



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การดัดแปรพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนสำหรับตรวจวัด
โฮโมซิสเตอีน
Surface modification of screen-printed carbon electrode
for determination of homocysteine

ชื่อนิสิต นางสาวณาดา ศรีวิบูลย์ เลขประจำตัว 5933025423
ภาควิชา เคมี
ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การดัดแปรพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนสำหรับตรวจวัดโฮโมซิสเตอีน

Surface modification of screen-printed carbon electrode for
determination of homocysteine

โดย

นางสาวญาดา ศรีวิบูลย์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

โครงการ การติดตั้งปรอทสีของชั่วโมงฟ้าคำรรมสนนินท์สกรีนสำหรับตรวจวัดโอโมซิสเตอีน

โดย นางสาวอุษา ศรีวิบูลย์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

- | | |
|--|------------------|
| 1. รองศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์ ประไพภักดิ์สิทธิ์ | ประธานกรรมการ |
| 2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิปภา สุทธิภรณ์ | กรรมการ |
| 3. อาจารย์ ดร.เจนจิรา ปานชมพู | อาจารย์ที่ปรึกษา |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

เจนจิรา ปานชมพู

(อาจารย์ ดร.เจนจิรา ปานชมพู)

อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิวิทย์ พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 19 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2563

ชื่อโครงการ การตัดแปรรูปพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนสำหรับตรวจวัดโฮโมซิสเตอีน
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวญาติา ศรีวิบูลย์ เลขประจำตัว 5933025423
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.เจนจิรา ปานชมพู
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2562

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเตรียมขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และทำการตัดแปรรูปพื้นผิวขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นนี้ด้วยวัสดุคาร์บอนขนาดนาโนชนิดต่าง ๆ สำหรับการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีน โดยทั่วไป โฮโมซิสเตอีนเป็นกรดอะมิโนที่มีหมู่ไทออลเป็นองค์ประกอบ สามารถพบได้ในร่างกายมนุษย์ และเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่สำคัญของโรคหัวใจและหลอดเลือด ในขั้นแรก ผู้วิจัยได้ตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ยังไม่ได้ตัดแปรรูปพบว่าสัญญาณฟิสิกออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนที่ปรากฏนั้นไม่ชัดเจน ผู้วิจัยจึงได้ทำการตัดแปรรูปพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าง่าด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นและคาร์บอนแบล็คด้วยวิธีต่าง ๆ ได้แก่ การผสมตัวตัดแปรรูปลงในหมึกพิมพ์คาร์บอนสำหรับการสกรีนขั้วไฟฟ้า และการหยดสารละลายแขวนลอยของตัวตัดแปรรูปลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า จากนั้นนำขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรรูปดังกล่าวซึ่งได้แก่ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีน และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน มาใช้ตรวจวัดโฮโมซิสเตอีน ผู้วิจัยพบว่า ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน สามารถเพิ่มกระแสไฟฟ้าของฟิสิกแอโนดิกได้ 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ไม่ได้ตัดแปรรูป โดยฟิสิกที่ได้นี้มีลักษณะความเป็นฟิสิกที่ชัดเจน เมื่อคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) พบว่ามีค่าเพียง 7.21% จึงสรุปได้ว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองนี้มีความสามารถในการทำซ้ำที่ดี

คำสำคัญ : โฮโมซิสเตอีน, ไซคลิกโวลแทมเมตรี, ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน, คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น, คาร์บอนแบล็ค

Project title Surface modification of screen-printed carbon electrode for
determination
of homocysteine

Student Name Ms. Yada Sriviboon Student ID 5933025423

Advisor Name Janjira Panchompoo, D.Phil.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2019

Abstract

In this research, the screen-printed carbon electrodes (SPCEs) were in-lab fabricated and modified with various types of carbon nanomaterials for the determination of homocysteine. Basically, homocysteine is a thiol-containing amino acid chemically formed in the human body, and it can literally be used as a biological marker for cardiovascular diseases. The electrochemical determination of homocysteine by cyclic voltammetry (CV) using bare SPCEs was first studied, however; they gave quite poor voltammetric responses. Therefore, the electrode surface was subsequently modified with multi-wall carbon nanotube (MWCNT) and carbon black (CB) by either mixing into the carbon ink before electrode screen-printing, or drop-casting onto the electrode surface. The modified SPCEs (MWCNT-SPCEs, CB-SPCEs, CB/MWCNT-SPCEs) were then used for the detection of homocysteine. The results showed that the SPCEs modified with MWCNT (MWCNT-SPCEs) by mixing into the carbon ink in the ratio of 50 mg MWCNT : 1 g carbon ink could typically increase the oxidation current of homocysteine by 2 folds with a well-defined peak shape observed, compared to the bare SPCEs. The relative standard deviation (%RSD) of the MWCNT-SPCEs was calculated to be ca. 7.21%, indicating good reproducibility.

Keywords: homocysteine, cyclic voltammetry, screen-printed carbon electrode, multi-wall carbon nanotube, carbon black

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้และรายงานฉบับนี้ไม่สามารถสำเร็จได้เลย หากไม่ได้รับความอนุเคราะห์อย่างสูงสุดจาก อาจารย์ ดร.เจนจิรา ปานชมพู อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำด้านการดำเนินการทดลอง การเขียนเล่มรายงาน ให้ความเอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือ และสารเคมีที่จำเป็นในการทดลอง อีกทั้งยังเป็น กำลังใจที่ดีให้แก่ตัวข้าพเจ้า ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์ ประไพรักษ์สิทธิ์ และ ผู้ช่วย ศาสตราจารย์ ดร. นิปกา สุขภิมย์ ที่สละเวลาในการตรวจทานแก้ไข และให้เกียรติเป็นประธานและกรรมการ ในการสอบงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.สุรินทร์ยา ไตรภพ นางสาวสุชาภา นารานฤมล และนางสาว กานต์สุดา หล้าจ้อย ที่ให้คำปรึกษา แนะนำความรู้ต่าง ๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้ ไม่ว่าจะเป็นการใช้เครื่องมือต่าง ๆ และการดูแลรักษา เครื่องมือ

ขอขอบพระคุณกำลังใจและความช่วยเหลือจากคุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว รวมทั้งสมาชิกในภาค เคมี ผู้วิจัยขอระลึกในความกรุณาของท่านที่ได้กล่าวมาข้างต้นและไม่ได้เอ่ยนาม ณ ที่นี้

ผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	4
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	4
1.5 ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน (screen-printed electrode; SPE).....	6
1.6 เทคนิค Drop-casting	7
1.7 วัสดุคาร์บอนขนาดนาโนชนิดต่างๆ	7
1.7.1 คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (multiwall carbon nanotube).....	7
1.7.2 คาร์บอนแบล็ค (carbon black).....	8
บทที่ 2 การทดลอง	9
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	9
2.2 สารเคมี.....	10
2.3 การเตรียมสารละลาย	10
2.3.1 สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 M.....	10
2.3.2 โพแทสเซียมเพอร์ไรโซยานาइटความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 M.....	10

2.3.3	สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0.....	11
2.3.4	ไฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0....	11
2.3.5	เตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็คความเข้มข้น 1 mg/mL.....	11
2.4	การเตรียมขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนแบบต่าง ๆ.....	11
2.4.1	ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (SPCE).....	11
2.4.2	ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (MWCNT-SPCE).....	12
2.4.3	ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (CB-SPCE).....	13
2.4.4	การดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (CB-MWCNT-SPCE).....	13
2.5	การดัดแปรขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยเทคนิค Drop-casting.....	14
2.5.1	การดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ.....	14
2.5.2	การดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมกับคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายต่าง ๆ.....	14
2.5.3	การดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (Dropsens 110) ด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายชนิดต่างๆ.....	14
2.6	ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110).....	15
2.7	วิธีการทดลอง.....	15
2.7.1	การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโพแทสเซียมเพอร์ไรโซยานาไนต์ความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 M.....	15
2.7.2	การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของไฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0.....	16
2.7.3	การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของไฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 บน MWCNT-SPCE.....	16

2.7.4	การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน (MWCNT-SPCE).....	16
2.7.5	การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110).....	16
2.7.6	การศึกษาสัญญาณโฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 ตรวจวัดโดยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ (CB/MWCNT-SPCE).....	17
2.7.7	การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค	17
2.7.8	การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค.....	17
2.7.9	การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนและดัดแปรด้วยวิธี Drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (CB/MWCNT-SPCE)	17
2.7.10	การศึกษาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (CB-MWCNT-SPCE).....	18
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง		19
3.1	ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน	19
3.1.1	การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโพแทสเซียมเพอร์ไรโซยานาइटความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 M.....	19
3.1.2	การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0	20
3.2	ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (MWCNT-SPCE)	21
3.2.1	การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 บน MWCNT-SPCE	21
3.2.2	การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน (MWCNT-SPCE).....	23

3.2.3	การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110).....	26
3.3	การดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนแบล็ค (CB/MWCNT-SPCE).....	28
3.3.1	การศึกษาสัญญาณโฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 ตรวจวัดโดยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (CB/MWCNT-SPCE).....	28
3.3.2	การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค	30
3.3.3	การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค	33
3.3.4	การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการและดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ (CB/MWCNT-SPCE).....	35
3.3.5	การศึกษาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นและคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (CB-MWCNT-SPCE).....	38
3.4	แผนงานวิจัยที่ควรดำเนินการต่อไป.....	40
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง.....		41
เอกสารอ้างอิง		43
ประวัติผู้วิจัย.....		46

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	9
ตารางที่ 2.2 แสดงสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	10
ตารางที่ 3.1 กระแสไฟฟ้าของพีกแอนดิกที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนจำนวน 4 ชุดการทดลอง (ชุดการทดลองละ 3 ชั่วโมงซึ่งทำการพิมพ์สกรีนวันเดียวกัน (intraday) โดยขั้วไฟฟ้าต่างชุดการทดลองกันนั้นทำการพิมพ์สกรีนต่างวันกัน (interday))	24
ตารางที่ 3.2 กระแสไฟฟ้าของพีกแอนดิกที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน	25
ตารางที่ 3.3 กระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนและตัดแปรด้วยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวน้ำความเข้มข้น 1mg/mL ปริมาตร μL จำนวน 3 ชุด ชุดการทดลองละ 3 ชั่วโมง (ซึ่งทำการพิมพ์สกรีนวันเดียวกัน (intraday) โดยขั้วไฟฟ้าต่างชุดการทดลองกันนั้นทำการพิมพ์สกรีนต่างวันกัน (interday)).....	36
ตารางที่ 3.4 กระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนและตัดแปรด้วยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวน้ำ ความเข้มข้น 1mg/mL ปริมาตร $4\mu\text{L}$	37

สารบัญรูปร่างภาพ

	หน้า
รูปที่ 1.1 โครงสร้างของโฮโมซิสเตอีน	1
รูปที่ 1.2 กระบวนการเมแทบอลิซึมของโฮโมซิสเตอีน	2
รูปที่ 1.3 (ก) แสดงรูปแบบศักย์ไฟฟ้ากระตุ้น (ข) แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรม	6
รูปที่ 1.4 ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่ออกแบบและเตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ	7
รูปที่ 1.5 แสดงเทคนิค Drop-casting	7
รูปที่ 1.6 แสดงโครงสร้างคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น	8
รูปที่ 1.7 แสดงโครงสร้างของคาร์บอนแบล็ค.....	8
รูปที่ 2.1 (ก) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (ข) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (SPCE) ที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ.....	12
รูปที่ 2.2 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110).....	15
รูปที่ 3.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโพแทสเซียมเพอร์ไรโซยานาइटความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (แสดง 2 สแกนต่อเนื่อง).....	20
รูปที่ 3.2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (แสดง 2 สแกนต่อเนื่อง)	21
รูปที่ 3.3 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน (ก) 20 mg และ (ข) 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (แสดง 2 สแกนต่อเนื่อง).....	22
รูปที่ 3.4 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 20 และ 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนและขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ไม่ได้ดัดแปร (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)	23

รูปที่ 3.5 กราฟแสดงผลกระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์ สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน จำนวน 12 ขั้ว

25

รูปที่ 3.6 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบ ผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) (แสดง 2 สแกนต่อเนื่อง)

27

รูปที่ 3.7 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบ ผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสม คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ).....

27

รูปที่ 3.8 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยเปรียบเทียบการใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบ ผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน (เส้นสีเขียว) และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบ ผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) (เส้นสีม่วง) และดัดแปรพื้นผิวด้วยคาร์บอนแบล็คที่ กระจายตัวในน้ำ เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L (เส้นทึบ) และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (เส้นประ) (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ).....

29

รูปที่ 3.9 ค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟต บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยเปรียบเทียบการใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลาย ชั้นพิมพ์สกรีนและขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังที่ผลิตและจำหน่ายใน เชิงพาณิชย์ (DropSens 110) และดัดแปรพื้นผิวด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L (เส้นทึบ) (กราฟแท่งสีน้ำเงิน) และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (กราฟแท่งสีชมพู) (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)

30

รูปที่ 3.10 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบ ผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวใน ตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ ตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำ (EtOH/H₂O) ในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL

- น้ำ (H₂O) และไดเมทิลฟอร์มาไรไมด์ (DMF) เข้มข้น 1 mg/mL เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้า DropSens 110 ที่ไม่ได้ดัดแปร (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)..... 32
- รูปที่ 3.11 ค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ ตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำ (EtOH/H₂O) ในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL น้ำ (H₂O) และ ไดเมทิลฟอร์มาไรไมด์ (DMF) เข้มข้น 1 mg/mL เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้า DropSens 110 ที่ไม่ได้ดัดแปร (กราฟแห่งประ) (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)..... 32
- รูปที่ 3.12 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และดัดแปรโดยการ drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 (ก), 0.4 : 0.6 (ข), 0.3 : 0.7 (ค), 0.2 : 0.8 (ง), 0.1 : 0.9 (จ), และ 0 : 1 (ฉ) mL เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L..... 34
- รูปที่ 3.13 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และดัดแปรโดยการ drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.2 : 0.8 , 0.1 : 0.9 , และ 0 : 1 mL เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปร (0 : 0) (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)... 34
- รูปที่ 3.14 ค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และดัดแปรโดยการ drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.2 : 0.8 , 0.1 : 0.9 , และ 0 : 1 mL เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปร (0 : 0 mL)..... 35
- รูปที่ 3.15 กราฟแสดงผลกระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และดัดแปรด้วยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L จำนวน 9 ชั้น..... 37
- รูปที่ 3.16 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บน (1) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (2) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีน (3) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น

พิมพ์สกรีน (4) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองใน ห้องปฏิบัติการ (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ).....	39
รูปที่ 3.17 โซลติกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอน แบล็ค ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ตัดแปรโดยวิธี drop-casting คาร์บอน แบล็คที่กระจายตัวในน้ำ ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L ที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (ใช้สแกน แรกในการเปรียบเทียบ).....	39

