

การสังเคราะห์และวิเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพีเอ็มเอเอ็มพีซีโคพอลิเมอร์ Synthesis and characterization of PMAMPC copolymer-coated magnetic nanoparticles

บุญยงช บุญไสย, อรวรรณ สุขสมบัติ และ ปิยะพร ณ นองคาย*

Bunyanuch Bunsai, Orawan Suksombat and Piyaporn Na Nongkhai*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

อนุภาคนาโนแม่เหล็ก (MNPs) สังเคราะห์โดยวิธีการตกตะกอนร่วมระหว่าง Fe^{2+} และ Fe^{3+} ในสารละลายเบส เคลือบพื้นผิวอนุภาคด้วยโคพอลิเมอร์แบบสุ่มระหว่างพอลิเมทาคริลิกแอซิด และ พอลิ(2-เมทาคริลอิลอกซีเอทิลฟอสโฟลโคลีน) หรือ พีเอ็มเอเอ็มพีซี (PMAMPC-MNPs) โดยอาศัยการคีเลตระหว่างหมู่คาร์บอกซิลที่อยู่ในโครงสร้างของพีเอ็มเอเอ็มพีซี และพื้นผิวของอะตอมเหล็ก ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบพื้นผิวอนุภาค เช่น ความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ และเวลาที่ใช้ในการคีเลต สามารถพิสูจน์ทราบความสำเร็จของการเคลือบพีเอ็มเอเอ็มพีซีบนพื้นผิวอนุภาคด้วยเทคนิค FT-IR และจากเทคนิค TEM แสดงให้เห็นว่า PMAMPC-MNPs ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะค่อนข้างกลม มีขนาดอยู่ในช่วง 10 - 50 นาโนเมตร การเคลือบด้วยพอลิเมอร์ชนิดนี้ช่วยเพิ่มความสามารถในการกระจายตัวที่ดีและมีความเสถียรในการกระจายตัวในน้ำ นอกจากนี้อนุภาคที่ผ่านการเคลือบด้วยพอลิเมอร์ยังคงคุณสมบัติที่ดีในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของ 3,3',5,5'-เตตระเมทิลเบนซิดีน (ทีเอ็มบี) ในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ แสดงให้เห็นว่า สามารถนำ PMAMPC-MNPs ไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการตรวจวัดทางชีวภาพที่สามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่าต่อไปได้

คำสำคัญ : อนุภาคนาโนแม่เหล็ก / พอลิเมอร์ / การคีเลต / 3,3',5,5'-เตตระเมทิลเบนซิดีน (ทีเอ็มบี)

Abstract

Magnetic nanoparticles (MNPs) synthesized by a co-precipitation method of Fe^{2+} and Fe^{3+} in basic solution were coated with poly[(methacrylic acid)-ran-(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)] (PMAMPC-MNPs) via a chelation between a carboxyl group of PMAMPC and an iron atom. Polymer concentration and chelation time were optimized. The success of PMAMPC-MNPs preparation was confirmed by FT-IR. TEM results showed that the PMAMPC-MNPs were spherical with the size of 10 to 50 nm. Dried PMAMPC-MNPs were easily dispersed and stable in aqueous media. Moreover, PMAMPC-MNPs hold their catalytic activity for the reaction of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) in a presence of H_2O_2 to produce blue color products. This result indicated that they are potential to use for colorimetric biosensors application.

Keywords : magnetic nanoparticles / polymer / chelation / 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)

