



โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ โคพอลิเมอร์บรัชประกอบด้วยอนุภาคนาโนทอง สำหรับเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างและความไวในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์
Copolymer brushes consisting of gold nanoparticles for sample pre-concentration and increased sensitivity in analytical detection

ชื่อนิสิต นางสาวนันทิมา รัตนพงศธร

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2558

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โคพอลิเมอร์บรัชประกอบด้วยอนุภาคนาโนทอง สำหรับเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่าง
และความไวในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์

Copolymer brushes consisting of gold nanoparticles for sample
pre-concentration and increased sensitivity in analytical detection



โดย

นางสาวนันทิมา รัตน์พงศธร

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

เรื่อง โศพลีเมอร์บริษัทประกอบด้วยอนุภาคนาโนทอง สำหรับเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างและความไว
ในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์


โดย นางสาวนัทศิมา รัตนพงษ์ธร

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา


ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

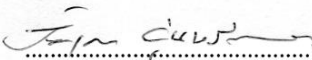
คณะกรรมการสอบโครงการ


.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล)


.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรวิริ โยเว่น)


.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร. จัญจดา อุ่นเรืองศรี)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

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

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

คุณภาพของการเขียนรายงานฉบับนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ โคพอลิเมอร์บรัชประกอบด้วยอนุภาคนาโนทอง สำหรับเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่าง และความไวในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวนัทศิมา รัตนพงศธร เลขประจำตัว 5533104023

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. วรวิทย์ โยเว่น

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

อนุภาคนาโนทองสามารถใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างและทำหน้าที่เป็นโพรบคัดเลือก สำหรับ pre-concentration และการแยกสารตัวอย่างที่มีหมู่ไทออลเป็นองค์ประกอบ ในงานวิจัยนี้ได้สังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชของเอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (NIPAM) และอะคริลิกแอซิด (AA) ประกอบด้วยอนุภาคนาโนทองบนแผ่นกระจก ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันริเริ่มจากพื้นผิวด้วยกลไกแบบ reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization พิสูจน์เอกลักษณ์โดยการวัดค่ามุมสัมผัสของน้ำและวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR) หมู่คาร์บอกซิลของ PAA จะทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ Au^{3+} ทำให้เกิดอนุภาคนาโนทองด้วยวิธีการสังเคราะห์ภายใน (*in situ*) ได้โดยไม่ต้องเติมตัวรีดิวซ์จากภายนอก นอกจากนี้ยังอาศัยการยืดออกของสายโซ่ PNIPAM ที่อุณหภูมิต่ำกว่า lower critical solution temperature (LCST) ซึ่งมีค่าประมาณ $32^{\circ}C$ ในน้ำ ช่วยในการตรึงอนุภาคนาโนทองไว้ภายใน จาก การวิเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชของ P(NIPAM-co-AA) ที่มีอนุภาคนาโนทองเป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรี แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนทองช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการนำไฟฟ้าให้กับพอลิเมอร์บรัช ซึ่งเป็นแนวทางในการนำไปใช้สำหรับ pre-concentration และการแยกสารตัวอย่างที่มีหมู่ไทออลเป็นองค์ประกอบในการวิเคราะห์ด้วยเคมีไฟฟ้าต่อไป

คำสำคัญ: พอลิเมอร์บรัช, อะคริลิก แอซิด, เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์, อนุภาคนาโนทอง

Title Copolymer brushes consisting of gold nanoparticles for sample pre-concentration and increased sensitivity in analytical detection

Student name Natsima Rattanapongsathorn ID 5533104023

Advisor name Assoc. Prof. Dr. Voravee P. Hoven

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University. Academic Year 2015

Abstract

AuNPs can function as concentrating and selective probes for pre-concentration and separation of thiol-containing molecules from the mixture. In this research, copolymer brushes of *n*-isopropylacrylamide (NIPAM) and acrylic acid (AA) (P(NIPAM-*co*-AA)) was successfully prepared via surface-initiated reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization as verified by water contact angle measurements and FT-IR analysis. The carboxyl groups of PAA can act as reducing moieties for *in situ* synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) without the use of additional reducing agent. In addition, entrapment of AuNPs within the copolymer brushes was enhanced by repeated alternating induction of PNIPAM swelling and collapsing by cooling below and heating above 32°C, the lower critical solution temperature (LCST) of PNIPAM. As evaluated by cyclic voltammetry (CV), indium tin oxide grafted with P(NIPAM-*co*-AA) brushes having *in situ* generated gold nanoparticles exhibited improved conductivity as opposed to the surface-grafted P(NIPAM-*co*-AA) brushes alone suggesting its potential to be used for pre-concentration and separation of thiol-containing molecules prior to electrochemical analysis.

Keywords: polymer brushes, acrylic acid, *N*-isopropylacrylamide, gold nanoparticles

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์อย่างยิ่งของรองศาสตราจารย์ ดร. วรวิทย์ โสเว่น อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้ให้ความรู้ ความเข้าใจ รวมถึงเอื้อเฟื้อสถานที่และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย ทั้งนี้ อาจารย์ยังเสียสละเวลาในการให้ความช่วยเหลือตลอดการทำงานวิจัย คอยให้คำแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความใส่ใจ ตลอดจนช่วยแก้ไขรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล และอาจารย์ ดร. จัญจุตา อุ่นเรืองศรี ที่ให้เกียรติมาเป็นกรรมการสอบการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. ปิยะพร ณ หนองคาย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน อาจารย์ ดร. นาฏนันดา รอดทองคำ วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี และนายณนทพล อัครชาญชัย นิสิตปริญญาโทในกลุ่มวิจัยของ อาจารย์ ดร. นาฏนันดา รอดทองคำ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำและความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตริก ขอขอบคุณนายธนรัตน์ ภิสิทธิ์เพ็ญ ที่ให้ความช่วยเหลือนิสิตปริญญาเอกในกลุ่มวิจัยของรองศาสตราจารย์ ดร. วรวิทย์ โสเว่น ที่ให้คำปรึกษาขณะทำงาน รวมถึงการถ่ายทอดความรู้และเทคนิคปฏิบัติการที่ถูกต้อง

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ ประสบการณ์ และเทคนิคปฏิบัติการอันเป็นพื้นฐานสำคัญในการทางานวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาเคมีที่สนับสนุนเครื่องมือและดำเนินงานด้านทุนสนับสนุนสำหรับงานวิจัย รวมถึงบุคลากรที่อำนวยความสะดวกทุกท่าน ผู้วิจัยขอระลึกถึงความกรุณาของท่านที่กล่าวมาข้างต้นไว้ ณ ที่นี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูปภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	7
บทที่ 2 การทดลอง	8
2.1 วิธีการทดลองทั่วไป	9
2.2 วิธีการสังเคราะห์	9
บทที่ 3 ผลการทดลอง วิจารณ์ผลการทดลอง	14
3.1 การทำ อะคริลิกแอซิด (acrylic acid) ให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่นแบบลดความดัน	14
3.2 การทำ เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (N-isopropylacrylamide) ให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึก	15
3.3 การตรึงโคพอลิเมอร์บรัชของพอลิ(เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-อะคริลิกแอซิด) บนแผ่นกระจกและอนุภาคซิลิกา	16
3.4 การตรึงอนุภาคนาโนทองหลังการทำปฏิกิริยาพอลิเมโรเซชัน	20
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	23
เอกสารอ้างอิง	25
ประวัติผู้วิจัย	27

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
1.1 โครงสร้างของพอลิเอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (PNIPAM)	1
1.2 การสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชของพอลิเอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์และพอลิเมทาคริลิกแอซิด	2
1.3 แผนภาพแสดงการสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ของ HBPS- <i>b</i> -PNIPAM	3
1.4 การตอบสนองต่ออุณหภูมิของพอลิเมอร์บรัช PNIPAM ที่ตรึงอนุภาคนาโนทอง	4
1.5 แผนภาพแสดงการปรับปรุงพื้นผิวด้วยพอลิเมอร์บรัชของ PAA และอนุภาคนาโนทอง	5
1.6 แผนภาพแสดงการเตรียมอนุภาคนาโนทองบนพอลิเมอร์บรัชของ PAA	6
3.1 ¹ H NMR สเปกตรัม (400 MHz, D ₂ O) ของ อะคริลิกแอซิด	14
3.2 ¹ H NMR สเปกตรัม (400 MHz, D ₂ O) ของ เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์	15
3.3 แผนภาพแสดงการสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชของ เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์และอะคริลิกแอซิดบนแผ่นกระจก	16
3.4 FT-IR สเปกตรัมของอนุภาคซิลิกา: (a) SiO ₂ /Si-APTES (b) SiO ₂ /Si-Initiator (c) SiO ₂ /Si-P(NIPAM-co-AA)	18
3.5 ¹ H NMR สเปกตรัม (400 MHz, D ₂ O) ของ P(NIPAM-co-AA)	19
3.6 Cyclic voltammograms ของ (a) แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ (b) แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ตรึงโคพอลิเมอร์บรัช และ (c) แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ตรึงโคพอลิเมอร์บรัชที่มีอนุภาคนาโนทอง	20
3.7 XPS สเปกตรัม บริเวณ Au 4f ของ P(NIPAM-co-AA) หลังการตรึงอนุภาคนาโนทอง	21
3.8 ภาพถ่ายจาก TEM ที่กำลังขยาย (a) 50 และ (b) 20 นาโนเมตร	22

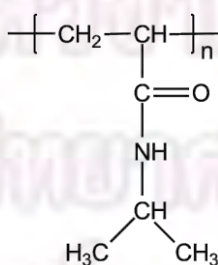
บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