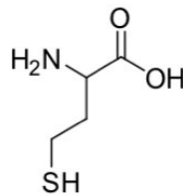
บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันโรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก[1] และจากข้อมูลสถิติ โรคหัวใจและหลอดเลือดยังเป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตในประเทศไทยอีกด้วย[2] ปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ได้แก่ ภาวะความดันโลหิตสูง ภาวะน้ำหนักเกิน ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง และภาวะไขมันผิดปกติ[3] แต่ก็มีผู้ป่วยบางรายที่ไม่มีภาวะข้างต้นแต่เป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด เนื่องจากมีระดับโฮโมซิสเตอีนในเลือดสูงกว่าปกติ วงการแพทย์จึงหันมาสนใจกับปัจจัยเสี่ยงชนิดใหม่ซึ่งคือภาวะโฮโมซิสเตอีนในเลือดมีระดับสูงกว่าปกติหรือ hyperhomocysteinemia[4-6] โฮโมซิสเตอีนจึงเป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพที่สำคัญของโรคหัวใจและหลอดเลือด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องพัฒนาวิธีการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนให้ถูกต้องและแม่นยำ เพื่อที่จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ได้

โฮโมซิสเตอีนเป็นกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ มีสูตรโมเลกุลคือ $C_4H_9NO_2S$ มีชื่อตามระบบ IUPAC คือ 2-amino-4-sulfanylbutanoic acid มีมวลโมลาร์เท่ากับ 135.19[7] โฮโมซิสเตอีนมีโครงสร้างดัง รูปที่ 1.1



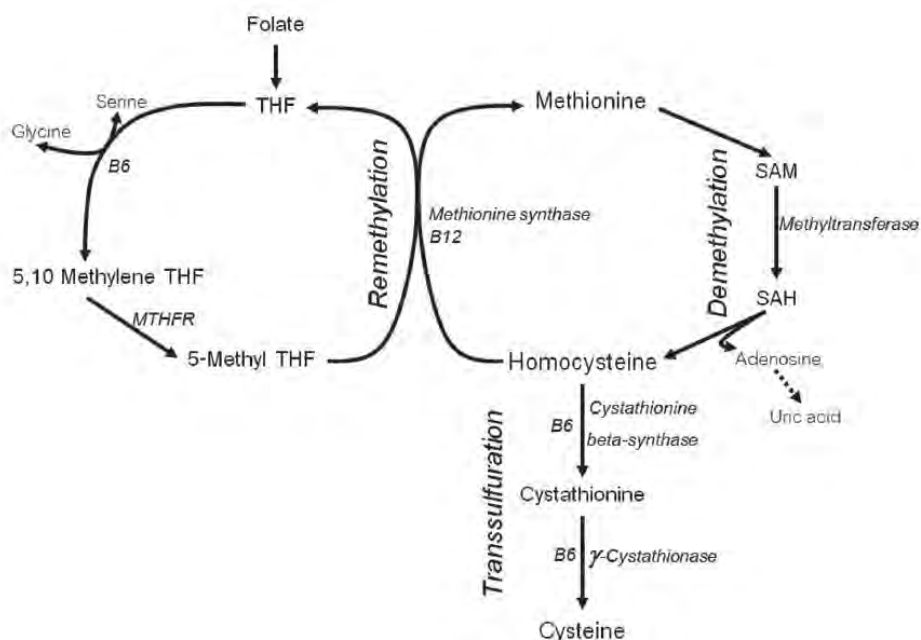
รูปที่ 1.1 โครงสร้างของโฮโมซิสเตอีน

โฮโมซิสเตอีนในร่างกายเกี่ยวข้องกับกระบวนการเผาผลาญ (metabolism) 2 เส้นทางคือ remethylation และ transsulfuration

กระบวนการ remethylation คือกระบวนการที่โฮโมซิสเตอีนเปลี่ยนเป็นเมไธโอนีน (methionine) โดยอาศัยเอนไซม์ methionine synthase (MS) และ N-5-methyltetrahydrofolate ซึ่งสารเหล่านี้ต้องอาศัยวิตามินบี 12 และโฟเลตเป็นโคแฟกเตอร์ ดังนั้นหากเอนไซม์และโคแฟกเตอร์ผิดปกติหรือมีปริมาณไม่เพียงพอ จะเกิดการสะสมของโฮโมซิสเตอีนในเลือดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีระดับโฮโมซิสเตอีนในเลือดสูงกว่าปกติ

กระบวนการ transsulfuration คือกระบวนการเปลี่ยนโฮโมซิสเตอีนไปเป็นซิสเตอีนโดยอาศัยเอนไซม์ cystathionine beta-synthase (CBS) และ γ -cystathionase โดยกระบวนการนี้ต้องการวิตามินบี 6 เป็นโคแฟกเตอร์ และกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นในภาวะที่ร่างกายมีระดับเมไธโอนีนที่เพียงพอหรือมากเกินไป จึงทำให้เกิดการอิมตัวของกระบวนการ remethylation หากเอนไซม์ cystathionine beta-synthase

ผิดปกติหรือมีปริมาณไม่เพียงพอ จะทำให้ร่างกายเปลี่ยนโฮโมซิสเตอีนเป็นซิสเตอีนไม่ได้ และเกิดการสะสมโฮโมซิสเตอีนในเลือดเพิ่มขึ้น (ดังแสดงในรูปที่ 1.2)[4,8] โดยปกติระดับโฮโมซิสเตอีนที่พบในเลือดของมนุษย์มีค่าระหว่าง 5-15 ไมโครโมลาร์[4,9] โดยทั่วไปโฮโมซิสเตอีนที่พบในร่างกายสามารถเกิดเป็นเรดิคัล (radical) และสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิไดซ์ในระบบที่มีตัวรับอิเล็กตรอนเป็นสารประกอบไดซัลไฟด์อย่างรวดเร็ว ดังสมการที่ 1[10]



รูปที่ 1.2 กระบวนการเมแทบอลิซึมของโฮโมซิสเตอีน[9]

การวิเคราะห์หาปริมาณโฮโมซิสเตอีนสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ โครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high-performance liquid chromatography, HPLC)[11] แมสสเปกโตรเมตรี (mass spectrometry)[12] สเปกโทรสโกปี (spectroscopy)[13] และวิธีทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical methods) เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 2002 X. Guan และคณะ[14] ได้ทำการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนและสารประกอบไทออลชนิดต่าง ๆ ผ่านรีเอเจนท์ของ Ellman โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีเหลว (liquid chromatography) ร่วมกับเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี งานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนและสารประกอบไทออลชนิดต่าง ๆ ได้พร้อมกัน แต่มีข้อด้อยคือไม่สามารถตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนในตัวอย่างจริงได้ เนื่องจากเกิดการรบกวนของสารประกอบอื่นในการเตรียมตัวอย่าง ใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ที่มีราคาสูง และต้องเตรียมสารตัวอย่างเป็นปริมาณมาก

จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามีความรวดเร็ว ง่ายต่อการใช้งาน ราคาไม่แพง เครื่องมือมีขนาดเล็ก สามารถตรวจวัดแบบเลือกจำเพาะได้ อีกทั้งยังสามารถดัดแปรผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุต่าง ๆ เพื่อเพิ่มความไว (sensitivity) ในการวิเคราะห์ได้อีกด้วย[15,16] ตัวอย่างเช่น ในปี ค.ศ. 2003 J. Wang และคณะ[17] ได้ศึกษาการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) ชนิดคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (multiwall carbon nanotube) เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าใช้งานชนิดคาร์บอนเพสต์ (carbon paste electrodes) ผู้วิจัยรายงานว่า พบสัญญาณฟลักออกซิเดชัน (oxidation peak) ของโฮโมซิสเตอีน และสัญญาณที่ได้จากขั้วไฟฟ้าชนิดคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นสามารถตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าขั้วไฟฟ้าชนิดคาร์บอนเพสต์ เนื่องจากสามารถเห็นสัญญาณของฟลักได้ชัดเจนกว่า (well-defined peak) โดยสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนที่ตรวจวัดโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นนั้นมีค่าสูงกว่าสัญญาณที่ตรวจวัดโดยใช้ขั้วไฟฟ้าชนิดคาร์บอนเพสต์ที่ไม่ได้ดัดแปรถึง 5 เท่า และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection) คือ 4.6 ไมโครโมลาร์ จากคุณสมบัติคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่มีขนาดเล็ก พื้นที่ผิวมาก จึงสามารถเพิ่มการนำไฟฟ้าและเพิ่มประสิทธิภาพของพื้นผิวขั้วไฟฟ้าใช้งานได้ แต่ถึงอย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ใช้ขั้วไฟฟ้าที่มีขนาดใหญ่ (macroelectrodes) ยกต่อการพกพาเพื่อใช้ในภาคสนามและต้องใช้สารปริมาณมากในการวิเคราะห์

ในปี ค.ศ. 2017 C. Viswanathan และคณะ[18] ได้ทำการดัดแปรขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอน (glassy carbon electrode) ด้วยคาร์บอนแบล็ค (carbon black) เพื่อใช้ในการตรวจวัดซิสเตอีน โดยใช้เทคนิค drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในเอทานอลบนขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) จากการทดลองพบว่าขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนที่ผ่านการดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คให้ค่าสัญญาณของการตรวจวัดสูงกว่าขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คถึง 20 เท่า ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection) คือ 45.87 นาโนโมลาร์ โดยสัญญาณที่ได้สามารถเห็นฟลักได้อย่างชัดเจน เนื่องจากคาร์บอนแบล็คมีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าที่ดีและสามารถเพิ่มพื้นที่ผิวให้ขั้วไฟฟ้าใช้งานได้

นอกจากนี้ ผู้วิจัยมีความสนใจเกี่ยวเทคโนโลยีการพิมพ์สกรีน (screen-printing technology) ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่เป็นที่รู้จักกันอย่างดีและเป็นที่ยอมรับในการผลิตขั้วไฟฟ้าจำนวนมาก เหมาะสำหรับการใช้งานที่ต้องการความรวดเร็ว ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อยในการตรวจวัด เช่น การใช้งานทางชีวภาพ เนื่องจากมีพื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าขนาดเล็กจึงต้องการสารตัวอย่างในการสัมผัสผิวหน้าขั้วไฟฟ้าปริมาณน้อย ไม่ต้องการใช้อุปกรณ์ที่ซับซ้อนและมีราคาแพง นอกจากนี้ การเลือกใช้วิธีการพิมพ์สกรีนในการผลิตขั้วไฟฟ้าสามารถทำการผลิตและออกแบบขั้วไฟฟ้าได้เอง ทำให้มีราคาถูก สามารถใช้แล้วทิ้ง และมีขนาดเล็ก สามารถพกพาได้สะดวก จึงเหมาะสำหรับการนำไปตรวจวิเคราะห์ในภาคสนาม[15,16] ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงต้องการเตรียมขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (screen-printed carbon electrode) ขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และทำการดัดแปรพื้นผิวของขั้วไฟฟ้างกล่าวด้วยวัสดุคาร์บอนขนาดนาโน (carbon-based nanomaterials) ชนิดต่าง ๆ เช่น คาร์บอนนาโนทิวป์ผนังหลายชั้น (multiwall-carbon nanotube) และคาร์บอนแบล็ค (carbon black)

ซึ่งเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าสูง มีพื้นที่ผิวมาก และมีความเสถียรทางเคมี จึงเหมาะสมที่จะใช้ในการพัฒนาขั้วไฟฟ้าเพื่อเพิ่มสัญญาณในการตรวจวัดต่อไป[17,18] จากนั้นผู้วิจัยจะทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่าง ๆ ในการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนชนิดต่าง ๆ ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อตัดแปรพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการด้วยวัสดุคาร์บอนขนาดนาโนชนิดต่าง ๆ สำหรับใช้ในการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า
2. เพื่อพัฒนาระบบการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้าโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่พัฒนาขึ้น ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าและขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีน ซึ่งสามารถบ่งชี้ความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด อีกทั้งยังได้ระบบการตรวจวัดที่มีขนาดเล็ก แม่นยำสูง ง่ายต่อการใช้งาน และสามารถตรวจวัดได้อย่างรวดเร็ว เหมาะกับการนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

เคมีไฟฟ้าเป็นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนประจุระหว่างสารละลายกับผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าและการเปลี่ยนแปลงทางเคมี โดยทั่วไปการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 ครึ่งปฏิกิริยา (half-reaction) คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) โดยปฏิกิริยาที่มีการสูญเสียอิเล็กตรอนซึ่งเกิดขึ้นบริเวณขั้วแอโนด (anode) เรียกว่าปฏิกิริยาออกซิเดชัน และปฏิกิริยาที่มีการรับอิเล็กตรอนซึ่งเกิดขึ้นบริเวณขั้วแคโทด (cathode) เรียกว่าปฏิกิริยารีดักชัน

สารแต่ละชนิดมีความว่องไวทางไฟฟ้า (electroactive species) แตกต่างกัน และปริมาณของสารมีความสัมพันธ์โดยตรงกับค่าทางไฟฟ้าที่วัดได้ ดังนั้นเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าจึงสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์ โดยเซลล์ไฟฟ้าเคมีแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ

1. เซลล์กัลวานิก (galvanic cell) คือเซลล์เคมีไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงพลังงานเคมีเป็นพลังงานไฟฟ้าโดยปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้เอง (spontaneous chemical reaction)
2. เซลล์อิเล็กโทรไลต์ (electrolytic cell) คือเซลล์เคมีไฟฟ้าที่เปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าเป็นพลังงานเคมีโดยปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากการผ่านกระแสไฟฟ้าภายนอกเข้าไปในเซลล์

เทคนิคโวลแทมเมตรีเป็นเทคนิคที่ให้ความต่างศักย์ที่มีหน่วยเป็นโวลต์ (volt) แก่ขั้วไฟฟ้า และวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นซึ่งมีหน่วยเป็นแอมแปร์ (ampere) การควบคุมค่าความต่างศักย์ของขั้วไฟฟ้าหรืออิเล็กโทรดนี้เทียบได้กับการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงาน ดังนั้นโมเลกุลของสารเคมีที่อยู่บนอิเล็กโทรดก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเกิดปฏิกิริยา การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนและเกิดกระแสไฟฟ้าขึ้น โดยกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับกับความสัมพันธ์ที่ต้องการวิเคราะห์ ดังนั้นเทคนิคโวลแทมเมตรีจึงนิยมใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณอย่างกว้างขวาง เซลล์เคมีไฟฟ้าที่ใช้ในเทคนิคโวลแทมเมตรีประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 3 ขั้ว ได้แก่

1. ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) เป็นขั้วไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชันของสารตัวอย่าง นิยมใช้โลหะเฉื่อย เช่น แพลทินัม, ทอง, กลาสซีคาร์บอน, และคาร์บอน
2. ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) เป็นขั้วไฟฟ้ามาตรฐานที่มีศักย์ไฟฟ้าคงที่ โดยไม่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าในวงจรหรือชนิดของสารตัวอย่าง ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงทำหน้าที่เปรียบเทียบกับศักย์ไฟฟ้าให้แก่ขั้วไฟฟ้าใช้งาน
3. ขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) เป็นขั้วไฟฟ้าที่ช่วยในการส่งผ่านอิเล็กตรอนหรือกระแสไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าใช้งาน มีคุณสมบัติเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดี โดยขั้วไฟฟ้าช่วยไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่างระหว่างการวิเคราะห์ วัสดุที่นิยมได้แก่ แพลทินัม, กลาสซีคาร์บอน, และคาร์บอน

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโวลแทมเมตรีมีหลายรูปแบบแตกต่างกันไปตามสัญญาณศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการกระตุ้น เช่น ลิเนียร์สวิปโวลแทมเมตรี (linear sweep voltammetry),พัลส์โวลแทมเมตรี (pulse voltammetry), หรือไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry) โดยในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีในการตรวจวัด

ไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry)

เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางไฟฟ้าที่สำคัญและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับศึกษาปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) ของสาร หลักการของเทคนิคนี้คือการให้ศักย์ไฟฟ้าอย่างต่อเนื่องแบบลิเนียร์สแกนแก่ขั้วไฟฟ้าใช้งานในสองทิศทาง คือ ให้ศักย์ไฟฟ้าไปในทางบวกมากขึ้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าไปในทางลบมากขึ้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) โดยให้ศักย์ไฟฟ้ากระตุ้นระหว่างขั้วไฟฟ้าใช้งานและขั้วไฟฟ้าอ้างอิง รูปแบบศักย์ไฟฟ้ากระตุ้นนี้เรียกว่าสัญญาณแบบสามเหลี่ยม (triangular) ดังแสดงในรูปที่ 1.3 (ก) กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นตามศักย์ไฟฟ้าที่ให้เข้าไปจะถูกวัดและรายงานในรูปไซคลิกโวลแทมโมแกรม ซึ่งเป็นกราฟที่พล็อตระกวางกระแสไฟฟ้าที่วัดได้ (แกน Y) เทียบกับศักย์ไฟฟ้าที่ให้ (แกน X) ดังแสดงในรูปที่ 1.3 (ข) จากรูปความต่างศักย์ตรงตำแหน่งที่กระแสแคโทดิกสูงสุดเป็นค่าศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยารีดักชัน (cathodic peak potential, E_{pc}) และตำแหน่งที่กระแสแอโนดิกสูงสุดเป็นค่าศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (anodic peak potential, E_{pa}) ซึ่งจาก

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมดังกล่าวจะเห็นว่าปฏิกิริยารีดักชันและปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นเกิดแบบผันกลับได้ (reversible redox reaction) และสามารถคำนวณหาค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐาน (standard electrode reduction potential, E^0) ได้จากสมการที่ 2

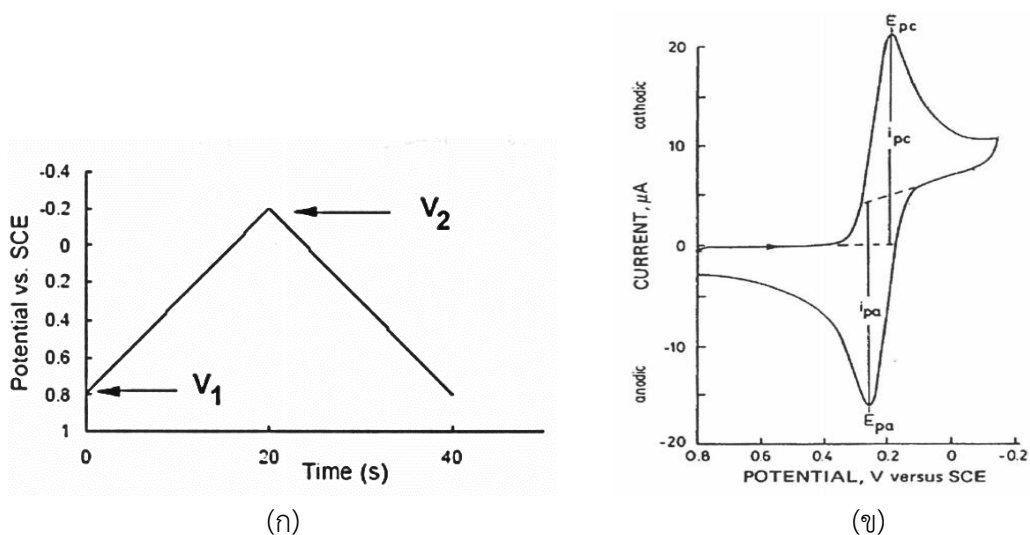
$$E^0 = \frac{1}{2} (E_{pa} + E_{pc}) \quad (2)$$

ค่ากระแสไฟฟ้าที่ตำแหน่ง E_{pc} เป็นกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยารีดักชันเรียกว่า กระแสของพีกแคโทด (cathodic peak current, i_{pc}) และกระแสไฟฟ้าที่ตำแหน่ง E_{pa} เป็นกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเรียกว่า กระแสของพีกแอนโนด (anodic peak current, i_{pa})

ในกรณีของสารที่สามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์แบบผันกลับได้ ค่ากระแสไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชันมีค่าเท่ากับปฏิกิริยารีดักชัน และค่าความต่างของศักย์ไฟฟ้าที่พีก (ΔE_p) สามารถบอกจำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาได้[20] ดังสมการที่ 3

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = \frac{0.059}{n} \quad (3)$$

โดยที่ n คือจำนวนอิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชัน

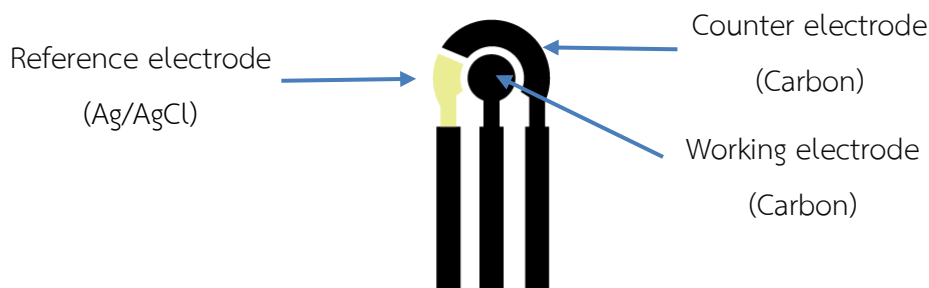


รูปที่ 1.3 (ก) แสดงรูปแบบศักย์ไฟฟ้ากระตุ้น (ข) แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรม[20]

1.5 ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน (screen-printed electrode; SPE)

ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode), ขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode), และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) อยู่บนแผ่นซับสเตรท ดังรูปที่ 1.4

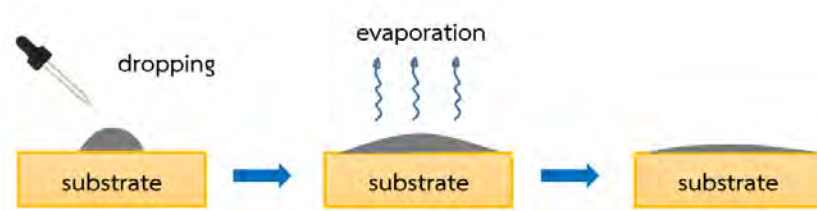
เทคโนโลยีพิมพ์สกรีนเป็นเทคโนโลยีที่ได้รับการยอมรับสำหรับการผลิตขั้วไฟฟ้า โดยสามารถผลิตขั้วไฟฟ้าได้เป็นจำนวนมาก รวดเร็ว และมีราคาไม่แพง สามารถออกแบบขั้วไฟฟ้าได้เองเพื่อให้เหมาะสมกับการตรวจวัดสารตัวอย่างในแต่ละชนิด ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเป็นขั้วไฟฟ้าที่ย่อเล็กโทรดให้มีขนาดเล็ก จึงใช้ปริมาณสารตัวอย่างในการตรวจวัดปริมาณน้อยและเหมาะสมอย่างมากในการนำไปตรวจวัดในภาคสนาม[21]



รูปที่ 1.4 ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่ออกแบบและเตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ

1.6 เทคนิค Drop-casting

เป็นเทคนิคการแพร่กระจายอนุภาคแขวนลอยบนผิวขั้วสเตรทและปล่อยให้แห้งภายในสภาวะที่ควบคุม ซึ่งความหนาของฟิล์มขึ้นอยู่กับปริมาณการกระจายตัวที่ใช้และความเข้มข้นของอนุภาค ข้อดีของเทคนิคนี้คือสามารถทำได้รวดเร็ว ง่าย และเหมาะกับการสร้างผิวฟิล์มบริเวณพื้นที่ขนาดเล็ก[22]

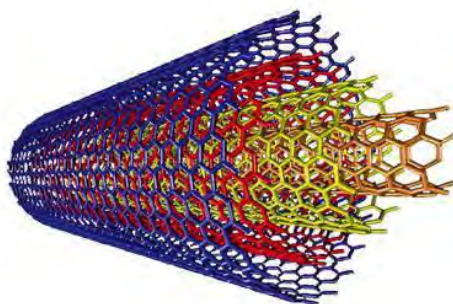


รูปที่ 1.5 แสดงเทคนิค Drop-casting

1.7 วัสดุคาร์บอนขนาดนาโนชนิดต่างๆ

1.7.1 คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (multiwall carbon nanotube)

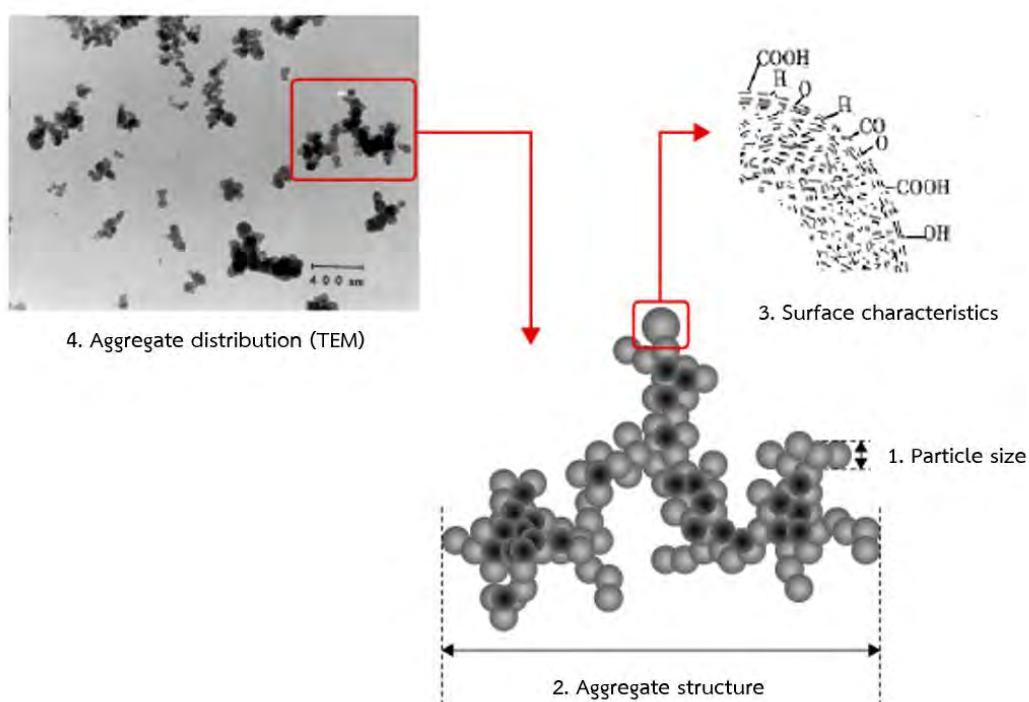
คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (MWCNT) เป็นวัสดุขนาดนาโนรูปทรงกระบอกยาวที่เรียงตัวจากคาร์บอน sp^2 เป็นโครงผลึกแบบเฮกซะโกนอล (hexagonal lattices) เส้นผ่านศูนย์กลางท่อมีขนาดเท่ากับ 3 - 30 นาโนเมตร สมบัติทั้งทางกลและทางไฟฟ้าสามารถควบคุมได้ด้วยขนาดศูนย์กลางของท่อและวงแหวนทกเหลี่ยม โดยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นมีคุณสมบัติเสถียรมากต่อทั้งความร้อนและสารเคมี เหมาะอย่างยิ่งที่จะใช้เป็นตัวตรวจวัดทางชีวภาพเนื่องจากเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดีและมีพื้นที่ผิวสำหรับตรึงสารทางชีวภาพสูงทำให้สามารถเพิ่มขนาดสัญญาณได้ [23-24]



รูปที่ 1.6 แสดงโครงสร้างคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น[24]

1.7.2 คาร์บอนแบล็ค (carbon black)

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของการผลิตปิโตรเลียมหนัก หน่วยเล็กที่สุดคืออะตอมคาร์บอนซึ่งจะอยู่ในรูปของมวลรวม (aggregates) โดยบริเวณผิวของคาร์บอนแบล็คมีหมู่ฟังก์ชันชนิดต่าง ๆ เกาะอยู่ เช่น ไฮดรอกซี (-OH) และ คาร์บอกซี (-COOH) โดยส่วนใหญ่คาร์บอนแบล็คจะถูกนำไปผสมกับยางประเภทต่าง ๆ เพื่อเสริมแรง เนื่องจากมีคุณสมบัติทนต่อแรงเสียดทานและมีความยืดหยุ่นสูง อีกทั้งคาร์บอนแบล็คยังมีคุณสมบัติ เป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดี มีพื้นที่ผิวสูง และมีราคาถูก คาร์บอนแบล็คจึงถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมทั่วโลก[25,26]



รูปที่ 1.7 แสดงโครงสร้างของคาร์บอนแบล็ค[26]

บทที่ 2
การทดลอง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

ตารางที่ 2.1 แสดงเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์	ผู้ผลิต
เครื่องโพเทนซีโอสแตต/PalmSens3	PalmSens, the Netherlands
ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (DropSens110)	DropSens, Spain
เครื่องโซนิเคเตอร์	GTSONIC, China
เครื่องเขย่าสาร	Velp scientifica, Italy
หลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 mL	Eppendorf, UK
ไมโครปิเปตขนาดต่างๆ	Eppendorf, UK
พีเอชมิเตอร์	Mettler toledo, Switzerland
เครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ Milli-Q	Millipore, USA
เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 5 ตำแหน่ง	Mettler toledo, Switzerland
ตู้อบความร้อน	
ตู้ดูดความชื้น	
เทมเพลตสำหรับสกรีนขั้วไฟฟ้าใช้งาน, ขั้วไฟฟ้าช่วย, และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง	
แผ่น PVC	
สายไฟปากจระเข้	

2.2 สารเคมี

ตารางที่ 2.2 แสดงสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	ผู้ผลิต
Conductive ink, Carbon paste	GWENT, UK
Conductive ink, Silver/Silver Chloride	GWENT, UK
Potassium dihydrogen phosphate	MERK, Germany
di-Potassium hydrogen phosphate	MERK, Germany
DL-Homocysteine, $\geq 95\%$	Sigma Aldrich, Singapore
Carbon black/VXC72, particle diameter: ~ 20 nm	Cabot, China
Multiwall carbon nanotube, outside diameter: 10-20 nm, length: 10-30 μm	CTi & SCIENCE, Thailand
di-Ethylene glycol	Sigma Aldrich, Singapore
Ethanol	MERK, Germany
Acetone	MERK, Germany
N,N-dimethylformamide (DMF)	MERK, Germany
Chloroform	MERK, Germany
Potassium hexacyanoferrate (III)	Sigma Aldrich, Singapore
Potassium Chloride	Sigma Aldrich, Singapore

2.3 การเตรียมสารละลาย

2.3.1 สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 M

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.74 g ละลายในน้ำบริสุทธิ์ Milli-Q และปรับปริมาตรจนได้ 100 mL

2.3.2 โพแทสเซียมเฟอร์ไรโซยานด์ความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 M

ชั่งโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซยานด์ 3.29 mg ละลายในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 M และปรับปริมาตรจนได้ 10 mL