*Corresponding author. E-mail: piyapornn@buu.ac.th

1. บทนำ

อนุภาคนาโนระดับนาโนของเหล็กออกไซด์ (magnetic nanoparticle, MNPs) เป็นอนุภาคที่แสดงสมบัติทางแม่เหล็กสามารถตอบสนองต่อสนามแม่เหล็กภายนอกได้อย่างรวดเร็ว ในปัจจุบันได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานด้านทางการแพทย์ที่ได้มีการนำอนุภาคนาโนแม่เหล็กมาประยุกต์ใช้ เป็นอุปกรณ์ควบคุมการปลดปล่อยและนำส่งยา หรือการนำมาประยุกต์ใช้ในเทคนิคการแยกสารชีวโมเลกุลโดยอาศัยหลักการทางอิมมูโน (immunomagnetic separation; IMS) (Qiu *et al.*, 2009) โดยมีหลักการคือ โมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวตรวจวัด หรือ โพรบ จะถูกตรึงบนอนุภาคนาโนแม่เหล็กและถูกนำมาใช้แยกสารชีวโมเลกุลที่ต้องการออกจากสารตัวอย่างผสม สารชีวโมเลกุลที่ต้องการตรวจวัด หรือแยกจะยึดติดอยู่กับอนุภาคและถูกแยกออกจากสารละลายได้ง่ายด้วยการให้สนามแม่เหล็ก และจากการมีขนาดระดับนาโนของอนุภาคเหล็กออกไซด์ ทำให้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ได้ดี โดยในปี 2007 Gao และคณะ (Gao *et al.*, 2007) ได้ค้นพบว่าอนุภาคนาโนของแมกเนไทต์ (Fe_3O_4) สามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของ peroxidase substrate ในสภาวะที่มี H_2O_2 ได้เหมือนกับเอนไซม์ peroxidase เช่น horseradish peroxidase (HRP) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ peroxidase substrate ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพหรือเซ็นเซอร์ชีวภาพ (biosensor) ที่สามารถตรวจติดตามการตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ง่ายโดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของซับสเตรท (Gao *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2012; Thiramanas *et al.*, 2013; Woo *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2010) การที่จะนำอนุภาคนาโนแม่เหล็กไปประยุกต์ใช้งานมีความจำเป็นต้องมีการดัดแปรพื้นผิวให้มีความเหมาะสม เช่น การเคลือบพื้นผิวด้วยโมเลกุลขนาดเล็ก หรือเคลือบด้วยพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าคุณสมบัติทางแม่เหล็ก และสมบัติการเป็นตัวเร่งการเปลี่ยนสีซับสเตรทของอนุภาคนาโนแม่เหล็กจะเกิดการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเคลือบด้วยสารเคลือบชนิดต่างๆ เช่น พอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG) พอลิเอทิลีนอิมิน (PEI) เดกซ์แทรน (dextran) และ ซิลิกอนไดออกไซด์ (SiO_2) โดยคุณสมบัติเหล่านี้จะมีค่าลดลงตามการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นและความหนาของชั้นสารเคลือบที่เคลือบอยู่บนอนุภาคนาโนแม่เหล็ก (Gao *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2009)