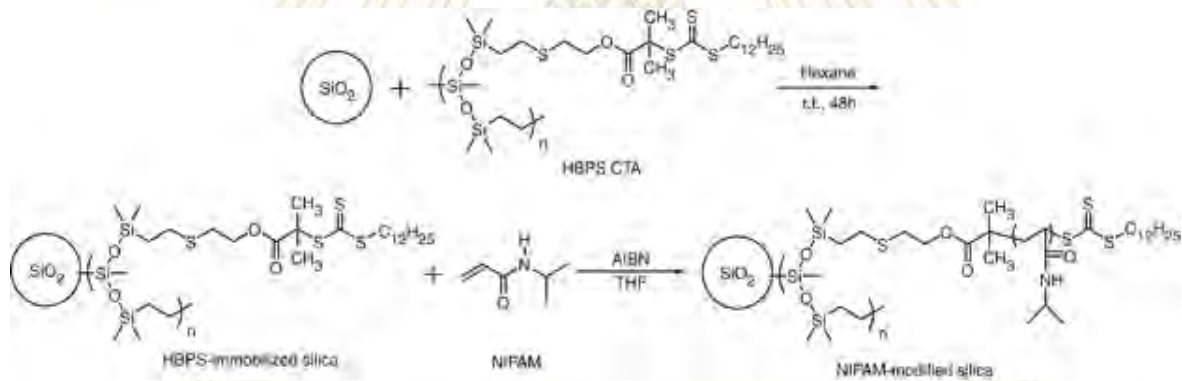
พอลิเมอร์บรัช (polymer brushes) เป็นรูปแบบของฟิล์มพอลิเมอร์แบบบางมาก (ultrathin polymer film) ที่เตรียมได้จากการยึดปลายข้างหนึ่งของโซ่พอลิเมอร์บนพื้นผิวด้วยพันธะโควาเลนต์ ทำให้มีลักษณะคล้ายแปรง การยึดติดด้วยพันธะโควาเลนต์นี้ทำให้ได้ฟิล์มบางที่มีเสถียรภาพในการยึดติดที่เหนือกว่าฟิล์มบางที่ได้จากการดูดซับทางกายภาพ ทั้งนี้สมบัติทางเคมีและกายภาพของพอลิเมอร์บรัชขึ้นกับชนิดของมอนอเมอร์ที่เลือกใช้ในการสังเคราะห์ ปัจจุบันความสนใจในการใช้พอลิเมอร์บรัชในการดัดแปรพื้นผิวของวัสดุที่ใช้ในการแยกและ/หรือการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์เพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการวิเคราะห์ชนิดหรือปริมาณของสารชีวโมเลกุล เช่น ดีเอ็นเอ, เอนไซม์, กรดอะมิโน, เพปไทด์ หรือ โปรตีน [1] ที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติหรือการเกิดโรคต่างๆ ลักษณะเด่นของพอลิเมอร์บรัชที่ทำให้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาวัสดุสำหรับการตรวจวัดทางชีวภาพ ได้แก่ การป้องกันการดูดซับอย่างไม่จำเพาะเจาะจงของโปรตีน หากใช้พอลิเมอร์บรัชที่มีสมบัติชอบน้ำสูง [2] นอกจากนี้การมีจำนวนหมู่ฟังก์ชันต่อพื้นที่ผิวสำหรับการจับยึดกับสารชีวโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นโพรบ (probe) ในการตรวจวัดสูงกว่าฟิล์มมอนอเลเยอร์ (self-assembled monolayer) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัด เป็นต้น [10]

พอลิเอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (poly(N-isopropylacrylamide), PNIPAM) เป็นพอลิเมอร์ที่มีสมบัติตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (thermoreponsive property) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการละลายตาม lower critical solution temperature (LCST) ซึ่งมีค่าประมาณ 32 °C ในน้ำ [3] กล่าวคือเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า LCST โครงสร้างของโซ่พอลิเมอร์จะอยู่ในรูป coil เนื่องจากโซ่พอลิเมอร์เกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำ ทำให้ PNIPAM แสดงสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ที่สภาวะนี้โซ่พอลิเมอร์จะแผ่ขยายออกและที่อุณหภูมิสูงกว่า LCST โซ่พอลิเมอร์จะจับกลุ่มกัน เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนกับน้ำถูกทำลายเกิดการกำจัดน้ำออก (dehydration) ทำให้ PNIPAM แสดงสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ที่สภาวะนี้โซ่พอลิเมอร์จะหดตัวลง



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของพอลิเอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (PNIPAM)

ในปี ค.ศ. 2006 Seino และคณะ [5] ได้ศึกษาการกราฟต์บล็อกโคพอลิเมอร์ของไฮเปอร์-branched พอลิไฮดรอกซีไซเลน (Hyperbranched polysiloxasilane, HBPS) และ PNIPAM บนพื้นผิวของอนุภาคซิลิกา เพื่อปรับปรุงแพคคอลัมน์ให้มีความสามารถตอบสนองต่ออุณหภูมิ สำหรับการแยกสเตียรอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ hydrocortisone และ testosterone ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) โดยสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ผ่านปฏิกิริยาอะตอมทรานส์เฟอร์เรดิคัลพอลิเมอไรเซชัน (atom transfer radical polymerization, ATRP) โดยใช้ 2-โบรโมไอโซบิวทิลที่ปลายสายของ HBPS เป็นตัวริเริ่ม (รูปที่ 1.3) ศึกษาการแยกสเตียรอยด์ที่ 30 และ 40 °C ต่ำและสูงกว่า LCST ของ PNIPAM ตามลำดับ เนื่องจาก hydrocortisone มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) แต่ testosterone มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ที่อุณหภูมิ 30 °C สายโซ่พอลิเมอร์จะแสดงสมบัติไม่ชอบน้ำ ทำให้สัญญาณของ testosterone กว้างและค่า retention time สูง จากปฏิกิริยาไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) ระหว่างพื้นผิวไฮดรอกซีไซเลนและสเตียรอยด์ สรุปได้ว่าสามารถอาศัยสมบัติการตอบสนองต่ออุณหภูมิของ PNIPAM ในการพัฒนาการแยกด้วยเทคนิค HPLC ได้

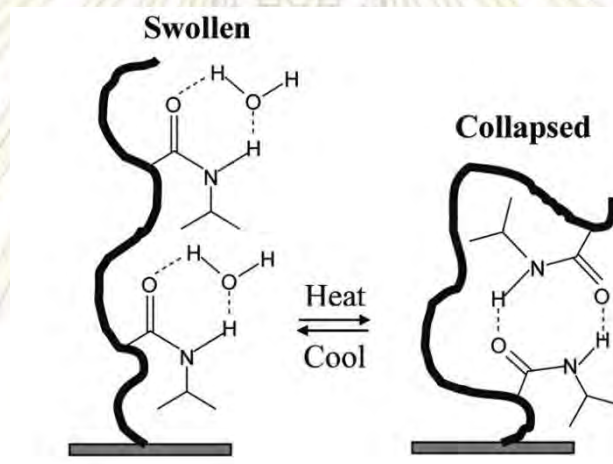


รูปที่ 1.3 แผนภาพแสดงการสังเคราะห์บล็อกโคพอลิเมอร์ของ HBPS-b-PNIPAM [5]

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาพื้นผิววัสดุด้วยพอลิเมอร์บรัชร่วมกับอนุภาคนาโน ดังนี้

ในปี ค.ศ. 2010 Gupta และคณะ [6] ได้ศึกษาการตรึงอนุภาคนาโนทองด้วยพอลิเมอร์บรัชของ PNIPAM เพื่อเพิ่มเสถียรภาพและป้องกันการหลุดออกของอนุภาคนาโนทอง ประยุกต์ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยใช้แสงและเซ็นเซอร์ตรวจวัด เนื่องจากการแปลงแสงของอนุภาคนาโนทองตามความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน [7] จากการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง โดยใช้โซเดียมโบโรไฮไดรด์เป็นตัวรีดิวซ์ ทำให้เกิดหมู่คาร์บอกซิลบนพื้นผิว จากนั้นตรึงอนุภาคนาโนทองบน PNIPAM ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่คาร์บอกซิลบนพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองกับหมู่เอไมด์ของ PNIPAM และอาศัยการตอบสนองต่ออุณหภูมิของ PNIPAM (รูปที่ 1.4) ในการปรับสมบัติของอนุภาคนาโนทองบนพอลิเมอร์บรัช ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถพิสูจน์ได้จากการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิลของพอลิเมอร์บรัชที่อุณหภูมิต่ำและสูงกว่า LCST

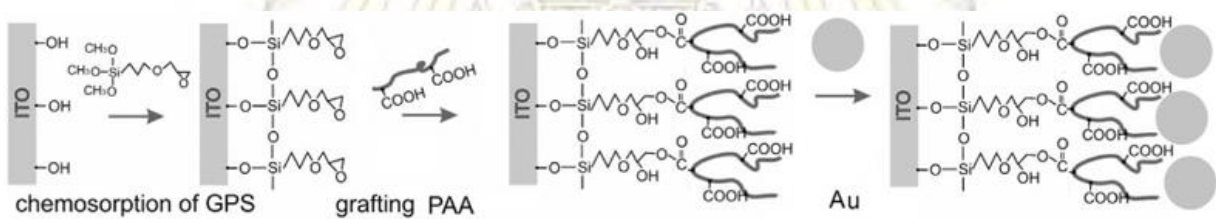


รูปที่ 1.4 การตอบสนองต่ออุณหภูมิของพอลิเมอร์บรัช PNIPAM ที่ตรึงอนุภาคนาโนทอง [6]

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

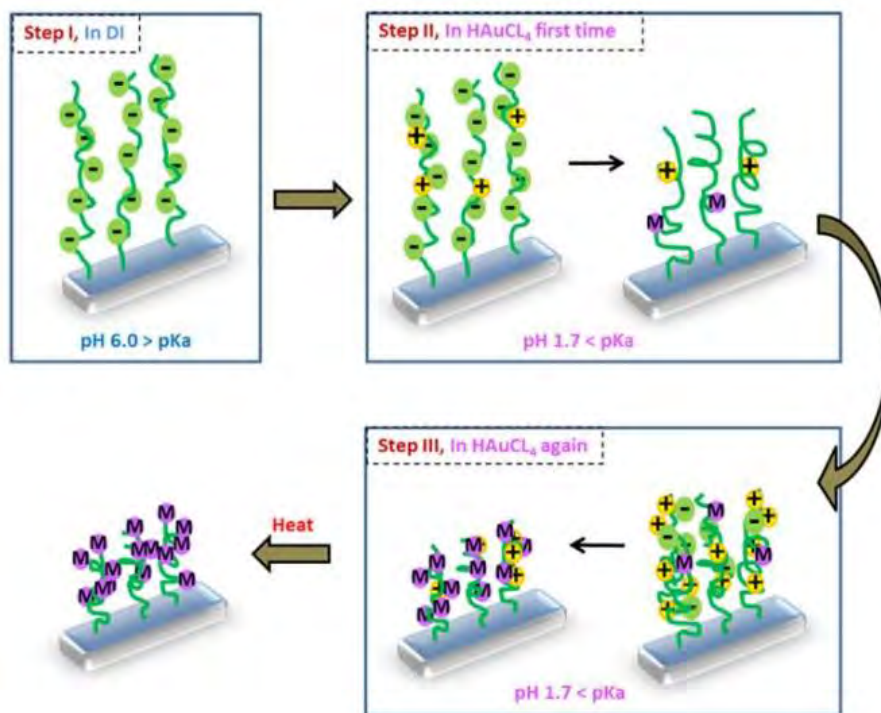
ในปี ค.ศ. 2009 Tarui และคณะ [8] ได้สังเคราะห์ฟิล์มนาโนคอมพอสิตจาก poly(styrene-*b*-*N*-methyl-4-vinyl pyridinium iodide) และอนุภาคนาโนทองบนแผ่นซิลิกอน เพื่อพัฒนาพื้นผิววัสดุสำหรับการวิเคราะห์เพปไทด์ด้วยเทคนิคเซอร์เฟสแอสซิสต์เลเซอร์ดีซอร์ปชันไอออไนเซชัน-แมสสเปกโตรเมตรี (surface assisted laser desorption ionization-mass spectrometry; SALDI-MS) พบว่าเมทริกซ์ของพอลิเมอร์สามารถควบคุมการกระจายตัวของอนุภาคนาโนทองได้ดี ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการแตกตัวเป็นไอออนของสารตัวอย่างได้ดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อนุภาคนาโนทองเพียงอย่างเดียว