2.3.3 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 25 mL โดยชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 3.40 g ละลายในน้ำบริสุทธิ์ Milli-Q และปรับปริมาตรจนได้ 25 mL และเตรียมสารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 50 mL โดยชั่งไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 8.71 g ละลายในน้ำบริสุทธิ์ Milli-Q และปรับปริมาตรจนได้ 50 mL จากนั้นนำสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 19.25 mL ผสมกับสารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 30.75 mL คนให้เข้ากัน จากนั้นปรับพีเอชโดยใช้โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (เกล็ดกรด) และสารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (เกล็ดเบส) จนพีเอชเท่ากับ 7 จะได้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.1 M จากนั้นทำการเจือจางสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ได้โดยน้ำบริสุทธิ์ Milli-Q ให้มีความเข้มข้น 0.1 M

2.3.4 ไฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0

ชั่งไฮโมซิสเตอิน 0.676 mg ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 mL ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0

2.3.5 เตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็คความเข้มข้น 1 mg/mL

บดคาร์บอนแบล็คจนเป็นผงละเอียด จากนั้นชั่งคาร์บอนแบล็ค 1 mg ต่อตัวทำละลาย 1 mL โดยเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็คในน้ำ, เอทานอล, ไตเมทิลฟอร์มาไมด์, คลอโรฟอร์ม, และตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ (v/v) ได้แก่ 0.5 : 0.5, 0.4 : 0.6, 0.3 : 0.7, 0.2 : 0.8, 0.1 : 0.9 mL จากนั้นนำไปโซนิเคตที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

2.4 การเตรียมขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนแบบต่าง ๆ

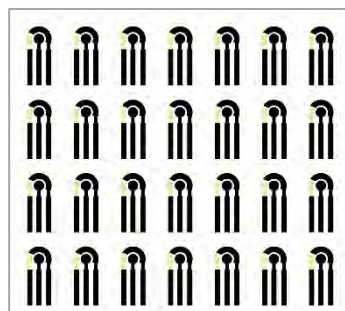
2.4.1 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (SPCE)

1. ตัดแผ่น PVC ให้มีขนาด 14 x 13 cm
2. ทำความสะอาดแผ่น PVC โดยการเช็ดด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
3. ทำความสะอาดเทมเพลตโดยล้างด้วยอะซิโตนตามด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
4. นำเทมเพลตสำหรับสกรีนขั้วไฟฟ้าอ้างอิงมาวางบนแผ่น PVC แล้วปาดหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์ ทั้งหมดให้อยู่บนเทมเพลต
5. จากนั้นนำแผ่น PVC ที่มีหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์ ขึ้นรูปเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ดังรูปที่ 2.1 (ก) ไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

6. ทำความสะอาดเทมเพลตโดยล้างด้วยอะซิโตนตามด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
7. ทำซ้ำตามข้อ 3 ถึงข้อ 6 โดยเปลี่ยนเทมเพลตเป็นเทมเพลตสำหรับสกรีนข้าวไฟฟ้าใช้งานและข้าวไฟฟ้าช่วย และเปลี่ยนหมึกพิมพ์สกรีนเป็นหมึกพิมพ์คาร์บอน
8. ได้ข้าวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนพร้อมใช้งานดังรูปที่ 2.1 (ข) โดยต้องเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น



(ก)



(ข)

รูปที่ 2.1 (ก) ข้าวไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (ข) ข้าวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (SPCE) ที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ

2.4.2 ข้าวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (MWCNT-SPCE)

1. ตัดแผ่น PVC ให้มีขนาด 14 x 13 cm
2. ทำความสะอาดแผ่น PVC โดยการเช็ดด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
3. ทำความสะอาดเทมเพลตโดยล้างด้วยอะซิโตนตามด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
4. นำเทมเพลตสำหรับสกรีนข้าวไฟฟ้าอ้างอิงมาวางบนแผ่น PVC แล้วปาดหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ ทั้งหมดให้อยู่บนเทมเพลต
5. จากนั้นนำแผ่น PVC ที่มีหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ ขึ้นรูปเป็นข้าวไฟฟ้าอ้างอิง ดังรูปที่ 2.1 (ก) ไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
6. นำเทมเพลตมาทำความสะอาดด้วยอะซิโตนตามด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
7. ทำซ้ำตามข้อ 3 ถึงข้อ 6 โดยเปลี่ยนเทมเพลตเป็นเทมเพลตสำหรับสกรีนข้าวไฟฟ้าใช้งานและข้าวไฟฟ้าช่วย และเปลี่ยนหมึกพิมพ์สกรีนเป็นหมึกพิมพ์คาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นในอัตราส่วน 20 mg และ 50 mg ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน ที่ผ่านการโชนิเคตที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

8. ได้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนพร้อมใช้งาน โดยต้องเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น

2.4.3 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (CB-SPCE)

1. ตัดแผ่น PVC ให้มีขนาด 14 x 13 cm
2. ทำความสะอาดแผ่น PVC โดยการเช็ดด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
3. ทำความสะอาดเทมเพลตโดยล้างด้วยอะซิโตนตามด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
4. นำเทมเพลตสำหรับสกรีนขั้วไฟฟ้าอ้างอิงมาวางบนแผ่น PVC แล้วปาดหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์ ทั้งหมดให้อยู่บนเทมเพลต
5. จากนั้นนำแผ่น PVC ที่มีหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์ ขึ้นรูปเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ดังรูปที่ 2.1 (ก) ไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
6. นำเทมเพลตมาทำความสะอาดด้วยอะซิโตนตามด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
7. ทำซ้ำตามข้อ 3 ถึงข้อ 6 โดยเปลี่ยนเทมเพลตเป็นเทมเพลตสำหรับสกรีนขั้วไฟฟ้าใช้งาน และขั้วไฟฟ้าช่วย และเปลี่ยนหมึกพิมพ์สกรีนเป็นหมึกพิมพ์คาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็ค ในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนแบล็ค ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน ที่ผ่านการโซนิเคตที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที
8. ได้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีนพร้อมใช้งาน โดยต้องเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น

2.4.4 การดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (CB-MWCNT-SPCE)

1. ตัดแผ่น PVC ให้มีขนาด 14 x 13 cm
2. ทำความสะอาดแผ่น PVC โดยการเช็ดด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
3. ทำความสะอาดเทมเพลตโดยล้างด้วยอะซิโตนตามด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง
4. นำเทมเพลตสำหรับสกรีนขั้วไฟฟ้าอ้างอิงมาวางบนแผ่น PVC แล้วปาดหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์ ทั้งหมดให้อยู่บนเทมเพลต
5. จากนั้นนำแผ่น PVC ที่มีหมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คัลโรด์ ขึ้นรูปเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ดังรูปที่ 2.1 (ก) ไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
6. นำเทมเพลตมาทำความสะอาดด้วยอะซิโตนตามด้วยเอทานอลแล้วรอให้แห้ง

7. ทำซ้ำตามข้อ 3 ถึงข้อ 6 โดยเปลี่ยนเทมเพลตเป็นเทมเพลตสำหรับสกรีนข้าวไฟฟ้าใช้งาน และข้าวไฟฟ้าช่วย และเปลี่ยนหมึกพิมพ์สกรีนเป็นหมึกพิมพ์คาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็ค และคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนแบล็ค ต่อ 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน ที่ผ่านการโซนิเคตที่อุณหภูมิตั้งเป็นเวลา 5 นาที
8. ได้ข้าวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนพร้อมใช้งาน โดยต้องเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น

2.5 การตัดแปรข้าวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยเทคนิค Drop-casting

2.5.1 การตัดแปรข้าวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ

1. นำสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็คเตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.5 ที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 4 μ L มาหยดบริเวณข้าวไฟฟ้าใช้งานของข้าวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน
2. ทิ้งให้แห้งในตู้ดูดความชื้น 20 นาที

2.5.2 การตัดแปรข้าวไฟฟ้าคาร์บอนผสมกับคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายต่าง ๆ

1. นำสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็คที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.5 โดยเลือกเฉพาะคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำและตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ (v/v) ได้แก่ 0.5 : 0.5, 0.4 : 0.6, 0.3 : 0.7, 0.2 : 0.8, 0.1 : 0.9 mL ปริมาตร 4 μ L มาหยดบริเวณข้าวไฟฟ้าใช้งานของข้าวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน
2. ทิ้งให้แห้งในตู้ดูดความชื้น 20 นาที

2.5.3 การตัดแปรข้าวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ตัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (Dropsens 110) ด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

1. นำสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็คที่เตรียมได้จากข้อ 2.3.5 ในตัวทำละลายต่าง ๆ โดยเลือกเฉพาะคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ, เอทานอล, ไดมethylฟอร์มมาไมด์, คลอโรฟอร์ม และตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL

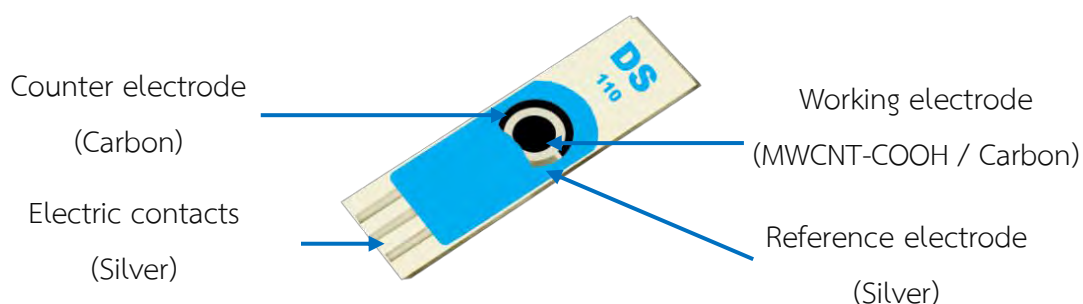
ปริมาตร 4 μL มาหยดบริเวณขั้วไฟฟ้าใช้งานของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110)

2. ทิ้งให้แห้งในตู้ดูดความชื้น 20 นาที

2.6 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110)

ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่มีหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลเกาะอยู่ โดยมีชั้นสเตรทเป็นเซรามิกขนาด ความยาว \times ความกว้าง \times ความสูง เท่ากับ $33 \times 10 \times 0.5$ mm ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 3 ขั้วได้แก่

1. ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) : คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น-หมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิล/คาร์บอน
2. ขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) : คาร์บอน
3. ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) : เงิน



รูปที่ 2.2 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110)

2.7 วิธีการทดลอง

2.7.1 การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 M

ปิเปตโพแทสเซียมเพอร์โรซายาไนต์ที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.2 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.4.1 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง +1.2 V ถึง -1.2 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 1 V/s

2.7.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0

ปิเปตโฮโมซิสเตอินที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.4.1 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s

2.7.3 การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 บน MWCNT-SPCE

ปิเปตโฮโมซิสเตอินที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.4.2 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s

2.7.4 การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน (MWCNT-SPCE)

โดยปิเปตโฮโมซิสเตอินที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.4.2 โดยเลือกเฉพาะอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน โดยขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในชุดการทดลองเดียวกันนั้นจะทำการพิมพ์สกรีนวันเดียวกัน (intraday) และขั้วไฟฟ้าในชุดการทดลองที่ต่างกันนั้นจะทำการพิมพ์สกรีนต่างวันกัน (interday) จากนั้นตรวจวัดโฮโมซิสเตอิน สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ในการตรวจวัดในแต่ละวัน (intraday) ทำซ้ำ 3 ขั้วไฟฟ้า

2.7.5 การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110)

ปิเปตโฮโมซิสเตอินที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s

2.7.6 การศึกษาสัญญาณโฮโมซิสเตอีนเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 ตรวจวัดโดยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ (CB/MWCNT-SPCE)

ปิเปตโฮโมซิสเตอีนที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.5.2 และ 2.5.3 โดยเลือกเฉพาะขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s

2.7.7 การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค

ปิเปตโฮโมซิสเตอีนที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.5.3 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s

2.7.8 การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค

ปิเปตโฮโมซิสเตอีนที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.5.2 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s

2.7.9 การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนและดัดแปรด้วยวิธี Drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (CB/MWCNT-SPCE)

ปิเปตโฮโมซิสเตอีนที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.5.2 โดยเลือกใช้เฉพาะขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ โดยขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในชุดการทดลองเดียวกันนั้นจะทำการพิมพ์สกรีนวันเดียวกัน (intraday) และขั้วไฟฟ้าในชุดการทดลองที่ต่างกันนั้นจะทำการพิมพ์สกรีนต่างวันกัน (interday) จากนั้นตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนโดยปิเปตโฮโมซิสเตอีนที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ในการตรวจวัดในแต่ละวัน (intraday) ทำซ้ำ 3 ขั้วไฟฟ้า

2.7.10 การศึกษาชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น พิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (CB-MWCNT-SPCE)

ปิเปตโฮโมซิสเตอีนที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.3.4 ปริมาตร 100 μL หยดลงบนชีวไฟฟ้าที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.4.1, 2.4.2, 2.4.3, และ 2.4.4 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s

บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

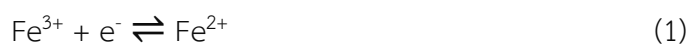
งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนขนาดนาโน (carbon-based nanomaterials) ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (multiwall-carbon nanotube) และคาร์บอนแบล็ค (carbon black) สำหรับตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ได้ผลการทดลองดังนี้

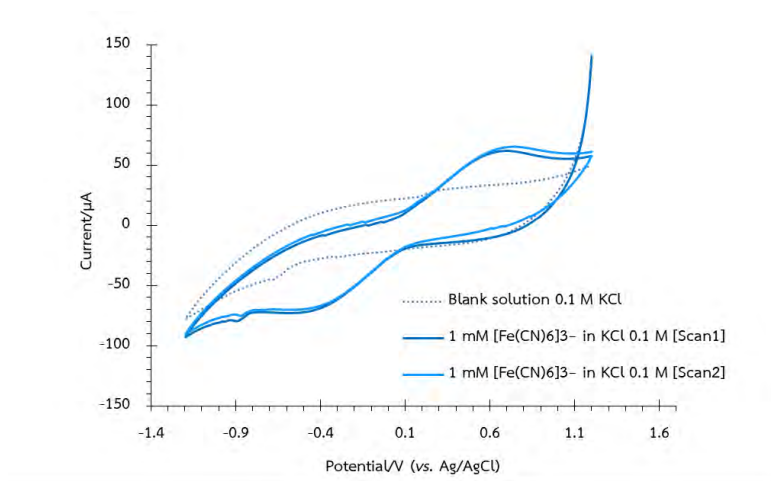
3.1 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

ในหัวข้อการทดลองนี้ได้ทดสอบความสามารถในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ออกแบบและเตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

3.1.1 การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโพแทสเซียมเพอร์ไรโซยานด์ความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 M

จากการตรวจวัดโพแทสเซียมเพอร์ไรโซยานด์ มีสูตรทางเคมีคือ $K_3[Fe(CN)_6]$ ความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง +1.2 V ถึง -1.2 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี และให้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 1 V/s ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.1 จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้พบสัญญาณรีดักชัน (reduction peak) ของ Fe^{3+} บริเวณศักย์ไฟฟ้าประมาณ -0.5 V (vs. Ag/AgCl) มีค่ากระแสไฟฟ้าของพีกแคโทดิกเท่ากับ 49 μA และสัญญาณออกซิเดชัน (oxidation peak) ของ Fe^{2+} บริเวณศักย์ไฟฟ้าประมาณ +0.65 V (vs. Ag/AgCl) มีค่ากระแสไฟฟ้าของพีกแอโนดิกเท่ากับ 43 μA แสดงว่า Fe^{3+} สามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์แบบผันกลับได้ (reversible redox reaction) บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ ดังสมการที่ (1) สรุปได้ว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ออกแบบและเตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการนี้สามารถใช้งานได้ดี โดยสามารถเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าแบบผันกลับได้