นอกจากนี้แล้วการพัฒนาอนุภาคนาโนแม่เหล็กให้มีความจำเพาะเจาะจง ในการตรวจวัดต่อโมเลกุลเป้าหมาย ถือเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพ (efficiency) ความจำเพาะเจาะจง (specificity) และความไว (sensitivity) ของอุปกรณ์ตรวจวัด แนวทางหนึ่งที่นิยมนำมาใช้คือ การนำพอลิเมอร์ฟิล์มบางมาเคลือบบนอนุภาคนาโนแม่เหล็กเพื่อใช้ในการตรึงสารชีวโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลสำหรับตรวจวัดหรือที่เรียกว่าโพรบ ข้อดีของการใช้พอลิเมอร์ คือ สามารถออกแบบโครงสร้างของพอลิเมอร์ให้มีหมู่ฟังก์ชันเฉพาะที่สามารถเกิดพันธะทางเคมีที่เสถียรกับสารชีวโมเลกุลได้ (Qiu *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2012; Woo *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2010) ประกอบกับการที่พอลิเมอร์มีปริมาณและความหนาแน่นของหมู่ฟังก์ชันที่สูงทำให้สามารถตรึงโพรบ หรือให้จำนวนโมลของโพรบต่อพื้นที่ (mole of probes per unit area) ได้ในปริมาณที่สูง ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดของเซ็นเซอร์ (efficiency) นอกจากนี้พอลิเมอร์ที่ถูกออกแบบให้มีหมู่ฟังก์ชันเฉพาะที่สามารถช่วยลดการจับยึดกันอย่างไม่จำเพาะเจาะจง ระหว่างโพรบและสารอื่นที่ไม่ใช่สารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ยังสามารถช่วยให้อุปกรณ์ตรวจวัดมีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวิเคราะห์เพิ่มมากขึ้น (specificity) เช่น การใช้โคพอลิเมอร์แบบสุ่มระหว่างพอลิเมทาคริลิกแอซิด และ พอลิ(2-เมทาคริลอิลอกซีเอทิลฟอสโฟริลโคลีน) (poly[(methacrylic acid)-ran-(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)], PMAMPC) ซึ่งเป็น พอลิเมอร์ที่คณะผู้วิจัยได้ทำการออกแบบให้มีส่วนประกอบของทั้งส่วนของพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่ในการตรึงโพรบ (หมู่คาร์บอกซิลของ PMA unit) และส่วนของพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่ในการเพิ่มคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) และลดการจับยึดอย่างไม่จำเพาะเจาะจง (หมู่ฟอสโฟริลโคลีนของ PMPC unit) จากการศึกษาพบว่า PMAMPC สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดให้สูงขึ้น ทั้งในแง่ของการเพิ่มความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัด (detection limit; LODs) โมเลกุลเป้าหมาย และความสามารถในการป้องกันการดูดซับอย่างไม่จำเพาะเจาะจง (Akkahat *et al.*, 2012)

คณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงประสิทธิภาพของ PMAMPC โคพอลิเมอร์ที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพื้นผิวของ MNPs ให้มีความเหมาะสม สำหรับนำไปประยุกต์ใช้ เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ ที่สามารถตรวจวัดโมเลกุลเป้าหมายได้อย่างจำเพาะ

เจาะจงและสามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาการดัดแปรพื้นผิวของ MNPs ด้วยการเคลือบด้วย PMAMPC โดยอาศัยการเคลื่อนที่ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลที่อยู่ในโครงสร้างของ PMAMPC และอะตอมของเหล็กออกไซด์ ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบ วิเคราะห์อนุภาคที่เตรียมได้ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) และ Transmission Electron Microscopy (TEM) ศึกษาความสามารถในการเปลี่ยนสีของอนุภาคภายหลังการเคลือบด้วย PMAMPC

2. วิธีการ

2.1 การสังเคราะห์ PMAMPC

สังเคราะห์ PMAMPC ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันแบบเรดิคัลผ่านกลไกการเกิดปฏิกิริยาแบบ reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) ของ MA และ MPC มอนอเมอร์ (อัตราส่วนโคมอนอเมอร์, 50:50) โดยมี 4-cyanopentanoic acid dithiobenzoate (CPD) และ 4,4'-azobis(4-cyanovaleric acid) (ACVA) เป็น chain transfer agent (CTA) และ radical initiator ตามลำดับ (Akkahat *et al.*, 2012)

2.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก (MNPs)

ชั่ง $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 8.00 g และ $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 3.60 g อัตราส่วน 2:1 ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 150 mL เทลงในขวดสี่คอ จากนั้นต่อเข้ากับคอนเดนเซอร์ (condenser) และอุปกรณ์ปั่นกวน โดยใช้ความเร็ว 750 รอบต่อนาที ปั่นกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน จากนั้นเติม 15 M NH_4OH (pH 11) ปริมาตร 80 mL โดยทำการเติมอย่างรวดเร็ว ควบคุมอุณหภูมิที่ 50°C และปั่นกวนต่อเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นจนมีสภาพเป็นกลางและล้างด้วยเอทานอล ใช้แม่เหล็กดูดแยกอนุภาคออกจากสารละลาย และนำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผงของแข็งสีดำของ MNPs พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FT-IR และ TEM

2.3 การเคลือบพื้นผิวของ MNPs ด้วย PMAMPC (PMAMPC-MNPs)