ในปี ค.ศ. 2014 Sempionatto และคณะ [9] ได้ปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้าด้วยพอลิเมอร์บรัชของพอลิอะคริลิกแอซิด (poly(acrylic acid), PAA) และอนุภาคนาโนทอง บนแผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสมบัติของพอลิเมอร์บรัชที่ pH ต่างกันและเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายเทประจุบนขั้วไฟฟ้าด้วยอนุภาคนาโนทอง จากการเกิดปรากฏการณ์โลคัลไลซ์เซอร์เฟสพลาสมอนเรโซแนนซ์ (localized surface plasmon resonance, LSPR) ของอนุภาคนาโนทอง โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry, CV) และอิเล็กโทรเคมีคอลลิมพิแดนซ์สเปกโตรสโคปี (electrochemical impedance spectroscopy, EIS)



รูปที่ 1.5 แผนภาพแสดงการปรับปรุงพื้นผิวด้วยพอลิเมอร์บรัชของ PAA และอนุภาคนาโนทอง [9]

ในปี ค.ศ. 2015 Sangsuwan และคณะ [10] ได้ศึกษาการเตรียมอนุภาคนาโนทองบนพื้นผิวของแผ่นกระจกในลักษณะแพทเทิร์นเพื่อใช้เป็นซับสเตรตในการวิเคราะห์เพปไทด์ด้วยเทคนิค SALDI-MS เนื่องจากในโครงสร้างของ PAA ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลซึ่งสามารถแตกตัวเป็นหมู่คาร์บอกซิเลตที่มีประจุลบได้ จึงสามารถจับและรีดิวซ์ไอออนออโร (aurate ion: Au^{3+}) ทำให้เกิดเป็นอนุภาคนาโนทองอยู่ใน PAA ด้วยวิธีสังเคราะห์ภายใน (*in situ*) ได้โดยไม่ต้องเติมตัวรีดิวซ์จากภายนอก โดยอนุภาคนาโนทองที่เกิดขึ้นภายในนี้จะถูกกักไว้ภายในโซ่ของ PAA ที่ตรึงบนกระจกไม่เกิดการหลุดออก จึงไม่เกิดสัญญาณรบกวนหรือเกิดการปนเปื้อนภายในเครื่องมือระหว่างการวิเคราะห์ ทำให้สามารถวิเคราะห์เพปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (≥ 1000 มวลต่อประจุ) และขนาดเล็ก (≤ 500 มวลต่อประจุ) และจากการที่หมู่คาร์บอกซิลในโครงสร้างของ PAA สามารถแตกตัวให้โปรตอนได้จึงสามารถทำหน้าที่เป็นแหล่งให้โปรตอน (proton source) กับสารตัวอย่างทำให้แตกตัวเป็นไอออนได้ง่ายขึ้นโดยไม่จำเป็นต้องเติมแหล่งให้โปรตอนจากภายนอก [11] โดยอนุภาคนาโนทองนี้สามารถจับกับสารตัวอย่างประเภทเพปไทด์ที่มีกรดแอมิโนซิสเตอีน และสารประกอบที่มีหมู่ไทออลเป็นองค์ประกอบ ทำให้สามารถแยกสารดังกล่าวออกจากสารผสมได้ โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างที่ยุ่งยาก



รูปที่ 1.6 แผนภาพแสดงการเตรียมอนุภาคนาโนทองบนพอลิเมอร์รีซของ PAA [10]

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าพอลิเมอร์บรัชและอนุภาคนาโนทองสามารถนำมาใช้ในการดัดแปรพื้นผิววัสดุ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่างๆ ได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยจึงสนใจพัฒนาพื้นผิว โดยสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชของ PNIPAM กับ PAA ที่ประกอบด้วยอนุภาคนาโนทอง บนกระจกด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบแรดิคัลผ่านกลไกการเปิดปฏิกิริยาแบบ reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) จากนั้นใช้หมู่คาร์บอกซิลของ PAA เป็นตัวรีดิวซ์ ทำให้เกิดอนุภาคนาโนทองด้วยวิธี *in situ* และอาศัยการยึดหดของ PNIPAM ที่อุณหภูมิต่ำและสูงกว่า LCST ในการกักเก็บและจับยึดออเรทไอออนและอนุภาคนาโนทองที่เกิดขึ้นในสายโซ่พอลิเมอร์บรัชโดยการจุ่มสลับในสารละลายที่อุณหภูมิต่ำและสูงกว่า LCST โดยคาดหวังว่าการใช้โคพอลิเมอร์ที่มีทั้ง PNIPAM และ PAA จะทำให้ได้ปริมาณอนุภาคนาโนทองมากกว่าการใช้ PAA เพียงอย่างเดียว เมื่อได้ภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมโคพอลิเมอร์บรัชของ PNIPAM กับ PAA ที่ประกอบด้วยอนุภาคนาโนทองซึ่งจะเตรียมบนพื้นผิวกระจกแล้ว จะนำภาวะดังกล่าวไปใช้เตรียมบนแผ่นวัสดุนำไฟฟ้าได้คือ แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ (ITO) ก่อนนำไปศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างและความไวในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. สังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชของพอลิเอิน-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์และพอลิอะคริลิกแอซิดที่ประกอบด้วยอนุภาคนาโนทอง
2. ศึกษาการนำไปใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างและความไวในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 วิธีการทดลองทั่วไป

2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จาก Precisa รุ่น XT 220A
- Plasma cleaner จาก Harrick plasma รุ่น PDC-32G
- Contact angle goniometer จาก Rame-Hart รุ่น model 200-F1
- เครื่องทำแห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศ (Freeze dryer)
- Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR) รุ่น model mercury-400
- เครื่องล้างความถี่สูง (Ultrasonic bath cleaner)
- Infrared Spectrometer (IR) รุ่น Thermo Scientific Nicolet 6700 FT-IR

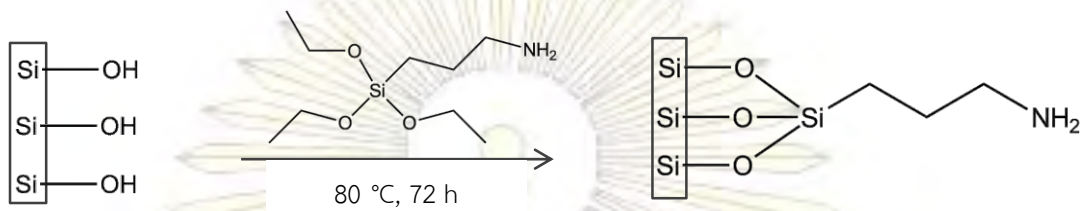
2.1.2 วัสดุและสารเคมี

- Glass slide 12 mm
- 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES)
- Acrylic acid (AA)
- N-Isopropylacrylamide (NIPAM)
- 1,4-Dioxane
- Dimethylformamide (DMF)
- 4, 4-bis(4-cyanovaleric acid) (ACVA)
- Dicyclohexyl carbodiimide (DCC)
- 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP)
- 4-cyano-4-(phenyl carbonothioylthio)pentanoic acid (chain transfer agent, CTA)
- Hydrogen tetrachloroaurate (HAuCl₄)
- Silica particles
- Sulfuric acid (H₂SO₄)
- Ammonium hydroxide solution (NH₄OH)
- Hydrogen peroxide (H₂O₂)
- Acetone, toluene, hexane, ethanol, 2-butanone และ dichloromethane จาก Merck (Germany)
- Indium tin oxide (ITO)-coated glass (60 Ω sq⁻¹ surface resistivity, Sigma-Aldrich)

2.2 วิธีการสังเคราะห์

2.2.1 การกราฟต์พอลิเอินไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-พอลิอะคริลิกแอซิดบรืขบนแผ่นกระจก

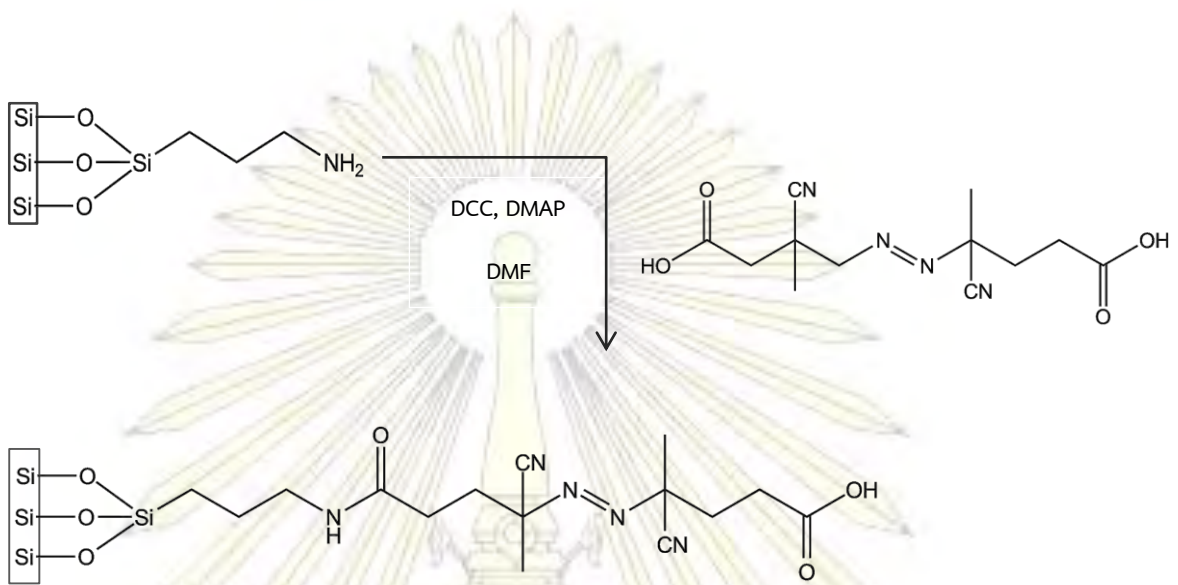
2.2.1.1. การติด APTES ลงบนแผ่นกระจก



นำแผ่นกระจกเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 มิลลิเมตร ไปทำความสะอาดทั้งสองด้านด้วยเครื่อง Plasma cleaner ด้านละ 5 นาที ปิเปต 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) 200 ไมโครลิตร ใส่ในขวดแก้วขนาดเล็ก จากนั้นนำแผ่นกระจกวางบน holder และนำ holder ไปวางในขวดแก้วที่บรรจุ APTES จากนั้นนำขวดแก้วไปให้ความร้อนในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาในสภาวะไอ (vapor phase) ล้างแผ่นกระจกด้วย toluene, acetone และ DI water เป่าให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