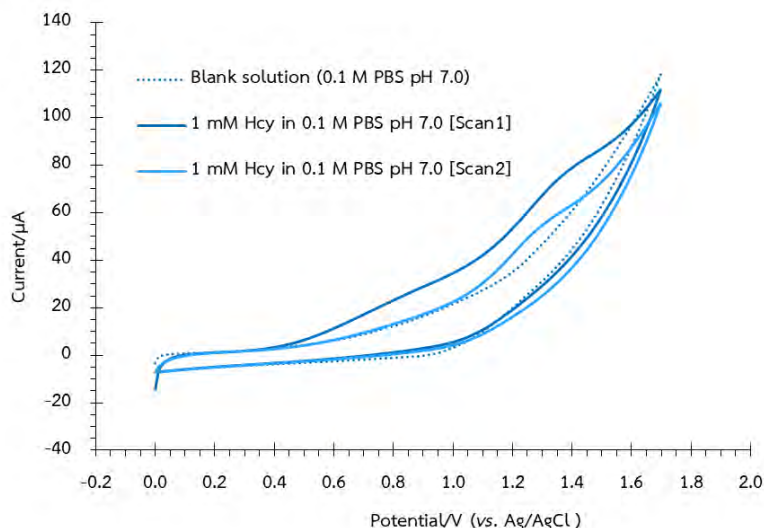


รูปที่ 3.1 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (แสดง 2 สแกนต่อเนื่อง)

3.1.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0

จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอินความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ได้ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมดังแสดงในรูปที่ 3.2 กราฟเส้นประคือสัญญาณของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ปราศจากโฮโมซิสเตอิน (blank solution) พบว่าไม่มีพีกใด ๆ เกิดขึ้น บ่งบอกว่าไม่มีสารที่มีคุณสมบัติว่องไวทางไฟฟ้า (electroactive species) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และเมื่อตรวจวัดโฮโมซิสเตอินในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ได้กราฟเส้นทึบ พบว่าเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าไปทางบวกเกิดพีกออกซิเดชัน (oxidation peak) ขึ้น และเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้ากลับมาทางลบ ไม่ปรากฏสัญญาณรีดักชัน (reduction peak) ขึ้น ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีที่พบว่าโฮโมซิสเตอินสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันบริเวณผิวหน้าอิเล็กโทรดได้ และจากปฏิกิริยาออกซิเดชันนี้จะเกิดเรดิคัล ซึ่งสามารถเกิดเป็นสารประกอบไดซัลไฟด์อย่างรวดเร็ว ดังสมการที่ 2 และปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอินที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาแบบไม่ย้อนกลับ (irreversible reaction)[10] แต่อย่างไรก็ตามพีกออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอินที่ได้นี้ค่อนข้างกว้าง (broad peak) และไม่ชัดเจน (ill-defined peak) แสดงว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการนั้นมีสภาพไว (sensitivity) ต่ำ ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวใช้งาน (active surface area) และสภาพไว (sensitivity) ต่อไป





รูปที่ 3.2 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (แสดง 2 สแกนต่อเนื่อง)

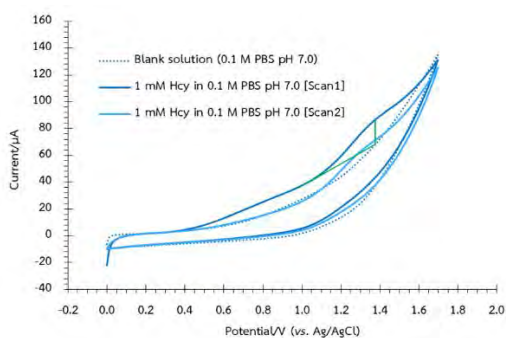
3.2 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (MWCNT-SPCE)

จากการศึกษาค้นคว้าสมบัติของคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (multiwall-carbon nanotube) พบว่าเป็นวัสดุที่มีขนาดเล็กระดับนาโน จึงมีพื้นที่ผิวมาก มีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าสูง (high conductivity) และมีความเสถียรทางเคมี[23,24] ในหัวข้อการทดลองนี้ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาการดัดแปรผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนโดยใช้คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น จากนั้นศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) และศึกษาสัญญาณของขั้วไฟฟ้าที่เตรียมขึ้นและดัดแปรในห้องปฏิบัติการนี้เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์

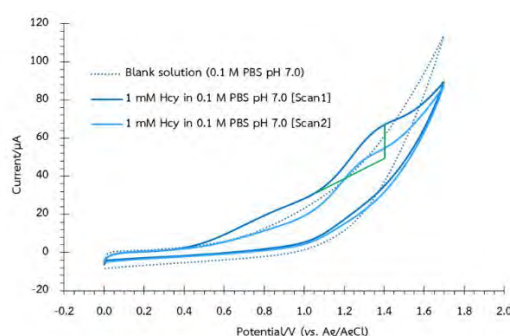
3.2.1 การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอีนเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 บน MWCNT-SPCE

ในหัวข้อการทดลองนี้ผู้วิจัยได้ทำการดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนโดยผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นลงในหมึกพิมพ์คาร์บอนในอัตราส่วนแตกต่างกันคือ 20 mg และ 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน จากนั้นทำการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0 โดยสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.3 จากไชคลิกโวลแทมโมแกรม พบสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่มีคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นผสมลงในหมึกพิมพ์คาร์บอนทั้ง 2 อัตราส่วนคือ 20 mg (รูป 3.3 ก) และ 50 mg (รูป 3.3 ข) ต่อหมึกพิมพ์คาร์บอน

1 g และเมื่อนำสัญญาณที่ได้ (ซึ่งใช้วิธีการค้นหาพีก (peak search) ในโปรแกรม PStTrace 5.5 เพื่อวัดค่ากระแสของพีกแอนดิก ได้ผลการวัดความสูงของพีกดังแสดงในรูป 3.4) มาเปรียบเทียบกับเพื่อหาสภาวะการตัดแปรขั้วไฟฟ้าที่เหมาะสมที่สุดในการตรวจวัด โดยเลือกเปรียบเทียบเฉพาะสแกนที่ 1 ของแต่ละขั้วพบว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน มีพีกออกซิเดชันเกิดขึ้นที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.37 V (vs. Ag/AgCl) มีค่ากระแสไฟฟ้าของพีกแอนดิกเท่ากับ 22 μ A และกระแสมีค่าเพิ่มขึ้น 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ไม่ได้ตัดแปร โดยพีกที่ได้มีลักษณะความเป็นพีกที่ชัดเจน (well-defined peak) ที่สุด แสดงให้เห็นว่าเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่ดียิ่งขึ้นบนขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรนี้ ทำให้การตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ผ่านการตัดแปรและขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 20 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน ทั้งนี้เกิดจากการผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นในหมึกพิมพ์คาร์บอนนั้นจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของขั้วไฟฟ้าในการเกิดปฏิกิริยา แต่การผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นในอัตราส่วน 20 mg ต่อหมึกพิมพ์คาร์บอน 1 g นั้นอาจจะเกิดการกระจายตัวไม่ทั่วทั้งพื้นผิว ทำให้ไม่เพียงพอที่จะเพิ่มประสิทธิภาพของขั้วในการตรวจวัด ดังนั้นผู้ท้าววิจัยจึงเลือกใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนในการตรวจวัดขั้นต่อไป

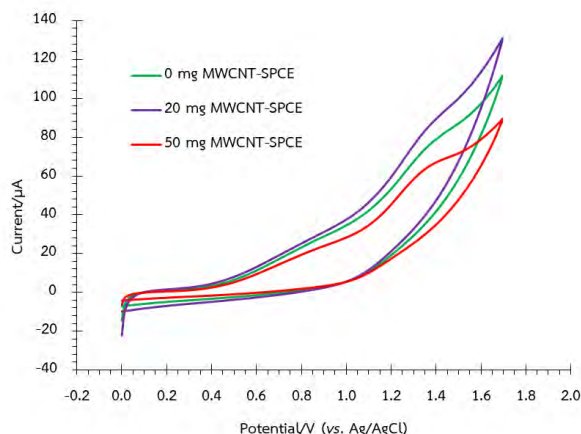


(ก)



(ข)

รูปที่ 3.3 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน (ก) 20 mg และ (ข) 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (แสดง 2 สแกนต่อเนื่อง)



รูปที่ 3.4 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดไฮโมซิสเตอินความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 20 และ 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ไม่ได้ดัดแปร (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)

3.2.2 การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน (MWCNT-SPCE)

จากการทดลองห่าวข้อที่แล้ว ผู้วิจัยเลือกใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนสำหรับตรวจวัดไฮโมซิสเตอิน ลำดับต่อมาผู้วิจัยได้ศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้างกล่าว โดยทดสอบการพิมพ์สกรีนขั้วไฟฟ้า 4 ชุดการทดลอง ซึ่งขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในชุดการทดลองเดียวกันนั้นจะทำการพิมพ์สกรีนวันเดียวกัน (intraday) และขั้วไฟฟ้าในชุดการทดลองที่ต่างกันนั้นจะทำการพิมพ์สกรีนต่างวันกัน (interday) จากนั้นตรวจวัดไฮโมซิสเตอินความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s สามารถวัดสัญญาณของพีกออกซิเดชันได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.37 V (vs. Ag/AgCl) (ใช้สแกนแรกในการวิเคราะห์) ได้กระแสไฟฟ้าของพีกแอนอดิกดังแสดงในตารางที่ 3.1 จะเห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบค่ากระแสไฟฟ้าที่วัดได้จากขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่ผลิตในวันเดียวกันและใช้ในชุดการทดลองเดียวกัน (intraday) จำนวน 3 ขั้ว พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันมาก เมื่อคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ในแต่ละชุดการทดลองเดียวกันนี้ได้เท่ากับ 11.02%, 6.93%, 2.47%, และ 5.09% ซึ่งถือเป็นค่าที่ยอมรับได้ และเมื่อนำผลของกระแสไฟฟ้าของพีกแอนอดิกที่ได้จากทุกขั้วในทุกชุดการทดลอง (ดังแสดงในตารางที่ 3.2 และรูปที่ 3.5) มาวิเคราะห์รวมกันเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการทำซ้ำระหว่างวัน (interday) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ได้เท่ากับ 7.21% ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ แสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอน

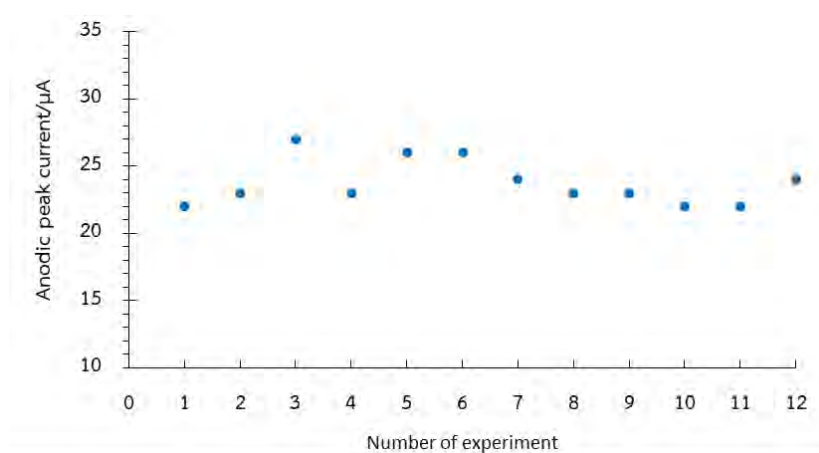
ผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่ออกแบบและเตรียมเองในห้องปฏิบัติการมีความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ที่ดี

ตารางที่ 3.1 กระแสไฟฟ้าของฟิสิกส์แอโนดิกที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนจำนวน 4 ชุดการทดลอง (ชุดการทดลองละ 3 ขั้วซึ่งทำการพิมพ์สกรีนวันเดียวกัน (intraday) โดยขั้วไฟฟ้าต่างชุดการทดลองกันนั้นทำการพิมพ์สกรีนต่างวันกัน (interday))

ขั้วไฟฟ้า	กระแสไฟฟ้า (μA)	ค่าเฉลี่ย (μA)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (μA)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (%RSD)
ชุดที่1 (16/12/2019)				
1	22.00	24.00	2.64	11.02
2	23.00			
3	27.00			
ชุดที่2 (6/01/2020)				
1	23.00	25.00	1.73	6.93
2	26.00			
3	26.00			
ชุดที่3 (29/01/2020)				
1	24.00	23.33	0.58	2.47
2	23.00			
3	23.00			
ชุดที่ (24/02/2020)				
1	22.00	22.67	1.15	5.09
2	22.00			
3	24.00			

ตารางที่ 3.2 กระแสไฟฟ้าของฟีกแอโนดิกที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน

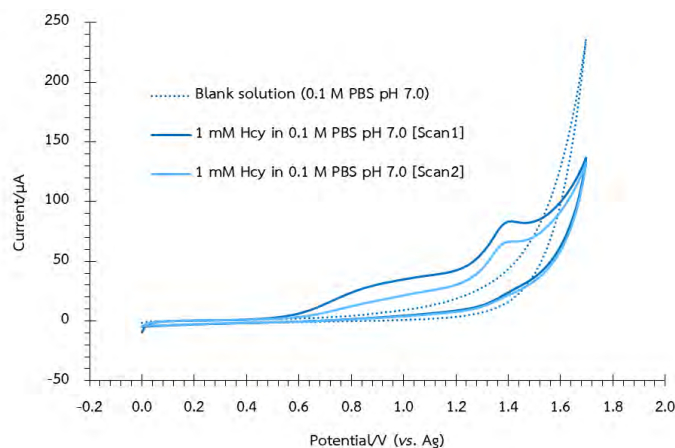
การทดลอง	กระแสไฟฟ้าของฟีกที่วัดได้ (μA)	ค่าเฉลี่ย (μA)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (μA)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (%RSD)
1	22.00	23.75	1.71	7.21
2	23.00			
3	27.00			
4	23.00			
5	26.00			
6	26.00			
7	24.00			
8	23.00			
9	23.00			
10	22.00			
11	22.00			
12	24.00			



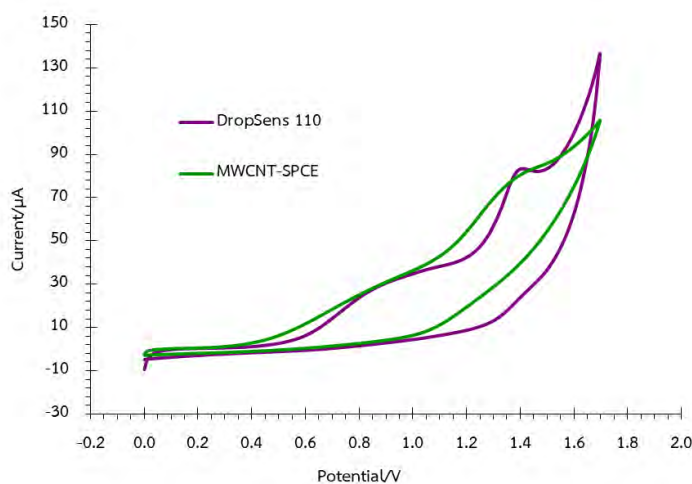
รูปที่ 3.5 กราฟแสดงผลกระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน จำนวน 12 ครั้ง

