) คอมพอลิโอสีไฮโดรเจล	3
1.6 ภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงสีของ PASAP-NH หลังจากเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ Cu(II) ion ที่ความเข้มข้นต่างๆ	4
1.7 โครงสร้างของ (a) PVA และ (b) BC	5
3.1 การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลระหว่างสาย (a) PVA และ BC (b) PVA และ PVA	12
3.2 ภาพถ่ายของ PVA ไฮโดรเจล และ PVA/BC คอมพอลิโอสีไฮโดรเจล	12
3.3 ATR-FTIR สเปกตรัมของ (a) pure PVA, (b) P3B1, (c) P1.5B1, (d) P1B1 และ (e) BC	13
3.4 ความต้านทานต่อแรงกดของไฮโดรเจลที่อัตราส่วนต่างๆ	16
3.5 ปริมาณน้ำในไฮโดรเจลที่อัตราส่วนต่างๆ	17
3.6 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ของหนู	17
3.7 สมการเคมีแสดงกลไกการเกิดสีของการใช้เอนไซม์ LOx ในการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์	18
3.8 ความเข้มสี (intensity) ของไฮโดรเจลหลังการตรวจวัดแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	19
3.9 สมการเคมีแสดงกลไกการเกิดสีจากการจับโลหะนิกเกิล(II) ไอออน ด้วย DMG	20
3.10 ความเข้มสี (intensity) ของไฮโดรเจลหลังการตรวจวัดโลหะนิกเกิล(II) ไอออนที่ความเข้มข้นต่างๆ	20

บทที่ 1

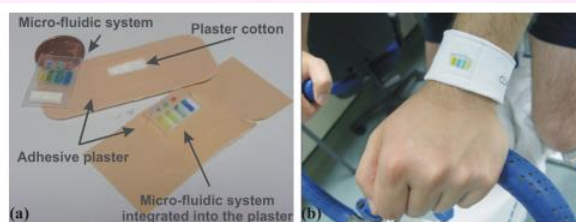
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปริมาณสารเคมีหรือสารบ่งชี้ทางชีวภาพที่พบในสารคัดหลั่ง เช่น เหงื่อ ปัสสาวะ น้ำลาย สามารถใช้เป็นข้อมูลในการประเมินความผิดปกติของร่างกายหรือความเสี่ยงของการเกิดโรคบางชนิดได้ เพื่อเป็นการเตรียมพร้อมในการรับมือกับปัญหาสุขภาพ การป้องกันหรือบำบัดรักษาโรคแต่เนิ่นๆ ปัจจุบันอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้ (wearable sensor) กำลังได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัยและพัฒนามากขึ้นเป็นลำดับ เนื่องจากทำได้สะดวก สามารถตรวจวิเคราะห์สารเป้าหมายได้โดยตรงระหว่างทำกิจกรรมในชีวิตประจำวัน ไม่ก่อให้เกิดความรำคาญแก่ผู้สวมใส่ ให้ผลการวิเคราะห์ได้ในเวลาจริง (real-time analysis) ในการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดสารเคมีหรือสารบ่งชี้ทางชีวภาพจากเหงื่อ[1] มีความน่าสนใจเป็นพิเศษเนื่องจากเหงื่อเป็นเมทริกซ์ที่มีสารรบกวนน้อย สามารถวิเคราะห์ได้โดยตรงง่ายกว่าสารคัดหลั่งชนิดอื่น ต่อมาเหงื่อเป็นต่อมมีท่อที่พบได้ตามผิวหนัง มีหน้าที่หลั่งเหงื่อซึ่งเป็นของเสียออกมาภายนอกร่างกาย สารที่หลั่งออกมาจากผิวหนังบางชนิดสามารถบ่งบอกถึงการทำงานของอวัยวะภายใน เช่น ไต ปอด หรือกระบวนการเผาผลาญสารเคมีหรือยาภายในร่างกายได้ นอกจากนี้ในเหงื่อยังประกอบด้วยสารบ่งชี้ทางชีวภาพหลายชนิดที่มีความสำคัญอีกด้วย[2] สารที่ออกมาจากเหงื่อบางชนิดสามารถบ่งบอกถึงภาวะผิดปกติของร่างกายได้ เช่น การตรวจวัดระดับกลูโคสในเลือดผ่านเหงื่อที่ขับออกมาเพื่อตรวจสอบโรคเบาหวาน[3] และการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์สามารถบ่งชี้ถึงสถานะการขาดออกซิเจนของเซลล์[4] ซึ่งบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการออกกำลังกายของนักกีฬาได้ โดยในการเก็บตัวอย่างเหงื่อนั้นจำเป็นต้องใช้วัสดุที่ไม่เป็นอันตรายและเข้ากันได้ดีกับผิวหนังมนุษย์ เนื่องจากต้องนำไปสัมผัสโดยตรงกับผิวหนังมนุษย์ และควรเป็นวัสดุที่มีความยืดหยุ่นสูง สามารถทนต่อการละลายน้ำ และสภาพความเป็นกรดของเหงื่อได้อีกด้วย

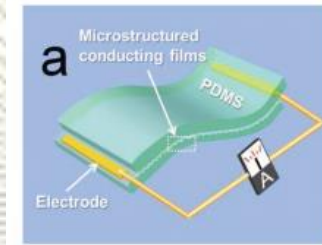
โดยวัสดุที่นิยมนำมาใช้เป็นฟิล์มสำหรับติดตามการเปลี่ยนแปลงของเหงื่อที่ผ่านมามีการนำพอลิเมอร์ที่มีความยืดหยุ่นสูงมาใช้ เช่น พอลิไดเมทิลซิลอกเซน (polydimethylsiloxane; PDMS), พอลิยูรีเทน (polyurethane; PU), และไฮโดรเจล เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 2012 Curto และคณะ[5] ได้ประดิษฐ์ระบบติดตามค่าพีเอช (pH) โดยนำระบบของไหลของพอลิเมอร์ไอออนิกคลิควิดมาประยุกต์ใช้ในการติดตามค่า pH ในช่วงของการออกกำลังกาย ซึ่งจะใช้ระบบของไหลเคลื่อนที่สารไปยังพอลิเมอร์ไอออนิกคลิควิด จากนั้นจะติดตามการเปลี่ยนสีของพอลิเมอร์เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในเหงื่อ โดยงานวิจัยนี้สามารถประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์สวมใส่สำหรับติดตามสุขภาพและประสิทธิภาพของนักกีฬาได้ (รูปที่ 1.1)



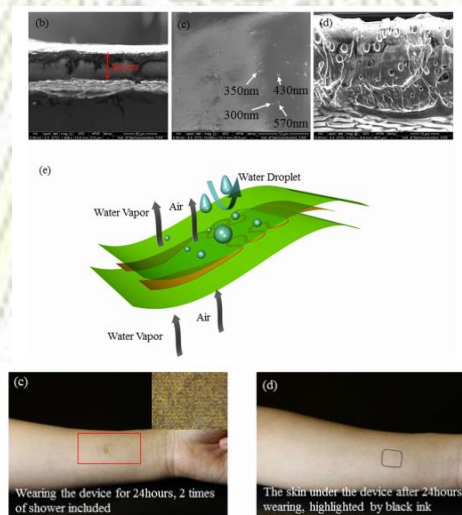
รูปที่ 1.1 อุปกรณ์สำหรับสวมใส่เพื่อติดตามค่าพีเอชของเหงื่อสำหรับนักกีฬา [5]

ในปี ค.ศ. 2014 Wang และคณะ [6] ได้มีการนำ PDMS ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีความยืดหยุ่นสูงและเข้ากับสิ่งมีชีวิตได้ดีมาเตรียมเป็นคอมพอสิตโดยการผสมกับท่อขนาดนาโนของคาร์บอน (single-wall carbon nanotube; SWCN) และมีการทำขั้วไฟฟ้าลงบนคอมพอสิตเพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ในการตรวจวัดความดันที่เปลี่ยนแปลงบนผิวหนังมนุษย์ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความดันจะทำให้สามารถบ่งบอกถึงความเสี่ยงในการเป็นโรคได้ (รูปที่ 1.2)



รูปที่ 1.2 ลักษณะการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดจากคอมพอสิตระหว่าง PDMS และ SWCN [6]

ในปี ค.ศ. 2015 Chen และคณะ [7] ได้ประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิบนผิวหนังมนุษย์สำหรับตรวจวัดอุณหภูมิของร่างกาย โดยใช้ฟิล์ม PU ซึ่งเป็นวัสดุที่สามารถระบายอากาศได้ดีและมีความยืดหยุ่นสูง พบว่าไอน้ำและอากาศสามารถแพร่ผ่านฟิล์มไปยังจุดตรวจวัดอุณหภูมิได้ดี อีกทั้งฟิล์มที่ได้ยังทนต่อน้ำอีกด้วย (รูปที่ 1.3)

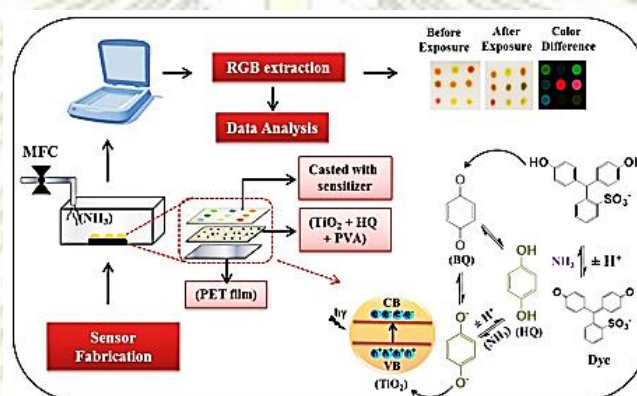


รูปที่ 1.3 ลักษณะของฟิล์ม PU มีสมบัติกันน้ำและความสามารถในการซึมผ่านของอากาศของฟิล์ม และการใช้ PU ร่วมกับการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิบนผิวหนังของมนุษย์ [7]

“ไฮโดรเจล” เป็นโครงสร้างเครือข่ายสามมิติของพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำ ซึ่งสามารถบวมและดูดซับน้ำได้มากจากการที่ไฮโดรเจลมีสมบัติเด่นในเรื่องความสามารถในการดูดซับน้ำ และการยอมให้โมเลกุลต่างๆ เช่น น้ำ แก๊สออกซิเจน โพรตีน และยา สามารถแพร่ผ่านได้ จึงมีการนำไฮโดรเจลมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ในหลากหลายรูปแบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อพอลิเมอร์ที่ใช้ในการเตรียมไฮโดรเจลมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อหรือร่างกายของมนุษย์ เช่น การนำมาทำคอนแทคเลนส์ [8] ซึ่งจะช่วยเพิ่มความชุ่มชื้น และลดการระคายเคืองแก่ดวงตา หรือใช้เป็นแผ่นปิดแผล [9] ช่วยดูดซับของเหลว เช่น น้ำเหลือง ที่ไหลออกมาจากแผล และสามารถให้แก๊ส