พิสูจน์เอกลักษณ์ของแผ่นกระจกโดยการวัดมุมสัมผัสน้ำด้วยเครื่อง contact angle goniometer

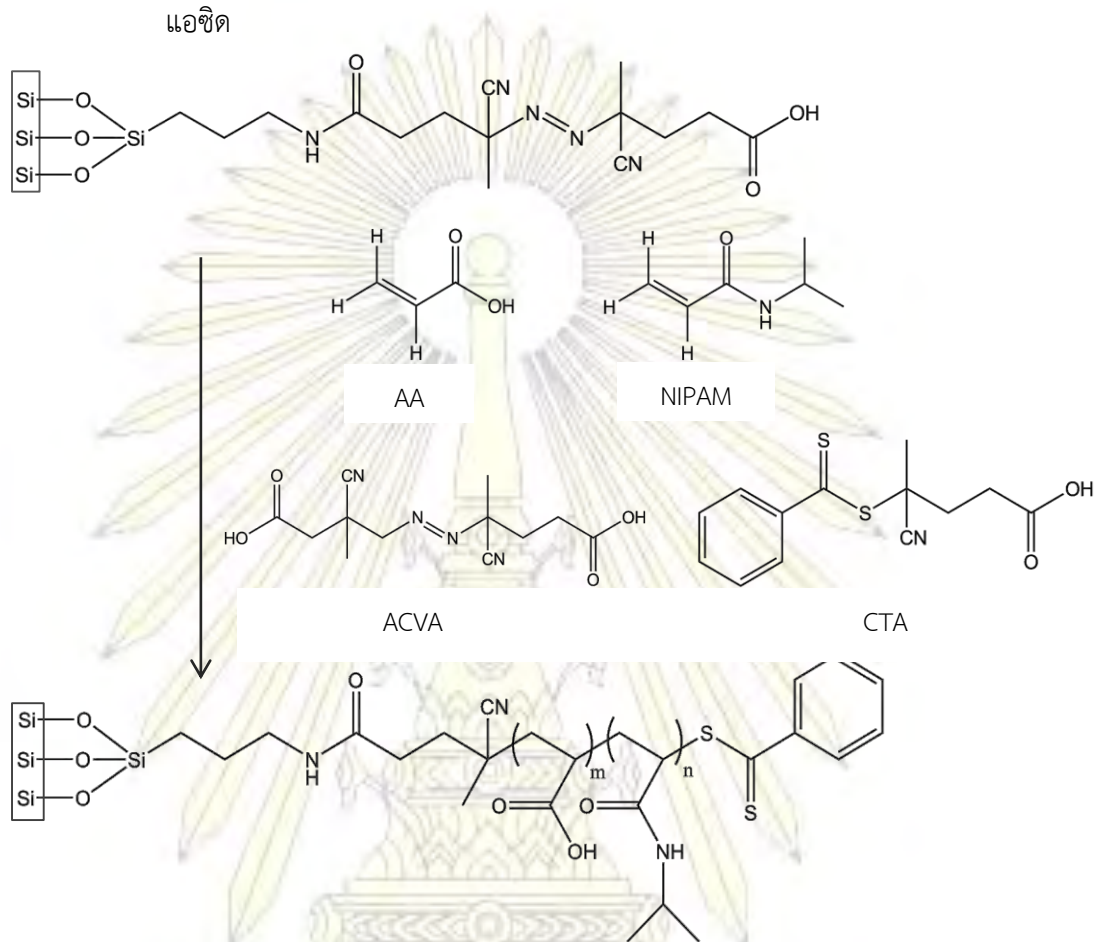
2.2.1.2. การติดหมู่ริเริ่มบนแผ่นกระจกที่ตัดแปรด้วย APTES



ซ้ัง 4, 4-bis(4-cyanovaleric acid) (ACVA) 0.21 กรัม (1 มิลลิโมล), dicyclohexyl carbodiimide (DCC) 0.19 กรัม (1 มิลลิโมล) และ 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP) 0.01 กรัม (0.1 มิลลิโมล) ในขวดแก้วขนาด 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุแท่งแม่เหล็กกวนสาร ปิดด้วย จุกยางและรัดด้วยลวดทองแดง เติม dimethylformamide (DMF) 20 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มฉีดยาลงในขวดผ่านจุกยาง แล้วนำสารละลายไปผ่านแก๊สไนโตรเจนพร้อมคนสารละลายเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำแผ่นกระจกที่ได้จากขั้นตอน 2.2.1.1. บรรจุใน holder แล้วใส่ holder ลงในหลอดทดลองขนาดใหญ่ที่มีแท่งแม่เหล็กคนสาร ปิดด้วยจุกยางและรัดด้วยลวดทองแดง ถ่ายเทสารละลายที่เตรียมได้ลงในหลอดทดลองที่มีแผ่นกระจก โดยใช้ลวดนำพาสารละลาย (cannula) ก่อนนำมาผ่านแก๊สไนโตรเจนและคนสารละลายด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 20 ชั่วโมง ล้างแผ่นกระจกด้วย ethanol และ DI water เป่าให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.1.3. การทำปฏิกิริยาโคพอลิเมอไรเซชันของเอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์และอะคริลิก



ซึ่ง 4, 4-bis(4-cyanovaleric acid) (ACVA) 0.014 กรัม (0.05 มิลลิโมล) , 4-cyano-4-(phenyl carbonothioylthio)pentanoic acid (chain transfer agent, CTA) 0.056 กรัม (0.2 มิลลิโมล), acrylic acid (AA) 685.6 ไมโครลิตร (0.01 โมล), *N*-Isopropylacrylamide (NIPAM) 1.1316 กรัม (0.01 โมล) ลงในหลอดทดลองที่มีแท่งแม่เหล็กกวนสาร นำแผ่นกระจกที่ได้จากขั้นตอน 2.2.1.2. บรรจุลง holder แล้วนำ holder ใส่ลงในหลอดทดลองดังกล่าว ปิดด้วยจุกยางและรัดด้วยลวดทองแดง เติม 1,4-dioxane 20 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มฉีกลงในหลอดผ่านจุกยาง จากนั้นนำสารละลายไปผ่านแก๊สไนโตรเจนพร้อมคนสารละลายด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ล้างแผ่นกระจกด้วย ethanol และ DI water เป่าให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน พิสูจน์เอกลักษณ์ของแผ่นกระจกโดยการวัดมุมสัมผัสของน้ำด้วยเครื่อง contact angle goniometer นำสารละลายที่เหลือมาผ่านกระบวนการไดอะไลซิส (dialysis) เป็นเวลา 3 วัน ก่อนนำไปทำให้แห้งภายใต้ความเย็นและสุญญากาศด้วยเครื่อง freeze dryer

ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้ม พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR spectroscopy, รูปที่ 3.5) พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ

2.2.2 การตรึงอนุภาคนาโนทองบนแผ่นกระจกที่กราฟต์ด้วยพอลิเอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-พอลิอะคริลิกแอซิดบรซ์

นำแผ่นกระจกที่ได้จากขั้นตอน 2.2.1.3. มาจุ่มสลับระหว่างสารละลาย HAuCl_4 (aq) 5 มิลลิลิตร (1 มิลลิโมล) และ Milli-Q water เป็นจำนวน 5, 10, 15 และ 20 รอบ จากนั้นนำกระจกแต่ละแผ่นมาจุ่มใน DI water ที่อุณหภูมิ $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซะแผ่นกระจกด้วย DI water แล้วเป่าให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

2.2.3 การกราฟต์พอลิเอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-พอลิอะคริลิกแอซิดบรซ์บนอนุภาคซิลิกา

2.2.3.1. การติด APTES ลงบนซิลิกา

ซังซิลิกา 0.3 กรัม ใส่ในขวดแก้วขนาด 50 มิลลิลิตร เตรียม Piranha solution ($\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$ ในอัตราส่วน 7 ต่อ 3) โดยค่อยๆ หยด H_2SO_4 ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ลงใน H_2O_2 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำซิลิกามาแชในสารละลายดังกล่าวโดยตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่มีซิลิกาอยู่เทลงใน DI water เพื่อเจือจางความเป็นกรดก่อนนำไปกรองสุญญากาศ ล้างด้วย DI water จนเป็นกลาง โดยตรวจสอบด้วย Universal indicator แล้วนำซิลิกาที่ได้ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยาไซลาเนชัน โดยเติม 2% APTES ใน toluene ที่กลั่นแล้ว 10 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วที่มีซิลิกา และแท่งแม่เหล็กคนสาร ปิดด้วยจุกยางและรัดด้วยลวดทองแดง ผ่านแก๊สไนโตรเจนลงในสารละลายพร้อมคนด้วยแท่งแม่เหล็กที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำซิลิกาไปกรองสุญญากาศ ล้างด้วย toluene แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค Infrared spectrometry

2.2.3.2. การติดหมูรีเริ่มลงบนอนุภาคซิลิกาที่ดัดแปรด้วย APTES

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ 2.2.1.2 โดยใช้อนุภาคที่เตรียมได้ใน 2.2.3.1 เป็นซับสเตรท และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค Infrared spectroscopy

2.2.3.3. การทำปฏิกิริยาโคพอลิเมโรเซชันของเอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์และอะคริลิก แอซิด

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ 2.2.1.3 โดยใช้อนุภาคที่เตรียมได้ใน 2.2.3.2 เป็นซับสเตรท และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค Infrared spectroscopy

2.2.4 การกราฟต์พอลิเอินไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-พอลิอะคริลิกแอซิดบรัซและการตรึงอนุภาคนาโนทองบนแผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์

ล้างแผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ด้วย ethanol โดยใช้เครื่องล้างความถี่สูง (ultrasonic bath cleaner) เป็นเวลา 15 นาที และทิ้งไว้ให้แห้ง ก่อนล้างอีกครั้งด้วย 2-butanone เตรียมสารละลาย NH_4OH , H_2O_2 และ DI water ในอัตราส่วน 1:1:1 โดยปริมาตร แล้วนำกระจกที่ล้างแล้วมาจุ่มในสารละลายที่เตรียมไว้เพื่อทำความสะอาดอีกครั้งเป็นเวลา 30 นาที ชะด้วย DI water แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำแผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ไปกราฟต์พอลิเอินไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-พอลิอะคริลิกแอซิดบรัซและตรึงอนุภาคนาโนทองด้วยวิธีการดังแสดงใน 2.2.1 และ 2.2.2 ตามลำดับ