3.2.3 การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของโฮโมซิสเตอีนเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110)

ลำดับต่อมา ผู้วิจัยได้ศึกษาการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) ตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.6 วัตถุประสงค์ของโฮโมซิสเตอีนได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.40 V (vs. Ag) มีค่ากระแสไฟฟ้าของพีกแอนอดิกเท่ากับ 36 μ A พีกที่ได้มีลักษณะความเป็นพีกที่ชัดเจน (well-defined peak) และขั้วไฟฟ้ามีสภาพไว (sensitivity) ที่ดีมาก เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ พบว่าสัญญาณที่ได้จากขั้วไฟฟ้าที่เตรียมขึ้นเองนั้นมีค่าใกล้เคียงกับขั้วไฟฟ้าเชิงพาณิชย์ โดยสามารถวัดพีกออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนได้ในช่วง +1.37 ถึง +1.40 V สำหรับขั้วไฟฟ้าทั้ง 2 ชนิดนี้ ดังแสดงในรูปที่ 3.7 แต่กระแสไฟฟ้าที่วัดได้จากขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) นั้นมีสัญญาณสูงกว่ากระแสที่วัดได้จากขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการและพีกที่ได้มีลักษณะความเป็นพีกที่ชัดเจนมากกว่า ทำให้การตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนด้วยขั้วไฟฟ้า DropSens 110 นี้จึงมีประสิทธิภาพสูง โดยสาเหตุที่ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ มีประสิทธิภาพต่ำกว่าขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเชิงพาณิชย์ อาจเกิดจาก ในการพิมพ์สกรีนขั้วไฟฟ้าแต่ละครั้ง มีการลงน้ำหนักเพื่อปิดหมึกสำหรับพิมพ์สกรีนให้อยู่บนเทมเพลตไม่สม่ำเสมอและเท่ากันทุกครั้ง ส่งผลให้บนแผ่นชั้นสเตรทมิคาร์บอน, ซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์, และวัสดุสำหรับดัดแปร ปริมาณแตกต่างกันเล็กน้อย และภายในห้องปฏิบัติการเป็นระบบเปิด หมึกพิมพ์คาร์บอนอาจเกิดการออกซิไดซ์ไปบางส่วนเมื่อสัมผัสอากาศขณะพิมพ์สกรีน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวของขั้วไฟฟ้า ซึ่งอาจส่งผลให้ประสิทธิภาพของหมึกพิมพ์ลดลง แต่อย่างไรก็ตามขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเชิงพาณิชย์นั้นมีราคาสูงมาก ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน และจะทำการดัดแปรพื้นผิวขั้วไฟฟ้าเพื่อเพิ่มสภาพไว (sensitivity) ต่อไป



รูปที่ 3.6 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอน นาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) (แสดง 2 สแกนต่อเนื่อง)



รูปที่ 3.7 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอน นาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้า คาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบ ผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)

3.3 การดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนด้วยคาร์บอนแบล็ค (CB/MWCNT-SPCE)

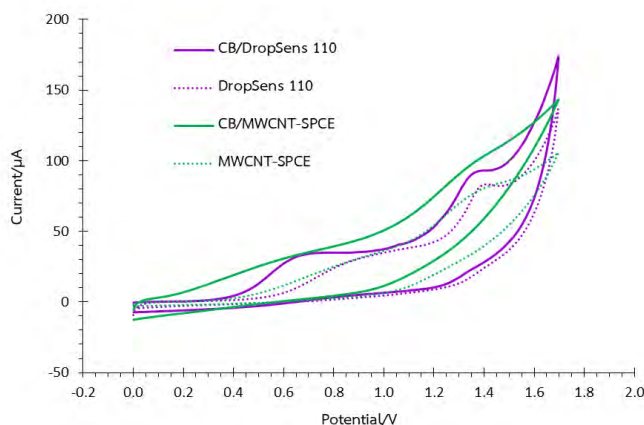
จากการทดลองตอนที่แล้ว ผู้วิจัยเลือกใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน (MWCNT-SPCE) และต้องการดัดแปรขั้วไฟฟ้าเพื่อเพิ่มสภาพไว (sensitivity) จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าคาร์บอนแบล็ค (carbon black, CB) มีพื้นที่ผิวสูง สามารถนำไฟฟ้าได้ดี และมีราคาถูก[26] ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจนำคาร์บอนแบล็คมาดัดแปรบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพื่อเพิ่มสภาพไวในการตรวจวัด โดยในการทดลองนี้ผู้วิจัยได้ทำการดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (MWCNT-SPCE) ทั้งขั้วที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการและขั้วที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) ด้วยคาร์บอนแบล็คโดยใช้วิธี drop-casting สารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค (CB suspension) ลงบนขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) และศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค

3.3.1 การศึกษาสัญญาณโฮโมซิสเตอีนเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.0 ตรวจวัดโดยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (CB/MWCNT-SPCE)

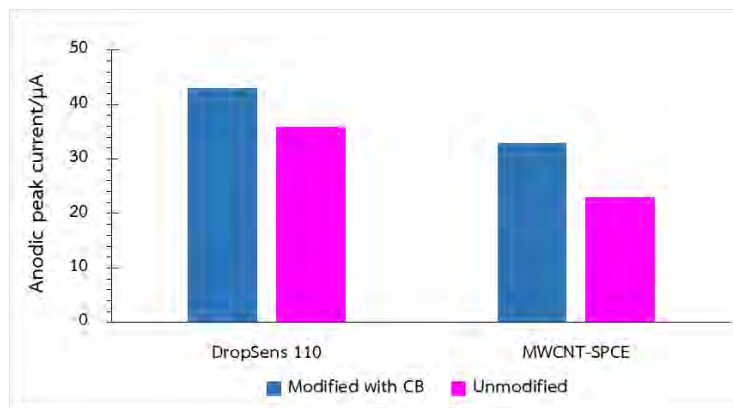
ผู้วิจัยได้ทำการดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นโดยใช้วิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L ลงบนขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) ของทั้งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการและขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) จากนั้นนำไปตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.8 (แสดงสแกนแรก) เมื่อพิจารณาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ (เส้นทึบสีเขียว) สามารถวัดสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.35 V (vs. Ag/AgCl) เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (เส้นประสีเขียว) ที่พบสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.37 V (vs. Ag/AgCl) และเมื่อพิจารณาจากขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ (เส้นทึบสีม่วง) พบว่าสามารถวัดสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.36 V (vs. Ag) เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้า DropSens 110 ดังกล่าวนี้ที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (เส้นประสีม่วง) ซึ่งพบสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.40 V (vs. Ag) จากผลการทดลองของ

ข้อไฟฟ้าทั้ง 2 ชนิดนี้จะเห็นได้ว่า พิกแอนด์โนติกของปฏิกิริยาออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนบนข้อไฟฟ้า MWCNT-SPCE ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คนั้นเกิดขึ้นที่ศักย์ไฟฟ้าที่เป็นบวกน้อยกว่าข้อไฟฟ้า MWCNT-SPCE ที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค จึงสรุปได้ว่าคาร์บอนแบล็คสามารถเพิ่มพื้นที่ผิวและช่วยในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้เกิดได้ง่ายและเร็วขึ้นได้สำหรับการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีน

นอกจากนี้ จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.8 จะพบว่า ข้อไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (เส้นทึบ) มีค่ากระแสไฟฟ้าของพิกแอนด์โนติกสูงกว่าข้อไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (เส้นประ) และเมื่อเปรียบเทียบค่ากระแสที่วัดได้ ดังแสดงในรูปที่ 3.9 พบว่าข้อไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (MWCNT-SPCE) ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค นั้นให้ค่ากระแสไฟฟ้าเท่ากับ 33 μA เมื่อเปรียบเทียบกับข้อไฟฟ้า MWCNT-SPCE ดังกล่าวที่ไม่ได้ดัดแปรซึ่งให้ค่ากระแสไฟฟ้าเท่ากับ 23 μA จะเห็นได้ว่าข้อไฟฟ้า MWCNT-SPCE ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คสามารถเพิ่มค่ากระแสจากการตรวจวัดได้ 1.43 เท่า และเมื่อพิจารณาจากข้อไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค สามารถวัดค่ากระแสไฟฟ้าได้เท่ากับ 43 μA เมื่อเปรียบเทียบกับข้อไฟฟ้า DropSens 110 ดังกล่าวที่ไม่ได้ดัดแปรซึ่งให้ค่ากระแสไฟฟ้าเท่ากับ 36 μA จะพบว่าข้อไฟฟ้า DropSens 110 ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คสามารถเพิ่มค่ากระแสไฟฟ้าได้ 1.20 เท่า จึงสรุปได้ว่าการดัดแปรข้อไฟฟ้าด้วยคาร์บอนแบล็คโดยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คบนข้อไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) สามารถช่วยเพิ่มค่ากระแสไฟฟ้าจากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้คาร์บอนแบล็คในการดัดแปรข้อไฟฟ้าต่อไป



รูปที่ 3.8 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยเปรียบเทียบการใช้ข้อไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน (เส้นสีเขียว) และข้อไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) (เส้นสีม่วง) และดัดแปรพื้นผิวด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μL (เส้นทึบ) และข้อไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (เส้นประ) (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)



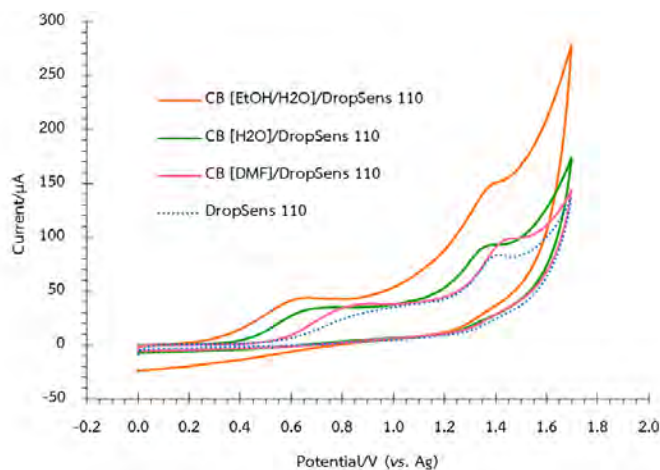
รูปที่ 3.9 ค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยเปรียบเทียบการใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนและขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) และดัดแปรพื้นผิวด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μL (เส้นทึบ) (กราฟแท่งสีน้ำเงิน) และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค (กราฟแท่งสีชมพู) (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)

3.3.2 การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค

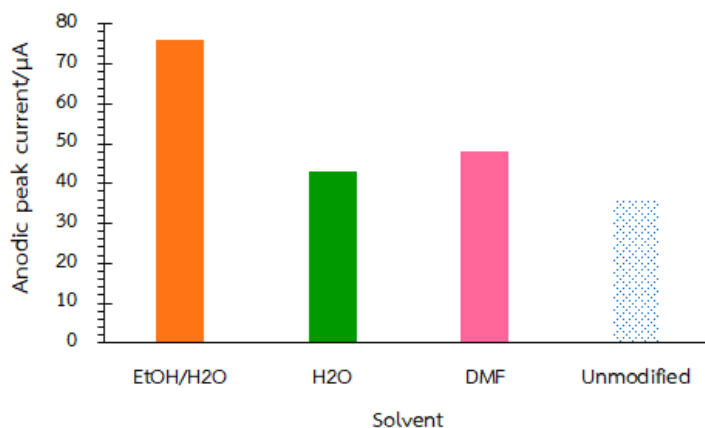
จากการทดลองตอนที่แล้วสามารถสรุปได้ว่า การดัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยคาร์บอนแบล็คโดยวิธีการ drop Casting ลงบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรผิวด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น สามารถช่วยเพิ่มค่ากระแสไฟฟ้าได้ ในการทดลองนี้จึงทำการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการกระจายตัวของคาร์บอนแบล็ค โดยผู้วิจัยได้เลือกใช้น้ำ เอทานอล โดเมทิลฟอรั่มไรเมด์ และคลอโรฟอรั่มเป็นตัวทำละลายสำหรับการกระจายตัวของคาร์บอนแบล็ค โดยเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค (CB suspension) ความเข้มข้น 1 mg/mL ผู้วิจัยพบว่า คาร์บอนแบล็คสามารถกระจายตัวในน้ำ เอทานอล และโดเมทิลฟอรั่มไรเมด์ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วได้ แต่ไม่สามารถกระจายตัวในคลอโรฟอรั่มซึ่งเป็นตัวทำละลายไม่มีขั้ว[27] เนื่องจากบริเวณผิวของคาร์บอนแบล็คนั้นประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิลและหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิล[26] จึงสามารถกระจายตัวได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว จากนั้นทำการ drop-casting คาร์บอนแบล็คที่เตรียมไว้ ปริมาตร 4 μL ลงบนขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) พบว่าคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำและโดเมทิลฟอรั่มไรเมด์สามารถคงความเป็นหยดและกระจายตัวบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานได้ดี แต่คาร์บอนแบล็คในเอทานอลนั้นไม่สามารถคงความเป็นหยดบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานได้ โดยคาร์บอนแบล็คในเอทานอลนั้นจะกระจายตัวออกนอกบริเวณขั้วไฟฟ้าแบบสุ่ม (randomly dispersed) เนื่องจากเอทานอลมีแรงตึงผิวที่ค่อนข้างต่ำ[28] หยดจึงกระจายตัวได้มาก ดังนั้นผู้วิจัยจึงเพิ่มแรงตึงผิวของเอทานอลโดยทำการผสมเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL และใช้เป็นตัวทำละลายในการกระจายตัวของคาร์บอนแบล็ค จากนั้น drop-casting ลงบนขั้วไฟฟ้าทำงาน และทำการตรวจวัด

โฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.10 (แสดงสแกนแรก) ผู้วิจัยพบว่าขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ ตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL และโดเมทิลฟอร์มาร์ไมด์ สามารถวัดสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.36 V, +1.38 V และ +1.43 V (vs. Ag) ตามลำดับ เมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้า DropSens 110 ที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คนั้นวัดสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.40 V (vs. Ag) จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) และดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ และตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL ช่วยให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเกิดได้ง่ายกว่าขั้วไฟฟ้า DropSens 110 ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คในโดเมทิลฟอร์มาร์ไมด์ และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรพื้นผิว

เมื่อเปรียบเทียบค่ากระแสของพีกแอนโอดิกที่ได้จากการตรวจวัด ดังแสดงในรูปที่ 3.11 พบว่าขั้วไฟฟ้า DropSens 110 ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ ตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL และโดเมทิลฟอร์มาร์ไมด์ มีค่ากระแสที่ได้จากการตรวจวัดเพิ่มขึ้น 1.20 เท่า, 2.11 เท่า และ 1.33 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปร นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าสัญญาณที่ได้เพิ่มขึ้นอย่างแตกต่างกัน เนื่องจากคาร์บอนแบล็คมีความสามารถในการกระจายตัวในตัวทำละลายแตกต่างกัน โดยจะเห็นว่าตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL สามารถเพิ่มค่ากระแสไฟฟ้าจากการตรวจวัดได้สูงที่สุด เนื่องจากคาร์บอนแบล็คสามารถกระจายตัวได้ดีที่สุดในตัวทำละลายผสมนี้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำสำหรับการกระจายตัวของคาร์บอนแบล็คต่อไป



รูปที่ 3.10 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ ตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำ (EtOH/H₂O) ในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL น้ำ (H₂O) และไดเมทิลฟอร์มามิเด (DMF) เข้มข้น 1 mg/mL เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้า DropSens 110 ที่ไม่ได้ดัดแปร (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)

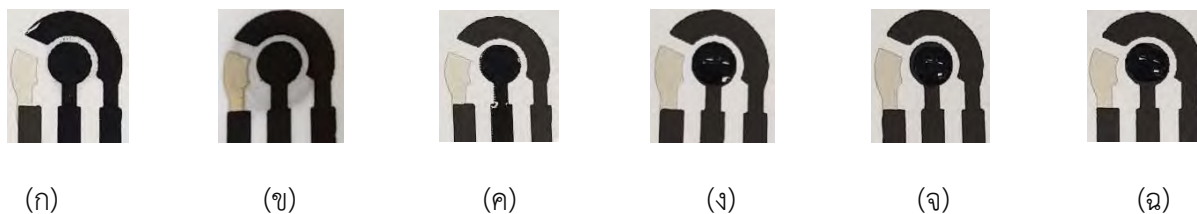


รูปที่ 3.11 ค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (DropSens 110) ที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ ตัวทำละลายผสมเอทานอลและน้ำ (EtOH/H₂O) ในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL น้ำ (H₂O) และไดเมทิลฟอร์มามิเด (DMF) เข้มข้น 1 mg/mL เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้า DropSens 110 ที่ไม่ได้ดัดแปร (กราฟแท่งประ) (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)

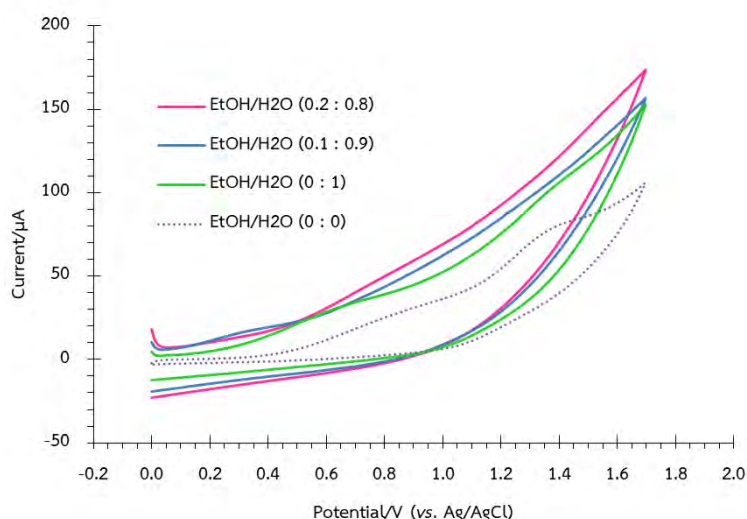
3.3.3 การศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค

จากการทดลองตอนที่แล้วสรุปได้ว่า ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการกระจายตัวคาร์บอนแบล็คสำหรับการดัดแปรชีวไฟฟ้าด้วยวิธี drop-casting คือตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำ ในการทดลองนี้ ผู้วิจัยจึงทำการหาอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมนี้ที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็ค โดยเริ่มจากการเตรียมสารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็คเข้มข้น 1 mg/mL โดยทำการปรับอัตราส่วนสารละลายผสมของเอทานอลและน้ำ (v/v) เป็นดังนี้คือ 0.5 : 0.5, 0.4 : 0.6, 0.3 : 0.7, 0.2 : 0.8, 0.1 : 0.9, และ 0 : 1 mL จากนั้น drop-casting สารละลายแขวนลอยคาร์บอนแบล็คที่เตรียม ปริมาตร 4 μ L ลงบริเวณชีวไฟฟ้าทำงาน (working electrode) ของชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ ผู้วิจัยพบว่าอัตราส่วนสารละลายผสมของเอทานอลและน้ำ (v/v) ที่สามารถหยดลงบนชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนได้และยังคงความเป็นหยดอยู่คือ 0.2 : 0.8, 0.1 : 0.9 และ 0 : 1 mL ดังแสดงในรูปที่ 3.12 ซึ่งแตกต่างจากชีวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (Dropsens 110) ที่สามารถหยดสารละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 mL และยังคงความเป็นหยดอยู่บนผิวหน้าชีวไฟฟ้าได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวัสดุที่ใช้ในการพิมพ์สกรีนชีวไฟฟ้านั้นแตกต่างกัน โดยวัสดุของชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการคือโพลีไวนิลคลอไรด์ (PVC) แต่วัสดุของชีวไฟฟ้าที่ผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์นั้นคือเซรามิก (ceramic) ความสามารถในการตรึงอยู่บนพื้นผิวและคงความเป็นหยดของตัวทำละลายจึงแตกต่างกัน โดยสารละลายผสมของเอทานอลและน้ำนี้สามารถยังคงความเป็นหยดอยู่บนเซรามิกได้ดีกว่า จากนั้นจึงนำชีวไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่เตรียมได้ไปตรวจวัดโอมซิสเตอินความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0 สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.13 (แสดงสแกนแรก) จะเห็นว่าเมื่ออัตราส่วนของเอทานอลเพิ่มขึ้น สัญญาณทางเคมีไฟฟ้าของโอมซิสเตอินที่วัดได้ก็จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าคาร์บอนแบล็คสามารถกระจายตัวในเอทานอลได้ดี และคงตัวอยู่บนผิวหน้าของชีวไฟฟ้าได้อย่างสม่ำเสมอ ทำให้มีพื้นที่ผิวในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้น และเมื่อวัดสัญญาณออกซิเดชันของโอมซิสเตอินที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.35 V (vs. Ag/AgCl) ดังแสดงในรูปที่ 3.14 พบว่าชีวไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คในสารละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.2 : 0.8 mL ให้ค่ากระแสไฟฟ้าจากการตรวจวัดสูงสุด รองลงมาคือ 0.1 : 0.9 และ 0 : 1 mL ตามลำดับ จึงสามารถสรุปได้ว่าเมื่ออัตราส่วนของเอทานอลต่อน้ำ (v/v) เพิ่มขึ้น จะทำให้คาร์บอนแบล็คกระจายตัวในตัวทำละลายผสมนี้ได้ดีขึ้น ค่ากระแสไฟฟ้าจึงเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม สัญญาณทางเคมีไฟฟ้าของโอมซิสเตอินที่ปรากฏนั้นมีความเป็นพีกไม่ชัดเจน (ill-defined peak shape) การตรวจวัดจึงยังไม่มี

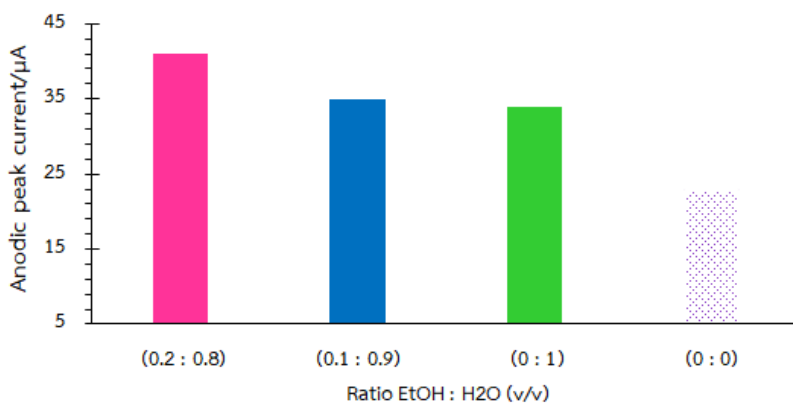
ประสิทธิภาพเท่าที่ควร ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสำหรับเตรียมสารละลายแขวนลอยของคาร์บอนแบล็คเพื่อใช้ในการดัดแปรขั้วไฟฟ้า เนื่องจากให้สัญญาณที่มีความเป็นฟีกที่ชัดเจนกว่า



รูปที่ 3.12 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และดัดแปรโดยการ drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.5 : 0.5 (ก), 0.4 : 0.6 (ข), 0.3 : 0.7 (ค), 0.2 : 0.8 (ง), 0.1 : 0.9 (จ), และ 0 : 1 (ฉ) mL เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L



รูปที่ 3.13 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และดัดแปรโดยการ drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.2 : 0.8 , 0.1 : 0.9 , และ 0 : 1 mL เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปร (0 : 0) (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)



รูปที่ 3.14 ค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรินที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และตัดแปรโดยการ drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำในอัตราส่วน (v/v) 0.2 : 0.8 , 0.1 : 0.9 , และ 0 : 1 mL เข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 µL และขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ผ่านการตัดแปร (0 : 0 mL)

3.3.4 การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรินที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และตัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ (CB/MWCNT-SPCE)

จากการทดลองตอนที่แล้ว ผู้วิจัยได้เลือกใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรินในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน และตัดแปรโดยการ drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 µL ในการทดลองนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของขั้วไฟฟ้าง่ากล่าวนี้ โดยทดสอบการพิมพ์สกรินขั้วไฟฟ้า 3 ชุดการทดลอง ซึ่งขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในชุดการทดลองเดียวกันนั้นจะทำการพิมพ์สกรินวันเดียวกัน (intraday) และขั้วไฟฟ้าในชุดการทดลองที่ต่างกันนั้นจะทำการพิมพ์สกรินต่างวันกัน (interday) จากนั้นตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s สามารถวัดสัญญาณออกซิเดชันได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.35 V (vs. Ag/AgCl) (ใช้สแกนแรก) ได้กระแสไฟฟ้าของพีกแอโนดิก ดังแสดงในตารางที่ 3.3 จากผลการทดลองจะเห็นว่า เมื่อนำค่ากระแสไฟฟ้าที่วัดได้จากขั้วไฟฟ้าในชุดเดียวกันที่สกรินในวันเดียวกัน (intraday) มาเปรียบเทียบกัน และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ในแต่ละชุดการทดลอง (ทั้งหมด 3 ชุดการทดลอง) ได้เท่ากับ 10.75%, 7.97%, และ 13.36% เมื่อนำค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากทุกขั้วไฟฟ้า ดังแสดงในตารางที่ 3.4 และรูปที่ 3.15 มาคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เพื่อเปรียบเทียบการพิมพ์สกรินต่างวันกัน (interday) นั้น พบว่าได้เท่ากับ 17.99% ซึ่งเป็นค่าที่สูงเกินกว่ายอมรับ

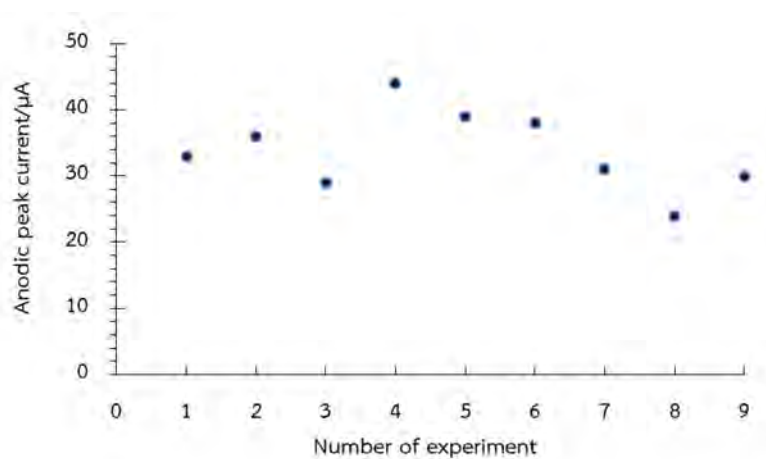
ได้ บ่งบอกว่าความเที่ยง (precision) ของการวัดในแต่ละขั้วต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องจากเทคนิค drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำลงบนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานแต่ละครั้งนั้นยังไม่สม่ำเสมอ ทำให้บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานแต่ละขั้วมีจำนวนคาร์บอนแบล็คกระจายตัวบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าไม่เท่ากัน อีกทั้งการควบคุมความหนาและการกระจายตัวของหยดสำหรับการ drop-casting นั้นทำได้ค่อนข้างยาก ดังนั้นขั้วไฟฟ้าที่ตัดแปรและเตรียมได้แต่ละครั้งจึงมีประสิทธิภาพในการทำงานแตกต่างกัน ผู้วิจัยจึงสรุปได้ว่า ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และตัดแปรด้วยเทคนิค drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวน้ำ ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L ลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานนั้นไม่สามารถให้ผลในการทำซ้ำ (reproducibility) ที่ดีได้

ตารางที่ 3.3 กระแสไฟฟ้าได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟต บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนและตัดแปรด้วยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวน้ำ ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L จำนวน 3 ชุด (ชุดการทดลองละ 3 ขั้วซึ่งทำการพิมพ์สกรีนวันเดียวกัน (intraday) โดยขั้วไฟฟ้าต่างชุดการทดลองกันนั้นทำการพิมพ์สกรีนต่างวันกัน (interday))

ขั้วไฟฟ้า	กระแสไฟฟ้า (μ A)	ค่าเฉลี่ย (μ A)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (μ A)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)
ชุดที่ 1 (07/01/2020)				
1	33.00	32.67	3.51	10.75
2	36.00			
3	29.00			
ชุดที่ 2 (29/01/2020)				
1	44.00	40.33	3.21	7.97
2	39.00			
3	38.00			
ชุดที่ 3 (24/02/2020)				
1	31.00	28.33	3.79	13.36
2	24.00			
3	30.00			

ตารางที่ 3.4 กระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนและตัดแปรด้วยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L

การทดลอง	กระแสไฟฟ้าของพีกที่วัดได้ (μ A)	ค่าเฉลี่ย (μ A)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (μ A)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (%RSD)
1	33.00	33.78	6.08	17.99
2	36.00			
3	29.00			
4	44.00			
5	39.00			
6	38.00			
7	31.00			
8	24.00			
9	30.00			



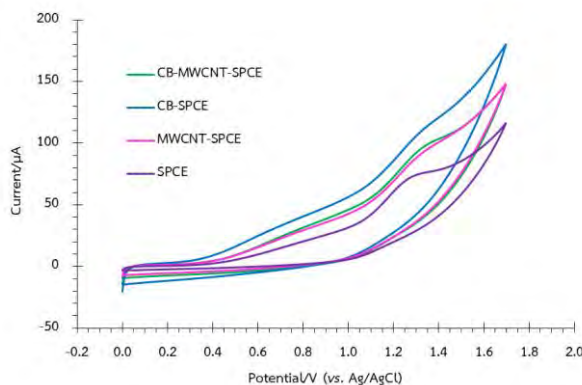
รูปที่ 3.15 กราฟแสดงผลกระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และตัดแปรด้วยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L จำนวน 9 ขั้ว

3.3.5 การศึกษาชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นและคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (CB-MWCNT-SPCE)