นำอนุภาคจำนวน 10 mg/mL มากระจายตัวในน้ำกลั่นด้วยเครื่อง ultrasonic จากนั้นเติม PMAMPC ($M_w \approx 50$ kDa, $\text{PMA}_{37}\text{-PMPC}_{63}$) ตามปริมาณที่กำหนด (5, 10, 20 และ 40 mg) และทำการ sonicate ตามเวลาที่กำหนด (15, 30, 45 และ 60 นาที) ล้างอนุภาคด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้งด้วยเครื่อง ultrasonic และใช้แม่เหล็กช่วยในการดูดแยกอนุภาคออกจากสารละลายอบให้แห้ง และพิสูจน์เอกลักษณ์ของ PMAMPC-MNPs ที่เตรียมได้ด้วยเทคนิค FT-IR และ TEM

2.4 ศึกษาสมบัติการตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของ TMB ซับสเตรต

นำอนุภาค MNPs และ PMAMPC-MNPs มาวิเคราะห์โดยเตรียมอนุภาคที่ความเข้มข้น $50 \mu\text{g/mL}$ ในสารละลาย NaOAc บัฟเฟอร์ (0.1 M, pH 3.5) จากนั้นเติม TMB (5 μL , 10 mg/ml) และ 30% H_2O_2 (1.9 μL) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer ใช้ NaOAc เป็นสารละลาย blank

2.5 การพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

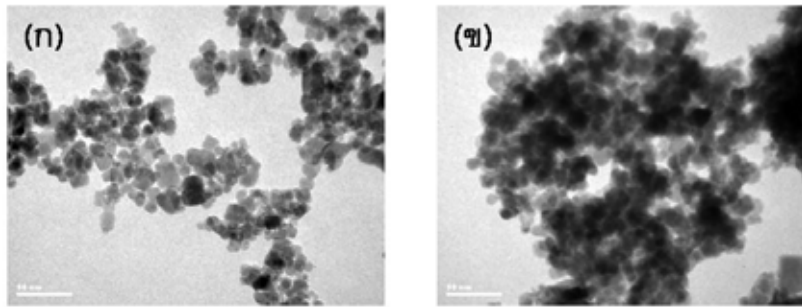
เตรียมตัวอย่างโดยชั่งน้ำหนัก MNPs และ PMAMPC-MNPs 2 มิลลิกรัมผสมลงใน KBr 200 มิลลิกรัม ทำการบดและอัดให้เป็นแผ่นบาง และนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ โหมด FT-IR ที่เลขคลื่น $400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ (128 scans)

3. ผลและอภิปราย

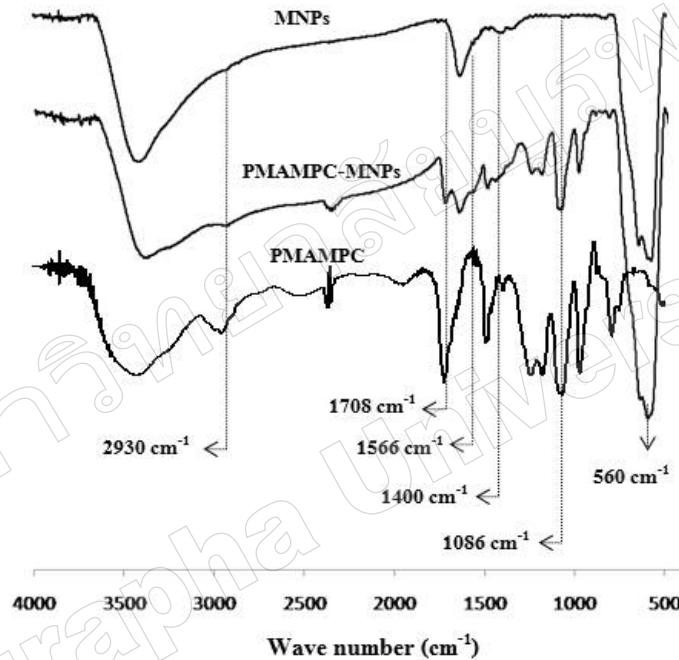
3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก (MNPs)