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

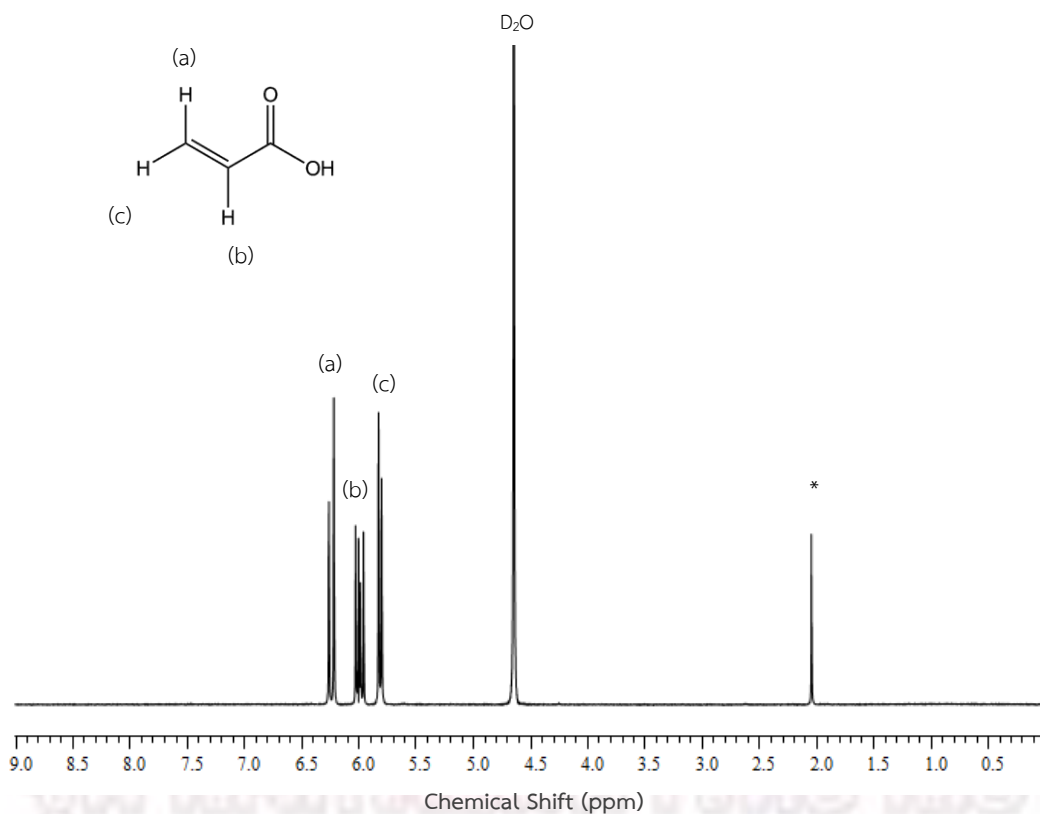
บทที่ 3

ผลการทดลอง วิจารณ์ผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยสนใจสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชของพอลิ(เอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-อะคริลิกแอซิด) P(NIPAM-co-AA) ซึ่งประกอบด้วยอนุภาคนาโนทองคำ โดยประยุกต์ใช้วิธีการทำให้เกิดอนุภาคนาโนทองคำจากแนวทางที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้โดย Sangsuwan และคณะ [3] โดยมีเป้าหมายที่จะเพิ่มปริมาณของอนุภาคนาโนทองคำ เพื่อนำวัสดุที่พัฒนาขึ้นไปใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างและความไวในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์ต่อไป

3.1. การทำ อะคริลิกแอซิด (acrylic acid) ให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่นแบบลดความดัน

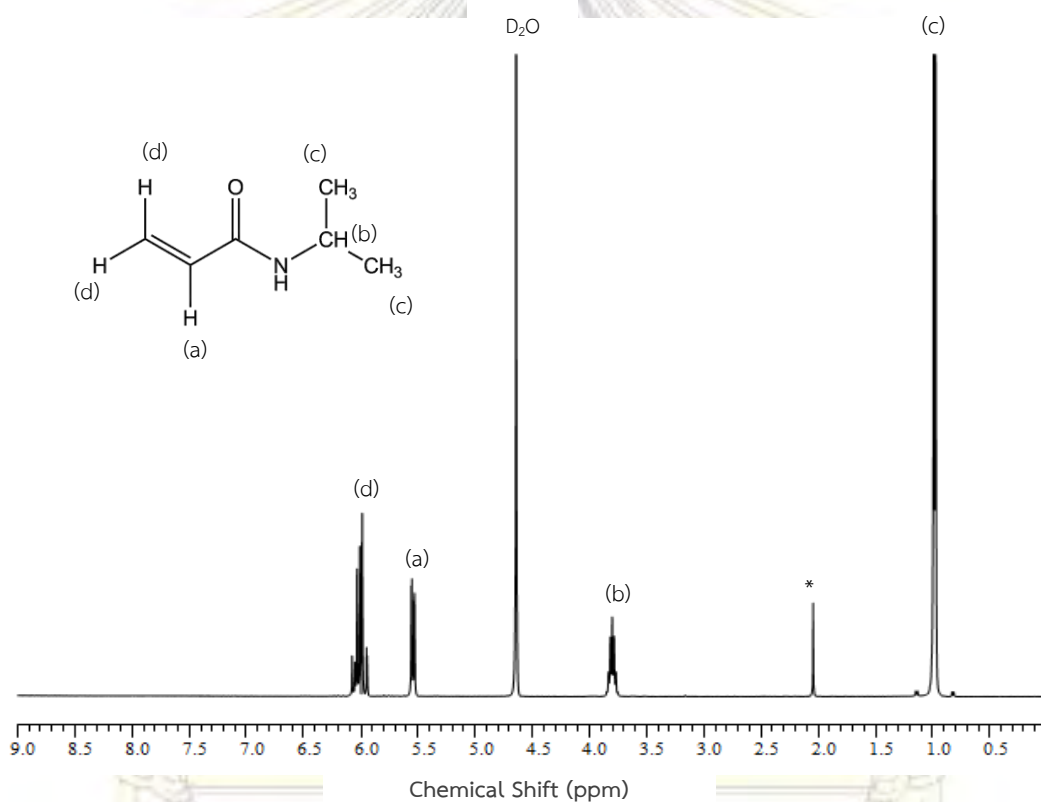
อะคริลิกแอซิด (acrylic acid) ที่ใช้ในการทดลองนี้มีลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มีสี ซึ่งมี inhibitor เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาอยู่ จึงจำเป็นต้องนำมากำจัด inhibitor ก่อน เนื่องจากอะคริลิกแอซิดเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันที่อุณหภูมิ 70 °C จึงต้องใช้วิธีการกลั่นแบบลดความดัน ที่อุณหภูมิประมาณ 60 °C ยืนยันเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR พบว่าเป็นสารตามที่ต้องการจริงจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^1H NMR ดังแสดงผลในรูปที่ 3.1: δ (ppm) 5.8 (d, 1H_a), 6.0 (dd, 1H_b), 6.3 (d, 1H_c)



รูปที่ 3.1 ^1H NMR spectrum (400 MHz, D_2O) ของ อะคริลิกแอซิด, (*) สัญญาณของ residual acetone

3.2. การทำ เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (*N*-isopropylacrylamide) ให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึก

เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (*N*-isopropylacrylamide) ที่ใช้ในการทดลองนี้ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ซึ่งมี inhibitor เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน จึงจำเป็นต้องนำมากำจัด inhibitor ด้วยการตกผลึก ที่อุณหภูมิ 70 °C โดยใช้ n-hexane เป็นตัวทำละลาย หลังตกผลึกได้ เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ ลักษณะเป็นผลึกสีขาวคิดเป็น 81 %recovery พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR พบว่าเป็นสารตามที่ต้องการจริง ดังแสดงผลในรูปที่ 3.2: δ (ppm) 1.0 (d, 6H_c), 3.8 (m, 1H_b), 5.5 (dd, 1H_a), 6.0 (m, 2H_d)

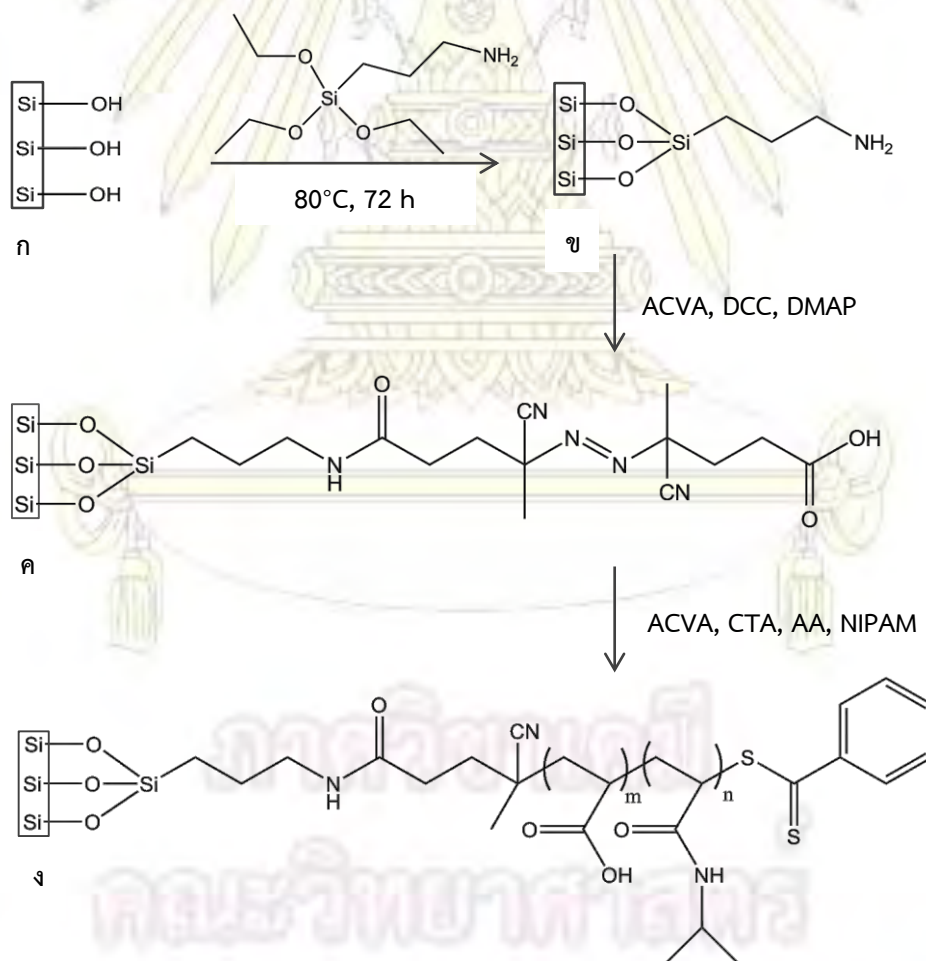


รูปที่ 3.2 ^1H NMR spectrum (400 MHz, D₂O) ของ เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์, (*) สัญญาณของ residual acetone