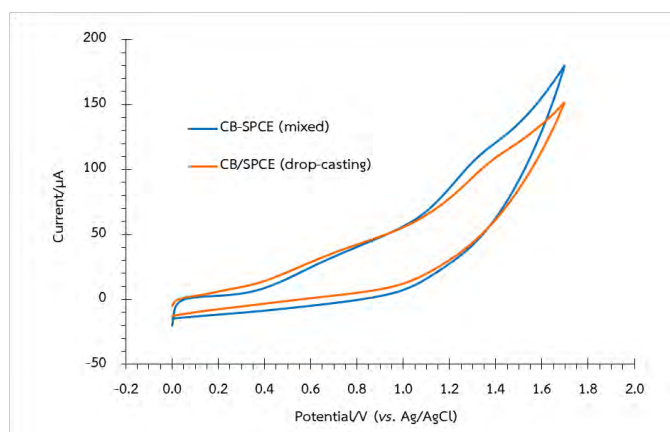
ในการทดลองตอนที่แล้วสรุปได้ว่า ชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และตัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำนั้น ให้ผลการทดลองที่มีความเที่ยงต่ำ ไม่มีความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) โดยมีสาเหตุมาจากความคลาดเคลื่อนของเทคนิค drop-casting ดังนั้น ในการทดลองนี้ ผู้วิจัยจึงเปลี่ยนวิธีการตัดแปรชีวไฟฟ้าจากเทคนิค drop-casting คาร์บอนแบล็ค เป็นการผสมคาร์บอนแบล็คลงในหมึกพิมพ์คาร์บอนสำหรับการสกรีนชีวไฟฟ้า โดยทำการเตรียมและเปรียบเทียบชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนทั้งหมด 4 ชนิด โดยมีลำดับการสกรีนชีวไฟฟ้าดังนี้คือ (1) ชีวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (2) ชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนแบล็คต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน (3) ชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนแบล็ค ต่อ 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน (4) ชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน จากนั้นนำชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่เตรียมได้มาใช้ตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +1.7 V (vs. Ag/AgCl) ต่อเนื่อง 2 สแกน โดยใช้อัตราการเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ในการวิเคราะห์ (scan rate) คือ 0.1 V/s ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.16 แต่สัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดนี้ไม่สามารถเปรียบเทียบกันได้ เนื่องจากในระหว่างการทดลอง ผู้วิจัยสังเกตเห็นว่าหลังการสกรีนชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีน (ซึ่งได้ทำการสกรีนในลำดับที่ 2) อนุภาคของคาร์บอนแบล็คไปอุดที่รูของเทมเพลตที่ใช้ในการสกรีน และไม่สามารถล้างออกได้ (ถึงแม้ว่าคาร์บอนแบล็คจะจัดอยู่ในกลุ่มคาร์บอนขนาดนาโน ซึ่งในที่นี้มีขนาดประมาณ 20 nm แต่คาร์บอนแบล็คมีพฤติกรรมเกาะตัวกันเป็นมวลรวม (aggregates)[25,26]) จึงทำให้เทมเพลตเกิดการอุดตันได้ ดังนั้นชีวไฟฟ้าที่ทำการพิมพ์สกรีนลำดับต่อมา (ลำดับที่ 3 และ 4) จึงไม่สามารถพิมพ์สกรีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลที่ได้จึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้อย่างถูกต้อง

แต่อย่างไรก็ตาม จากลำดับการพิมพ์สกรีนชีวไฟฟ้า ยังมีผลการทดลองที่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ นั่นคือผลที่ได้จากชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนแบล็ค ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน โดยผู้วิจัยได้นำสัญญาณที่ได้นี้มาเปรียบเทียบกับสัญญาณที่ได้จากชีวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ตัดแปรโดยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวน้ำความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 μ L ดังแสดงในรูปที่ 3.17 ซึ่งถือเป็นการเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้จากการตัดแปรชีวไฟฟ้าด้วยคาร์บอนแบล็คด้วยวิธีที่แตกต่างกันคือ วิธีผสมคาร์บอนแบล็คลงในหมึกพิมพ์คาร์บอน และวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คบนผิวหน้าชีวไฟฟ้าทำงาน ผู้วิจัยพบว่า ชีวไฟฟ้าที่ทำการตัดแปรด้วยวิธีการผสมคาร์บอนแบล็คลงในหมึกพิมพ์คาร์บอนมีสัญญาณที่สูงและสามารถเห็นพีกออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนได้ชัดเจน (well-defined peak) กว่าชีวไฟฟ้าที่ทำการตัดแปรโดยวิธี drop-casting แต่อย่างไรก็ตาม

การดัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยวิธีการผสมคาร์บอนแบล็คลงในหมึกพิมพ์คาร์บอนจะทำให้เทมเพลตเกิดการอุดตัน ผู้วิจัยจึงแก้ปัญหาโดยการนำเทมเพลตไปล้าง และเลือกใช้คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (ซึ่งไม่ก่อให้เกิดการอุดตัน) ในการดัดแปรขั้วไฟฟ้าในขั้นต่อไป



รูปที่ 3.16 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บน (1) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (2) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีน (3) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คและคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน (4) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน ที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)



รูปที่ 3.17 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนความเข้มข้น 1 mM ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คในอัตราส่วน 50 mgคาร์บอนแบล็ค ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ดัดแปรโดยวิธี drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำ ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 4 µL ที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (ใช้สแกนแรกในการเปรียบเทียบ)

3.4 แผนงานวิจัยที่ควรดำเนินการต่อไป

เนื่องด้วยสถานการณ์โควิด-19 ที่มีการแพร่ระบาดในประเทศไทยและทั่วโลก ทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถดำเนินการทดลองในขั้นตอนต่อไปได้ โดยในลำดับต่อไปนั้น ผู้วิจัยได้วางแผนที่จะใช้ชีวไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจวัดไฮโมซิสเตอีน ซึ่งจะต้องศึกษาหาอัตราส่วนผสมของคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีน จากนั้นจะใช้ชีวไฟฟ้าดังกล่าวในการตรวจวัดไฮโมซิสเตอีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) หาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ (linearity) และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection) จากกราฟมาตรฐานที่ได้ จากนั้นจะทำการตรวจวัดไฮโมซิสเตอีนในตัวอย่างจริง เช่น น้ำลายเทียม หรือ ปัสสาวะเทียม เป็นต้น

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยวัสดุคาร์บอนขนาดนาโน (carbon-based nanomaterials) ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น (multiwall-carbon nanotube) และคาร์บอนแบล็ค (carbon black) สำหรับตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ในขั้นแรกผู้วิจัยได้ทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ออกแบบและเตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ เริ่มจากการตรวจวัดโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซยานด์เพื่อศึกษาปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผันกลับได้ของ Fe(III)/Fe(II) จากผลการทดลอง ผู้วิจัยพบสัญญาณรีดักชันของ Fe(III) ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.5 V (vs. Ag/AgCl) วัดกระแสไฟฟ้าของพีกแคโทดิกได้เท่ากับ 49 μ A และพบสัญญาณออกซิเดชันของ Fe(II) ที่ศักย์ไฟฟ้า $+0.65$ V (vs. Ag/AgCl) ซึ่งมีค่ากระแสไฟฟ้าของพีกแอโนดิกเท่ากับ 43 μ A ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีสำหรับปฏิกิริยารีดอกซ์แบบผันกลับได้ จึงสรุปได้ว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ออกแบบและเตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการนั้นสามารถใช้งานได้ดี และเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้อย่างเหมาะสม จากนั้นจึงทำการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองนี้ แต่พบว่าสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนที่ปรากฏนั้นไม่ชัดเจน เนื่องจากขั้วไฟฟ้าที่เตรียมขึ้นนี้มีสภาพความไวต่ำ

ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน โดยเริ่มจากผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นลงในหมึกพิมพ์คาร์บอนในอัตราส่วนที่แตกต่างกันคือ 20 mg และ 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน ผู้วิจัยพบว่าอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้น ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอนสามารถให้สัญญาณจากการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนได้ดีที่สุด โดยวัดสัญญาณออกซิเดชันได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ $+1.37$ V (vs. Ag/AgCl) มีค่ากระแสไฟฟ้าของพีกเท่ากับ 22 μ A และมีค่าเพิ่มขึ้น 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ไม่ได้ดัดแปร เมื่อคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) จำนวน 12 ขั้ว พบว่ามีค่าเพียง 7.21% จึงสรุปได้ว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่เตรียมขึ้นเองนี้มีความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ที่ดี จากนั้นได้ศึกษาการดัดแปรขั้วไฟฟ้าด้วยคาร์บอนแบล็ค โดยทำการดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนด้วยเทคนิค drop-casting คาร์บอนแบล็คที่กระจายตัวในน้ำลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงาน พบว่าขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็คสามารถเพิ่มค่ากระแสจากการตรวจวัดได้ถึง 1.43 เท่า (เทียบกับขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยคาร์บอนแบล็ค) แต่เมื่อคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) จำนวน 9 ขั้ว พบว่าได้เท่ากับ 17.99% ซึ่งมีค่าที่สูงเกินกว่ายอมรับได้ แสดงว่ามีความเที่ยงต่ำในการทำซ้ำ ผู้วิจัยจึงหันมาผลิตขั้วไฟฟ้าคาร์บอนผสมคาร์บอนแบล็คพิมพ์สกรีนในอัตราส่วน 50 mg คาร์บอนแบล็ค ต่อ 1 g หมึกพิมพ์คาร์บอน และใช้ขั้วไฟฟ้างกล่าวในการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีน ถึงแม้ว่าสัญญาณออกซิเดชันของโฮโมซิสเตอีนที่ได้มีค่าสูงและมีความเป็นพีกที่ชัดเจนกว่าขั้วไฟฟ้าที่ทำการดัดแปรด้วย

วิธี drop-casting แต่การดัดแปรข้อผิดพลาดโดยการผสมคาร์บอนแบล็คลงในหมึกพิมพ์คาร์บอนทำให้หมึกที่พิมพ์ออกมาไม่สม่ำเสมอ การใช้คาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีนที่ได้ศึกษามาแล้วก่อนหน้านี้

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้วางแผนที่จะตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนด้วยข้อผิดพลาดคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นพิมพ์สกรีน ซึ่งจะต้องทำการศึกษาหาอัตราส่วนผสมของคาร์บอนนาโนทิวป์แบบผนังหลายชั้นที่เหมาะสมที่สุดในการตรวจวัด รวมทั้งศึกษาเทคนิคการตรวจวัดอื่น ๆ นอกเหนือจากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี จากนั้นทำการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) หาช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) และคำนวณหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection) หลังจากนั้น จะนำข้อผิดพลาดที่พัฒนาขึ้นนี้มาใช้ตรวจวัดในตัวอย่างจริง เช่น น้ำลายเทียม หรือ ปัสสาวะเทียม เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] Our World in Data, Causes of Death. Retrieved from.
<https://ourworldindata.org/causes-of-death> (accessed 16.03.20).
- [2] กระทรวงสาธารณสุข, สาเหตุการตาย 10 อันดับแรก. Retrieved from.
https://hdcservice.moph.go.th/hdc/reports/report.php?source=formatted/opd10_sex.php&cat_id=491672679818600345dc1833920051b2&id=8881445af732eb166fa2470ba5046956 (accessed 16.03.20).
- [3] D.C. Gaze, *The Cardiovascular System-Physiology, Diagnostics and Clinical Implications*, IntechOpen, London, United Kingdom, 2012.
- [4] วิมล พันธุ์เวทย์, โยโมซิสเตอินต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด, *Thammasat Medical Journal*, 2017, 17(4), 623–640.
- [5] P. Tripathi, Homocysteine- the hidden factor and cardiovascular disease: cause or effect?, *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 2015, 4(4), 237–241.
- [6] A. Chiolero, D. Faeh, F. Paccaud, Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: should we (still) worry about it?, *Swiss Medical Weekly*, 2006, 13, 745–756.
- [7] PubChem, L-Homocysteine. Retrieved from.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/L-Homocysteine> (accessed 20.03.20).
- [8] J. Selhub, Homocysteine metabolism, *Annual Review of Nutrition*, 1999, 19, 217–246.
- [9] G. William et al, Blood Levels of Homocysteine and Increased Risks of Cardiovascular Disease, *Archives of Internal Medicine*, 2000, 160(4), 422–434.
- [10] N.S. Lawrence, O. Nekrassova, R.G. Compton, Analytical determination of homocysteine: a review, *Talanta*, 2003, 60(6), 1085–1095.
- [11] J.B. Ubbink, S. Bissbort, W.J. Hayward Vermaak, Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1991, 565(1-2), 441–446.
- [12] C.L. Su, W.L. Tseng, Selective detection of homocysteine by laser desorption/ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2002, 20(22), 3303–3308.
- [13] R.M. Strongin et al, Direct Detection of Homocysteine, *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126, 3400–3401.

- [14] X. Guan et al, A simultaneous liquid chromatography/mass spectrometric assay of glutathione, cysteine, homocysteine and their disulfides in biological samples, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 31(2), 251–261.
- [15] C. Bala, M. Tudorache, Biosensors based on screen-printing technology, and their applications in environmental and food analysis, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 388(3), 565–578.
- [16] A.A. Ciucu, Chemically modified electrodes in biosensing, *Biosensor and Bioelectronic*, 2014, 5(3), 154–163.
- [17] N.S. Lawrence, R.P. Deo, J. Wang, Detection of homocysteine at carbon nanotube paste electrodes, *Talanta*, 2004, 63(2), 443–449.
- [18] C. Viswanathan et al, Selective and low potential electrocatalytic oxidation and sensing of L-cysteine using metal impurity containing carbon black modified electrode, *Royal Society of Chemistry*, 2017, 48, 6791–6800.
- [19] F.A. Settle, *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Prentice Hall, New Jersey, USA, 1997.
- [20] วนศาสตร์ สุขศรีเมือง, การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีไฟฟ้าโดยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี, *วารสารเทคโนโลยีวัสดุ*, 2005, 39, 77–79
- [21] C. Bala , M. Tudorache, Biosensors based on screen-printing technology, and their applications in environmental and food analysis, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 388, 565–578.
- [22] nanoComposix University, Depositing Monolayers & Thin Films of Nanoparticles. Retrieved from. <https://nanocomposix.com/pages/depositing-monolayers-and-thin-films-of-nanoparticles> (accessed 22.03.20).
- [23] R. Vajtai, Springer *Handbook of Nanomaterials*, Springer, Berlin, Germany, 2012.
- [24] A. Aqel et al, Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterization, *Arabian Journal of Chemistry*, 2012, 1(5), 1–23
- [25] K.H. Jürgen, *The Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, Pergamon Press, Oxford, United Kingdom, 2001.
- [26] asahi carbon co. ltd, carbon black properties. Retrieved from. https://www.asahicarbon.co.jp/global_site/product/cb/characteristic.html (accessed 26.03.20)
- [27] L.B. Kier, Quantitation of Solvent Polarity Based on Molecular Structure, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1981, 8(70), 930–933

- [28] PubChem, Ethanol (Compound). Retrieved from.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethanol#section=Surface-Tension>
(accessed 26.03.20)

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวณาดา ศรีวิบูลย์ เกิดอาทิตย์ที่ 12 เมษายน 2541 ที่จังหวัดนนทบุรี จบการศึกษามัธยมปลาย ในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์ เมื่อปีการศึกษา 2558 และ เข้าศึกษาต่อวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2559 ที่อยู่ที่สามารถ ติดต่อได้หลังจบปริญญาตรี บ้านเลขที่ 37/115 ต.บ้านใหม่ อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000