สังเคราะห์ MNPs โดยวิธีการตกตะกอนร่วม (co-precipitation method) ระหว่าง Fe^{2+} และ Fe^{3+} ในสารละลาย NH_4OH และทำการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้เทคนิค TEM พบว่าอนุภาค MNPs มีลักษณะค่อนข้างกลมและมีขนาด

อยู่ในช่วง 10-50 นาโนเมตร (ภาพที่ 1ก) จากการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR (ภาพที่ 2) พบสัญญาณแสดงพันธะ Fe-O (bending) ที่เลขคลื่นประมาณ 560 cm^{-1} และพบ OH (stretching) ที่เลขคลื่นประมาณ 3500 cm^{-1}



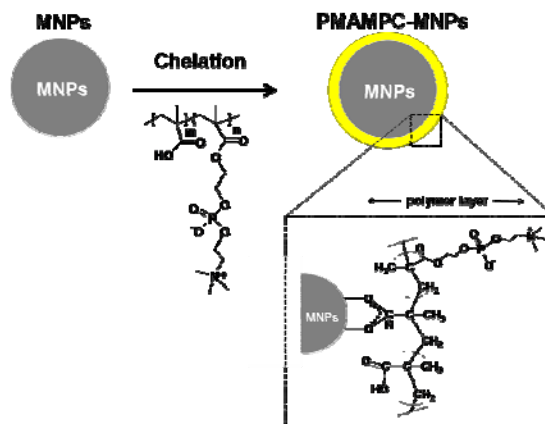
ภาพที่ 1 ภาพถ่าย TEM ของ(ก) MNPs และ (ข) PMAMPC-MNPs



ภาพที่ 2 FT-IR สเปกตรัมของ MNPs PMAMPC-MNPs และ PMAMPC

3.2 การเคลือบพื้นผิวของ MNPs ด้วย PMAMPC (PMAMPC-MNPs)

ในการเคลือบพื้นผิวของ MNPs ด้วย PMAMPC อาศัยการคีเลตระหว่างพื้นผิวของโลหะและหมู่คาร์บอกซิล (COOH) ที่อยู่ในโครงสร้างของ PMAMPC (ภาพที่ 3) ภายหลังการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TEM (ภาพที่ 1ข) พบว่าอนุภาคยังคงลักษณะค่อนข้างกลม และมีขนาดไม่แตกต่างไปจากอนุภาคก่อนเคลือบ แสดงให้เห็นว่า PMAMPC ที่เคลือบบนพื้นผิวของ MNPs มีลักษณะเป็นฟิล์มบาง และเมื่อพิจารณา FT-IR สเปกตรัมของ PMAMPC-MNPs (ภาพที่ 2) จะปรากฏสัญญาณที่ตำแหน่ง 1708 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึง C=O (stretching) และ 1086 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึง P-O (stretching) ของหมู่ฟังก์ชันที่อยู่ในโครงสร้างของ PMAMPC และพบสัญญาณของ C-H (stretching) ที่ประมาณเลขคลื่น 2930 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึง $-\text{CH}_2-$ ในสายโซ่หลักของพอลิเมอร์ นอกจากนี้ยังปรากฏสัญญาณที่ประมาณ 1566 cm^{-1} และ 1400 cm^{-1} แสดงพันธะ C-O (symmetric และ asymmetric stretching) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเกิดคีเลชัน (bidentate bonding) ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลและพื้นผิวของอนุภาคนาโนแม่เหล็ก (Charoenmark *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2014)



ภาพที่ 3 การเกิดคีเลชันระหว่างพื้นผิวของ MNPs และ PMAMPC

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบพื้นผิวของ MNPs ด้วย PMAMPC พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์มีผลต่อความสามารถในการเคลือบ โดยสามารถพิจารณาได้จากความเข้มของสัญญาณ C=O ที่ตำแหน่ง 1708 cm^{-1} เปรียบเทียบกับสัญญาณที่ตำแหน่ง 1634 cm^{-1} ซึ่งเกิดจาก MNPs แสดงในเทอมของ Transmittance intensity ratio พบว่าค่า Transmittance intensity ratio จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของปริมาณการเคลือบ PMAMPC บนอนุภาค (ตารางที่ 1) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นมีค่ามากกว่า 10 mg/mL ปริมาณการเคลือบมีค่าลดลง ซึ่งอาจจะเป็นผลเนื่องมาจากความเกาะของสายโซ่พอลิเมอร์เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ในขณะที่เวลาที่ใช้ในการเคลือบมีผลกระทบบ้างเล็กน้อย (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่า PMAMPC-MNPs ที่เตรียมได้มีการกระจายตัวที่ดีและมีความเสถียรในน้ำ โดยไม่เกิดการเกาะรวมกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ (aggregate) และไม่เกิดการตกตะกอน (ภาพที่ 4ข, ภาพด้านล่าง) ในขณะที่อนุภาคนาโนแม่เหล็กที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบด้วยพอลิเมอร์จะเกิดการตกตะกอน แสดงให้เห็นถึงความไม่เสถียรในการกระจายตัวในน้ำ (ภาพที่ 4ข, ภาพด้านบน) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า PMAMPC ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic polymer) จะช่วยเพิ่มสมบัติความชอบน้ำให้กับอนุภาค MNPs ทำให้อนุภาคกระจายตัวได้ดีและมีความเสถียรในการกระจายตัวในน้ำหรือในตัวกลางที่มีขี้ผึ้ง สามารถเก็บอนุภาคไว้ในรูปของสารละลายได้เป็นระยะเวลานาน แต่เมื่อมีการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอกอนุภาค PMAMPC-MNPs สามารถแยกออกจากสารละลายได้ง่าย (ภาพที่ 4ค, ภาพด้านล่าง)

ตารางที่ 1 ค่า Transmittance intensity ratio ที่ความเข้มข้นของสารละลาย PMAMPC ต่างๆ

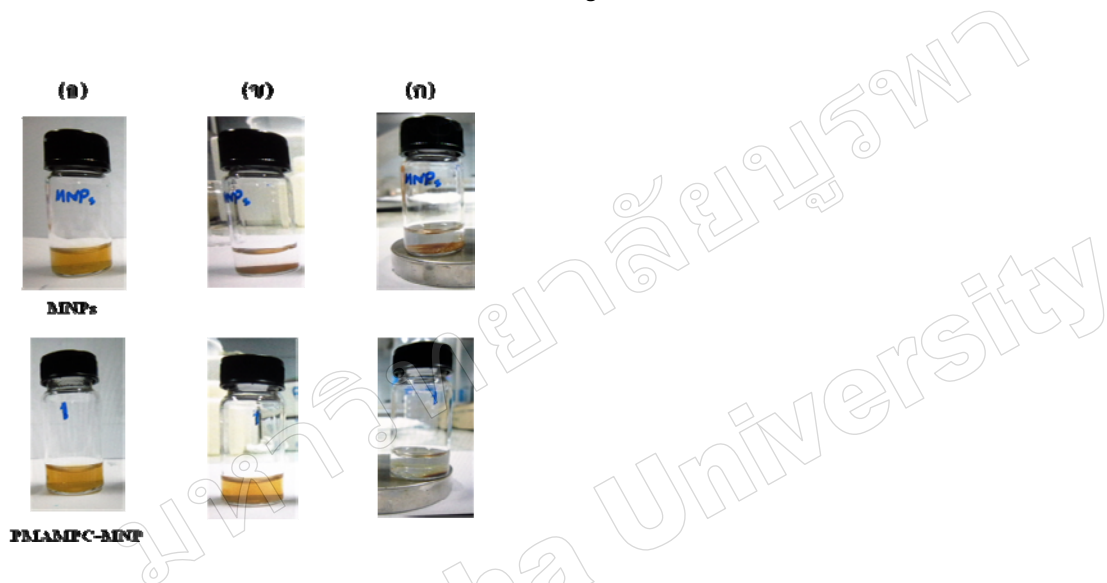
ความเข้มข้นสารละลาย PMAMPC (mg/ml)	Transmittance intensity ratio** [C=O (str) of PMAMPC / Fe-O (str)]
5	0.59
10	0.78
20	0.67
40	0.64

** เวลา 30 นาที

ตารางที่ 2 ค่า Transmittance intensity ratio ที่เวลาต่างๆ ที่ความเข้มข้นของ PMAMPC 10 mg/mL

เวลา (นาที)	Transmittance intensity ratio**
[C=O (str) of PMAMPC / Fe-O (str)]	
15	0.76
30	0.79
45	0.85
60	0.85

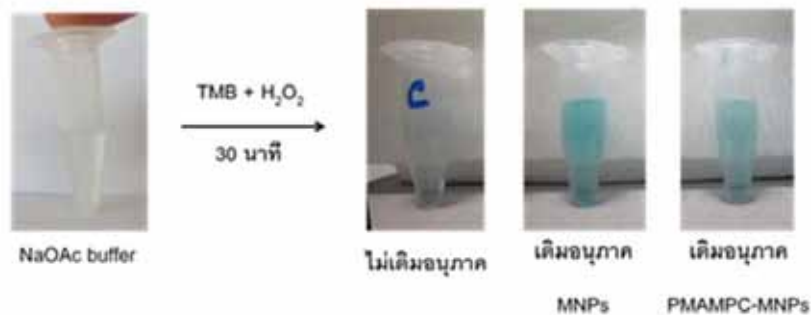
** ความเข้มข้น PMAMPC 10 mg/mL



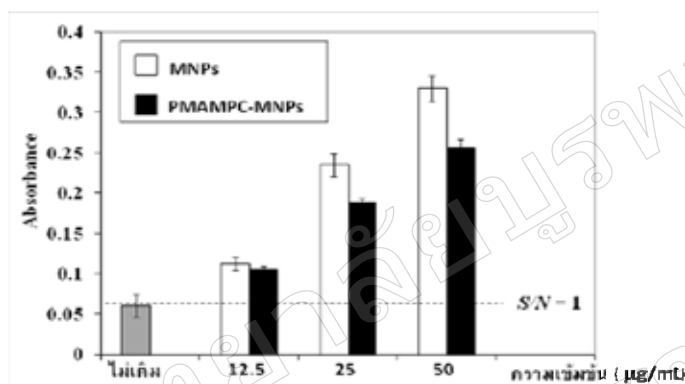
ภาพที่ 4 อนุภาค MNPs และ PMAMPC-MNPs ความเข้มข้น 0.1 mg/mL ภายใต้สภาวะ (ก) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0 นาที (ข) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 นาที และ (ค) ให้สนามแม่เหล็กจากภายนอก

3.3 ศึกษาสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของ TMB ซับสเตรท

อนุภาค PMAMPC-MNPs ที่เตรียมได้แสดงสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีซับสเตรท โดยสามารถเปลี่ยนสี TMB จากสารละลายใสไม่มีสีกลายเป็นสารละลายที่มีสีน้ำเงิน ที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า (ภาพที่ 5) และเมื่อนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร ด้วยเทคนิค UV-Visible spectroscopy พบว่าความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสี TMB ซับสเตรทของอนุภาค PMAMPC-MNPs มีค่าลดลงประมาณ 22% เมื่อเปรียบเทียบกับอนุภาค MNPs แสดงดังภาพที่ 6 ซึ่งคาดว่าเป็นผลเนื่องมาจากการที่อนุภาค MNPs ถูกเคลือบด้วย PMAMPC อาจทำให้เกิดการบดบังบริเวณพื้นผิวของอนุภาคนาโนเหล็กออกไซด์ที่ทำหน้าที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ TMB จากการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของอนุภาคที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสี TMB ซับสเตรท พบว่าในสภาวะการทดลองนี้ที่ความเข้มข้น 12.5 $\mu\text{g/mL}$ คือความเข้มข้นต่ำสุดที่ทั้ง MNPs และ PMAMPC-MNPs ยังสามารถเปลี่ยนสีซับสเตรทได้ (signal to noise ratio; S/N > 1)



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงสีของ TMB ชับสเตรทภายหลังการเติม 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ของอนุภาค MNPs และ PMAMPC-MNPs



ภาพที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย TMB ที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร

4. บทสรุป

การดัดแปรพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กโดยการเคลือบด้วย PMAMPC เป็นการเพิ่มสมบัติความชอบน้ำให้กับอนุภาคนาโนแม่เหล็กทำให้สามารถกระจายตัวได้ดีในน้ำและมีความเสถียร โดยสามารถทำการแยกอนุภาคออกจากสารละลายได้ด้วยการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอก อนุภาคที่ผ่านการเคลือบด้วยพอลิเมอร์ชนิดนี้ยังคงคุณสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของ TMB ชับสเตรทได้ดีใกล้เคียงกับอนุภาค MNPs ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ จากผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นถึงแนวทางในการดัดแปรพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วย PMAMPC ที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพที่สามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่าต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผศ.ดร.ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค ที่ให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือตลอดการทำวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

- Akkahat, P., Kiatkamjornwong, S., Yusa, S., Hoven, V. P., & Iwasaki, Y. (2012). Development of a novel antifouling platform for biosensing probe immobilization from methacryloyloxyethyl phosphorylcholine-containing copolymer brushes. *Langmuir*, 28, 5872-5881.
- Charoenmark, L., Polpanich, D., Thiramanas, R., & Tangboriboonrat, P. (2011). Preparation of superparamagnetic polystyrene-based nanoparticles functionalized by acrylic acid, *Macromolecular research*, 20:6, 590-596.

- Gao, L., Zhuang, J., Nie, L., Zhang, J., Zhang, Y., Gu, N., Wang, T., Feng, J., Yang, D., Perrett, S., & Yan, X. (2007). Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nature Nanotechnology*, 2, 577-583.
- Lee, P. -L., Sun, Y. -C., & Ling, Y. -C. (2009). Magnetic nano-adsorbent integrated with lab-on-valve systems for trace analysis of multiple metals. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 24, 320-327.
- Li, X., Wen, F., Creran, B., Jeong, Y., Zhang, X., & Rotello, V. M. (2012). Colorimetric protein sensing using catalytically amplified sensor arrays. *Small*, 8, 3589-3592.
- Qiu, J., Zhou, Y., Chen, H., & Lin, J. -M. (2009). Immunomagnetic separation and rapid detection of bacteria using bioluminescence and microfluidics. *Talanta*, 79, 787-795.
- Thiramanas, R., Jangpatrapongsa, K., Tangboriboonrat, P., & Polpanich, D. (2013). Detection of *Vibrio cholerae* using the intrinsic catalytic activity of a magnetic polymeric nanoparticle. *Analytical Chemistry*, 85, 5996-6002.
- Wang, G., Zhang, X., Skallberg, A., Liu, Y., Hu, Z., Mei, X., & Uvdal, K. (2014). One-step synthesis of water-dispersible ultra-small Fe₃O₄ nanoparticles as contrast agents for T1 and T2 magnetic resonance imaging. *Nanoscale*, 6, 2953-2963.
- Woo, M. -A., Kim, M. I., Jung, J. H., Park, K. S., Seo, T. S., & Park, H. G. (2013). A novel colorimetric immunoassay utilizing the peroxidase mimicking activity of magnetic nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 9999-10014.
- Yu, F. Q., Huang, Y. Z., Cole, A. J., & Yang, V. C. (2009). The artificial peroxidase activity of magnetic iron oxide nanoparticles and its application to glucose detection. *Biomaterials*, 30, 4716-4722.
- Zhang, Z., Wang, Z., Wang, X., & Yang, X. (2010). Magnetic nanoparticle-linked colorimetric aptasensor for the detection of thrombin. *Sensors and Actuators B*, 147, 428-433.