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 การตรึงโคพอลิเมอร์บรัซของพอลิ(เอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-อะคริลิกแอซิด) บนแผ่นกระจกและอนุภาคซิลิกา

ในงานวิจัยนี้ตรึงโคพอลิเมอร์บรัซของพอลิ(เอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-อะคริลิกแอซิด) P(NIPAM-co-AA) ลงบนแผ่นกระจก โดยใช้วิธี “grafting from” เริ่มจากการกำจัดสารอินทรีย์บนพื้นผิวกระจกและทำให้เกิดหมู่ไฮดรอกซิล (Si-OH) (รูปที่ 3.3, ก) ด้วยเครื่อง Plasma cleaner จากนั้นนำแผ่นกระจกมาอบกับ 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดหมู่อะมิโน (-NH₂) (รูปที่ 3.3, ข) ที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิลของหมู่ริเริ่ม 4,4-bis(4-cyanovaleric acid) (ACVA) โดยใช้ dicyclohexyl carbodiimide (DCC) และ 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP) เป็นรีเอเจนต์คู่ควบ (coupling agent) (รูปที่ 3.3, ค) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นตรึงโคพอลิเมอร์บรัซบนพื้นผิวด้วยกลไกแบบ reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization แทนที่ เนื่องจากความไม่เสถียรของตัวริเริ่มที่สามารถแตกตัวเป็นแรดิคัลได้ง่าย เกิดเป็นโคพอลิเมอร์บรัซของพอลิ(เอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์-โค-อะคริลิกแอซิด) (รูปที่ 3.3, ง)



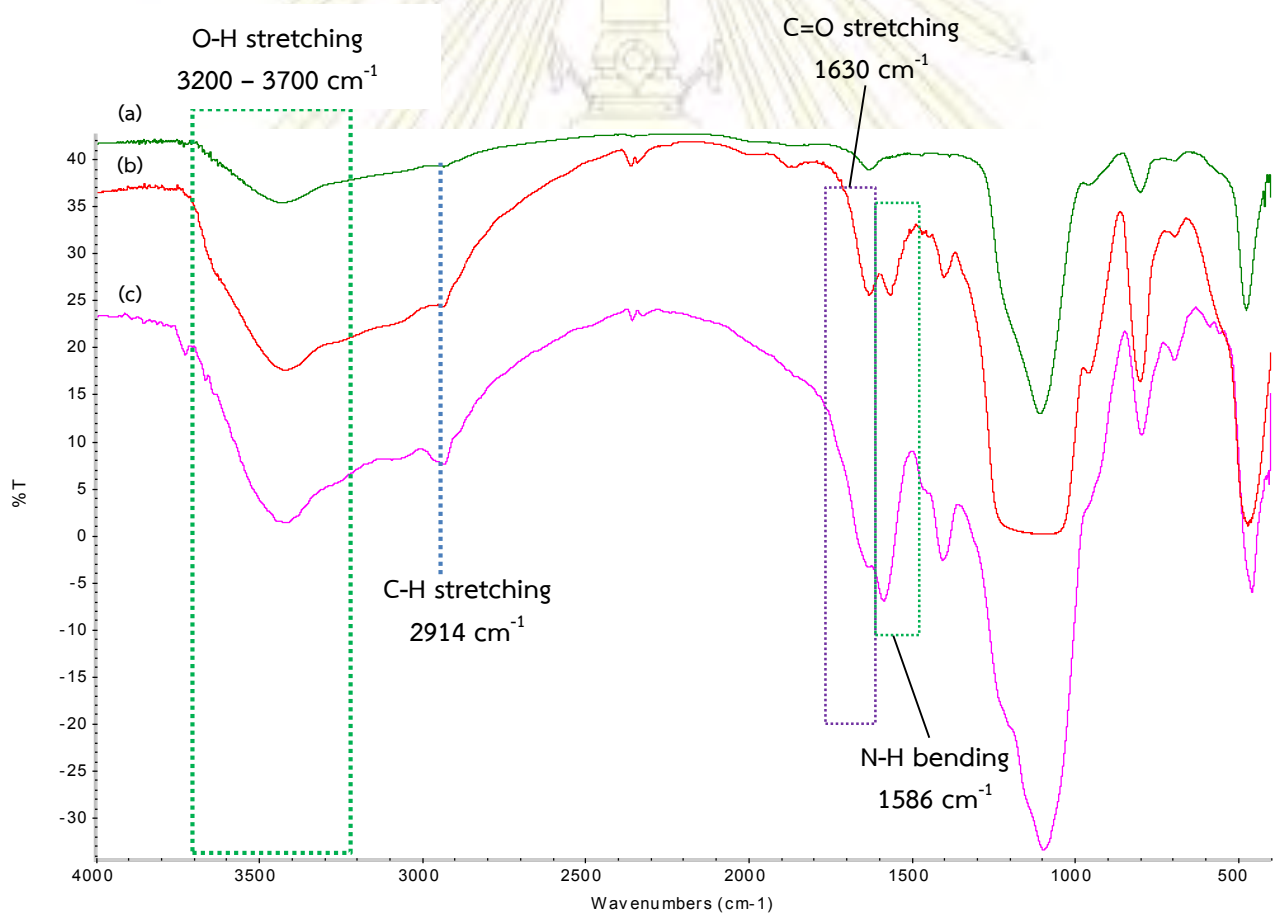
รูปที่ 3.3 แผนภาพแสดงการสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัซของ เอ็นไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์และอะคริลิกแอซิด บนแผ่นกระจก

พิสูจน์เอกลักษณ์โดยการวัดมุมสัมผัสของน้ำ (water contact angle) บนแผ่นกระจก จากตารางที่ 3.1 พบว่าแผ่นกระจกหลังจากการดัดแปรให้เกิดหมู่เอมีโน โดยการอบกับไอของ APTES มีค่า advancing contact angle ($\theta_{advancing}$) เท่ากับ $83.7 \pm 1.9^\circ$ และค่า receding contact angle ($\theta_{receding}$) เท่ากับ $52.8 \pm 3.1^\circ$ จากนั้นนำแผ่นกระจกมาตรึงโคพอลิเมอร์บรัชของ P(NIPAM-co-AA) พบว่ามีค่า $\theta_{advancing}$ เท่ากับ $68.4 \pm 2.4^\circ$ และค่า $\theta_{receding}$ เท่ากับ $34.2 \pm 4.1^\circ$ แสดงว่าแผ่นกระจกมีสมบัติความชอบน้ำ (hydrophilic) เพิ่มขึ้น ทำให้ค่ามุมสัมผัสของน้ำลดลง จึงสามารถยืนยันการตรึงโคพอลิเมอร์บรัชลงบนกระจกได้

ตารางที่ 3.1 ค่ามุมสัมผัสของน้ำบนแผ่นกระจก

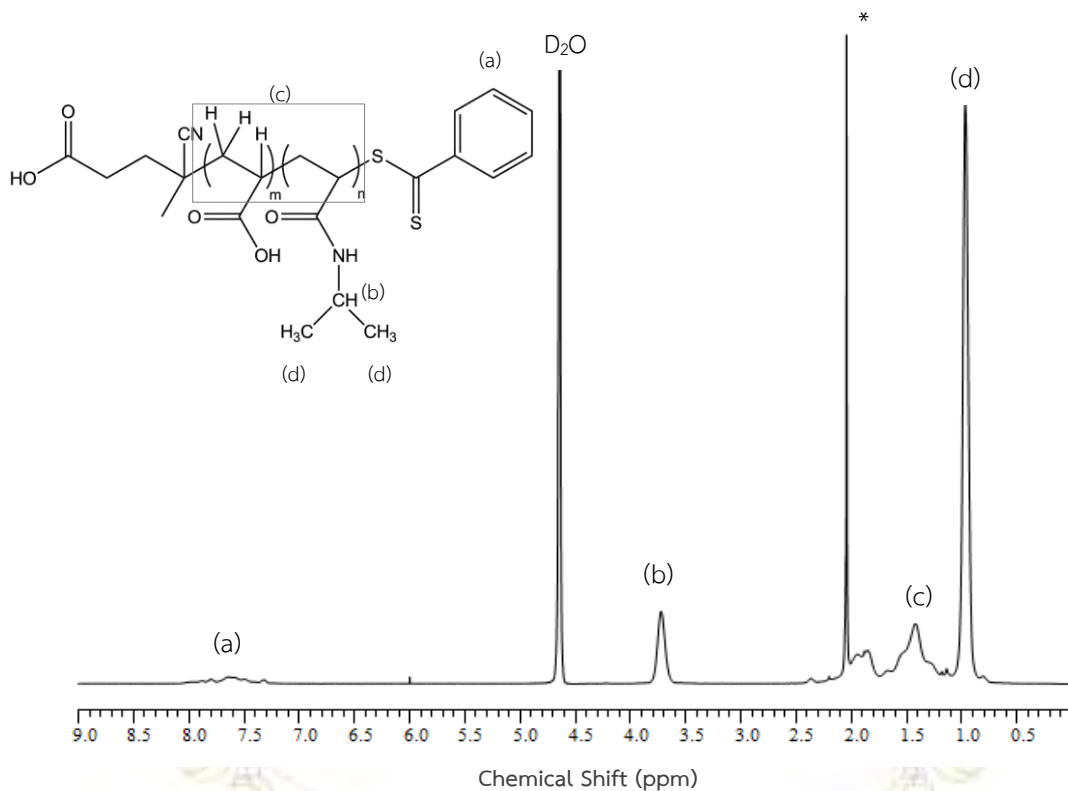
Surfaces	Water contact angle (Degree)	
	$\theta_{advancing}$	$\theta_{receding}$
Glass slide	N/A	N/A
APTES-modified	83.7 ± 1.9	52.8 ± 3.1
P(NIPAM-co-AA) brushes	68.4 ± 2.4	34.2 ± 4.1

การวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันที่ได้ในแต่ละขั้นตอนการสังเคราะห์ โดยใช้อนุภาคซิลิกาเป็นซัพสเตรทแทนแผ่นกระจก ด้วยเทคนิค Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FT-IR) (รูปที่ 3.4) จากสเปกตรัม (a) พบสัญญาณ O-H stretching ในช่วงเลขคลื่น 3200 - 3700 cm^{-1} ของหมู่ไฮดรอกซิล (Si-OH) ของอนุภาคซิลิกา และ C-H stretching ที่ 2914 cm^{-1} ของ APTES พิจารณาสเปกตรัม (b) พบ C=O stretching ที่ 1630 cm^{-1} และ N-H bending ที่ 1586 cm^{-1} ของพันธะเอไมด์ระหว่างหมู่อะมิโนของ APTES กับหมู่คาร์บอกซิลของตัวริเริ่ม และสเปกตรัม (c) พบสัญญาณ N-H bending ที่เลขคลื่น 1586 cm^{-1} ที่สูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าพีกที่แสดง C=O stretching มีลักษณะกว้างและครอบคลุมเลขคลื่นที่สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่ามี C=O stretching ของหมู่คาร์บอกซิลที่มาจากส่วนอะคริลิกแอซิด ซึ่งตามปกติขึ้นที่เลขคลื่นสูงกว่า 1,700 cm^{-1} พิสูจน์ได้ว่าสามารถสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรชบนอนุภาคซิลิกาได้



รูปที่ 3.4 FT-IR สเปกตรัมของอนุภาคซิลิกา: (a) SiO₂/Si-APTES (b) SiO₂/Si-Initiator (c) SiO₂/Si-P(NIPAM-co-AA)

การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry (^1H NMR) จากรูปที่ 3.5 พบสัญญาณที่ค่า chemical shift บริเวณ 8.0-7.3 ppm ของโปรตอนในวงอะโรมาติกตำแหน่ง a ที่ 3.7 ppm ของโปรตอนตำแหน่ง b ที่บริเวณ 2.3-1.2 ppm ของโปรตอนตำแหน่ง c และ ที่ 1.0 ppm ของโปรตอนตำแหน่ง d ซึ่งสามารถยืนยันการเกิด random copolymer โดยผ่านกลไก RAFT polymerization ได้ ซึ่งสามารถคำนวณ degree of polymerization (DP) เท่ากับ 96 ซึ่งอัตราส่วนมอนอเมอร์ของ NIPAM ต่อ AA เท่ากับ 58 ต่อ 42 ตามสมการ (3.1) จากที่คาดการณ์ไว้เท่ากับ 50 ต่อ 50 และ น้ำหนักโมเลกุล (M_n) ของโคพอลิเมอร์ตามสมการ (3.3) เท่ากับ 9,130 กรัม/โมล ใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลที่คาดว่าจะได้ตามสมการ (3.4) เท่ากับ 9,540 กรัม/โมล



รูปที่ 3.5 ^1H NMR spectrum (400 MHz, D_2O) ของ P(NIPAM-co-AA) , (*) สัญญาณของ residual acetone

$$\text{Ratio of NIPAM monomer in copolymer (\%)} = \frac{\text{Integral of H}_d}{6} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\frac{\text{Integral of H}_c}{3}$$

$$\text{Total repeating units} = \frac{\text{Integral of H}_c}{3} \quad (3.2)$$

$$\frac{\text{Integral of H}_a}{5}$$

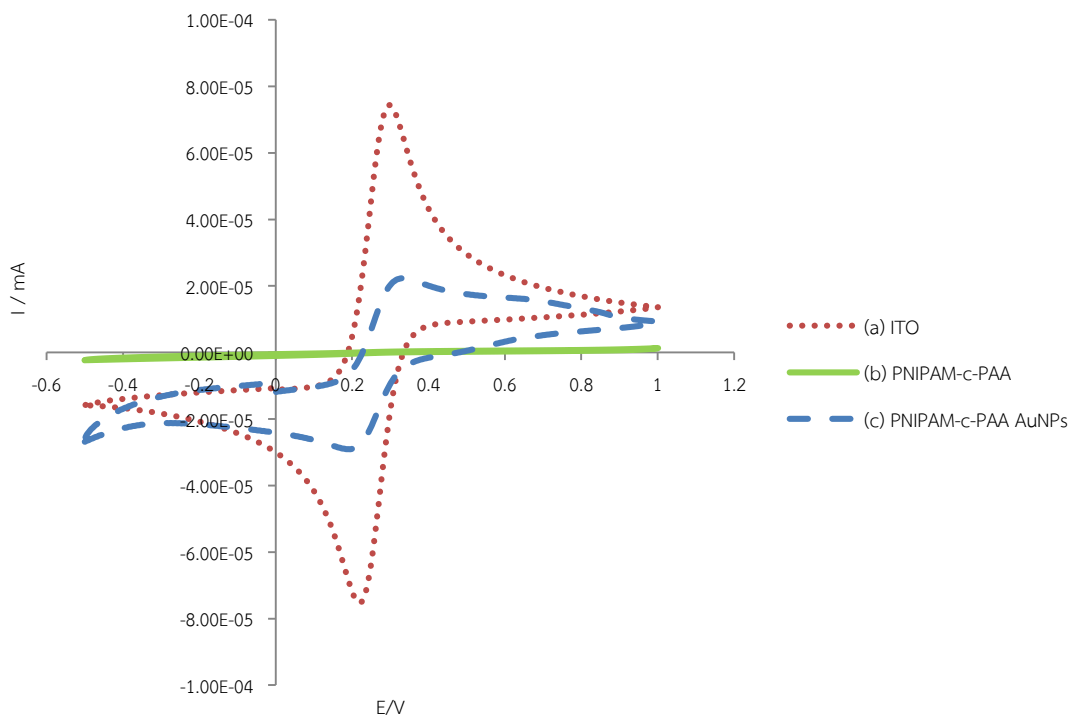
$$M_{n, p(\text{NIPAM-co-AA})} = \{ [\text{Total repeating units} \times (\% \text{NIPAM monomer}/100)] \times M_{n, \text{NIPAM}} \} + \{ [\text{Total repeating units} \times (1 - (\% \text{NIPAM monomer}/100))] \times M_{n, \text{AA}} \} \quad (3.3)$$

$$M_{n, \text{expect}} = M_{\text{CTA}} + M_{\text{NIPAM}} + M_{\text{AA}} \quad (3.4)$$

3.3. การตรึงอนุภาคนาโนทองหลังการทำปฏิกิริยาพอลิเมอร์เซชัน

ในงานวิจัยนี้ใช้หมู่คาร์บอกซิลของอะคริลิกแอซิด (acrylic acid) ที่สามารถแตกตัวเป็นคาร์บอกซิเลตในการรีดิวซ์ไอออนออโร (aurate ion: Au^{3+}) ทำให้เกิดอนุภาคนาโนทองอยู่ในโคพอลิเมอร์บรัช และอาศัยคุณสมบัติการตอบสนองต่ออุณหภูมิของเอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (N-isopropylacrylamide) โดยจะจุ่มสลับสารละลาย HAuCl_4 (aq) ที่ 0°C กับ Milli-Q water อุณหภูมิห้อง เพื่อให้สายโซ่พอลิเมอร์ยืดออกและหดตัวลง กักเก็บอนุภาคนาโนทองไว้ภายใน พิสัยงานเอกลักษณ์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry) (รูปที่ 3.6) โดยใช้แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ (ITO) เป็นขั้วสเตรทในการตรึงโคพอลิเมอร์ จากรูป พบว่าแผ่น ITO มีค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุด I_{pc} และ I_{pa} เท่ากับ 7.425×10^{-5} และ -7.425×10^{-5} mA ตามลำดับ เมื่อนำแผ่น ITO มาตรึงโคพอลิเมอร์บรัช พบว่าค่า I_{pc} และ I_{pa} ลดลงเป็น 9.92×10^{-7} และ -3.42×10^{-9} mA เนื่องจากผลของความต้านทานไฟฟ้าของพอลิเมอร์ ทำให้พิสัยงานสามารถตรึงโคพอลิเมอร์บรัชลงบนพื้นผิว ITO ได้จริง จากนั้นอาศัยโคพอลิเมอร์บรัชในการตรึงอนุภาคนาโนทอง พบว่าค่า I_{pc} และ I_{pa} เพิ่มขึ้นเป็น 2.23×10^{-5} และ -2.23×10^{-5} mA ตามลำดับแสดงว่าโคพอลิเมอร์บรัชสามารถกักเก็บอนุภาคนาโนทองไว้ได้จึงทำให้มีค่ากระแสไฟฟ้าที่สูงขึ้น

Cyclic Voltammograms

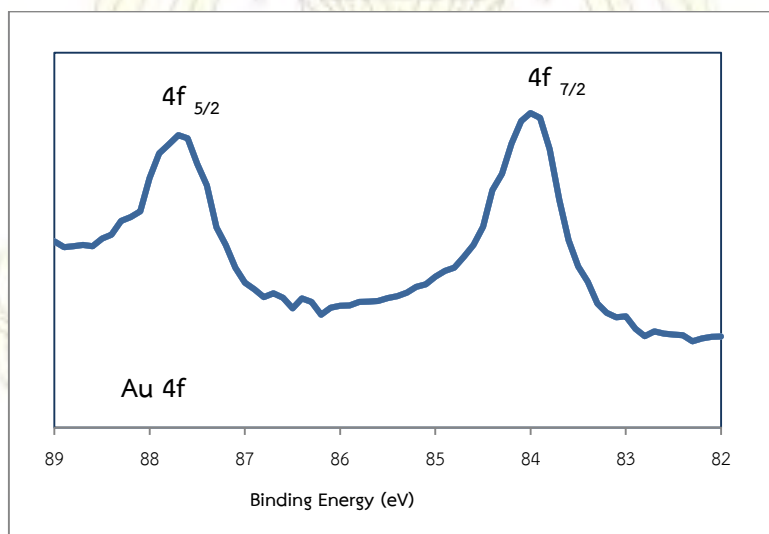


รูปที่ 3.6 Cyclic voltammograms ของ (a) แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ (b) แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ตรึงโคพอลิเมอร์บรัช และ (c) แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ตรึงโคพอลิเมอร์บรัชที่มีอนุภาคนาโนทอง

การวิเคราะห์ทางองค์ประกอบของพื้นผิวในขั้นตอนก่อนและหลังการตรึงอนุภาคนาโนทองบน โคพอลิเมอร์รีซบนแผ่นกระจกด้วยเทคนิคเอ็กซ์เรย์โฟโตอิเล็กตรอนสเปกโทรสโคปี (x-ray photoelectron spectroscopy, XPS) (ตารางที่ 1) พบว่าหลังการตรึงอนุภาคนาโนทองตรวจพบ Au 4f ในอัตราส่วน 0.24% และสเปกตรัมบริเวณ Au 4f ที่ 87.6 และ 84 อิเล็กตรอนโวลต์ พิสูจน์ได้ว่าสามารถตรึงอนุภาคนาโนทองบน โคพอลิเมอร์รีซได้