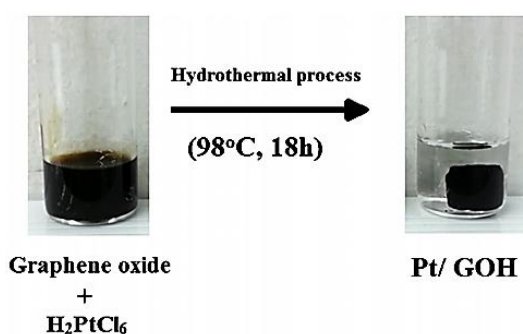
ออกซิเจนแพร่ผ่านได้ ทำให้บริเวณที่เกิดแผลสามารถสร้างเนื้อเยื่อได้ดีกว่าปกติ การใช้เป็นสารนำส่งยา และ เซ็นเซอร์[10] อีกทั้งในทางอุตสาหกรรม ไฮโดรเจลถูกใช้ในการกำจัดไอออนของโลหะ และ เซ็นเซอร์ตรวจวัดสี สำหรับไอออนของโลหะได้อีกด้วย [11]

ในปี ค.ศ. 2017 Krishnan และคณะ [10] ได้เตรียมไฮโดรเจลโดยใช้แผ่นฟิล์ม poly(ethylene terephthalate (PET) เป็นฐานสำหรับเตรียมไฮโดรเจลจาก PVA โดยใช้ glutaraldehyde เป็นตัวเชื่อมขวางทางเคมี พร้อมเติมอนุภาคนาโนของไททาเนียมไดออกไซด์ (TiO_2 NPs) และ hydroquinone (HQ) เพื่อใช้เป็น เซ็นเซอร์ตรวจวัดสีสำหรับวัดความเข้มข้นของแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้นในลมหายใจมนุษย์ ตรวจวัดค่าสีในระบบ RGB โดยค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับปริมาณแอมโมเนีย เพื่อใช้ในการวินิจฉัยผู้ป่วยที่เป็นโรคไตเรื้อรัง (รูปที่ 1.4)



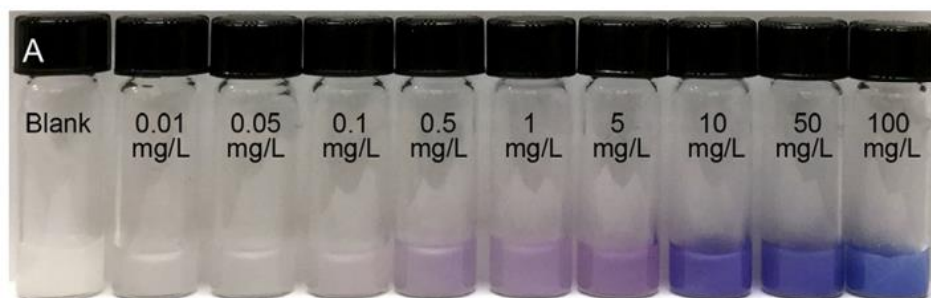
รูปที่ 1.4 แบบแผนของการเตรียมเซ็นเซอร์ตรวจวัดสีสำหรับการหาความเข้มข้นของแอมโมเนียในลมหายใจมนุษย์ [10]

ในปี ค.ศ. 2014 Hoa และคณะ [12] ได้ประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดกลูโคสโดยไม่ใช้เอนไซม์ จาก Pt nanoparticles และ 3D graphene hydrogel (Pt/GOH) โดยเตรียมไฮโดรเจลจาก graphene oxide และ H_2PtCl_6 ด้วยกระบวนการ hydrothermal โดยทดสอบหาความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดจากการเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางเคมีไฟฟ้า และพบว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่ได้จากกระบวนการดังกล่าวได้ผลสอดคล้องกับเครื่องวัดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ACCU-CHEK® (รูปที่ 1.5)



รูปที่ 1.5 การสังเคราะห์ Pt nanoparticles/3D graphene hydrogel (Pt/GOH) คอมพอสิตไฮโดรเจล [12]

ในปี ค.ศ. 2014 Zhang และคณะ [11] ได้ประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัด Cu(II) ion ในน้ำโดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสีของ nanofibrous hydrogel ที่เตรียมจาก poly (aspartic acid) (PASP-NH) โดยพอลิเมอร์ดังกล่าวสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีม่วงกับ Cu(II) ion ซึ่งสีม่วงที่เกิดขึ้นจะเข้มขึ้นตามความเข้มข้นของ Cu(II) ion ที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 1.6)

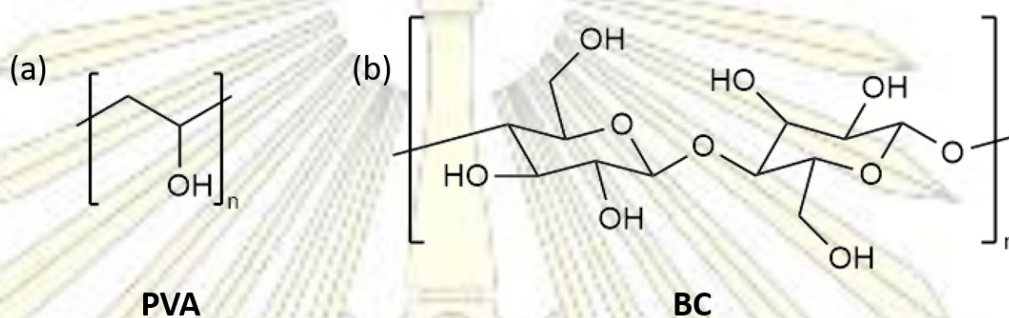


รูปที่ 1.6 ภาพแสดงการเปลี่ยนแปลงสีของ PASAP-NH หลังจากเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ Cu(II) ion ที่ความเข้มข้นต่างๆ [11]

การเตรียมไฮโดรเจลโดยการเชื่อมขวาง (crosslinking) ของพอลิเมอร์สามารถทำได้ 2 แนวทาง [13] ได้แก่ (1) การเชื่อมขวางทางเคมี (chemical crosslinking) โดยอาศัยสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) เพื่อทำให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยพันธะโควาเลนต์ ซึ่งบ่อยครั้งมักประสบปัญหาความเป็นพิษจากสารเชื่อมขวางที่ไม่ได้เกิดปฏิกิริยาและยังตกค้างอยู่ในไฮโดรเจล จำเป็นต้องมีขั้นตอนการทำไฮโดรเจลให้บริสุทธิ์ก่อนการใช้งาน และ (2) การเชื่อมขวางทางกายภาพ (physical crosslinking) ซึ่งการเชื่อมโยงเกิดผ่านพันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก หรือการเกิดผลึก การเตรียมไฮโดรเจลด้วยกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย (freezing-thawing) [14] นับเป็นหนึ่งในวิธีการเชื่อมขวางทางกายภาพที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากไฮโดรเจลที่ได้มีความยืดหยุ่นที่ดีกว่าไฮโดรเจลที่เตรียมได้โดยการเชื่อมขวางทางเคมี อีกทั้งยังสามารถปรับเปลี่ยนสมบัติเชิงกลได้โดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของพอลิเมอร์ จำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลาย (freezing-thawing cycle)

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (poly(vinyl alcohol; PVA) ได้รับความนิยมอย่างยิ่ง [15] เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ดี ปลอดภัย ไม่เป็นพิษ และย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จึงถูกนำมาเตรียมเป็นไฮโดรเจล, फिल्म และเส้นใย เพื่อประยุกต์ใช้งานด้านต่างๆ การมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในทุกหน่วยซ้ำของ PVA (รูปที่ 1.7(a)) ทำให้สามารถเตรียมไฮโดรเจลได้โดยการเชื่อมขวางทางกายภาพผ่านการเกิดพันธะไฮโดรเจนด้วยกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย โดยในระหว่างขั้นตอนการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำจะเกิดการแยกเฟสเป็นเฟสพอลิเมอร์ และเฟสตัวทำละลาย ทำให้สายพอลิเมอร์ที่อยู่ติดกันในเฟสพอลิเมอร์เกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจน โดยการเพิ่มจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ละลายจะส่งผลให้การสร้างพันธะไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นทำให้ได้ไฮโดรเจลที่มีการเชื่อมขวางมากขึ้น อย่างไรก็ตามไฮโดรเจลที่เตรียมจาก PVA อย่างเดียวยังมีความแข็งแรงไม่พอ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการเสริมแรงด้วยสารตัวเติมที่เหมาะสมและสามารถเข้ากันได้ทางชีวภาพ เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของไฮโดรเจล โดยสารตัวเติมชนิดหนึ่งที่มีความน่าสนใจ ได้แก่ แบคทีเรียลเซลลูโลส (bacterial cellulose; BC) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมัก

ของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการผลิต BC เนื่องจากสามารถย่อยน้ำตาลได้หลายชนิด โครงสร้างของ BC ประกอบด้วยหน่วยย่อยของกลูโคสจำนวนมาก (รูปที่ 1.7(b)) ซึ่งมีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ มีความเป็นผลึกสูง มีความบริสุทธิ์สูง ไม่มีการปนเปื้อนของเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน และแบคทีเรียเซลลูโลสมีค่าความต้านทานแรงดึงและความยืดหยุ่นสูง มีความเหนียวเมื่อยอยู่ในสภาพเปียก และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อร่างกาย [16] จึงนิยมนำมาใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ เช่น การใช้เป็นแผ่นปิดแผล การใช้ผลิตหนังเทียม และการผลิตหลอดเลือดเทียม และที่ผ่านมามีการนำ BC มาเตรียมเป็นคอมพอสิตเพื่อใช้เสริมแรงให้กับ PVA ไฮโดรเจลในรูปแบบต่างๆ ดังนี้



รูปที่ 1.7 โครงสร้างของ (a) PVA และ (b) BC

ในปี ค.ศ. 2015 Qiao และคณะ [15] ได้ศึกษาผลของการเสริมแรง PVA ไฮโดรเจลด้วยนาโนไฟเบอร์ของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (nanofibers from bacterial cellulose, nf-BC) โดยเตรียมไฮโดรเจลผ่านกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย ซึ่งพบว่าสมบัติเชิงกลของไฮโดรเจลดีขึ้นเมื่ออัตราส่วนของ nf-BC เพิ่มขึ้น ยืนยันได้จากค่าโมดูลัสของยัง (Young's modulus) ที่เพิ่มขึ้นจาก 0.48 MPa ของ pure PVA เป็น 0.87 MPa ของ nf-BC/PVA ไฮโดรเจล

ในปี ค.ศ. 2009 Wang และคณะ [17] ได้ทำการเตรียมคอมพอสิตไฮโดรเจลจาก BC/PVA ด้วยกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย โดยจากผลการทดลองพบว่าคอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมได้มีคุณสมบัติเหมาะสมในการนำมาใช้ทำกระจกตาเทียม โดยมีปริมาณน้ำมากทำให้ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ดวงตา นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มปริมาณ BC ทำให้ค่าความต้านทานแรงดึงสูงขึ้น โดย BC/PVA คอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมได้ที่ปริมาณ BC 12 เปอร์เซ็นต์โดยมวลมีความต้านทานแรงดึงเท่ากับ 3.9 MPa ซึ่งมีค่าความต้านทานแรงดึงใกล้เคียงกับกระจกตามนุษย์

ในปี ค.ศ. 2007 Millon และคณะ [18] ได้เตรียม PVA/BC นาโนคอมพอสิต ผ่านกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย โดยพบว่าการเพิ่มปริมาณของ BC สามารถเตรียมไฮโดรเจลให้มีคุณสมบัติเชิงกลใกล้เคียงกับเนื้อเยื่ออ่อนเพื่อใช้เป็นหลอดเลือดเทียมซึ่งมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และมีความแข็งแรงสูง

งานวิจัยนี้สนใจที่จะพัฒนาวัสดุคอมพอสิตไฮโดรเจลจาก PVA ที่เสริมความแข็งแรงด้วยเซลลูโลสที่เตรียมได้จากแบคทีเรีย (bacterial cellulose; BC) เพื่อใช้ในการดูดซับและกักเก็บตัวอย่างที่ขับออกจากเนื้อเยื่อเพื่อพัฒนา

เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดแบบสวมใส่ ซึ่งยังไม่มีผู้ศึกษาวิจัยมาก่อน ที่ผ่านมามีการศึกษาการเตรียมวัสดุดังกล่าวเพื่อพัฒนาเป็นวัสดุทางการแพทย์ที่ใช้ทำกระจกตาเทียม (artificial cornea) [17] แสดงให้เห็นว่าไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ จึงควรมีความเข้ากันได้กับผิวหนังมนุษย์ นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังเลือกใช้การทำให้เกิดเป็นไฮโดรเจลผ่านการเชื่อมขวางระหว่างโซ่พอลิเมอร์ของ PVA ด้วยกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิดพันธะไฮโดรเจน โดยสามารถควบคุมระดับการเชื่อมขวางได้จากการปรับเปลี่ยนจำนวนรอบของการแช่แข็ง-ละลาย กระบวนการเชื่อมขวางดังกล่าวไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี จึงไม่ต้องกังวลเรื่องสารตกค้างที่อาจก่อให้เกิดความเป็นอันตรายต่อผิวหนังหรือกระบวนการวิเคราะห์ เมื่อได้คอมพอสิตไฮโดรเจลที่มีสมบัติเหมาะสมแล้ว ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาการตรวจวัดสารเป้าหมายโดยอาศัยการเปลี่ยนสี (colorimetric sensor) [19] เช่น การวัดปริมาณแลคเตทโดยใช้เอนไซม์ [20] การวัดปริมาณโลหะนิกเกิล(II) ไอออน เป็นต้น เนื่องจากทำการตรวจวัดได้อย่างรวดเร็วมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ไม่ต้องการเครื่องมือเฉพาะทาง และสามารถใช้เครื่องวัดความเข้มสีในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ [21] จึงเป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายและมีค่าใช้จ่ายไม่สูง และมีศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เตรียมและศึกษาสมบัติของแผ่นฟิล์มคอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมจาก PVA ที่เสริมแรงด้วย BC
2. ทดสอบการใช้แผ่นฟิล์มคอมพอสิตไฮโดรเจลของ PVA/BC ในการตรวจวัดสารเป้าหมายโดยวัดการเปลี่ยนแปลงความเข้มสี

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ฟิล์มไฮโดรเจลที่สามารถตรวจวัดสารเป้าหมายโดยอาศัยเทคนิคการตรวจวัดทางสี และสามารถพัฒนาไปเป็นอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ (wearable sensor) ได้

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 สารเคมี

1. Poly(vinyl alcohol) (PVA)
2. Bacterial cellulose (BC)
3. Dimethylsulfoxide (DMSO)
4. Lactate oxidase (LOx)
5. Horseradish peroxidase (HRP)
6. 3-(N-Ethyl-3-methylanilino)-2-hydroxypropanesulfonic acid sodium salt (TOOS)
7. 4-Aminoantipyrine (4-AAP)
8. D,L-lactate
9. Phosphate Buffer Saline pH 7.4 (PBS)
10. Dimethylglyoxime (DMG)
11. Methanol
12. Nickel(II) chloride
13. Deionised water

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Hot plate-stirrer (PC-420D, CORNING, USA)
2. Freeze-dry/shell freeze system (LABCONCO, USA)
3. Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM) (JSM-7610F, JEOL, Russia)
4. Universal Testing Machine (INSTRON, U.K.)
5. Datacolor (Check3, China)
6. Attenuated total reflection- Fourier-transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) (Thermo Scientific Nicolet iS5, USA)
7. Vortex Genie-2 (SCIENTIFIC INDUSTRIES, U.K.)
8. Ultrasonic Bath (Elma E30H, Germany)
9. Freezer -20 °c (LC203LD, LAW-CHAIN, Taiwan)
10. Balance (XT220A, PRECISA, Switzerland)

2.3 การเตรียมคอมพอลิเมอร์เจลของ PVA เสริมแรงด้วย BC (PVA/BC)

เตรียม PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลโดยกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย โดยเริ่มจากการเตรียมสารละลาย PVA ใน DMSO ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปผสมกับสารละลาย BC ที่ถูกเตรียมโดยการปั่นแผ่น BC ให้ละเอียดด้วยการผสมกับน้ำ ความเข้มข้น ประมาณ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หลังจากการผสมสารละลาย PVA และสารละลาย BC ในบีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วจึงนำสารละลายผสมไปคนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 3 นาทีเพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงใน well plate ที่มีขนาดต่างๆกัน แล้วจึงนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำ well plate มาตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการละลาย คิดเป็น 1 รอบของกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย ทั้งนี้มีการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนโดยปริมาตรของสารละลาย PVA และ BC ในการเตรียม PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล และจำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลายต่างๆ ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 2.1

นอกจากนี้ยังเตรียมไฮโดรเจลเป็นตัวควบคุม 2 ระบบ ได้แก่ Control 1 เป็น PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วน PVA:BC = 1.5:1 และผ่านจำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลาย 2 รอบ แต่ใช้น้ำในการเตรียมสารละลาย PVA ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร แทนการใช้ DMSO เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลายต่อสมบัติของไฮโดรเจลที่เตรียมได้ และ Control 2 เป็น PVA ไฮโดรเจลที่เตรียมโดยมีการใช้น้ำ DI แทนสารละลาย BC โดยผ่านจำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลาย 2 รอบ

ตารางที่ 2.1 อัตราส่วนโดยปริมาตรในการเตรียมคอมพอสิตไฮโดรเจลของ PVA/BC และจำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลาย

PVA (μL)	BC (μL)	PVA : BC	จำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลาย	สัญลักษณ์
300	200	1.5 : 1	6	P1.5B1, 6FT
300	200	1.5 : 1	4	P1.5B1, 4FT
300	200	1.5 : 1	2	P1.5B1, 2FT
300*	200	1.5 : 1	2	Control 1
375	125	3 : 1	2	P3B1, 2FT
250	250	1 : 1	2	P1B1, 2FT
300	200**	3 : 0	2	Control 2

หมายเหตุ: * ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารละลาย PVA ** ใช้น้ำ DI แทนสารละลาย BC

2.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของไฮโดรเจล

2.4.1 ATR-FTIR

เตรียมตัวอย่างไฮโดรเจลโดยที่เจาะรูกระดาษให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร หนา 1 มิลลิเมตร ทำให้แห้งโดยการ freeze-drying เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วย ATR-FTIR ในช่วงเลขคลื่น (wavenumber) $400-4000\text{ cm}^{-1}$ โดยทำการสแกนเป็นจำนวน 16 รอบ

2.4.2 FE-SEM

เตรียมตัวอย่างไฮโดรเจลเป็นรูปทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร หนา 20 มิลลิเมตร ทำให้แห้งโดยการ freeze-drying เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ว cross-section โดยการแช่แข็งสารตัวอย่างในไนโตรเจนเหลว จากนั้นจึงหักแล้วจึงเคลือบด้วยแพลททินัม แล้วจึงวิเคราะห์เพื่อเก็บภาพที่กำลังขยาย 500 เท่า (500x) และ 3000 เท่า (3000x)

2.4.3 การทดสอบความต้านทานต่อแรงกด (Compression test)

สมบัติความแข็งแรงของไฮโดรเจลนั้นสามารถหาได้จากการทดสอบความต้านทานต่อแรงกด โดยเครื่อง Universal Testing Machine (Instron) โดยเตรียมตัวอย่างไฮโดรเจลเป็นรูปทรงกระบอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร และสูง 1 เซนติเมตร ใช้ความเร็วในการทดสอบ = 10 มิลลิเมตร/นาที โดยทำการทดสอบกับสารตัวอย่างไฮโดรเจล 5 ชิ้น ต่อหนึ่งสภาวะในการเตรียม

2.5 การหาปริมาณน้ำในไฮโดรเจล (Water content)

เตรียมสารตัวอย่างไฮโดรเจลตามอัตราส่วนที่แสดงในตารางที่ 2.1 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร หนา 1 มิลลิเมตร ชั่งน้ำหนักเปียกของคอมพอลิเมอร์ไฮโดรเจลก่อนนำไปทำให้แห้ง (W_t) นำมาซับบนกระดาษทิชชูไร้ขน เพื่อดูดซับน้ำส่วนเกินบริเวณผิวของไฮโดรเจลออก จากนั้นทำให้แห้งโดยการ freeze drying เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง (W_d) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยปริมาณน้ำในไฮโดรเจล หาได้จากสมการดังนี้

$$\% \text{water content} = \frac{(W_t - W_d)}{W_d} \times 100 \quad (2.1)$$

ค่า W_t คือ น้ำหนักเปียกของไฮโดรเจลก่อนการทำให้แห้ง (mg)

W_d คือ น้ำหนักแห้งของไฮโดรเจล (mg)

2.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity test) ของ PVA/BC คอมพอลิเมอร์ไฮโดรเจล

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ของหนู ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ซึ่งประกอบด้วย 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตรของ fetal bovine serum, 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตรของ penicillin-streptomycin, 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตรของ sodium pyruvate และ 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตรของ HEPES ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นทำให้เซลล์หลุดออกจากภาชนะที่เลี้ยงเซลล์ด้วยเอนไซม์ Trypsin แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยง

เซลล์ DMEM ต่อในรอบที่สอง เพื่อนำเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยงรอบที่สองไปใช้ในการทดลอง นอกจากนี้เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีที่ถูกปลดปล่อยออกมาจาก PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล จึงนำ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลทั้งแบบเปียกและแบบแห้งไปบ่มในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยการทดสอบความสามารถในการมีชีวิตรอดของเซลล์ (MTS cell viability assay) ในขั้นแรกจะทำการเลี้ยงเซลล์ใน 96-well plates โดยให้มีจำนวนเซลล์ 5,000 เซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก แล้วแทนที่ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่ผ่านการบ่มกับ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลที่เวลาต่างๆ ทำการเลี้ยงเซลล์ต่ออีกเป็นเวลา 20 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย MTS ปริมาตร 10 ไมโครลิตรและบ่มต่ออีกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม Galapagos เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์เทียบกับตัวควบคุม (ไม่มีการบ่มกับ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล) โดยให้มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

2.7 การนำคอมพอสิตไฮโดรเจลมาประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสี

2.7.1 การตรวจวัดปริมาณแลคเตท

เตรียมเอนไซม์ Lactate oxidase (LOx) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, Horseradish peroxidase (HRP) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, 4-Aminoantipyrine (4-AAP) ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และ 3-(N-Ethyl-3-methylanilino)-2-hydroxypropanesulfonic acid sodium salt (TOOS) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใน Phosphate Buffer Saline pH 7.4 (PBS) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จากนั้นเตรียมสารละลายผสมในอัตราส่วนโดยปริมาตรของ LOx : HRP : 4-AAP : TOOS = 1 : 1 : 1 : 1 ลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ขนาด 2 มิลลิลิตร ดูดสารละลายผสมที่เตรียมไว้ปริมาตร 25 ไมโครลิตรด้วยไมโครปิเปต หยดลงบนคอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมที่อัตราส่วน P1.5B1, 2FT โดยทำการซับน้ำส่วนเกินบริเวณผิวคอมพอสิตไฮโดรเจลออกก่อนหยดสารละลายผสม จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบกับสารตัวอย่าง โดยการหยด D,L-lactate ด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 25 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0, 0.5, 1.5, 2.5, 5, 12 และ 24 มิลลิโมลาร์ ใน PBS ที่ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปตรวจวัดสีด้วยเครื่อง datacolor เขียนกราฟค่าความเข้มสีที่แปรเปลี่ยนตามความเข้มข้นของ D,L-lactate

2.7.2 การตรวจวัดปริมาณโลหะนิกเกิล(II) ไอออน

เตรียมลิแกนด์ dimethylglyoxime (DMG) ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ละลายในเมทานอล นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (vortex) แล้วนำไปเขย่าด้วยการสั่นสะเทือน (sonication) เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมคอมพอสิตไฮโดรเจลที่อัตราส่วน P1.5B1, 2FT โดยทำการโหลดลิแกนด์ DMG ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงไปพร้อมขั้นตอนการเตรียมคอมพอสิตไฮโดรเจล นำคอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมได้มาทำให้แห้งด้วยการ freeze drying เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทดสอบการตรวจจับโลหะนิกเกิล(II) ไอออน โดยแช่ในสารละลายนิกเกิล(II) ไอออน ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0, 1, 10, 50, 100, 200, 500

และ 750 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำไปตรวจวัดสีด้วยเครื่อง datacolor เขียนกราฟค่าความเข้มสีที่แปรเปลี่ยนตามความเข้มข้นของนิกเกิล(II) ไอออน

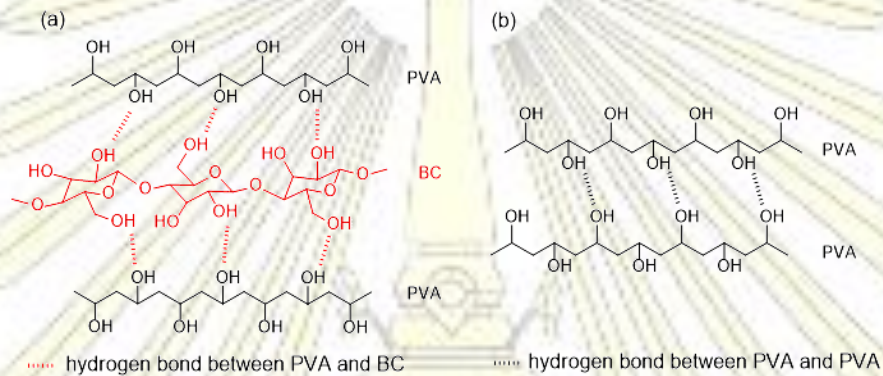


บทที่ 3

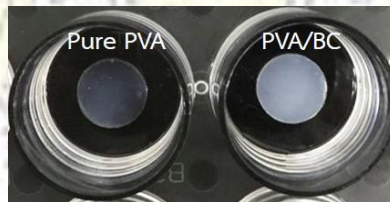
ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.1 การเตรียมและพิสูจน์เอกลักษณ์ของ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล

PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมได้โดยกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย ในระหว่างขั้นตอนการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำจะเกิดการแยกเฟสเป็นเฟสพอลิเมอร์ และเฟสตัวทำละลาย ทำให้กลุ่มพอลิเมอร์ของ PVA และ BC ที่อยู่ติดกัน เกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของโซ่ PVA และหมู่ไฮดรอกซิลของโซ่ PVA และ BC (รูปที่ 3.1) จากนั้นขั้นตอนการละลาย แร่ภายในระหว่างเฟสพอลิเมอร์ยังเหมือนเดิม จึงเกิดเป็นเครือข่ายไฮโดรเจลที่ไม่ละลายน้ำ โดยพบว่าไฮโดรเจลที่เตรียมจาก PVA (pure PVA) มีลักษณะขุ่นเล็กน้อย ในขณะที่คอมพอสิตไฮโดรเจลที่มี BC เป็นส่วนผสมจะมีลักษณะขุ่นมากกว่าดังแสดงในรูปที่ 3.2

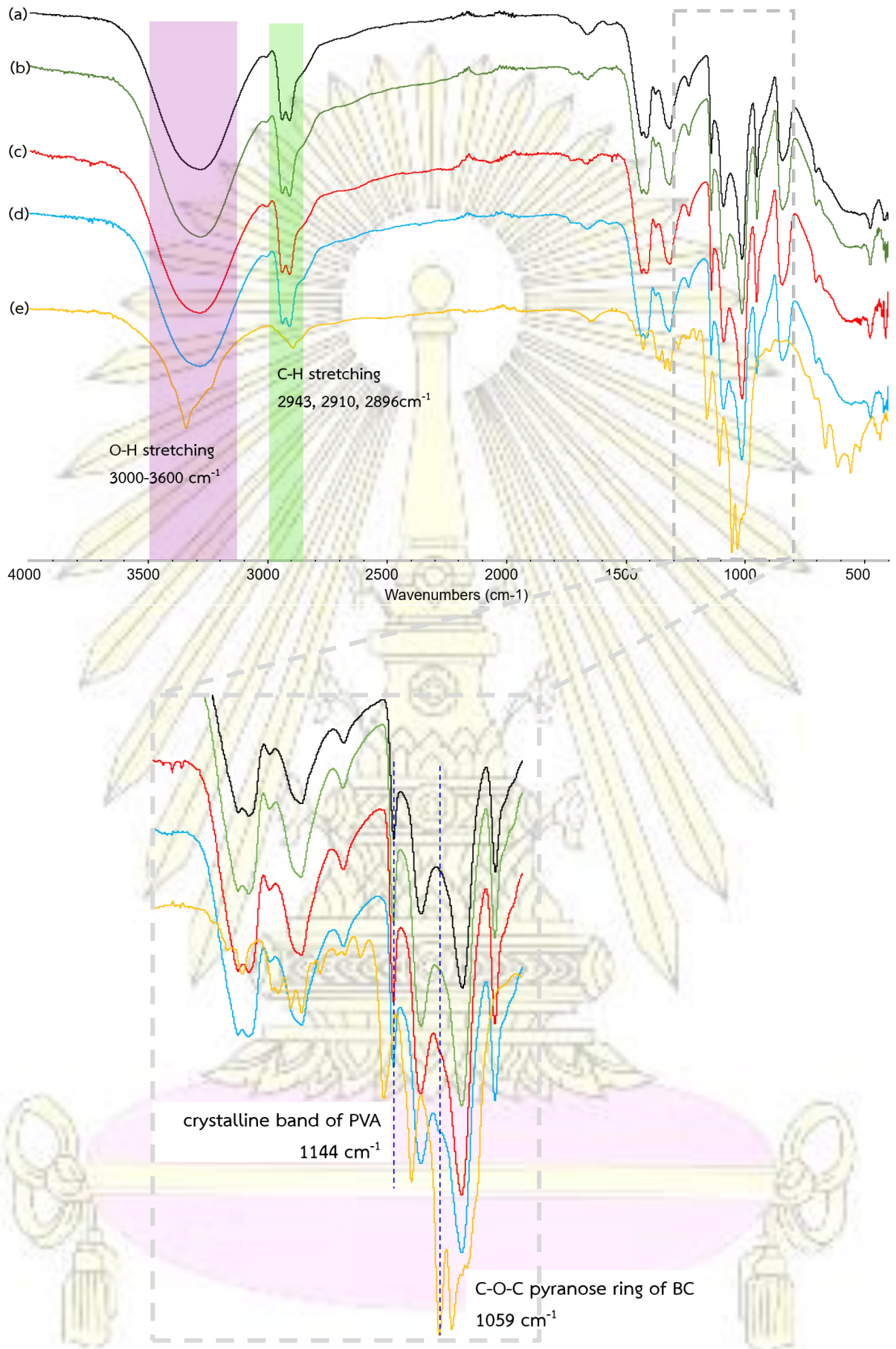


รูปที่ 3.1 การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลระหว่างสาย (a) PVA และ BC (b) PVA และ PVA



รูปที่ 3.2 ภาพถ่ายของ PVA ไฮโดรเจล และ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล

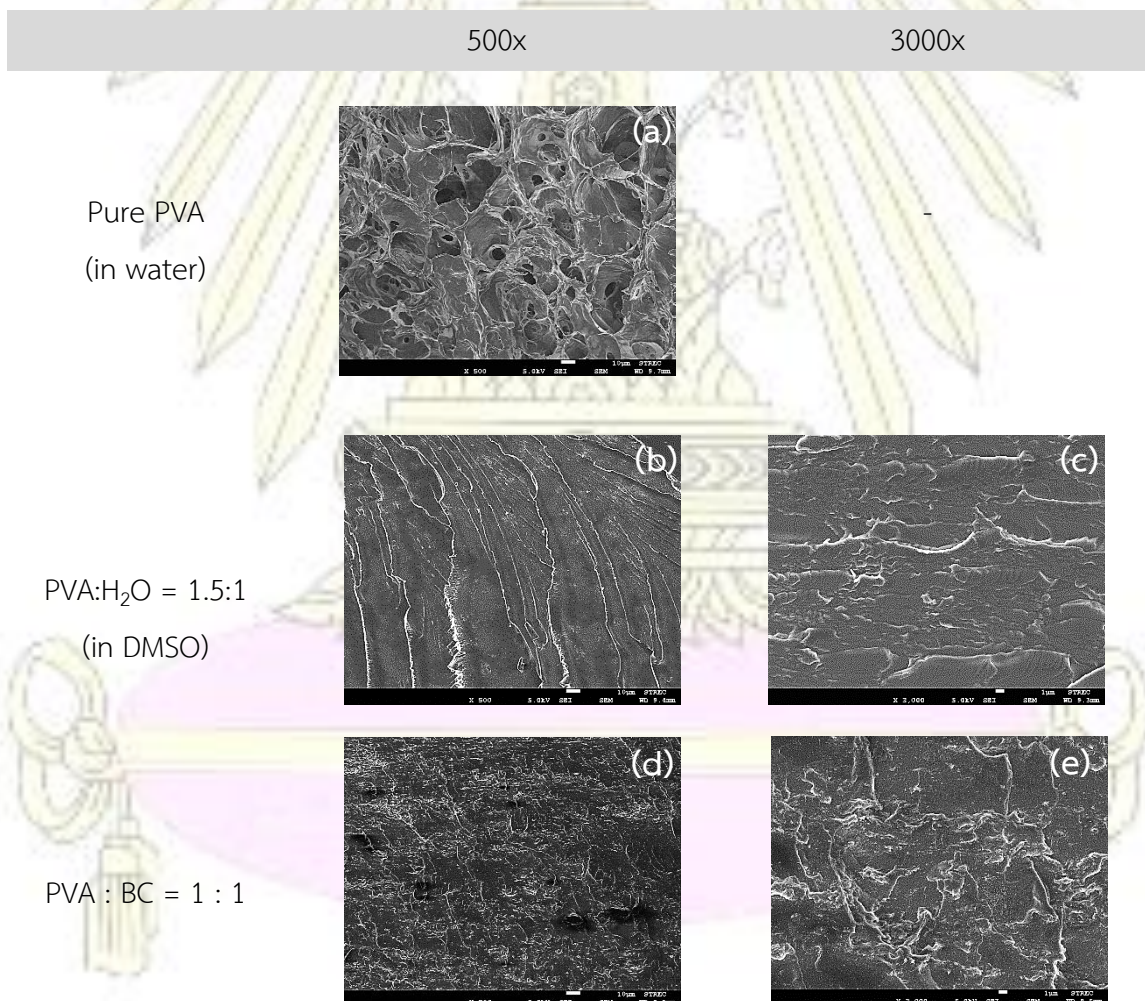
สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR ดังแสดงผลในรูปที่ 3.3 โดยเมื่อพิจารณาสเปกตรัม (a) ถึง (e) ซึ่งเป็นสเปกตรัมของ pure PVA, P3B1, P1.5B1, P1B1 และ BC ตามลำดับ จะพบสัญญาณของ -OH stretching ที่ช่วง $3000-3600\text{ cm}^{-1}$ เป็นของหมู่ไฮดรอกซิล โดยเมื่อมีการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของกลุ่ม PVA และ PVA/BC จะทำให้มีลักษณะเป็นพีคกว้าง เมื่อเทียบกับ BC เนื่องจาก BC ไม่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างกลุ่ม BC เองได้จึงมีลักษณะเป็นพีคแคบ พบสัญญาณของ C-O-C pyranose ring ในโครงสร้างของ BC ที่ 1059 และ 1035 cm^{-1} ซึ่งสังเกตเห็นสัญญาณใน PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลเมื่อปริมาณของ BC เพิ่มมากขึ้น และไม่พบสัญญาณนี้ใน pure PVA นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของฟลิก PVA ที่ 1144 cm^{-1} ซึ่งไม่พบสัญญาณนี้ใน BC สอดคล้องกับผลการวิจัยก่อนหน้านี้ [22, 23] จึงสามารถยืนยันการมีอยู่ของทั้ง PVA และ BC ในคอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมขึ้นได้

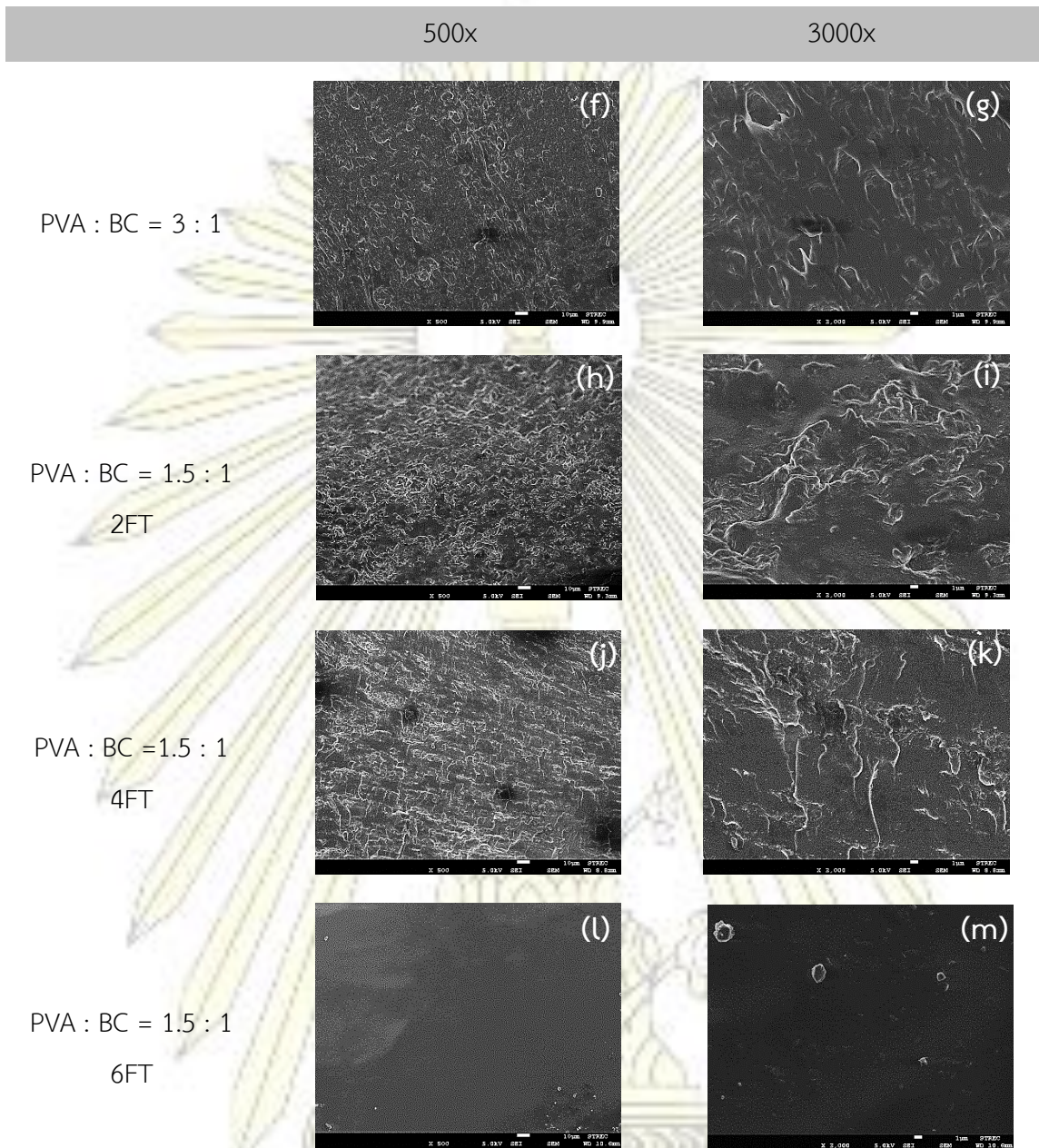


รูปที่ 3.3 ATR-FTIR สเปกตรัมของ (a) pure PVA, (b) P3B1, (c) P1.5B1, (d) P1B1 และ (e) BC

เมื่อพิจารณาภาพตัดขวางของไฮโดรเจลที่เตรียมได้โดยมีอัตราส่วนโดยปริมาตรในการเตรียม PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล และจำนวนรอบการแช่แข็ง-ละลายต่างกัน นำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FE-SEM ดังแสดงผลในตารางที่ 3.1 แสดงให้เห็นว่าการเตรียมไฮโดรเจลที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในขั้นตอนการเตรียมสารละลาย PVA นั้นจะทำให้ไฮโดรเจลมีโครงสร้างที่มีความพรุนสูง โดยรูพรุนถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย ในขั้นตอนการแช่แข็งเกิดการแยกเฟสเป็นเฟสพอลิเมอร์และเฟสตัวทำละลาย ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งขึ้นในไฮโดรเจล และเมื่อทำการ freeze drying ทำให้น้ำแข็งที่อยู่ในไฮโดรเจลเกิดการระเหิดออกไป ทิ้งโครงสร้างที่เป็นรูพรุนไว้ โดยมีการกระจายตัวของรูพรุนไม่สม่ำเสมอ แต่ในขณะที่เมื่อใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายในขั้นตอนการเตรียมสารละลาย PVA คอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมได้จะไม่มีรูพรุนเกิดขึ้น เนื่องมาจากการที่ DMSO เป็นตัวทำละลายที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับน้ำจึงละลาย PVA ได้ดีกว่าน้ำ ในขั้นตอนการแช่แข็งจะเกิดการแยกเฟสได้น้อยกว่า จึงทำให้ลักษณะของไฮโดรเจลที่ได้มีความแตกต่างกันคือมีความหนาแน่นของเนื้อเจลสูงและไม่มีรูพรุน

ตารางที่ 3.1 ภาพ FE-SEM การตัดขวางของ PVA/BC ไฮโดรเจลที่อัตราส่วนต่างๆ ที่กำลังขยาย 500x และ 3000x ของ a) pure PVA (in water), b,c) control2, d,e) P1B1, f,g) P3B1, h,i) P1.5B1 2FT, j,k) P1.5B1 4FT และ l,m) P1.5B1 6FT

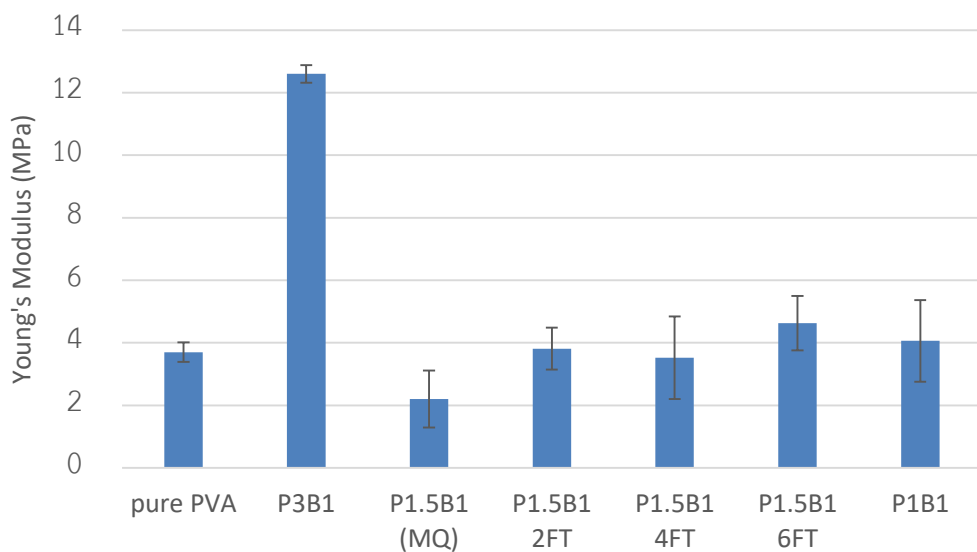




การทดสอบความต้านทานต่อแรงกด (compression test)

ทำการศึกษาผลของความต้านทานต่อแรงกดของไฮโดรเจลที่เสริมแรงด้วย BC ที่อัตราส่วนต่างๆ เทียบกับ pure PVA และ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลที่ทดลองขึ้นรูปในน้ำแทน DMSO (รูปที่ 3.4) พบว่า P1.5B1 ที่ขึ้นรูปในน้ำมีค่าโมดูลัสของยัง (Young's modulus) น้อยที่สุดเท่ากับ 2.20 MPa และน้อยกว่าการใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายในการเตรียมไฮโดรเจล แสดงให้เห็นว่าการใช้ DMSO จะให้เจลที่มีความแข็งแรงมากกว่า นอกจากนี้เมื่อมี BC ในไฮโดรเจลที่อัตราส่วน P3B1 พบว่าค่าโมดูลัสของยังเพิ่มขึ้นจาก 3.70 MPa เป็น 12.60 MPa เมื่อเทียบกับ pure PVA แสดงว่า BC มีส่วนช่วยในการเสริมความแข็งแรงให้กับไฮโดรเจลเนื่องจากการกระจายตัวที่ดีของ

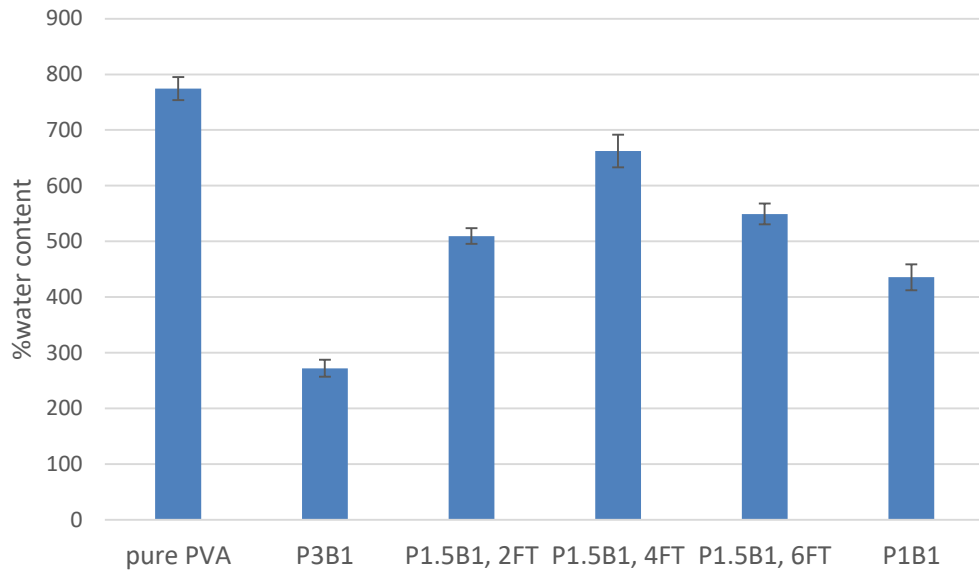
BC และการเพิ่มการเชื่อมขวางผ่านการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของ PVA และ BC และเมื่ออัตราส่วนของ PVA/BC เป็น P1.5B1 และ P1B1 จะทำให้ค่าโมดูลัสของยังลดลงและคงที่ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยก่อนหน้านี้ [15] โดยการลดลงดังกล่าวอาจเนื่องมาจากเกิดการอิมตัวของ การเชื่อมขวางระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของ PVA และ BC และ BC ที่เพิ่มขึ้นมีโครงสร้างที่ rigid จึงทำให้ความยืดหยุ่นของไฮโดรเจลลดลง นอกจากนี้ปริมาณ BC ที่เพิ่มขึ้นอาจจะเข้าไปแทรกในบริเวณที่เป็นผลึก (crystalline region) ของ PVA จึงทำให้ค่าความต้านทานต่อแรงกดลดลง



รูปที่ 3.4 ความต้านทานต่อแรงกดของไฮโดรเจลที่อัตราส่วนต่างๆ

ปริมาณน้ำในไฮโดรเจล (water content)

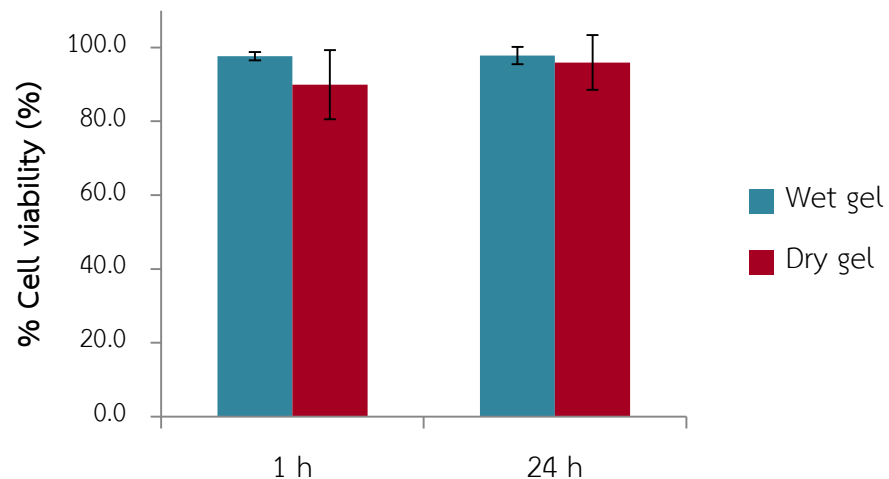
การตรวจวัดปริมาณน้ำในไฮโดรเจล (รูปที่ 3.5) พบว่าใน pure PVA มีปริมาณน้ำในไฮโดรเจลมากที่สุด และ P3B1 มีปริมาณน้ำในไฮโดรเจลด้อยที่สุดเท่ากับ 774% และ 272% ตามลำดับ โดย P3B1 มีปริมาณน้ำในไฮโดรเจลด้อยที่สุดเป็นผลมาจากการที่ P3B1 มีการเชื่อมขวางระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของ PVA และ BC มากขึ้น เมื่อเทียบกับ pure PVA ทำให้การแทรกผ่านของน้ำเข้าไปในไฮโดรเจลเกิดได้ยากขึ้น แต่เมื่อมีปริมาณของ BC ในไฮโดรเจลมากขึ้นพบว่าปริมาณน้ำในไฮโดรเจลมีการเพิ่มขึ้นและคงที่ที่ประมาณ 500% เนื่องจากเกิดการอิมตัวของ การเชื่อมขวางระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของ PVA และ BC และ BC ที่เพิ่มขึ้นทำให้มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในระบบมาก จึงเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้มากขึ้น [15] ซึ่งปริมาณการเชื่อมขวางได้ผลที่สอดคล้องกับการทดสอบความต้านทานต่อแรงกดของวัสดุที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้นคือ คอมพอสิตไฮโดรเจล P3B1 ที่มีการเชื่อมขวางที่มาก ส่งผลให้มีการดูดซึมน้ำน้อย และจะให้ค่าความต้านทานต่อแรงกดที่สูงที่สุด



รูปที่ 3.5 ปริมาณน้ำในไฮโดรเจลที่อัตราส่วนต่างๆ

3.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจล

ในการศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีที่ถูกปลดปล่อยออกมาจาก PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลเพื่อนำ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลไปประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้ พบว่าอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 สูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ในทุกกรณี (รูปที่ 3.10) แสดงให้เห็นว่า PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ มีความเหมาะสมในการใช้เป็นอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้

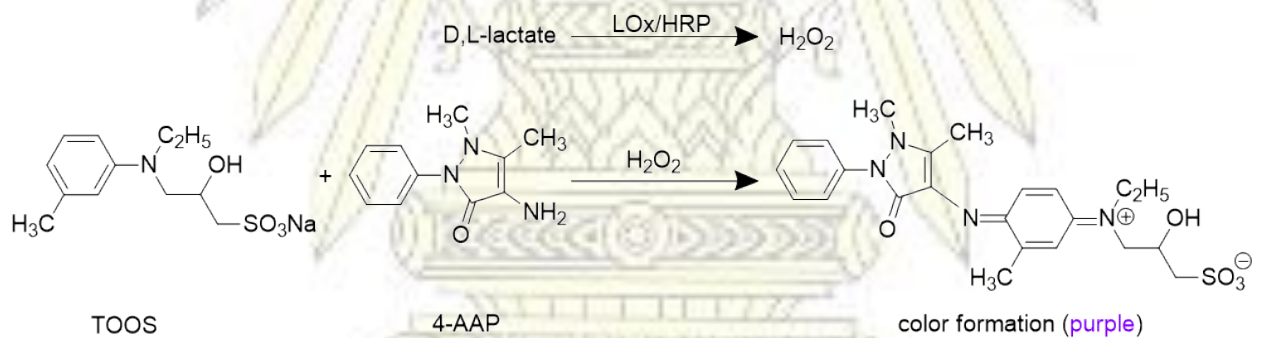


รูปที่ 3.6 กราฟแสดงการรอดชีวิตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ L929 ของหนู

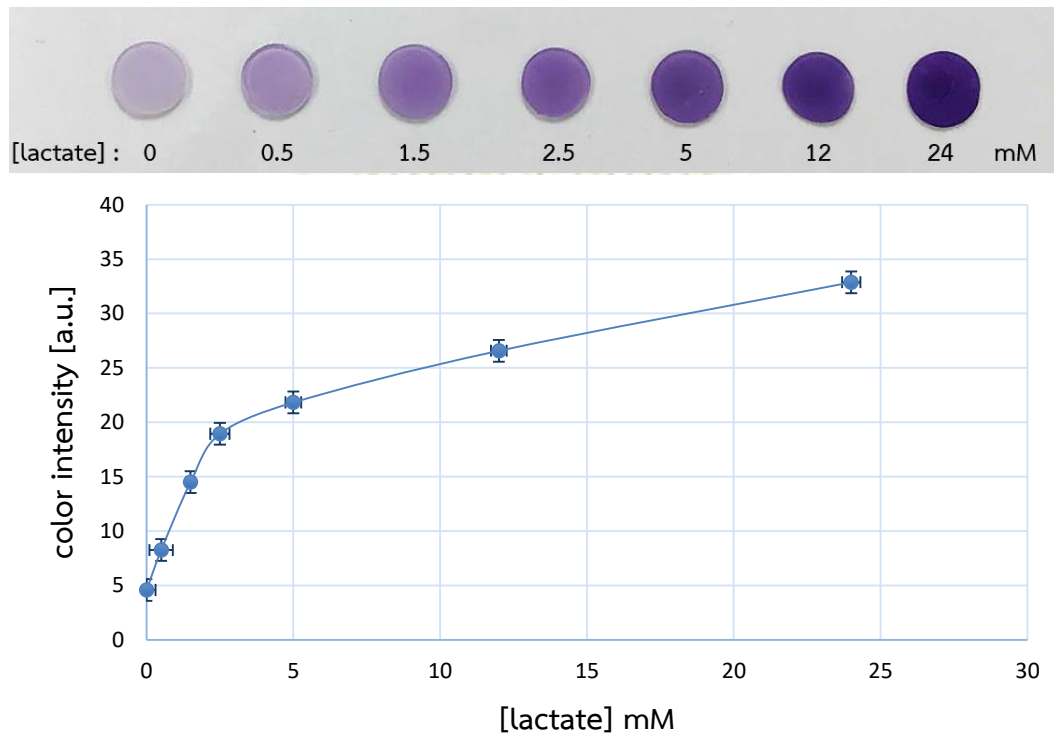
3.3 การนำคอมพอลิเมอร์ไฮโดรเจลมาประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสี

3.3.1 การตรวจวัดปริมาณแลคเตท

การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นของการใช้ PVA/BC คอมพอลิเมอร์ไฮโดรเจลในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้สำหรับการตรวจวัดปริมาณแลคเตท ซึ่งเป็นสารบ่งชี้ถึงสภาวะของร่างกายที่เริ่มมีการอ่อนล้าจากการออกกำลังกาย เนื่องจากแลคเตทเป็นผลิตภัณฑ์จากการเผาผลาญแบบไม่ใช้ออกซิเจน[3] โดยทั่วไปความเข้มข้นของแลคเตทในเหงื่อของคนปกติขณะพักจะอยู่ที่ 5 มิลลิโมลาร์ และเมื่อออกกำลังกายร่างกายจะมีจุดที่เรียกว่า lactate threshold (LT) คือจุดที่ร่างกายเริ่มมีการอ่อนล้าจากการออกกำลังกาย ซึ่งจุด LT นี้ ระดับแลคเตทจะเพิ่มขึ้นเป็น 12 มิลลิโมลาร์สำหรับคนปกติ และ 24 มิลลิโมลาร์สำหรับนักกีฬาที่ผ่านการฝึกซ้อมสม่ำเสมอ [24,25,26] ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของแลคเตท ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.5, 2.5, 5, 12 และ 24 มิลลิโมลาร์ ซึ่งการตรวจวัดแลคเตทโดยอาศัยการเปลี่ยนสีนั้น ทำได้โดยการโหลดสารละลายผสมของ LOx, HRP, 4-AAP และ TOOS ลงในไฮโดรเจล และเมื่อมีสารเป้าหมายซึ่งในที่นี้คือแลคเตทเข้ามาในระบบ LOx จะย่อยแลคเตท ได้เปอร์ออกไซด์ออกมา (H_2O_2) ซึ่งจะไปทำปฏิกิริยาต่อกับ 4-AAP เกิดเป็นสีม่วง แสดงดังสมการการเกิดปฏิกิริยาเคมีในรูปที่ 3.6 โดยทำการวัดความเข้มสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง datacolor ซึ่งจะบันทึกข้อมูลค่าสีในโหมด $L^* a^* b^*$ ซึ่งเป็นระบบที่ยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน จากการทดลองพบว่าความเข้มของสีม่วงจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแลคเตทมากขึ้น สามารถเขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มสีและความเข้มข้นของแลคเตท [27,28] ดังแสดงในรูปที่ 3.7 นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มของสีม่วงที่ปรากฏที่ความเข้มข้นของแลคเตทเท่ากับ 12 และ 24 มิลลิโมลาร์ มีความแตกต่างซึ่งสามารถมองเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า จึงสามารถนำมาใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดระดับ LT ในขณะออกกำลังกายของทั้งคนปกติ และนักกีฬาได้ แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้ PVA/BC คอมพอลิเมอร์ไฮโดรเจลที่เตรียมได้เป็นอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้ต่อไป



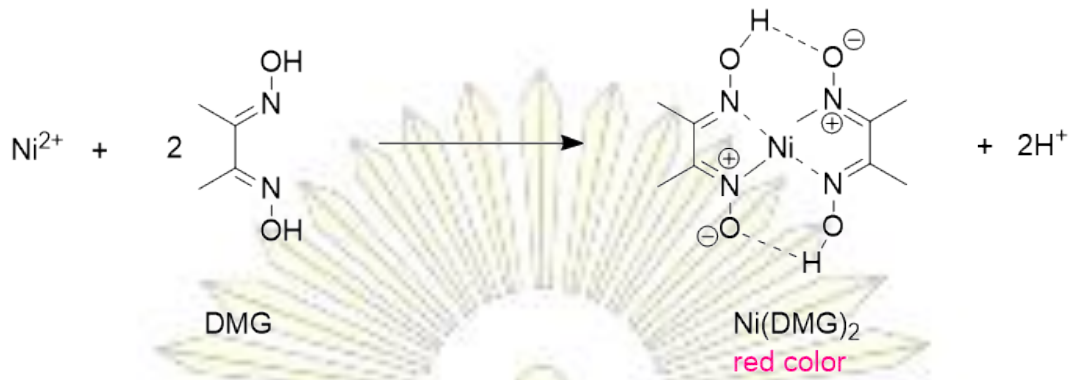
รูปที่ 3.7 สมการเคมีแสดงกลไกการเกิดสีของการใช้เอนไซม์ LOx ในการตรวจวัดปริมาณแลคเตท



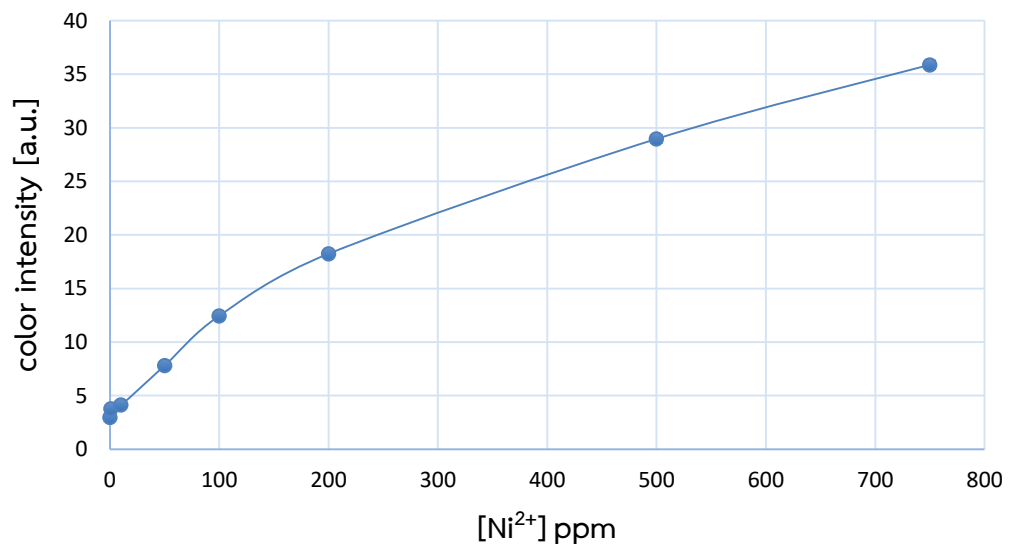
รูปที่ 3.8 ความเข้มสี (intensity) ของไฮโดรเจลหลังการตรวจวัดแลคเตทที่ความเข้มข้นต่างๆ

3.3.2 การตรวจวัดปริมาณโลหะนิกเกิล(II) ไอออน

นอกเหนือจากการใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดปริมาณแลคเตทแล้ว ในงานวิจัยนี้ยังสนใจศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้คอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมขึ้นเพื่อตรวจวัดปริมาณโลหะนิกเกิล(II) ไอออนในน้ำเสีย เนื่องจากปริมาณนิกเกิล(II) ไอออนที่มากกว่าปกติมีความเป็นพิษ และส่งผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ ดังนั้นการตรวจวัดความเข้มข้นของโลหะนิกเกิล(II) ไอออนจึงเป็นสิ่งจำเป็นก่อนการปล่อยน้ำเสีย โดยได้มีการกำหนดมาตรฐานน้ำทิ้ง ซึ่งความเข้มข้นสูงสุดของนิกเกิล(II) ไอออนในการปล่อยน้ำเท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร [29] เราจึงได้ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของนิกเกิล(II) ไอออนที่ความเข้มข้น 0, 1, 10, 50, 100, 200, 500 และ 750 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งการตรวจวัดอาศัยการเปลี่ยนสีเมื่อนิกเกิล(II) ไอออนจับกับลิแกนด์ DMG จะเกิดเป็นสีแดงขึ้น ดังสมการที่แสดงในรูปที่ 3.8 โดยทำการวัดความเข้มสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง datacolor จากการทดลองพบว่าความเข้มของสีแดงจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของนิกเกิล(II) ไอออนมากขึ้น สามารถเขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มสีและความเข้มข้นนิกเกิล(II) ไอออน ดังแสดงในรูปที่ 3.9 พบว่าสามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าที่ความเข้มข้นของนิกเกิล(II) ไอออนตั้งแต่ 50 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไป แต่เนื่องจากค่าดังกล่าวยังสูงกว่าค่ากำหนดมาตรฐานน้ำทิ้งของนิกเกิล(II) ไอออน จึงต้องมีการศึกษาพัฒนาระบบต่อไป เช่น ศึกษาผลของปริมาณลิแกนด์ DMG ที่ไหลเข้าไปในคอมพอสิตไฮโดรเจล



รูปที่ 3.9 สมการเคมีแสดงกลไกการเกิดสีจากการจับนิกเกิล(II) ไอออน ด้วย DMG



รูปที่ 3.10 ความเข้มสี (intensity) ของไฮโดรเจลหลังการตรวจวัดนิกเกิล(II) ไอออนที่ความเข้มข้นต่างๆ



บทที่ 4

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สามารถเตรียม PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลผ่านกระบวนการแช่แข็ง-ละลาย สามารถยืนยันการมีอยู่ของ PVA และ BC ในไฮโดรเจลได้ด้วยเทคนิค ATR-FTIR พบสัญญาณของ C-O-C pyranose ring ที่ 1059 และ 1035 cm^{-1} และสัญญาณของผลึก PVA ที่ 1144 cm^{-1} ยืนยันการมีอยู่ของ PVA และ BC ในไฮโดรเจลตามลำดับจากการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาด้วยเทคนิค FE-SEM พบว่า PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลที่เตรียมได้ไม่มีรูพรุนจากการทดสอบหาปริมาณน้ำในไฮโดรเจล และความต้านทานต่อแรงกด พบว่ามีความสอดคล้องกันโดยคอมพอสิตไฮโดรเจล P3B1 มีปริมาณน้ำในไฮโดรเจลดน้อยที่สุดและความต้านทานต่อแรงกดมากที่สุด เนื่องจากมีการเชื่อมขวางมากทำให้น้ำผ่านเข้าไปในไฮโดรเจลได้น้อยและไฮโดรเจลมีความแข็งแรง และเมื่อเพิ่มปริมาณของ BC ปริมาณน้ำในไฮโดรเจลเพิ่มขึ้น และความต้านทานต่อแรงกดลดลง เนื่องจากการอึดตัวของ การเชื่อมขวาง และการกระจายตัวที่ไม่ดีของ BC ที่เพิ่มขึ้นในไฮโดรเจล

จากการศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นของการประยุกต์ใช้ PVA/BC คอมพอสิตไฮโดรเจลในการพัฒนาเป็นอุปกรณ์รับรู้แบบสวมใส่ได้ พบว่าสามารถตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่ระดับ LT ของทั้งคนปกติ และนักกีฬาขณะออกกำลังกายได้ โดยความเข้มข้นของสีม่วงที่ปรากฏที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เท่ากับ 12 และ 24 มิลลิโมลาร์ มีความแตกต่างซึ่งสามารถมองเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า และจากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 ของ PVA/BC พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์

นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดปริมาณนิโคติน(II) ไอออนในน้ำเสีย โดยสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีที่ความเข้มข้นของนิโคติน(II) ไอออนที่มีระดับความเข้มข้นต่างกันตั้งแต่ 50 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไป แต่เนื่องจากค่าดังกล่าวยังสูงกว่าค่ากำหนดมาตรฐานน้ำทิ้งของนิโคติน(II) ไอออน จึงต้องมีการศึกษาพัฒนาระบบต่อไป เช่น ศึกษาผลของปริมาณลิแกนด์ DMG ที่ไหลเข้าไปในคอมพอสิตไฮโดรเจล

เอกสารอ้างอิง

- [1] Martín, A.; Kim, J.; Kurniawan, J. F.; Sempionatto, J.R.; Moreto, J. R.; Tang, G.; Campbell, A. S.; Shin, A.; Lee, M. Y.; Liu, X.; Wang, J. Epidermal Microfluidic Electrochemical Detection System: Enhanced Sweat Sampling and Metabolite Detection. *ACS Sensors* **2017**, *2*, 1860–1868.
- [2] Jadoon, S.; Karim, S.; Akram, M. R.; Khan, A. K.; Zia, M. A.; Siddiqi, A. R.; Murtaza, G. Recent Developments in Sweat Analysis and Its Applications. *International Journal of Analytical Chemistry* **2015**, *9*, 164974.
- [3] Munjea, R. D.; Muthukumar, S.; Prasad, S. Lancet-Free and Label-Free Diagnostics of Glucose in Sweat Using Zinc Oxide Based Flexible Bioelectronics. *Sensors and Actuators B* **2017**, *238*, 482-490.
- [4] Onor, M.; Gufoni, S.; Lomonaco, T.; Ghimenti, S.; Salvo, P.; Sorrentino, F.; Bramanti, E. Potentiometric Sensor for Non Invasive Lactate Determination in Human Sweat. *Analytica Chimica Acta* **2017**, *989*, 80-87.
- [5] Curtoa, V. F.; Faya, C.; Coylea, C.; Byrnea, R.; O'Toolea, C.; Barrya, C.; Hughes, S.; Moynaa, N.; Diamonda, D.; Benito-Lopez, F. Real-time Sweat pH Monitoring Based on A Wearable Chemical Barcode Micro-Fluidic Platform Incorporating Ionic Liquids. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2012**, *171–172*, 1327-1334.
- [6] Wang, X.; Liu, Z.; Zhang, T. Silk-molded Flexible, Ultrasensitive, and Highly Stable Electronic Skin for Monitoring Human Physiological Signals. *Advanced Materials* **2014**, *26*, 1336-42.
- [7] Chen, Y.; Lu, B.; Chen, Y.; Feng, X. Breathable and Stretchable Temperature Sensors Inspired by Skin. *Scientific Reports* **2015**, *5*, 11505.
- [8] Hu, X.; Tan, H.; Hao, L. Functional Hydrogel Contact Lens for Drug Delivery in the Application of Oculopathy Therapy. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **2016**, *64*, 43–52.
- [9] Wathoni, N.; Motoyama, K.; Higashi, T.; Okajima, M.; Kaneko, T.; Arima, H. Physically Crosslinked-Sacran Hydrogel Films for Wound Dressing Application. *International Journal of Biological Macromolecules* **2016**, *89*, 465–470.
- [10] Krishnan, S. T.; Son, K. H.; Kim, N.; Viswanath, B.; Kim, S.; An J. H. Development of Simple and Sensitive Hydrogel Based Colorimetric Sensor Array for the Real-time Quantification of Gaseous Ammonia. *Materials Science and Engineering* **2017**, *72*, 583–589.

- [11] Zhang, C.; Wan, L. Y.; Wu, S.; Wu, D.; Qin, X.; Ko, F. A Reversible Colorimetric Chemosensor for Naked-Eye Detection of Copper Ions Using Poly(aspartic acid) Nanofibrous Hydrogel. *Dyes and Pigments* **2015**, *123*, 380-385.
- [12] Hoa, L. T.; Sun, K. G.; Hur, S. H. Highly Sensitive Non-Enzymatic Glucose Sensor Based on Pt Nanoparticle Decorated Graphene Oxide Hydrogel. *Sensors and Actuators B: chemical* **2015**, *210*, 618-623.
- [13] Akhtar, M. F.; Hanif, M.; Ranjha, N. M. Methods of Synthesis of Hydrogels; A review. *Saudi Pharmaceutical Journal* **2016**, *24*, 554-559.
- [14] Stauffer, S. R.; Peppas, N. A. Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Prepared by Freezing-Thawing Cyclic Processing. *Polymer* **1992**, *33*, 3932-3936.
- [15] Qiao, K.; Zheng, Y.; Guo, S.; Tan, J.; Chen, X.; Li, J.; Xu, D.; Wang, J. Hydrophilic Nanofiber of Bacterial Cellulose Guided the Changes in the Micro-Structure and Mechanical Properties of nf-BC/PVA Composites Hydrogels. *Composites Science and Technology* **2015**, *118*, 47-54.
- [16] Esa, F.; Tasirin, S. M.; Rahman, N. A. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* **2014**, *2*, 113 - 119.
- [17] Wang, J.; Gao, C.; Zhang, Y.; Wan, Y. Preparation and in Vitro Characterization of BC/PVA Hydrogel Composite for Its Potential Use as Artificial Cornea Biomaterial. *Materials Science and Engineering C* **2010**, *30*, 214-218.
- [18] Millon, L. E.; Guhados, G.; Wan, W. Anisotropic Polyvinyl Alcohol—Bacterial Cellulose Nanocomposite for Biomedical Applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **2007**, 444-452.
- [19] Li, H.; Liu, C.; Wang, D.; Zhang, C. Chemiluminescence Cloth-Based Glucose Test Sensors (CCGTSS): A New Class of Chemiluminescence Glucose Sensors. *Biosensors and Bioelectronics* **2017**, *91*, 268-275.
- [20] Calabria, D.; Caliceti, C.; Zangheri, M.; Mirasoli, M.; Simoni, P.; Roda, A. Smartphone-Based Enzymatic Biosensor for Oral Fluid L-Lactate Detection in One Minute Using Confined Multilayer Paper Reflectometry. *Biosensors and Bioelectronics* **2017**, *94*, 124-130
- [21] Bueno, D.; Valdez, L. F.; Salgado, J. M. G.; Marty, J. L.; Muñoz, R. Colorimetric Analysis of Ochratoxin A in Beverage Samples. *Sensors* **2016**, *16*, 1888.

- [22] Chen, X.; Chen, C.; Zhang, H.; Huang, Y.; Yang, J.; Sun, D. Facile Approach to the Fabrication of 3D Cellulose Nanofibrils (CNFs) Reinforced Poly(vinyl alcohol) Hydrogel with Ideal Biocompatibility. *Carbohydrate Polymers* **2017**, *173*, 547–555.
- [23] Wang L. Y.; Wang, M. J. Removal of Heavy Metal Ions by Poly(vinyl alcohol) and Carboxymethyl Cellulose Composite Hydrogels Prepared by a Freeze–Thaw Method. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2016**, *4*, 2830–2837.
- [24] Smutok, O.; Karkovska, K.; Serkiz, R.; Vus, B.; Cenas, N.; Gonchar, M. A Novel Mediatorless Biosensor Based on Flavocytochrome B2 Immobilized onto Gold Nanoclusters for Non-Invasive L-Lactate Analysis of Human Liquids. *Sensors and Actuators B: chemical* **2017**, *250*, 469–475.
- [25] Etxegarai, U.; Portillo, E.; Irazusta, J.; Arriandiaga, A.; Cabanes, I. Estimation of Lactate Threshold with Machine Learning Techniques in Recreational Runners. *Applied Soft Computing* **2018**, *63*, 181–196.
- [26] Green, J. M.; Bishop, P. A.; IMuir, I. H.; Lomax, R. G. Gender Differences in Sweat Lactate. *European Journal of Applied Physiology* **2000**, *82*, 230-235.
- [27] Bueno, D.; Valdez, L. F.; Salgado, J. M. G.; Marty, J. L.; Muñoz, R. Colorimetric Analysis of Ochratoxin A in Beverage Samples. *Sensors* **2016**, *16*, 1888.
- [28] Im, S. H.; Kim, K. R.; Park, Y. M.; Yoon, J. H.; Hong, J. W.; Yoon, H. C. An Animal Cell Culture Monitoring System Using a Smartphone-Mountable Paper-Based Analytical Device. *Sensors and Actuators B* **2017**, *241*, 19–32.
- [29] Zafar, M. N.; Aslam, I.; Nadeem, R.; Munir, S.; Rana, U. A.; Khan, S. U. Characterization of Chemically Modified Biosorbents from Rice Bran for Biosorption of Ni(II). *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **2015**, *46*, 82–88.

ประวัติผู้วิจัย

นางสาว ฤทัยรักษ์ นันทิยา เกิดเมื่อวันที่ 3 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2538 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนพระมารดานิจจานุเคราะห์ จังหวัด กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 125/86 แขวงคั่นนายาว เขต คั่นนายาว จังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10230 อีเมล ruetairak.n@gmail.com