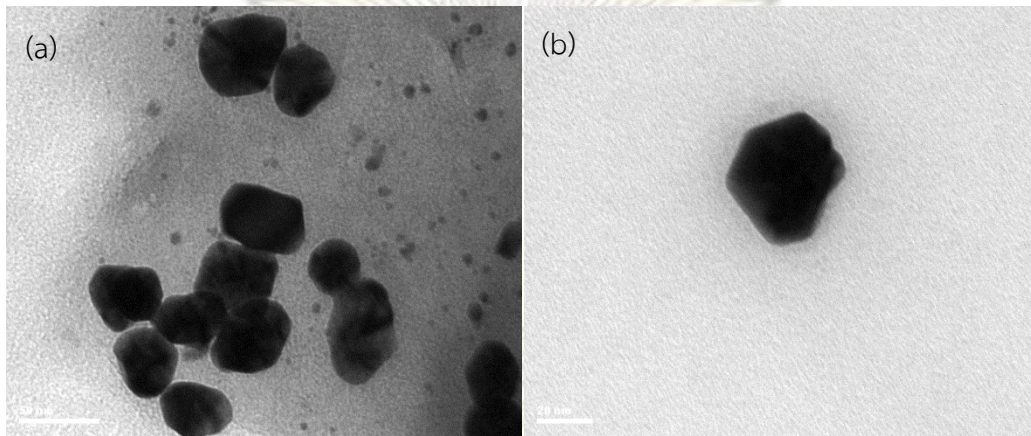
ตารางที่ 1 องค์ประกอบบนพื้นผิวของแผ่นกระจกก่อนและหลังการตรึงอนุภาคนาโนทองบนโคพอลิเมอร์รีซ

Sample	Atomic concentration %				
	Si 2p	C 1s	N 1s	O 1s	Au 4f
P(NIPAM-co-AA)	13.10	43.81	6.37	36.32	-
P(NIPAM-co-AA) consisting of AuNPs	15.56	31.68	4.82	46.84	0.24



รูปที่ 3.7 XPS สเปกตรัม บริเวณ Au 4f ของ P(NIPAM-co-AA) หลังการตรึงอนุภาคนาโนทอง

การศึกษารูปร่างของอนุภาคนาโนทองบนโคพอลิเมอร์บรัชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope, TEM) (รูปที่ 3.8) พบว่าอนุภาคนาโนทองที่เตรียมได้มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 25.13 ± 3.20 นาโนเมตร



รูปที่ 3.8 ภาพถ่ายจาก TEM ที่กำลังขยาย (a) 50 และ (b) 20 นาโนเมตร

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยสามารถสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชของ P(NIPAM-co-AA) ที่มีอนุภาคนาโนทอง เป็นองค์ประกอบบนพื้นผิวกระจกได้ ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเรดิคัลผ่านกลไกการเกิดปฏิกิริยาแบบ RAFT polymerization โดยใช้สารตั้งต้นคือ เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ และอะคริลิกแอซิด ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกและการกลั่นแบบลดความดัน ตามลำดับ ยืนยันการสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชบนแผ่นกระจกโดยการวัดมุมสัมผัสของน้ำ พบว่าดัดแปรพื้นผิวให้เกิดหมู่อะมิโนด้วย APTES $\theta_{advancing}$ เท่ากับ $83.7 \pm 1.9^\circ$ และมีค่า $\theta_{advancing}$ ลดลงเป็น $68.4 \pm 2.4^\circ$ หลังจากตรึงโคพอลิเมอร์บรัช จึงสามารถยืนยันการตรึงโคพอลิเมอร์บนกระจกได้ จากนั้นวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวด้วยเทคนิค FT-IR เนื่องจากโคพอลิเมอร์บรัชบนแผ่นกระจกมีปริมาณน้อยมาก จึงสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชโดยใช้อนุภาคซิลิกาเป็นซับสเตรทแทนแผ่นกระจก พบว่า N-H bending ที่ 1586 cm^{-1} มีสัญญาณที่สูงขึ้น และ C=O stretching ที่ 1630 cm^{-1} มีลักษณะกว้างและครอบคลุมเลขคลื่นที่สูงขึ้น สามารถยืนยันการสังเคราะห์โคพอลิเมอร์บรัชบนอนุภาคซิลิกาได้ และพิสูจน์เอกลักษณ์ของโคพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ในสารละลายด้วยเทคนิค ^1H NMR spectroscopy พบว่า degree of polymerization เท่ากับ 96 ซึ่งอัตราส่วนมอนอเมอร์ของ NIPAM ต่อ AA เท่ากับ 58 ต่อ 42 และน้ำหนักมวลโมเลกุลของโคพอลิเมอร์ เท่ากับ 9,130 กรัม/โมล ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลที่คาดว่า จะได้ตามทฤษฎี เท่ากับ 9,540 กรัม/โมล

เมื่อได้โคพอลิเมอร์บรัชของ P(NIPAM-co-AA) บนพื้นผิวกระจกแล้ว ผู้วิจัยจึงทำการตรึงอนุภาคนาโนทอง โดยอาศัยหมู่คาร์บอกซีเลตของ PAA ในการรีดิวซ์ไอออนทองคำ และการยึดออกของสายโซ่พอลิเมอร์ของ PNIPAM เมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า LCST เพื่อช่วยในการตรึงอนุภาคนาโนทองไว้ภายในโคพอลิเมอร์บรัช สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XPS พบว่าหลังการตรึงอนุภาคนาโนทองตรวจพบ Au 4f ในอัตราส่วน 0.24% และสเปกตรัมบริเวณ Au 4f ที่ 87.6 และ 84 อิเล็กตรอนโวลต์ และศึกษารูปร่างของอนุภาคนาโนทองบนโคพอลิเมอร์บรัชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าอนุภาคนาโนทองที่เตรียมได้มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 25.13 ± 3.20 นาโนเมตร และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค CV โดยใช้แผ่นกระจกเคลือบอินเดียมทินออกไซด์ (ITO) เป็นซับสเตรทในการตรึงโคพอลิเมอร์ เพื่อวัดค่าการนำไฟฟ้าของพอลิเมอร์บรัช พบว่า แผ่น ITO ที่ตรึงโคพอลิเมอร์บรัช ให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุด I_{pc} และ I_{pa} เท่ากับ 9.92×10^{-7} และ -3.42×10^{-9} mA ตามลำดับ และจากนั้นตรึงอนุภาคนาโนทองลงบนพอลิเมอร์บรัช พบว่าค่า I_{pc} และ I_{pa} เพิ่มขึ้นเป็น 2.23×10^{-5} และ -2.23×10^{-5} mA แสดงว่าพอลิเมอร์บรัชสามารถกักเก็บอนุภาคนาโนทองไว้ได้ และการมีอนุภาคนาโนทองเป็นองค์ประกอบบนพอลิเมอร์บรัชช่วยเพิ่มกระแสไฟฟ้าให้สูงขึ้น สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์ต่อไปได้

แนวทางในการดำเนินงานวิจัยในอนาคต

การสังเคราะห์ในเบื้องต้นประสบความสำเร็จในการตรึงโคพอลิเมอร์บรัชที่มีอนุภาคนาโนทองเป็นองค์ประกอบบนแผ่นกระจก และสามารถพิสูจน์ได้ว่าพอลิเมอร์บรัชมีกระแสไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีอนุภาคนาโนทองบนพื้นผิว ทางผู้วิจัยจึงได้แนวทางการวิจัยต่อไปในอนาคต ดังนี้

1. ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณของอนุภาคนาโนทองบนพื้นผิวพอลิเมอร์กับค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของโคพอลิเมอร์บรัช P(NIPAM-co-AA)
2. ศึกษาการนำโคพอลิเมอร์บรัชของ P(NIPAM-co-AA) ที่มีอนุภาคนาโนทองเป็นองค์ประกอบไปใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างและความไวในการตรวจวัดทางเคมีวิเคราะห์



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Wang, W.-H.; Dong, J.-L.; Baker, G. L.; Bruening, M. L. Bifunctional Polymer Brushes for Low-Bias Enrichment of Mono- and Multi-Phosphorylated Peptides Prior to Mass Spectrometry Analysis. *Analyst* **2011**, *18*, 136.
2. Akkhat, P.; Mekboonsonglarp, W.; Kiatkamjornwong, S.; Hoven, V. P. Surface-Grafted Poly(acrylic acid) Brushes as a Precursor Layer for Biosensing Applications: Effect of Graft Density and Swellability on the Detection Efficiency. *Langmuir* **2012**, *28*, 5302–5311.
3. Tang, Z.; Akiyama, Y.; Okano, T. Temperature-Responsive Polymer Modified Surface for Cell Sheet Engineering. *Polymers* **2012**, *4*, 1478-1498.
4. Wong, V. N.; Fernando, G.; Wagner, A. R.; Zhang, J.; Kinsel, G. R.; Zauscher, S.; Dyer, D. J. Separation of Peptides with Polyionic Nanosponges for MALDI-MS Analysis. *Langmuir* **2009**, *25*, 1459-1465.
5. Seino, M.; Yokomachi, K.; Hayakawa, T.; Kikuchi, R.; Kakimoto, M.; Horiuchi, S. Preparation of Poly(N-isopropylacrylamide) Grafted Silica Bead using Hyperbranched Polysiloxysilane as Polymer Brush and Application to Temperature-Responsive HPLC. *Polymer* **2006**, *47*, 1946–1952.
6. Gupta, S.; Agrawal, M.; Uhlmann, P.; Simon, F.; Stamm, M. Poly(N-isopropyl acrylamide)-Gold Nanoassemblies on Macroscopic Surfaces: Fabrication, Characterization, and Application. *Chemistry of Materials* **2010**, *22*, 504–509.
7. Alkilany, A. M.; Murphy, C. J. Toxicity and Cellular Uptake of Gold Nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research* **2010**, *12*, 2313–2333
8. Tarui, A.; Kawasaki, H.; Taiko, T.; Watanabe, T.; Yonezawa, T.; Arakawa, R. Gold-Nanoparticle-Supported Silicon Plate with Polymer Micelles for Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry of Peptides. *Nanoscience and Nanotechnology* **2009**, *9*, 159-164.

9. Sempionatto, J. R.; Recco, L. C.; Pedrosa, V. A. Polymer Brush Modified Electrode with Switchable Selectivity Triggered by pH Changes Enhanced by Gold Nanoparticles. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2014**, *25*, 453-459.
10. Sangsuwan, A.; Narupai, B.; Sae-ung, P.; Rodtamai, S.; Rodthongkum, N.; Hoven, V. P. Patterned Poly(acrylic acid) Brushes Containing Gold Nanoparticles for Peptide Detection by Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **2015**, *87*, 10738–10746.
11. Chiu, Y.-C.; Chen, Y.-C. Carboxylate-Functionalized Iron Oxide Nanoparticles in Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry for the Analysis of Small Biomolecules. *Analytical Letters* **2008**, *41*, 260-267.



ประวัติผู้วิจัย

นางสาวนัทศิมา รัตนพงศธร เกิดเมื่อวันที่ 16 ตุลาคม พ.ศ. 2536 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายแผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์จากโรงเรียนระยองวิทยาคม จังหวัดระยอง เมื่อปีการศึกษา 2554 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2554 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจบการศึกษาระดับปริญญาตรี บ้านเลขที่ 300/161 หมู่บ้านระยองซิตีพาร์ค ซอย 1B ถนนบายพาส ตำบลเชิงเนิน อำเภอเมือง จังหวัดระยอง 21000 หมายเลขโทรศัพท์ 087-5670723 อีเมล toon_1610@hotmail.com



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย