



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

อนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพอลิเมอร์สำหรับการประยุกต์เป็นอุปกรณ์
ตรวจวัดทางชีวภาพ

Polymer-coated magnetic nanoparticles for biosensing applications

หัวหน้าโครงการวิจัย

อ.ดร. ปิยะพร ณ หนองคาย

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ.ดร. ธนิตา ตระกูลสุจริตโชค

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2558A10802349

สัญญาเลขที่ 88/2558

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

อนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพอลิเมอร์สำหรับการประยุกต์เป็นอุปกรณ์
ตรวจวัดทางชีวภาพ

Polymer-coated magnetic nanoparticles for biosensing applications

อ.ดร. ปิยะพร ณ หนองคาย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ผศ.ดร. ธนิตา ตระกูลสุจริตโชค

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ตุลาคม 2559

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 88/2558

บทคัดย่อ (Abstract)

อนุภาคนาโนแมกนีไทต์คืออนุภาคนาโนเหล็กออกไซด์ชนิดหนึ่งที่มีสมบัติซูเปอร์พาราแมกเนติก ได้รับความสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้งานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและชีวการแพทย์อย่างแพร่หลาย การนำอนุภาคนาโนแม่เหล็กไปประยุกต์ใช้งานจำเป็นต้องมีการดัดแปรพื้นผิวของอนุภาคเพื่อให้มีความเหมาะสม ในงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กดัดแปรพื้นผิวด้วยโคพอลิเมอร์แบบสุ่มระหว่างพอลิเมทาคริลิกแอซิด และ พอลิ(2-เมทาคริลอิลออกซีเอทิล ฟอสโฟริลโคลีน) ด้วยปฏิกิริยาแบบ “one pot” โดยอาศัยการตกตะกอนร่วมระหว่าง Fe^{2+} และ Fe^{3+} ในสารละลายเบสร่วมกับสถานะที่มีการเติมสารละลายพอลิเมอร์ อนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะทรงกลม กระจายตัวได้ดีในน้ำ และมีสมบัติทางแม่เหล็ก มีขนาดอยู่ในช่วง 11-12 นาโนเมตร การดัดแปรพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วยพอลิเมอร์ชนิดนี้ช่วยลดการดูดซับแบบไม่จำเพาะเจาะจงของโปรตีน นอกจากนี้อนุภาคที่ผ่านการเคลือบพื้นผิวด้วยพอลิเมอร์ยังคงคุณสมบัติที่ดีในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของ 3,3',5,5'-เตตระเมทิลเบนซิดีน (ทีเอ็มบี) ในสถานะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ แสดงให้เห็นว่าสามารถนำอนุภาคที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วยพอลิเมอร์ชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการตรวจวัดทางชีวภาพที่สามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยการเปลี่ยนแปลงสีต่อไป

Magnetite nanoparticles (Fe_3O_4 NPs) are a type of iron oxide nanoparticles with superparamagnetic properties. It has been subjected to extensive research due to their potential applications in the fields of biotechnology and biomedicine, such as enzyme immobilization, protein separation, drug delivery and biosensor. To enhance the performance in these applications and to explore novel applications, the functionalization of the nanoparticles' surface is particularly importance. In this research, poly(methacrylic acid-co-2-methacryloxyethyl phosphorylcholine) (PMAMPC)-functionalized magnetic nanoparticles (MNPs), thereafter called MNPs-PMAMPC were successfully synthesized in one-pot reaction by a chemical co-precipitation method of ferrous/ferric mixed salt-solution in alkaline medium and direct polymer addition method. The obtained MNPs-PMAMPC had spherical shape, well-dispersed in water, and exhibited good magnetic properties. The average size of nanoparticles was in the range of 11-12 nm. MNPs-PMAMPC showed a low protein adsorption compared with uncoated MNPs. Moreover, MNPs-PMAMPC hold their peroxidase-like activity for the reaction of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) in a presence of H_2O_2 to produce blue color products. The catalytic activity of MNPs-PMAMPC exhibited almost the same that of uncoated MNPs. This result indicated that they are potential to use for colorimetric biosensors application.

สารบัญ

	หน้า
1. บทนำ	1
1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา	2
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี และแนวทางการคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	10
2. วิธีดำเนินการวิจัย	11
2.1 สารเคมี	11
2.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์	11
2.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก (MNPs) ด้วยวิธีการตกตะกอนร่วม	12
2.4 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กดัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC (MNPs-PMAMPC) ด้วยปฏิกิริยาแบบ One-pot	13
2.5 ศึกษาความสามารถในการดูดแยกอนุภาคนาโนแม่เหล็กออกจากสารละลาย	14
2.6 ศึกษาความเสถียรในการกระจายตัวของอนุภาคนาโนแม่เหล็กแขวนลอย	14
2.7 ศึกษาการดูดซับโปรตีน	14
2.7.1 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิค Bio-Rad Protein assay	14
2.7.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน	14
2.7.3 ทดสอบการดูดซับโปรตีน	15
2.8 ศึกษาสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของเปอร์ออกซิเดตซ์ับเสตรท (peroxidase-like activity)	15
3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	17
3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก (MNPs) ด้วยวิธีการตกตะกอนร่วม	17
3.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กดัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC (MNPs-PMAMPC) ด้วยปฏิกิริยาแบบ One-pot	21
3.3 ความสามารถในการดูดแยกอนุภาคนาโนแม่เหล็กออกจากสารละลาย	26
3.4 ศึกษาความเสถียรในการกระจายตัวของอนุภาคนาโนแม่เหล็กแขวนลอย	27
3.5 การดูดซับโปรตีน (Protein adsorption)	28
3.6 สมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของเปอร์ออกซิเดตซ์ับเสตรท (peroxidase-like activity)	29

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	31
4.1 สรุปผลการทดลอง	31
1.2 ข้อเสนอแนะ	31
ผลผลิต	32
บรรณานุกรม	33
ประวัตินักวิจัย	36
ภาคผนวก	42

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ MNPs	13
2.2	สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ MNPs-PMAMPC	13
3.1	อิทธิพลของความเร็วยรอบในการปั่นกวน	17

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1.1	Schematic diagram of a biosensor device	3
1.2	เทคนิค immunomagnetic separation	3
1.3	การใช้อนุภาคนาโนแม่เหล็กในการตรวจวิเคราะห์เชื้อไวรัสในสารตัวอย่าง	4
1.4	การตรวจวิเคราะห์หา AVD ในสารละลาย blood plasma ของ PMAMPC เซ็นเซอร์	6
1.5	การเกิดคิเลชันระหว่าง หมู่คาร์บอกซิลและอนุภาคนาโนแม่เหล็ก	7
1.6	การตรึง PAA ลงบนอนุภาคนาโนแม่เหล็ก	7
1.7	การวิเคราะห์หา Tnl ในซีรัม	8
1.8	การวิเคราะห์หา Thrombin	8
1.9	การตรวจวัดโปรตีนจากการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการเปลี่ยนสีซึบสเตรท	9
2.1	อุปกรณ์การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก	12
2.2	แผนภาพขั้นตอนการทดสอบสมบัติ peroxidase-like activity	15
3.1	อนุภาคนาโนแม่เหล็ก	17
3.2	ภาพถ่าย TEM ของ Fe ₃ O ₄ NPs ที่ความเร็วรอบในการปั่นกวน ก) 500 ข) 750 และ ค) 1,000 rpm	17
3.3	การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุนาโนอนุภาค MNPs ด้วยเทคนิค EDX	18
3.4	FT-IR สเปกตรัมของ Fe ₃ O ₄ NPs	18
3.5	เทอร์โมแกรมของ MNPs ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย TGA	19
3.6	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสนามแม่เหล็กจากภายนอกกับค่าการตอบสนองต่อแม่เหล็ก (Magnitization) ของ MNPs	19
3.7	การดัดแปรพื้นผิวของ MNPs ด้วย PMAMPC	19
3.8	FT-IR สเปกตรัมของ MNPs-PMAMPC	21
3.9	รูปแบบการเกิดคิเลชันระหว่างหมู่ COO ⁻ และอะตอมของเหล็ก	21
3.10	ภาพถ่าย TEM และการกระจายตัวของขนาดของ (A) MNPs, (B) MNPs-PMAMPC10, (C) MNPs-PMAMPC20 และ (D) MNPs-PMAMPC40	22
3.11	TGA เทอร์โมแกรมของ MNPs, MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40	23
3.12	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสนามแม่เหล็กจากภายนอกกับค่าการตอบสนองต่อแม่เหล็ก (Magnitization) ของ MNPs (เส้นสีดำ) และ MNPs-PMAMPC40 (เส้นสีน้ำเงิน)	23
3.13	การดูดแยกอนุภาคออกจากสารละลาย (A) สภาวะที่ปราศจากสนามแม่เหล็กจากภายนอก และ (B) ภาพบนแสดงสภาวะที่มีการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอก 1 นาที และภาพล่างแสดงสภาวะที่มีการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอกจนเกิดการแยกอย่างสมบูรณ์	24

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.14	ภาพถ่ายอนุภาคแขวนลอยของอนุภาคชนิดต่างๆ ในสภาวะปราศจากสนามแม่เหล็กจากภายนอก	25
3.15	แบบจำลองการเกิด aggregation และการป้องกันการเกิด aggregation ของอนุภาค	26
3.16	ปริมาณการดูดซับโปรตีน bovine serum albumin และ lysozyme ของอนุภาคชนิดต่างๆ	27
3.17	การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB ที่สภาวะไม่มีการเติมอนุภาค (Control) และสภาวะที่มีการเติมอนุภาคชนิดต่างๆ	28
3.18	อิทธิพลของเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB	29
3.19	อิทธิพลของ pH สารละลายต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB	29
3.20	อิทธิพลของ $[H_2O_2]$ ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB	30
3.21	อิทธิพลของปริมาณอนุภาคต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB	30

1. บทนำ (Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันอุปกรณ์ตรวจวัดหรือเซ็นเซอร์เข้ามามีบทบาทสำคัญกับมนุษย์มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพหรือเซ็นเซอร์ชีวภาพ (biosensor) ซึ่งเกี่ยวข้องกับสุขภาพอนามัยของมนุษย์ เช่น อุปกรณ์สำหรับตรวจวินิจฉัยโรค ตรวจการตั้งครรภ์ และตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในเลือด เป็นต้น ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคโนโลยีของเซ็นเซอร์ชีวภาพอย่างต่อเนื่อง โดยมีเป้าหมายสำคัญ คือ การพัฒนาเซ็นเซอร์ชีวภาพที่ให้ผลการตรวจวัดที่รวดเร็ว มีความถูกต้อง แม่นยำสูง และราคาถูก

การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพโดยอาศัยการตรวจติดตามการเปลี่ยนสีหรือที่เรียกว่า colorimetric detection ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถสังเกตเห็นผลของการเปลี่ยนแปลงได้ง่ายด้วยตาเปล่า ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือที่มีราคาแพงในห้องปฏิบัติการ รวมถึงทำได้สะดวกและรวดเร็ว นับเป็นหลักการที่ได้รับความนิยมมากในปัจจุบัน อุปกรณ์ตรวจวัดที่มีการใช้งานกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน คือ อนุภาคนาโนทองคำ (gold nanoparticles; AuNPs) ที่อาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงของสีหรือค่าการดูดกลืนแสงของ AuNPs อันเป็นผลเนื่องมาจากการดูดซับของโมเลกุลที่ต้องการวิเคราะห์ นอกจากนี้ ยังมีอนุภาคอีกชนิดที่ได้รับความนิยมคือ อนุภาคนาโนแม่เหล็ก (magnetic nanoparticles; MNPs) จากสมบัติ peroxidase-like activity หรือสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของ peroxidase substrate ในสถานะที่มี H_2O_2 ได้เหมือนกับเอนไซม์ peroxidase ที่มีในธรรมชาติ เช่น horseradish peroxidase (HRP) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ peroxidase substrate ที่สามารถใช้ในการตรวจติดตามการตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ ประกอบกับอนุภาคนาโนแม่เหล็กมีสมบัติทางแม่เหล็กที่เอื้อต่อการแยกอนุภาคออกจากสารละลายได้ง่ายด้วยการให้สนามแม่เหล็ก (magnet) ดังนั้นจึงได้รับความนิยมในการนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับเทคนิคการแยกด้วยหลักการทางอิมมูโน (immunomagnetic separation; IMS) ซึ่งเป็นเทคนิคการแยกสารที่ต้องการออกจากสารตัวอย่างผสม โดยอาศัยการจดจำทางชีวภาพ (biological recognition mechanism) ระหว่างโมเลกุลของสารที่สนใจ และโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวตรวจวัด (โพรบ) ที่ถูกตรึงบนอนุภาคนาโนแม่เหล็ก โดยสารที่ต้องการตรวจวัดหรือแยกจะยึดติดอยู่กับอนุภาคนาโนแม่เหล็กและถูกแยกออกจากสารอื่นได้โดยง่ายและถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ต่างๆ ต่อไป เช่น การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) และ mass spectrometry

ถึงแม้จะมีรายงานวิจัยที่นำอนุภาคนาโนแม่เหล็กมาใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพอย่างแพร่หลาย แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมายังคงพบปัญหาเกี่ยวกับความไม่จำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดระหว่างโพรบ และโมเลกุลอื่นที่ไม่ใช่โมเลกุลที่ต้องการวิเคราะห์ ก่อให้เกิดสัญญาณรบกวนในการวิเคราะห์ ส่งผลให้ค่า signal-to-noise (S/N ratio) รวมถึง selectivity ของอุปกรณ์ตรวจวัดมีค่าต่ำ อีกทั้งไม่สามารถนำไปใช้ในการตรวจวัดในสารตัวอย่างที่มืองค์ประกอบที่ซับซ้อน เช่น blood plasma หรือ นม ได้ ประกอบกับการวิเคราะห์ยังต้องอาศัยเครื่องมือและเทคนิคต่าง ๆ ที่จำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษา และพัฒนาการดัดแปรพื้นผิวของ MNPs ให้มีความเหมาะสมสำหรับเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพที่สามารถตรวจวัด

โมเลกุลเป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจงและสามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาการดัดแปรพื้นผิวของ MNPs ด้วยการเคลือบด้วยโคพอลิเมอร์แบบสลับระหว่างพอลิเมทาคริลิกแอซิด และ พอลิ(2-เมทาคริลอยลออกซีเอทิลฟอสโฟริลโคลีน) (poly[(methacrylic acid)-ran-(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)]) หรือ พีเอ็มเอเอ็มพีซี (PMAMPC) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่คณะผู้วิจัยได้ทำการออกแบบให้มีองค์ประกอบของทั้งส่วนที่ทำหน้าที่ในการตรึงโพรบ (หมู่คาร์บอกซิล) และส่วนที่ทำหน้าที่ในการต้านการดูดซับอย่างไม่จำเพาะเจาะจง (หมู่ฟอสโฟริลโคลีน) โดยคาดว่าจะสามารถนำอนุภาคที่เคลือบด้วยพีเอ็มเอเอ็มพีซีไปใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวินิจฉัยโรคที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ มีความสะดวกและรวดเร็ว และที่สำคัญไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือราคาแพงในการตรวจวิเคราะห์ต่อไปได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

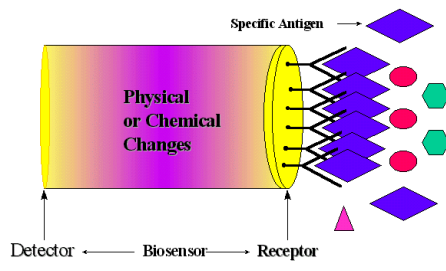
- 1.2.1 เพื่อศึกษาการดัดแปรพื้นผิวและพิกัดของอนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพีเอ็มเอเอ็มพีซี โคพอลิเมอร์ (PMAMPC)
- 1.2.2 เพื่อศึกษานำอนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพีเอ็มเอเอ็มพีซีมาใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโมเลกุลเป้าหมาย และสามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

- 1.3.1 สังเคราะห์และวิเคราะห์สมบัติของพีเอ็มเอเอ็มพีซี โคพอลิเมอร์ (PMAMPC)
- 1.3.2 สังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก โดยอาศัยวิธีการตกตะกอนร่วม (Co-precipitation method) และวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของอนุภาคที่เตรียมได้
- 1.3.3 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วย PMAMPC (PMAMPC-MNPs) โดยอาศัยการเกิด chelation ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลของ PMAMPC และพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็ก
- 1.3.4 ศึกษาสมบัติ peroxidase-like activity และการดูดซับแบบไม่จำเพาะเจาะจงต่อโปรตีนของ PMAMPC-MNPs

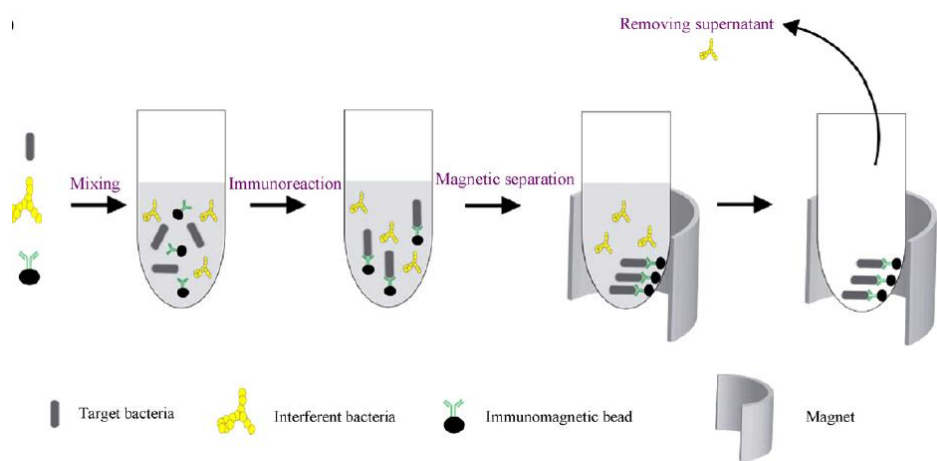
1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี และแนวทางการคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

หลักการพื้นฐานของการตรวจวัดทางชีวภาพ คือ อาศัยการจดจำทางชีวภาพ (biological recognition mechanism) ที่ก่อให้เกิดการจับกันอย่างจำเพาะเจาะจงระหว่างสารชีวโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลสำหรับตรวจวัด (โพรบ) และสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ (analyte) เช่น ความจำเพาะเจาะจงซึ่งกันและกันระหว่างคู่แอนติเจนและแอนติบอดี หรือดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกัน โดยโพรบจะถูกตรึงลงบนอุปกรณ์ตรวจวัด และเมื่ออุปกรณ์ดังกล่าวตรวจพบสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ จะทำให้เกิดสัญญาณที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคต่างๆ เช่น ทางเคมีไฟฟ้า ทางมวล หรือทางแสง



รูปที่ 1.1 Schematic diagram of a biosensor device

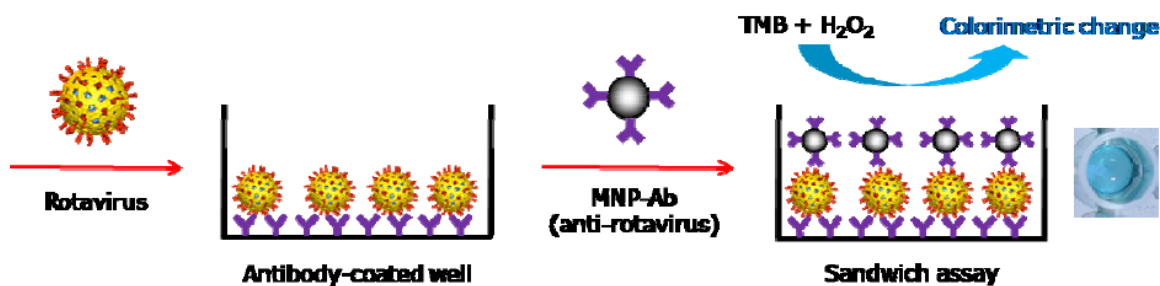
Magnetite (Fe_3O_4) หรือแร่เหล็ก จัดเป็นสารประกอบออกไซด์ของเหล็กชนิดหนึ่งที่มีสมบัติทางแม่เหล็ก พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ มีลักษณะเป็นก้อนสีดำ อนุภาคระดับนาโนของ Fe_3O_4 (MNPs) เป็นอนุภาคที่ได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่าง ๆ เช่น อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ตลอดจนในงานด้านการแพทย์ สำหรับการสังเคราะห์ MNPs สามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีการตกตะกอนร่วมระหว่างเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) และ เฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) ได้อนุภาคที่มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาค MNPs เป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็ก มีพื้นที่ผิวสูง และยังคงคุณสมบัติทางแม่เหล็ก ดังนั้นจึงได้มีการนำ MNPs มาใช้ในเทคนิคการแยกสารชีวโมเลกุลโดยอาศัยหลักการทางอิมมูโน (immunomagnetic separation; IMS) [1-4] โมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวตรวจวัด หรือ โพรบ จะถูกตรึงบนอนุภาคนาโนแม่เหล็กและถูกนำมาใช้แยกสารชีวโมเลกุลที่ต้องการออกจากสารตัวอย่างผสม สารชีวโมเลกุลที่ต้องการตรวจวัดหรือแยกจะยึดติดอยู่กับอนุภาคและถูกแยกออกจากสารอื่นได้โดยการดูดอนุภาคไว้ด้วยแม่เหล็ก (รูปที่ 1.2)



รูปที่ 1.2 เทคนิค immunomagnetic separation [4]

การมีขนาดระดับนาโนของอนุภาคแม่เหล็กทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างจากแร่เหล็กทั่วไป คือ มีสมบัติ peroxidase-like activity ในสถานะที่มี H_2O_2 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของซัพสเตรท ดังนั้นจึงได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ ที่สามารถตรวจติดตามการตรวจวัดสารได้ง่ายโดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของซัพสเตรท ซึ่งในปัจจุบันวิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยอนุภาคนาโนแม่เหล็กจะอาศัยหลักการเดียวกับเทคนิค enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) โดยมีหลักการดังนี้ คือ แอนติบอดีตัวแรกที่มีความจำเพาะกับ

แอนติเจนจะถูกเคลือบบนวัสดุยึดเกาะ เช่น ELISA plate จากนั้นทำการเติมตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ให้ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีตัวแรกที่ติดกับผิววัสดุ ส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก แล้วเติมอนุภาคนาโนแม่เหล็กที่เคลือบด้วยแอนติบอดีตัวที่สองที่มีความจำเพาะกับแอนติเจนให้ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่ถูกจับไว้ ส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกไป แล้วเติมซับสเตรทที่เหมาะสมเพื่อตรวจวัดการทำงานของอนุภาคนาโนแม่เหล็ก ในกรณีที่สารตัวอย่างมีแอนติเจนจะทำให้อนุภาคนาโนแม่เหล็กถูกจับไว้ที่ ELISA plate และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ ซับสเตรท ความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นจะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของแอนติเจนในตัวอย่าง ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการใช้อนุภาคนาโนแม่เหล็กเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดสามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของซับสเตรทได้ด้วยตัวเองโดยไม่ต้องติดฉลากแอนติบอดีด้วยเอนไซม์เหมือนในกรณีของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ELISA ซึ่งถือเป็นข้อได้เปรียบอย่างหนึ่งของการประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนแม่เหล็ก ตลอดจนวนอนุภาคนาโนแม่เหล็กมีความเสถียรต่ออุณหภูมิและความเป็นกรดเบสของสารละลายมากกว่าเอนไซม์ ดังนั้นจึงสามารถประยุกต์ใช้งานได้ในช่วงที่กว้างกว่าการใช้เอนไซม์ [6]



รูปที่ 1.3 การใช้อนุภาคนาโนแม่เหล็กในการตรวจวิเคราะห์เชื้อไวรัสในสารตัวอย่าง [5]

นอกจากนี้แล้วการพัฒนาอนุภาคนาโนแม่เหล็กให้มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดต่อโมเลกุลเป้าหมาย ยังถือเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพ (efficiency) ความจำเพาะเจาะจง (specificity) และความไว (sensitivity) ของอุปกรณ์ตรวจวัด แนวทางหนึ่งที่ยิมนำมาใช้คือ การนำพอลิเมอร์ฟิล์มบางมาเคลือบบนอนุภาคนาโนแม่เหล็กเพื่อใช้ในการตรึงสารชีวโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลสำหรับตรวจวัดหรือที่เรียกว่าโพรบ ลงบนอนุภาคนาโนแม่เหล็ก [4, 6-7] ข้อดีของการใช้พอลิเมอร์คือ สามารถออกแบบโครงสร้างของพอลิเมอร์ให้มีหมู่ฟังก์ชันเฉพาะที่สามารถเกิดพันธะทางเคมีที่เสถียรกับสารชีวโมเลกุลได้ โดยส่วนใหญ่พอลิเมอร์ที่นำมาใช้มักจะถูกออกแบบให้มีหมู่คาร์บอกซิล หรือไฮดรอกซิลเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากสารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน, แอนติบอดี, เอนไซม์ และดีเอ็นเอ จะมีหมู่แอมิโนเป็นองค์ประกอบ ประกอบกับการที่พอลิเมอร์มีปริมาณและความหนาแน่นของหมู่ฟังก์ชันที่สูงทำให้สามารถตรึงโพรบ หรือให้จำนวนโมลของโพรบต่อพื้นที่ (mole of probes per unit area) ได้ในปริมาณที่สูง ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดของเซ็นเซอร์ (efficiency) นอกจากนี้พอลิเมอร์ที่ถูกออกแบบให้มีหมู่ฟังก์ชันเฉพาะที่สามารถช่วยลดการจับยึดกันอย่างไม่จำเพาะเจาะจงระหว่างโพรบและสารอื่นที่ไม่ใช่สารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ยังสามารถช่วยให้อุปกรณ์ตรวจวัดมีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวิเคราะห์เพิ่มมากขึ้น (specificity)

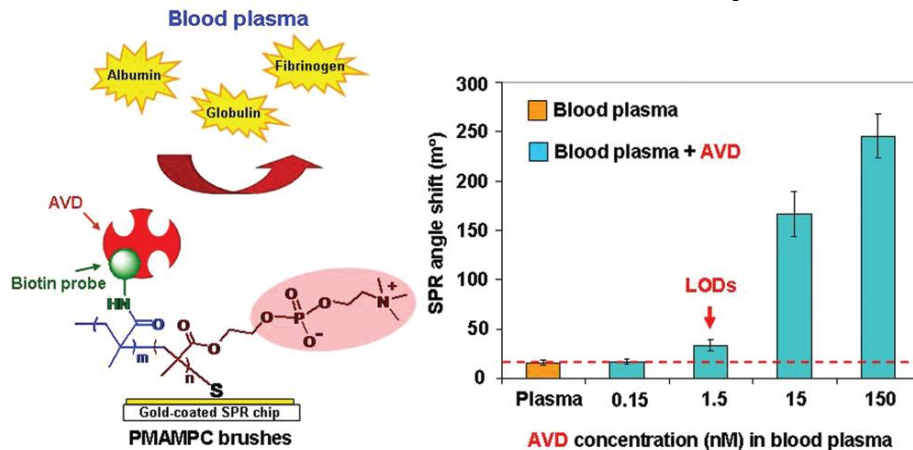
ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษา และพัฒนาการดัดแปรพื้นผิวของ MNPs ให้มีความเหมาะสม โดยการเลือกใช้ PMAMPC โคพอลิเมอร์ ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีประสิทธิภาพที่ดีในการ

นำมาใช้ปรับปรุงพื้นผิวของวัสดุรองรับเพื่อนำไปประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ [8] สามารถทำการตรึงโพรบลงบนวัสดุรองรับได้ อีกทั้งยังสามารถลดการดูดซับแบบไม่จำเพาะเจาะจง นอกจากนี้จากการที่พอลิ เมอร์ชนิดนี้มีส่วนที่แสดงประจุเป็นลบ ซึ่งเอื้ออำนวยต่อการเพิ่มคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงสีของ TMB substrate ที่มีประจุเป็นบวกได้ [9] ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงคาดว่าแนวทางที่เลือกใช้นี้จะสามารถนำมาพัฒนา MNPs เพื่อประยุกต์ใช้ในการเป็นอุปกรณ์ตรวจวินิจฉัยโรค หรือตรวจหาจุลินทรีย์ ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ มีความสะดวก และรวดเร็ว อีกทั้งยังมีราคาถูกได้

โดยทั่วไปพอลิเมอร์ที่นิยมนำมาเคลือบบนวัสดุรองรับสำหรับงานทางด้าน การตรวจวัดทางชีวภาพมักจะเป็นพอลิเมอร์กลุ่มที่มีความชอบน้ำ (hydrophilic polymer) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มของพอลิเมอร์ที่มีหมู่คาร์บอกซิลเป็นองค์ประกอบ (carboxyl-containing polymer) เช่น พอลิอะคริลิกแอซิด [poly(acrylic acid), PAA] เนื่องจากสามารถนำหมู่คาร์บอกซิลของพอลิเมอร์มาใช้ในการตรึงโพรบที่เป็นสารชีวโมเลกุลผ่านการเกิดพันธะเอไมด์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลของพอลิเมอร์และหมู่เอมีนของโพรบได้ ประกอบกับพอลิเมอร์ดังกล่าวมีหมู่คาร์บอกซิลเป็นหมู่ข้าง (side group) ของทุกๆ หน่วยซ้ำตลอดความยาวโซ่พอลิเมอร์ ทำให้มีปริมาณและความหนาแน่นของหมู่ฟังก์ชันที่สูงส่งผลต่อปริมาณการตรึงโพรบที่สูงขึ้นด้วย (probe density) ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพในการตรวจวัดของเซ็นเซอร์ที่เพิ่มสูงขึ้น (high sensitivity) จึงเป็นเหตุผลทำให้มีผู้สนใจนำพอลิเมอร์ที่มีหมู่คาร์บอกซิลเป็นองค์ประกอบไปใช้ในการปรับปรุงพื้นผิวของวัสดุรองรับสำหรับการตรึงโพรบชนิดต่างๆ เพื่อเตรียมเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ [10-11] และในงานวิจัยที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยได้เคยทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการปรับปรุงพื้นผิวของวัสดุรองรับด้วยพอลิเมอร์ที่มีหมู่คาร์บอกซิลเป็นองค์ประกอบ เพื่อประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดทางชีวภาพด้วยเทคนิคเซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance, SPR) [12-13] โดยจากการทดลองพบว่าโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นสามมิติของฟิล์มบาง PAA ทำให้มีหมู่คาร์บอกซิลที่สามารถตรึงโพรบได้ในปริมาณที่สูง และมีค่าสูงกว่าการตัดแปรรูปพื้นผิววัสดุรองรับโดยใช้โมเลกุลชั้นเดียวที่เกิดการจัดเรียงตัวได้เอง (self-assembly monolayers, SAMs) ของสารประกอบไทออลที่มีหมู่ปลายเป็นคาร์บอกซิล (MUA) ซึ่งจะเป็นการตรึงเฉพาะผิวด้านบนในลักษณะที่เป็นสองมิติเท่านั้น และนอกจากนี้ยังพบว่า ความหนาแน่นและความสามารถในการบวมตัวของพอลิเมอร์ฟิล์มมีผลต่อประสิทธิภาพในการตรึงโพรบ และการตรวจวัดโมเลกุลเป้าหมาย และที่สำคัญฟิล์มของ PAA ยังส่งผลทำให้อุปกรณ์ตรวจวัดที่เตรียมได้มีความจำเพาะเจาะจงต่อการตรวจวัดโมเลกุลเป้าหมายได้ดีกว่ากรณีของ SAMs ด้วย

แต่ถึงอย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าการใช้พอลิเมอร์ฟิล์มบางของ PAA ในการเตรียมเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพยังมีข้อจำกัดในการนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายในสารตัวอย่างที่มีความซับซ้อนทางองค์ประกอบ (complex samples) เช่น blood plasma นม และอาหาร เนื่องจากหมู่คาร์บอกซิลของ PAA ที่เหลือจากการตรึงโพรบ สามารถแสดงประจุเป็นลบในสารละลาย phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4) ที่ใช้เป็นสารละลายในการวิเคราะห์ และสามารถเกิดการจับยึดกับโปรตีนหรือสารทุกชนิดที่แสดงประจุเป็นบวกด้วยแรงระหว่างประจุ [13] ก่อให้เกิดสัญญาณรบกวนในการตรวจวิเคราะห์ซึ่งส่งผลต่อค่า sensitivity และ selectivity ของเซ็นเซอร์ ดังนั้น ในงานวิจัยต่อมามีคณะผู้วิจัยได้พัฒนาการตัดแปรรูปพื้นผิวของวัสดุรองรับโดยใช้ฟิล์มพอลิเมอร์ชนิดใหม่ โดยการออกแบบให้พอลิเมอร์ชนิดใหม่นี้มีส่วนประกอบของทั้งส่วนของพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่ในการตรึงโพรบสำหรับตรวจวัดและส่วนของพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่ในการลดการดูดซับ

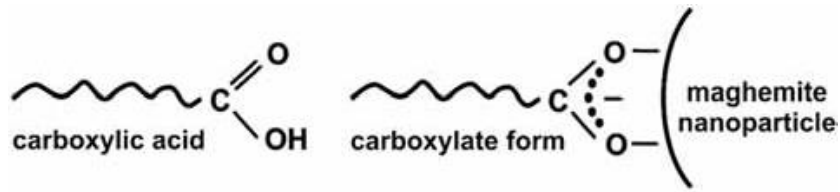
อย่างไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งก็คือ โคพอลิเมอร์แบบสุ่มระหว่าง poly(methacrylic acid) (PMA) และ poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) (PMPC) หรือ PMAMPC โดยส่วนของ PMA ในโคพอลิเมอร์จะทำหน้าที่ในการตรึงโพรบ ในขณะที่ส่วนของ PMPC ในโคพอลิเมอร์จะทำหน้าที่ในการลดการดูดซับอย่างไม่จำเพาะเจาะจง จากการศึกษพบว่า PMAMPC สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดให้สูงขึ้น ทั้งในแง่ของการเพิ่มความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัด (detection limit; LODs) โมเลกุลเป้าหมาย และความสามารถในการป้องกันการดูดซับอย่างไม่จำเพาะเจาะจง โดยเซ็นเซอร์ที่เตรียมได้สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หา avidin (AVD) ในสารละลาย blood plasma ได้ โดยมีค่า LODs ต่ำถึง 1.5 nM ดังแสดงในรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 การตรวจวิเคราะห์หา AVD ในสารละลาย blood plasma ของ PMAMPC เซ็นเซอร์ [4]

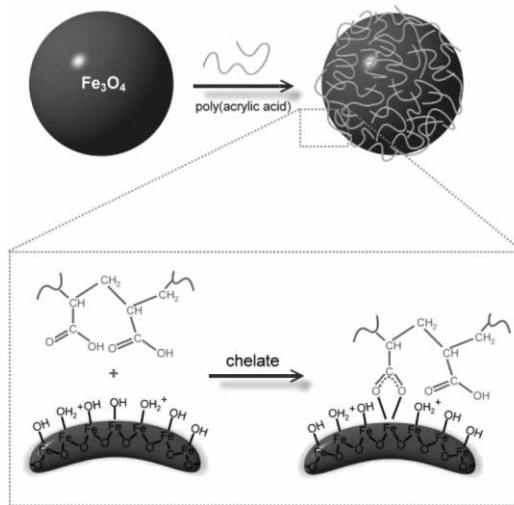
ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงประสิทธิภาพของ PMAMPC โคพอลิเมอร์ที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพื้นผิวของ MNPs สำหรับการตรึงโพรบ เพื่อประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ สำหรับการตรวจวัดในสารตัวอย่างที่มีความซับซ้อนได้ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการทำงานแบบ dual functionality ของโคพอลิเมอร์ชนิดนี้ โดยส่วนของ PMA ในโคพอลิเมอร์จะทำหน้าที่ในการตรึงโพรบ ในขณะที่ส่วนของ PMPC ในโคพอลิเมอร์จะทำหน้าที่ในการลดการดูดซับอย่างไม่จำเพาะเจาะจง

จากคุณสมบัติที่น่าสนใจของ MNPs ทั้งสมบัติทางแม่เหล็ก และ peroxidase-like activity ทำให้มีผู้วิจัยสนใจที่จะพัฒนา MNPs เพื่อประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดทางชีวภาพ แนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในการปรับปรุงพื้นผิวของ MNPs สำหรับการตรึงโพรบคือ การเคลือบด้วยพอลิเมอร์ที่หมู่คาร์บอกซิลเป็นองค์ประกอบผ่านการดูดซับทางเคมี โดยหมู่คาร์บอกซิลสามารถเกิด chelation กับพื้นผิวของโลหะได้ ดังนั้นจึงทำให้เกิดเสถียรภาพในการยึดเกาะบนพื้นผิว ดังตัวอย่างงานวิจัยของ Ana Drmota และคณะ (2008) ได้ศึกษากลไกการดูดซับของกรดโอเลอิก (oleic acid) บนพื้นผิวของ MNPs พบว่ากรดโอเลอิกสามารถดูดซับบนพื้นผิวของอนุภาคนาโนแม่เหล็กได้โดยอาศัยการเกิด chelation ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลเลทของกรดโอเลอิกกับพื้นผิวของ MNPs นอกจากนี้ผู้วิจัยยังพบว่าการเคลือบพื้นผิวของอนุภาคด้วยกรดโอเลอิกสามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุภาคนาโนแม่เหล็กได้ และนอกจากนี้การเคลือบด้วยกรดโอเลอิกยังทำให้อนุภาคไม่เกิดการรวมกลุ่มกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ (aggregate) หรือมีเสถียรภาพในการกระจายตัวเพิ่มขึ้น [14]



รูปที่ 1.5 การเกิดคีเลชันระหว่าง หมู่คาร์บอกซิลและอนุภาคนาโนแม่เหล็ก

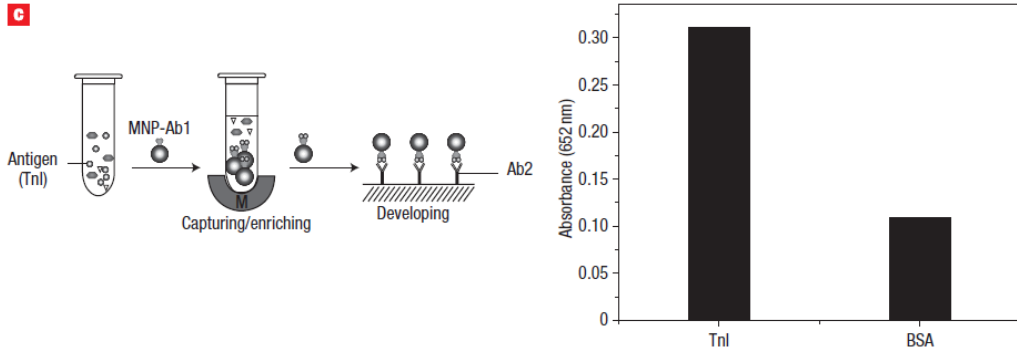
Chiu และคณะ (2008) ที่ได้ทำการปรับปรุงพื้นผิวของ MNPs ด้วยการเคลือบด้วย PAA (MW ~ 2 kDa) เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Surface assisted laser desorption ionization-mass spectrometry (SALDI-MS) จากผลการทดลองพบว่า สามารถตรึง PAA ลงบนพื้นผิวของ MNPs ได้ โดยการเกิด chelation ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลเลตกับพื้นผิวของ Fe₃O₄NPs [15]



รูปที่ 1.6 การตรึง PAA ลงบนอนุภาคนาโนแม่เหล็ก

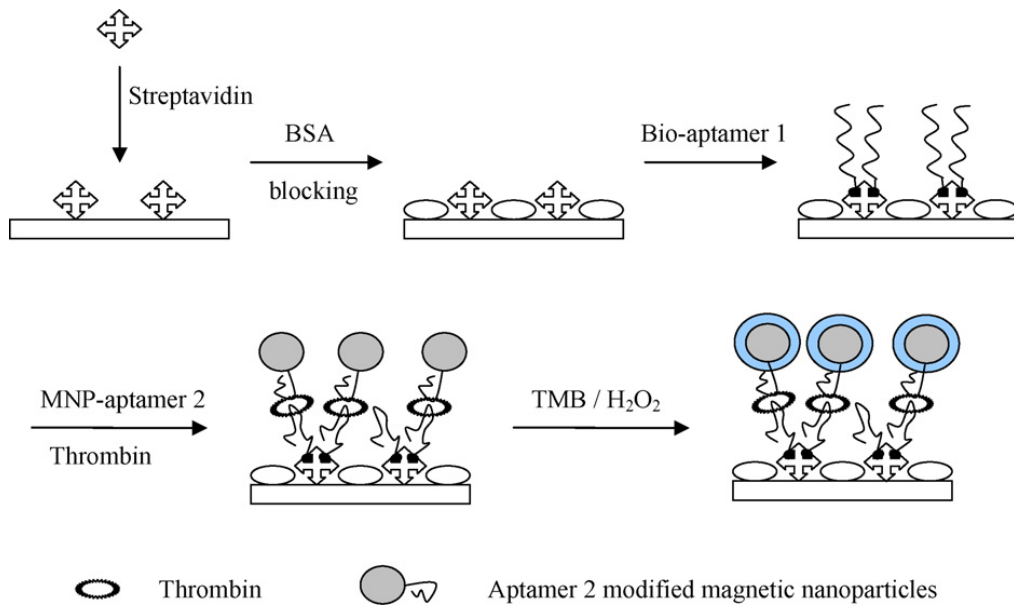
นอกจากงานวิจัยข้างต้น ยังมีตัวอย่างงานวิจัยที่ได้นำ MNPs มาใช้ในการตรวจวัดทางชีวภาพ โดยอาศัยเทคนิค immunomagnetic separation ร่วมกับสมบัติ peroxidase-like activity [6-7, 16] ดังตัวอย่างงานวิจัยต่อไปนี้

Yan และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาการนำอนุภาคนาโนแม่เหล็กมาใช้ในการวิเคราะห์หา แอนติเจน (TnI) ในซีรัม (serum) จากผลการทดลองพบว่า MNPs ที่เคลือบด้วย anti-TnI antibody สามารถใช้แยกแอนติเจนเป้าหมายคือ TnI จากตัวอย่างที่เป็นซีรัมได้ และสามารถทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของ TnI โดยอาศัยสมบัติ peroxidase-like activity ของ MNPs หากในสาร ตัวอย่างซีรัมมี TnI จะทำให้ MNPs ที่แยกได้ยึดติดบน ELISA plate ที่เคลือบด้วย anti-TnI antibody และเมื่อเติมซับสเตรท TMB ก็ทำให้เกิดการเปลี่ยนสี โดยปริมาณของ TnI จะสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสีของ TMB ดังแสดงในรูปที่ 1.7 แต่ถึงอย่างไรก็ตามอุปกรณ์ตรวจวัดนี้ยังแสดงให้เห็นถึงปัญหาของการจับกันอย่างไม่จำเพาะเจาะจงระหว่าง anti-TnI antibody และ BSA (non target molecule) ซึ่งทำให้ค่า signal-to-noise (S/N ratio) รวมถึง selectivity ของเซ็นเซอร์มีค่า ต่ำ [6]



รูปที่ 1.7 การวิเคราะห์หา TnI ในซีรัม

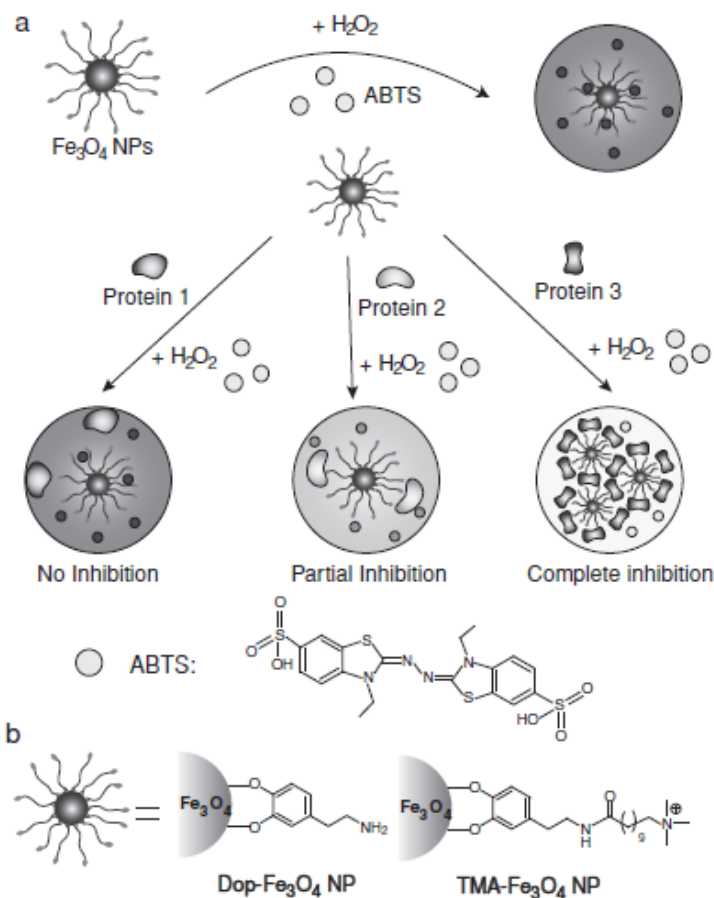
Zhang และคณะ (2010) ได้นำ MNPs ที่ผ่านการดัดแปรด้วยไคโตซาน (CS-MNPs) มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์โปรตีน thrombin โดยการตรึง thrombin aptamer2 ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโปรตีน thrombin บน CS-MNPs จากนั้นทำการเติม MNPs-aptamer2 และสารตัวอย่างลงใน 96-well plate ที่เคลือบด้วย thrombin aptamer1 ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโปรตีน thrombin เช่นเดียวกัน หากสารตัวอย่างมี thrombin จะทำให้ MNPs-aptamer2 เกาะติดอยู่ใน 96-well plate และเมื่อเติม TMB/H₂O₂ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัด thrombin ได้ (detection limit) มีค่าเท่ากับ 1 nM [7]



รูปที่ 1.8 การวิเคราะห์หา Thrombin

จากงานวิจัยที่ผ่านมา แม้ว่าจะมีการนำ MNPs มาประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดโดยอาศัยคุณสมบัติ peroxidase-like activity ของ MNPs แต่ในการตรวจวิเคราะห์ยังคงจำเป็นต้องใช้หลักการของ enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) ซึ่งจำเป็นต้องมีขั้นตอนการเคลือบแอนติบอดีบนวัสดุยึดเกาะ เช่น ELISA plate สำหรับให้ antibody-conjugated MNP เกิดการยึดติดบนวัสดุในการวิเคราะห์ที่มีการตรวจพบสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ แล้วค่อยทำการตรวจ

ติดตามด้วยการวิเคราะห์การเปลี่ยนสีของ TMB ต่อไป ซึ่งถือเป็นการเพิ่มขึ้นขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์ ตลอดจนเป็นการเพิ่มต้นทุนในการวิเคราะห์เนื่องจากต้องทำการเคลือบแอนติบอดีซึ่งมีราคาแพงทั้งบน ELISA plate และ MNPs ดังนั้นจึงได้มีผู้สนใจที่จะพัฒนาแนวทางใหม่ในการนำ MNPs มาใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ โดยอาศัยการลดลงหรือการยับยั้งสมบัติ peroxidase-like activity ของ MNPs ภายหลังจากดูดซับของโมเลกุลที่ต้องการวิเคราะห์ เช่นในงานวิจัยของ Li และคณะ (2012) ที่ศึกษาการนำ MNPs มาใช้ในการตรวจวัดโปรตีนชนิดต่างๆ โดยการตรวจติดตามการลดลงหรือการยับยั้งสมบัติ peroxidase-like activity ภายหลังจากดูดซับของโปรตีน ซึ่งทำให้เกิดการลดลงหรือการระงับการเปลี่ยนแปลงสีของซับสเตรท และจากผลการทดลองพบว่า ภายหลังจากดูดซับของโปรตีนจะทำให้ความสามารถในการเปลี่ยนสีซับสเตรทของ MNPs ลดลง โดยสามารถใช้ในการวิเคราะห์โปรตีนที่มีความเข้มข้นได้ต่ำถึง 50 nM แต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณจะขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีน และหมู่ฟังก์ชันทางเคมีบนพื้นผิวของ MNPs และเนื่องจากวิธีการตรวจวิเคราะห์ในการทดลองนี้ไม่ได้อาศัยการจับกันอย่างจำเพาะเจาะจง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเพิ่มความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์โดยจำเป็นต้องมีการใช้ MNPs ที่มีสมบัติทางเคมีหรือมีหมู่ฟังก์ชันที่พื้นผิวที่แตกต่างกันหลายชนิด และทำการวิเคราะห์โดยพิจารณาจากรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของสีที่แตกต่างกัน ซึ่งจะเป็นลักษณะเฉพาะตัวของโปรตีนแต่ละชนิด และนอกจากนี้ยังต้องอาศัยการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธีที่เรียกว่า Linear Discriminant Analysis (LDA) จึงจะสามารถบอกความแตกต่างระหว่างโปรตีนแต่ละชนิดได้ [17]



รูปที่ 1.9 การตรวจวัดโปรตีนจากการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการเปลี่ยนสีซับสเตรท

จากการทบทวนวรรณกรรมเบื้องต้น พบว่ามีความเป็นไปได้ในการนำ MNPs เคลือบด้วย PMAMPC มาพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ โดยคณะผู้วิจัยสนใจที่จะออกแบบให้อุปกรณ์ตรวจวัดจาก PMAMPC-MNPs มีการตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการการจับกันอย่างจำเพาะเจาะจงระหว่างโพรบที่ตรึงบนอนุภาคและสารตัวอย่างที่สนใจในสารละลาย และสามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่าโดยอาศัยการตรวจติดตามการลดลงหรือการยับยั้งสมบัติ peroxidase-like activity ซึ่งคาดว่าแนวทางที่คณะผู้วิจัยเลือกใช้จะทำให้สามารถพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดที่มีการตรวจวัดที่ง่าย สะดวกและรวดเร็ว โดยไม่จำเป็นต้องอาศัยการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติ อีกทั้งยังไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือที่มีราคาแพง ดังนั้นจึงคาดว่าน่าจะสามารถพัฒนาไปเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดที่สามารถพกพาใช้งานในภาคสนามได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 ได้องค์ความรู้ใหม่ที่สามารถเผยแพร่ความรู้จากงานวิจัยสู่วงวิชาการได้ ผ่านการตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติที่มี impact factor และนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมระดับชาติ
- 1.5.2 ได้อนุภาคนาโนแม่เหล็กที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสามารถนำไปพัฒนาเป็นอุปกรณ์ต้นแบบในการประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพที่ทำได้สะดวก รวดเร็ว มีความถูกต้องและแม่นยำสูง ราคาไม่แพง
- 1.5.3 สามารถนำความรู้จากการวิจัยไปพัฒนาและประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดในงานทางการแพทย์และสาธารณสุขได้ ลดการนำเข้าอุปกรณ์ที่มีราคาแพงจากต่างประเทศ

2. วิธีดำเนินการวิจัย (Material & Method)

2.1 สารเคมี

1. เฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (Iron(III) chloride hexahydrate; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) เกรด AR บริษัท Quality Reagent Chemical Product

2. เฟอร์รัสคลอไรด์เตตระไฮเดรต (Iron(II) chloride tetrahydrate; $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) เกรด AR บริษัท Quality Reagent Chemical Product

3. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH , 28%) เกรด AR บริษัท Quality Reagent Chemical Product

4. เอทานอล ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) เกรด AR บริษัท Quality Reagent Chemical Product

5. โซเดียมอะซิเตท (sodium acetate; NaAC) บริษัท Sigma Aldrich

6. เตตระเมทิลเบนซิไดน์ (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; TMB) บริษัท Sigma Aldrich

7. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30% hydrogen peroxide; H_2O_2) บริษัท Merck

8. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide; DMSO) บริษัท Merck

9. โบวีนซีรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin; BSA) บริษัท Sigma Aldrich

10. ไลโซไซม์ (Lysozyme; Lyz) บริษัท Sigma Aldrich

11. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (phosphate buffer saline; PBS) บริษัท Sigma Aldrich

12. Bio-rad protein assay dye reagent concentrates บริษัท BIO-RAD

13. อะซิติกแอซิด (acetic acid) บริษัท Quality Reagent Chemical Product

14. ไนโตรเจนแก๊ส (99.5%) บริษัท บางกอกอินดัสเทรียลแก๊ส

15. โคพอลิเมอร์ของพอลิเมทาคริลิกแอซิดและพอลิ(2-เมทาคริลอยลออกซีเอทิลฟอสโฟริลโคลีน)(poly[methacrylic acid)-ran-(2-methacryloyloxyethylphosphorylcholine)], PMAMPC น้ำหนักโมเลกุล 54.5 kDa และ PMA:PMPC (37:63) [4]

2.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. เครื่อง Transmission Electron Microscope (TEM) รุ่น TECNAI 20

2. เครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) รุ่น LEO 1450 VP

3. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) รุ่น PERKIN ELMER System 2000

4. เครื่อง UV-Visible spectrometer รุ่น HP Hewlett Packard 4853

5. เครื่อง Ultrasonic รุ่น CREST

6. เครื่องชั่ง (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) รุ่น RC 250 S

7. ตู้อบ รุ่น OF-01E

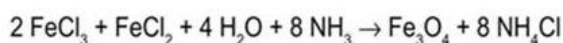
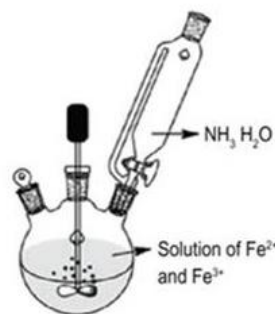
8. เครื่องเขย่าสาร Vortex shaker รุ่น Vortex-Genie 2 Shaker

9. ชุดเครื่องแก้วขวดสี่คอ (four-necked Erlenmeyer flask)

10. Mechanical stirrer รุ่น IKA RW20 พร้อมใบพัด 2 แฉก

2.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก (MNPs) ด้วยวิธีการตกตะกอนร่วม (co-precipitation method)

ชั่ง $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 298 มิลลิกรัม (1.10 mmol) และ $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 114 มิลลิกรัม (0.57mmol) ละลายด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที และเทสารละลายลงในขวดสี่คอ และอุปกรณ์ปั่นกวน (ดังรูปที่ 2.1) ทำปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน และสถานะที่มีการปั่นกวนตลอดเวลา ควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส ทำการปั่นกวนสารละลายเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม conc. NH_4OH (28%w/w) ปริมาตร 6 มิลลิลิตร โดยค่อยๆ หยดลงในสารละลายและปั่นกวนต่อเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นตั้งสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและทำการดูดแยกอนุภาคที่ได้ออกจากสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็กและล้างอนุภาคด้วยน้ำกลั่นจนเป็นกลาง เก็บอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ในรูปสารแขวนลอยโดยการเติมน้ำกลั่นและนำไป sonicate เป็นเวลา 30 นาที หาความเข้มข้นของอนุภาคแขวนลอย(มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, mg/mL) โดยการดูดอนุภาคปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรใส่ในขวดแก้วแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำไปชั่งน้ำหนักคิดเป็นน้ำหนักของอนุภาคในปริมาตร 1 มิลลิลิตร (mg/mL) และทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FT-IR, TEM, EDX, VSM และ TGA ศึกษาอิทธิพลของความเร็วรอบในการปั่นกวนโดยทำการศึกษาที่ความเร็วรอบ 500, 750 และ 1000 รอบต่อนาที แสดงดังตารางที่ 2.1



รูปที่ 2.1 อุปกรณ์การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก

ตารางที่ 2.1 สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ MNPs

ชุดการทดลองที่	NH_4OH (mL)	อัตราการปั่นกวน (รอบ/นาที)	อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	$[\text{Fe}^{3+}]:[\text{Fe}^{2+}]$
1 (MNPs)	6	500	60	2:1
2 (MNPs)	6	750	60	2:1
3 (MNPs)	6	1000	60	2:1

2.4 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กตัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC (MNPs-PMAMPC) ด้วยปฏิกิริยาแบบ One-pot

ซึ่ง $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 298 มิลลิกรัม (1.10 mmol) และ $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 114 มิลลิกรัม (0.57mmol) ละลายด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายลงในขวดสี่คอและต่ออุปกรณ์ดังแสดงในหัวข้อ 2.3 ทำปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน โดยใช้ความเร็วรอบในการปั่นกวน 750 รอบต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส ทำการปั่นกวนสารละลายเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม conc. NH_4OH (28%w/w) ปริมาตร 6 มิลลิลิตร โดยค่อยๆ หยดลงในสารละลาย และปั่นกวนต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นซึ่ง PMAMPC ตามปริมาณที่กำหนดในตารางที่ 2.2 ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร นำสารละลายพอลิเมอร์ไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเติมลงในปฏิกิริยา ทำการปั่นกวนต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดตั้งสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำการดูดแยกอนุภาคสีดำออกจากสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็กและล้างอนุภาคด้วยน้ำกลั่นจนเป็นกลาง เก็บอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ในรูปสารแขวนลอย หากความเข้มข้นของอนุภาคแขวนลอย และพิกเจอร์เอกลักษณ์ดังแสดงในหัวข้อ 2.3

ตารางที่ 2.2 สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ MNPs-PMAMPC

ชุดการทดลองที่	NH_4OH (mL)	อัตราการปั่นกวน (รอบ/นาที)	อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	$[\text{Fe}^{3+}]:[\text{Fe}^{2+}]$	PMAMPC (mg)
4 (MNPs-PMAMPC10)	6	750	60	2:1	10
5 (MNPs-PMAMPC20)	6	750	60	2:1	20
6 (MNPs-PMAMPC40)	6	750	60	2:1	40

2.5 ศึกษาความสามารถในการดูดแยกอนุภาคนาโนแม่เหล็กออกจากสารละลาย

เตรียมอนุภาคแขวนลอยในน้ำของตัวอย่างต่างๆ คือ MNPs, MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 ที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL นำอนุภาคแขวนลอยทั้งหมดมา sonicate เป็นเวลา 10 นาที ศึกษาการแยกอนุภาคออกจากสารละลายโดยการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอกแก่ตัวอย่างทั้งหมดโดยใช้แท่งแม่เหล็ก สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เวลาต่างๆ บันทึกภาพ และบันทึกเวลาที่ใช้ในการดูดแยกอนุภาคออกจากสารละลายอย่างสมบูรณ์

2.6 ศึกษาความเสถียรในการกระจายตัวของอนุภาคนาโนแม่เหล็กแขวนลอย

เตรียมอนุภาคแขวนลอยในน้ำของตัวอย่างต่างๆ คือ MNPs, MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 ที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL นำอนุภาคแขวนลอยทั้งหมดมา

sonicate เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะปราศจากสนามแม่เหล็กจากภายนอก สังเกตการตกตะกอนที่เวลาต่างๆ และบันทึกภาพ

2.7 ศึกษาการดูดซับโปรตีน

2.7.1) วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิค Bio-Rad Protein assay

1) เตรียมสารละลายเจือจางของ Bio-Rad Protein assay dye reagent concentrate ด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:4 จากนั้นกรองสารละลายและเก็บสารละลายที่กรองแล้วใส่ขวดสีชา (สารที่เจือจางแล้วสามารถเก็บไว้ใช้ได้ 2 สัปดาห์)

2) ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมนลงใน 5 mL ของ dye reagent เจือจางที่เตรียมได้จากข้อที่ 1

3) เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นวัดความเข้มข้นโปรตีนที่เหลืออยู่ด้วยเครื่อง UV-Visible โดยใช้ PBS เป็น Blank

4) คำนวณปริมาณการดูดซับ (Protein adsorption capacity)

$$\text{Protein adsorption capacity (q)} = ((C_0 - C_e) \times V) / m$$

เมื่อ q คือ ปริมาณการดูดซับ (mg/g)

C_0 คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายโปรตีน (mg/mL)

C_e คือ ความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนหลังการดูดซับ (mg/mL)

V คือ ปริมาตรทั้งหมด (mL)

m คือ น้ำหนักของอนุภาค (mg)

2.7.2) การสร้างกราฟมาตรฐาน

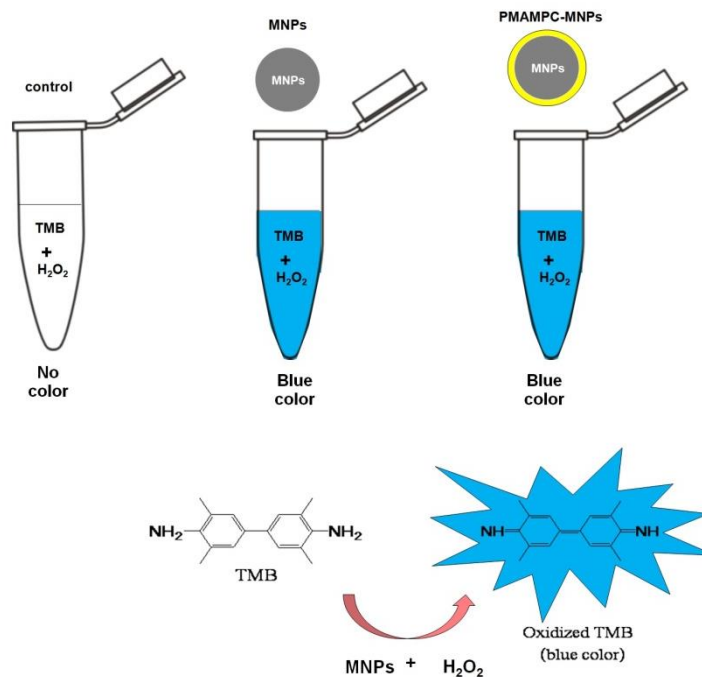
เตรียมสารละลายมาตรฐานโปรตีน lysozyme โดยเตรียมสองช่วงของความเข้มข้น ช่วงที่หนึ่งเตรียมที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 mg/mL ช่วงที่สองเตรียมที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 4 mg/mL นำไปวิเคราะห์ตามขั้นตอนในหัวข้อ 2.7.1 บันทึกค่าการดูดกลืนแสง และนำมาสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายโปรตีน lysozyme

2.7.3) ทดสอบการดูดซับโปรตีน

เตรียมอนุภาคแขวนลอยในน้ำของ MNPs, MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 0.5 mL นำอนุภาคแขวนลอยทั้ง 4 ชนิด ไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลายโปรตีน bovine serum albumin หรือ lysozyme ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในอนุภาคแขวนลอยแต่ละชนิดและนำไปทำการเขย่าด้วยเครื่อง Vortex shaker เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดดูดแยกอนุภาคออกจากสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็กนำสารละลายที่เหลือไปวิเคราะห์หาปริมาณของโปรตีนที่เหลืออยู่ด้วยเทคนิค Bio-Rad Protein assay และคำนวณค่า protein adsorption capacity (mg/g)

2.8 ศึกษาสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของเปอร์ออกซิเดตซ์บีสเตรท (peroxidase-like activity)

เตรียมอนุภาคแขวนลอยในน้ำของ MNPs, MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL (น้ำกลั่น, pH 7) เติมนอนุภาคแขวนลอยที่เตรียมไว้ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (appendorf tube) ขนาด 1.5 mL ที่มีสารละลายผสมของ sodium acetate บัฟเฟอร์ปริมาตร 1000 μ L และ TMB (10 mg/mL) 5 μ L จากนั้นเติม สารละลาย H_2O_2 (30%) ปริมาตร 1.9 μ L เขย่าสารละลายด้วยเครื่อง Vortex shaker และตั้งทิ้งไว้ใน ที่มืดที่อุณหภูมิตามเวลาที่กำหนด บันทึกภาพการเปลี่ยนสีของสารละลายที่เวลาต่าง ๆ เปรียบเทียบกับ สภาวะที่ไม่มีการเติมนอนุภาค (control) และนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็น สารละลาย blank ทำการศึกษาผลของเวลา pH ความเข้มข้นของ H_2O_2 และปริมาณของอนุภาคที่ใช้ ในการทำปฏิกิริยา

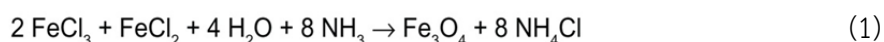


รูปที่ 2.2 แผนภาพขั้นตอนการทดสอบสมบัติ peroxidase-like activity

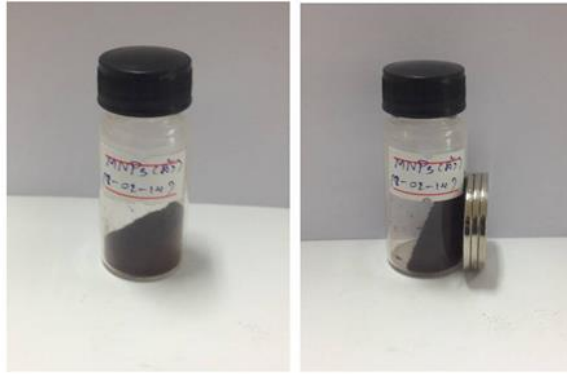
3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก (MNPs) ด้วยวิธีการตกตะกอนร่วม (co-precipitation method)

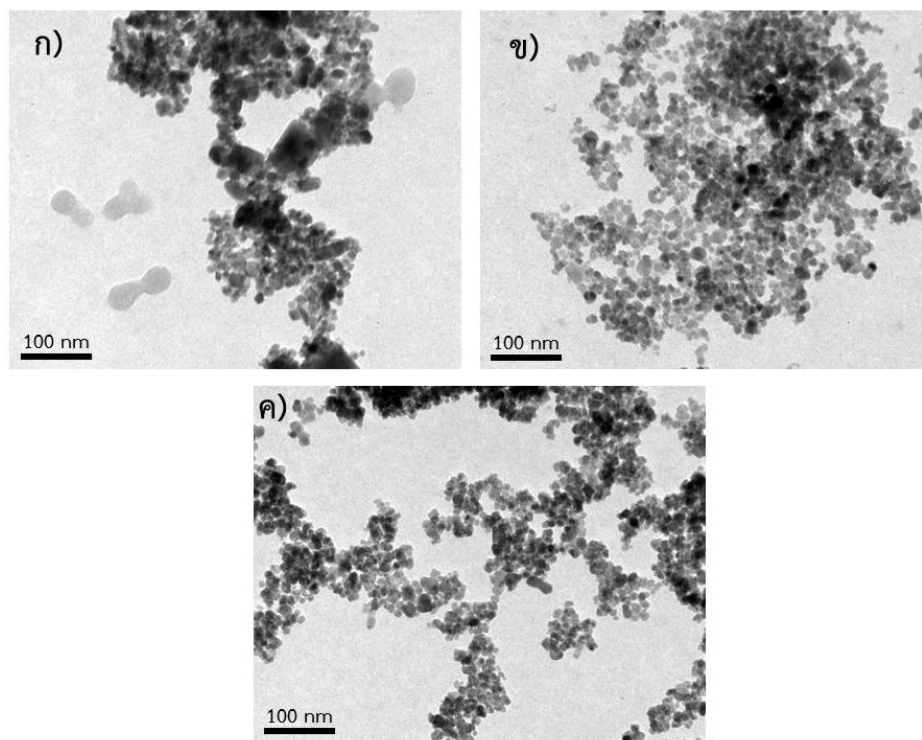
งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์ MNPs อาศัยวิธีการตกตะกอนร่วมระหว่างเฟอร์รัสไอออน (Fe^{3+}) และ เฟอร์ริกไอออน (Fe^{2+}) ในสภาวะเบส (pH 9-10) ซึ่งในการทดลองนี้เลือกใช้แอมโมเนียไฮดรอกไซด์ (NH_4OH) เป็นสารช่วยให้ตกตะกอน (precipitating agent) แสดงดังสมการที่ (1) MNPs ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลดำ และแสดงสมบัติความเป็นแม่เหล็กสามารถดูดติดได้โดยแท่งแม่เหล็ก (รูปที่ 3.1) ซึ่งยืนยันได้ว่าอนุภาคนาโนแม่เหล็กที่สังเคราะห์ได้มีสมบัติความเป็นแม่เหล็ก



ศึกษาอิทธิพลของความเร็วยรอบในการปั่นกวนที่มีผลต่อขนาด และลักษณะของ MNPs จากภาพถ่าย TEM (รูปที่ 3.2) แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดของอนุภาค พบว่า MNPs ที่ได้จากการสังเคราะห์ที่ทุกสภาวะความเร็วยรอบในการปั่นกวน มีลักษณะเป็นอนุภาคค่อนข้างกลม มีขนาดอยู่ในระดับนาโนเมตร เมื่อวัดขนาดอนุภาคจากภาพถ่าย TEM ด้วยโปรแกรม SemAfore5.21 พบว่าความเร็วยรอบในการปั่นกวนมีผลต่อขนาดของอนุภาคโดยเฉลี่ย โดยอนุภาคจะมีขนาดเล็กลงตามความเร็วยรอบในการปั่นกวนที่เพิ่มขึ้น แสดงดังตารางที่ 3.1 และที่ความเร็วยรอบในการปั่นกวน 500 rpm จะมีค่าเบี่ยงเบน (SD) ของขนาดที่มากที่สุด แสดงให้เห็นถึงการกระจายของขนาดที่กว้าง (broad particles size distribution) เมื่อใช้ความเร็วยรอบในการปั่นกวนที่ต่ำ (รูปที่ 3.1 ก) ซึ่งคาดว่าเป็นผลเนื่องมาจากความเร็วยรอบในการปั่นกวนที่ช้าเกินไปทำให้อนุภาคขนาดเล็กสามารถเคลื่อนที่มาเกาะกลุ่มกันรวมเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ได้ (aggregation) แต่เมื่อใช้ความเร็วยรอบในการปั่นกวนเพิ่มสูงขึ้น นอกจากจะทำให้ขนาดของอนุภาคมีขนาดเล็กลงแล้วการกระจายตัวของขนาดอนุภาคยังแคบลง (narrow particles size distribution) แสดงให้เห็นว่าที่ความเร็วยรอบในการปั่นกวน 750 และ 1000 rpm จะทำให้ได้อนุภาคที่มีขนาดใกล้เคียงกัน แต่ถึงอย่างไรก็ตาม ที่ความเร็วยรอบที่สูงเกินไป (1000 rpm) จะทำให้เกิดการกระเด็นของสารละลายไปติดที่ภาชนะเป็นจำนวนมากทำให้เกิดการสูญเสียของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงเลือกใช้สภาวะการทดลองที่ความเร็วยรอบในการปั่นกวน 750 rpm ในการเตรียมอนุภาคเพื่อนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป



รูปที่ 3.1 อนุภาคนาโนแม่เหล็ก



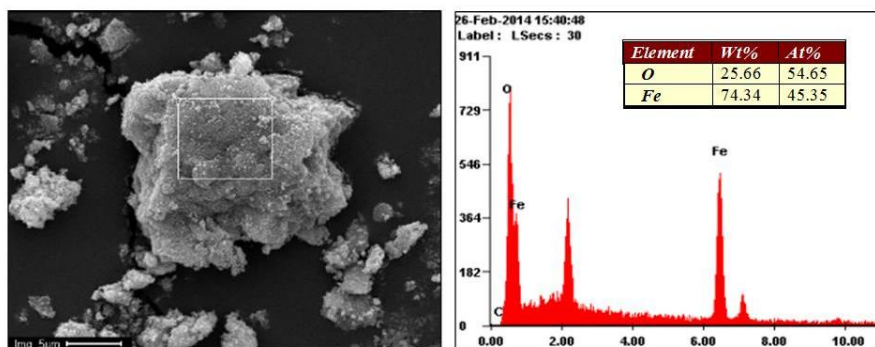
รูปที่ 3.2 ภาพถ่าย TEM ของ Fe_3O_4 NPs ที่ความเร็วรอบในการปั่นกวน ก) 500 ข) 750 และ ค) 1,000 rpm

ตารางที่ 3.1 อิทธิพลของความเร็วรอบในการปั่นกวน

ชุดการทดลองที่	อัตราการปั่นกวน (rpm)	ขนาดอนุภาค** (nm \pm SD)
1	500	12.16 \pm 5.42
2	750	11.61 \pm 2.66
3	1000	9.55 \pm 2.73

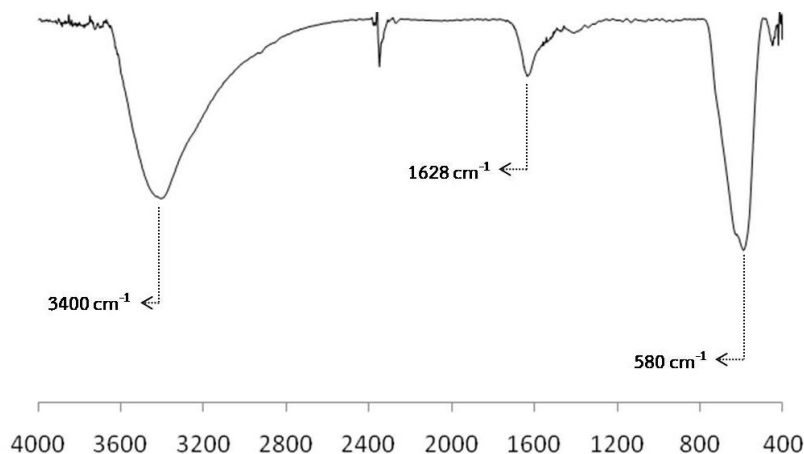
**จำนวนอนุภาค n = 50

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของธาตุบนอนุภาคด้วยเทคนิค Energy Dispersive X-ray spectroscopy (EDX) แสดงดังรูปที่ 3.3 พบว่า อนุภาค MNPs ประกอบด้วยธาตุ Fe 45.35 % (At) และ O 54.65 % (At) ซึ่งใกล้เคียงกับสัดส่วนโดยอะตอมทางทฤษฎีของอนุภาคชนิด Fe_3O_4 (Fe = 42.86, O = 57.14 At%) ดังนั้นจึงเป็นการยืนยันได้ว่า อนุภาคที่เตรียมได้ในการทดลองนี้คือ อนุภาคของเหล็กออกไซด์ชนิด Fe_3O_4



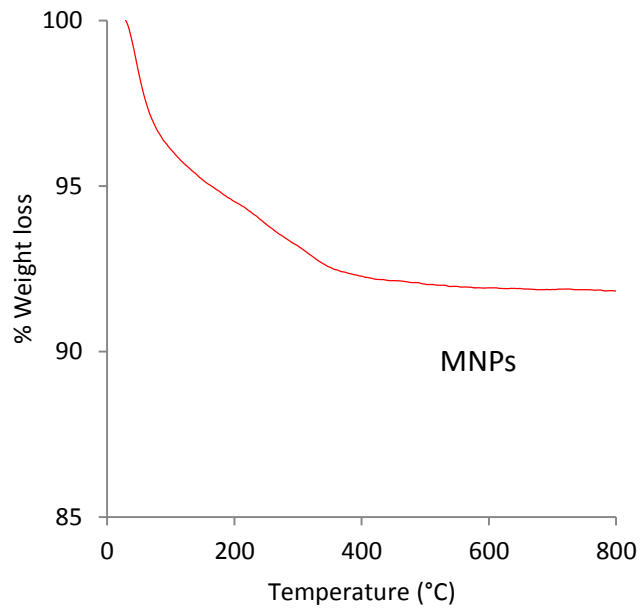
รูปที่ 3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุบนอนุภาค MNPs ด้วยเทคนิค EDX

ทำการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของ MNPs ด้วยเทคนิค FT-IR (รูปที่ 3.4) จะพบสัญญาณที่แสดงถึงพันธะ O-H ของหมู่ไฮดรอกซิลที่เลขคลื่นประมาณ 3400 cm^{-1} และ 1628 cm^{-1} นอกจากนี้ยังพบสัญญาณที่เลขคลื่นประมาณ 580 cm^{-1} ที่แสดงถึงพันธะ Fe-O (bending) ของเหล็กออกไซด์ชนิดแมกนีไทต์ (magnetite, Fe_3O_4) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้ [18-19]



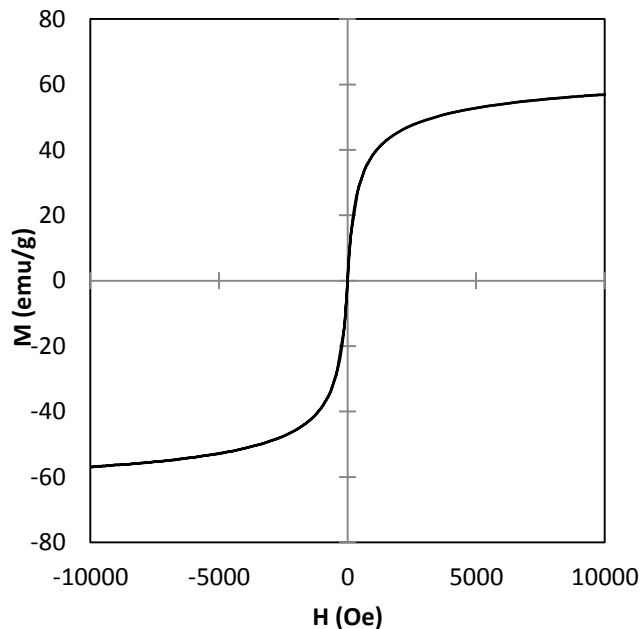
รูปที่ 3.4 FT-IR สเปกตรัมของ Fe_3O_4 NPs

ทำการวิเคราะห์ความเสถียรทางความร้อนของ MNPs ด้วยเทคนิค Thermogravimetric Analysis (TGA) แสดงดังรูปที่ 3.5 พบว่า MNPs มีความเสถียรทางความร้อนมีการสูญเสียของน้ำหนัก (weight loss) ไปเพียง 8.23% ที่ช่วงอุณหภูมิ 25 – 400 °C ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากการสลายตัวของน้ำหรือสารอินทรีย์ปนเปื้อนอื่นๆ และน้ำหนักจะเริ่มคงที่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 400 °C



รูปที่ 3.5 เทอร์โมแกรมของ MNPs ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย TGA

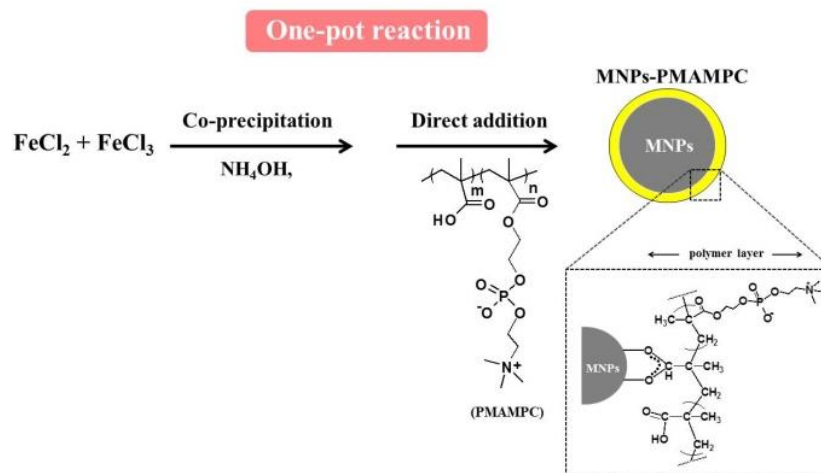
ทำการวิเคราะห์สมบัติทางแม่เหล็กของ MNPs ด้วยเทคนิค Vibrating Sample Magnetometer (VSM) แสดงดังรูปที่ 3.6 พบว่า MNPs มีการตอบสนองต่อสนามแม่เหล็กจากภายนอก มีค่าแมกนีไทเซชันอิ่มตัว (saturation magnetization; M_s) เท่ากับ 56.9 emu/g ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้ [18, 20] และเมื่อพิจารณาจากวงฮิสเทอรีซิส (hysteresis loop) พบว่ามีวงที่แคบแสดงคุณสมบัติความเป็น superparamagnetic



รูปที่ 3.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสนามแม่เหล็กจากภายนอกกับค่าการตอบสนองต่อแม่เหล็ก (Magnetization) ของ MNPs

3.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กดัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC (MNPs-PMAMPC) ด้วยปฏิกิริยาแบบ One-pot

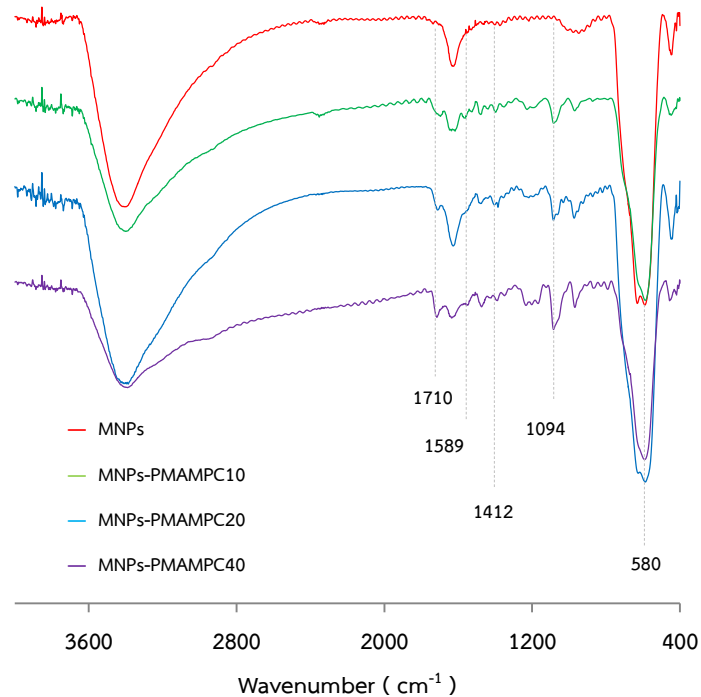
ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการดัดแปรพื้นผิว MNPs ด้วยพอลิเมอร์ชนิด PMAMPC ทำการพัฒนาวีธีการสังเคราะห์ให้ง่าย และสะดวกด้วยการสังเคราะห์แบบ one-pot reaction โดยภายหลังการเกิดปฏิกิริยาการตกตะกอนร่วมระหว่างเฟอร์รัสไอออน (Fe^{3+}) และ เฟอร์ริกไอออน (Fe^{2+}) ในสภาวะเบส (pH 9-10) ทำการเติมพอลิเมอร์ลงในปฏิกิริยาโดยตรง พอลิเมอร์ชนิดนี้สามารถเคลือบบนพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วยพันธะทางเคมีระหว่างอะตอมของเหล็ก (Fe^{3+}) ที่อยู่บริเวณพื้นผิวของอนุภาคกับลิแกนด์หรือหมู่ COO^- (carboxylate groups) ที่มีอยู่ในโครงสร้างของ PMAMPC หรือที่เรียกว่าการเกิดคีเลชัน แสดงดังรูปที่ 3.7 ศึกษาผลของปริมาณพอลิเมอร์ที่มีต่อประสิทธิภาพในการเคลือบติดของ PMAMPC บนอนุภาค โดยกำหนดปริมาณของ PMAMPC ที่ใช้ในการศึกษาคือ 10, 20 และ 40 มิลลิกรัม ซึ่งจะทำได้อนุภาคชนิด 3 ชนิดคือ MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 ตามลำดับ



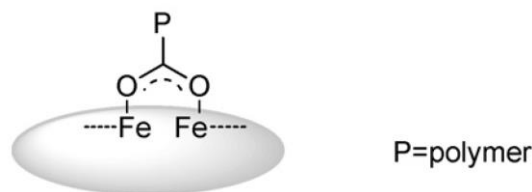
รูปที่ 3.7 การดัดแปรพื้นผิวของ MNPs ด้วย PMAMPC

จากผลการวิเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวทั้ง 3 ชนิด คือ MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 ด้วยเทคนิค FT-IR พบสัญญาณการของ PMAMPC บนอนุภาคแสดงดังรูปที่ 3.8 ปรากฏสัญญาณที่ตำแหน่ง 1710 cm^{-1} แสดงถึง C=O stretching (ester และ carboxylic acid) และ 1094 cm^{-1} แสดงถึง P-O stretching ของหมู่ฟังก์ชันที่อยู่ในโครงสร้างของ PMAMPC และพบสัญญาณของ C-H stretching ที่ประมาณเลขคลื่น 2930 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึง $-CH_2-$ ในโครงสร้างของสายโซ่หลักของพอลิเมอร์ นอกจากนี้ยังพบสัญญาณที่สำคัญที่ตำแหน่ง 1412 และ 1589 cm^{-1} แสดงถึง symmetric และ anti-symmetric C-O stretching ของหมู่ COO^- ที่เกิดคีเลชัน และเมื่อพิจารณาจากผลต่างของระยะห่างระหว่างเลขคลื่นทั้งสองตำแหน่ง (wave number separation; Δ) มีค่าเท่ากับ 177 cm^{-1} แสดงให้เห็นว่าหมู่ COO^-

เกิดคลื่นกับอะตอมของเหล็กแบบ bidentate bridging ซึ่งจะมีค่า Δ อยู่ระหว่าง $140 - 200 \text{ cm}^{-1}$ [21] แสดงการเกิดพันธะดังรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.8 FT-IR สเปกตรัมของ MNPs-PMAMPC

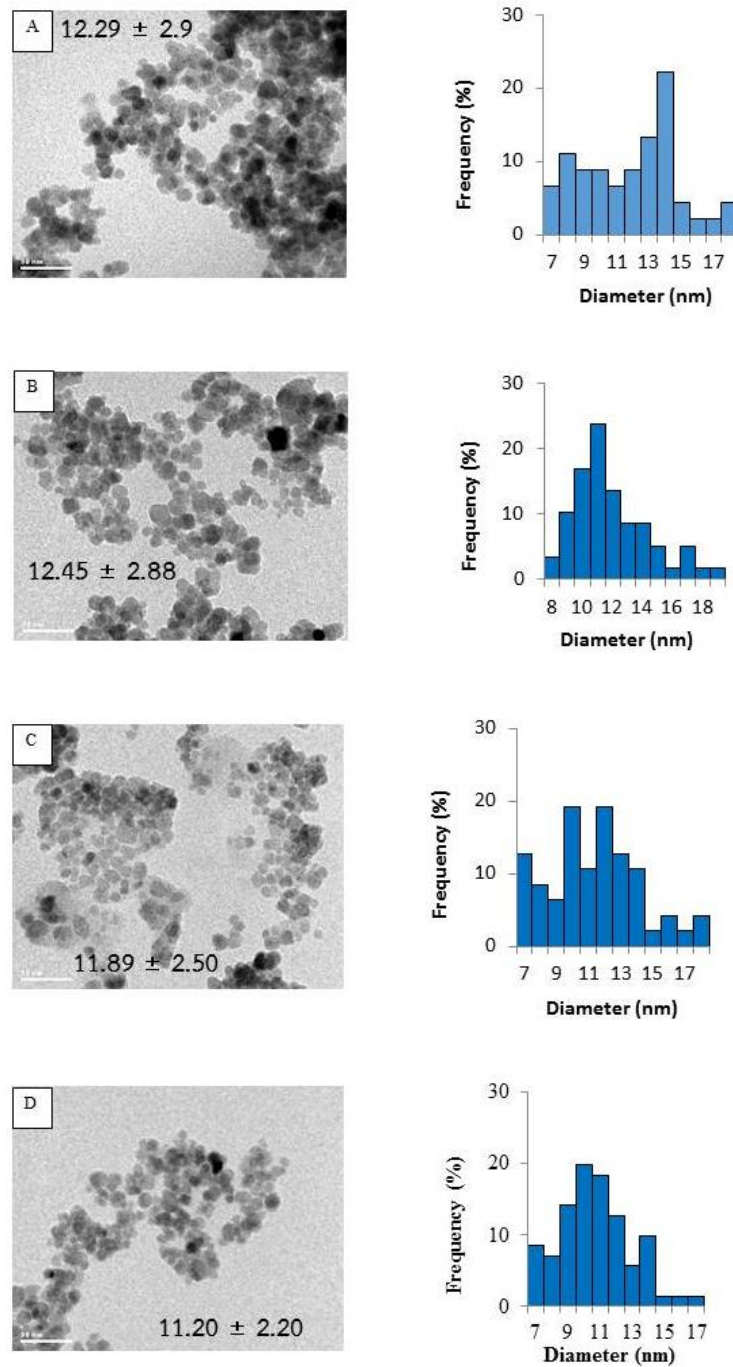


รูปที่ 3.9 รูปแบบการเกิดคลื่นระหว่างหมู่ COO^- และอะตอมของเหล็ก [22]

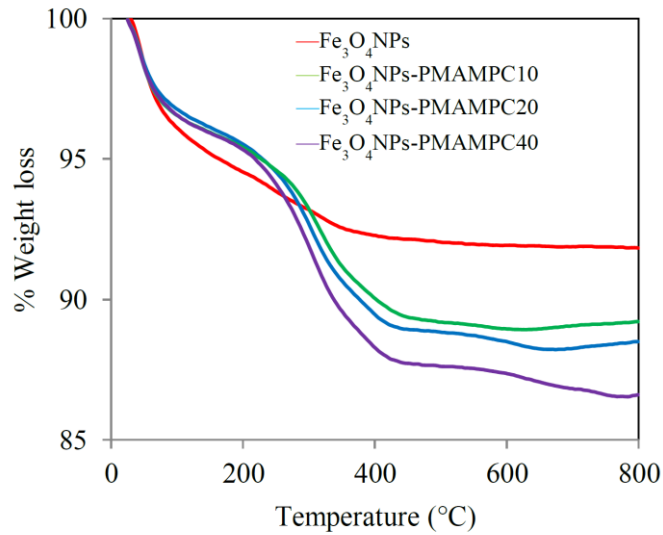
วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดของอนุภาคที่ผ่านการตัดแปรพื้นผิวด้วยเทคนิค TEM แสดงดังรูปที่ 3.10 พบว่าอนุภาคยังคงลักษณะเป็นทรงกลม มีการกระจายตัวของอนุภาคที่ดี ไม่เกาะรวมกันเป็นกลุ่มก้อนขนาดใหญ่ เมื่อพิจารณาถึงขนาดพบว่ามีขนาดเฉลี่ยที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย

วิเคราะห์หาปริมาณของพอลิเมอร์ที่เคลือบอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วยเทคนิค Thermogravimetric Analysis (TGA) แสดงดังรูปที่ 3.11 พบว่าจะมีการลดลงของน้ำหนัก (weight loss) 2 ช่วงคือ ช่วงแรกที่อุณหภูมิ $25 - 100 \text{ }^\circ\text{C}$ ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากการสลายตัวของน้ำหรือสารอินทรีย์น้ำหนักโมเลกุลต่ำอื่นๆ และช่วงที่สองช่วงอุณหภูมิ $200 - 400 \text{ }^\circ\text{C}$ ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิด

จากการสลายตัวของพอลิเมอร์ โดยจะพบการเพิ่มขึ้นของ %weight loss ตามลำดับดังนี้ MNPs-PMAMPC10 < MNPs-PMAMPC20 < MNPs-PMAMPC40 สามารถคำนวณเป็นปริมาณของพอลิเมอร์ที่เคลือบติดบนอนุภาค (polymer content) ได้เท่ากับ 3.08 %, 3.79 % และ 5.23 % ตามลำดับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าปริมาณของพอลิเมอร์ที่เคลือบติดบนอนุภาคจะขึ้นอยู่กับปริมาณของพอลิเมอร์ที่ใช้ในการสังเคราะห์

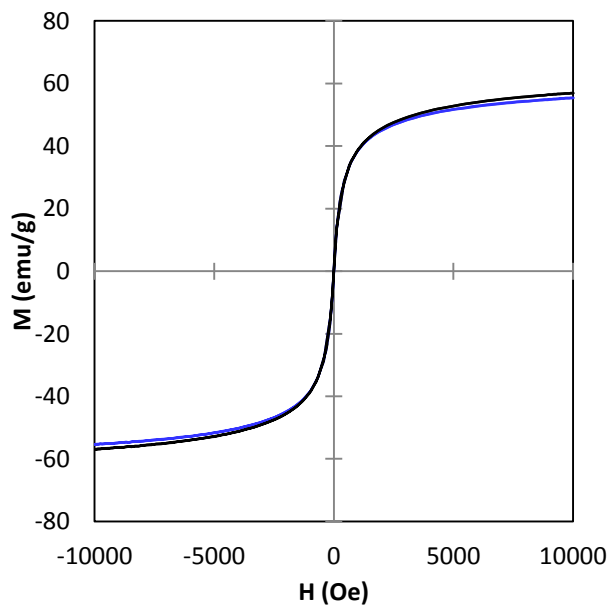


รูปที่ 3.10 ภาพถ่าย TEM และการกระจายตัวของขนาดของ (A) MNPs, (B) MNPs-PMAMPC10, (C) MNPs-PMAMPC20 และ (D) MNPs-PMAMPC40



รูปที่ 3.11 TGA เทอร์โมแกรมของ MNPs, MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40

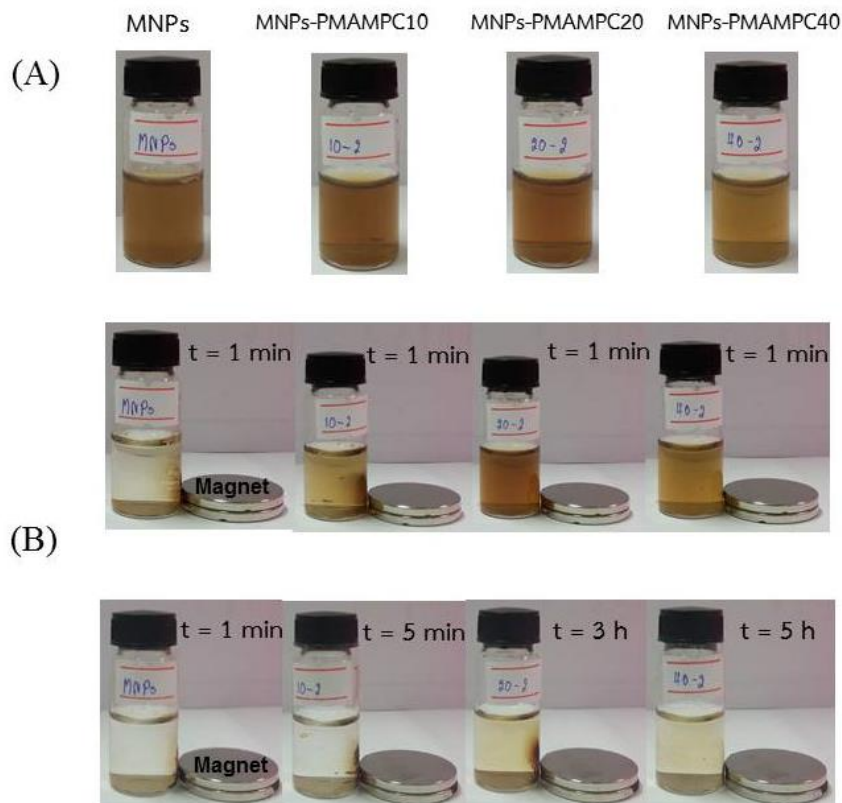
วิเคราะห์สมบัติทางแม่เหล็กของ MNPs และ MNPs-PMAMPC40 ด้วยเทคนิค Vibrating Sample Magnetometer (VSM) แสดงดังรูปที่ 3.12 พบว่าอนุภาค MNPs-PMAMPC40 มีการตอบสนองต่อสนามแม่เหล็กจากภายนอก มีวงฮิสเทอรีซิสที่แคบและมีค่า M_s ลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ MNPs (56.9 emu/g) โดยมีค่า M_s เท่ากับ 55.4 emu/g จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการดัดแปรพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วยพอลิเมอร์ชนิด PMAMPC ไม่ได้มีผลกระทบต่อสมบัติความเป็นแม่เหล็กของอนุภาคนาโนแม่เหล็ก



รูปที่ 3.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างสนามแม่เหล็กจากภายนอกกับค่าการตอบสนองต่อแม่เหล็ก (Magnetization) ของ MNPs (เส้นสีดำ) และ MNPs-PMAMPC40 (เส้นสีน้ำเงิน)

3.3 ความสามารถในการดูดแยกอนุภาคนาโนแม่เหล็กออกจากสารละลาย

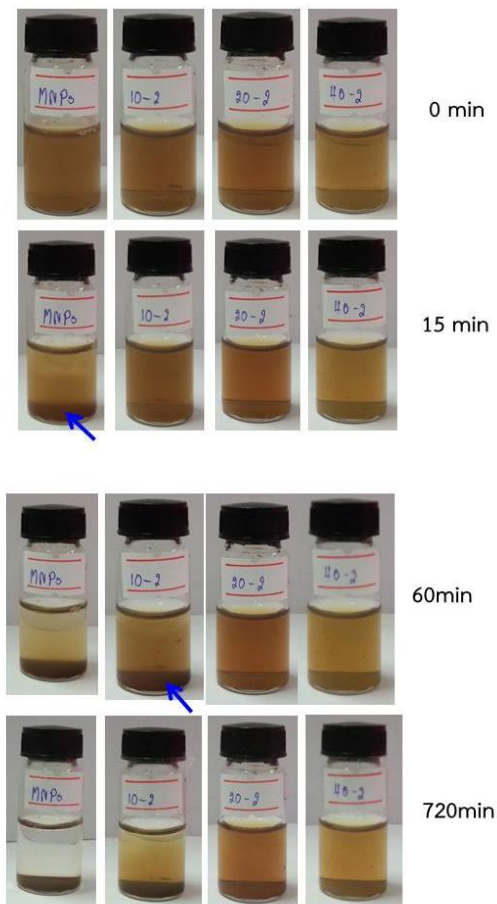
ทำการศึกษาความสามารถในการดูดแยกอนุภาคนาโนแม่เหล็กออกจากสารละลายภายใต้สภาวะที่มีการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอกแสดงผลการทดลองดังรูปที่ 3.13 พบว่า อนุภาคนาโนแม่เหล็กทุกชนิดสามารถดูดแยกอนุภาคออกจากสารละลาย (น้ำ) ได้เมื่อมีการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอก (ภาพ B) แต่ถึงอย่างไรก็ตามอนุภาคแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างของความเร็วในการดูดแยกอนุภาคออกจากสารละลาย (ภาพ B ล่าง) โดยเรียงลำดับความเร็วจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ $MNPs > MNPs-PMAMPC10 > MNPs-PMAMPC20 > MNPs-PMAMPC40$ โดย MNPs สามารถถูกแยกออกจากสารละลายอย่างสมบูรณ์ได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 1 นาที ในขณะที่อนุภาคนาโนแม่เหล็กที่ผ่านการเคลือบพื้นผิวด้วย PMAMPC ต้องใช้เวลาในการดูดแยกเพิ่มขึ้นเป็น 5 นาที, 3 ชั่วโมง และ 5 ชั่วโมง สำหรับอนุภาคชนิด MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 ตามลำดับ ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นผลเนื่องมาจากการมีพอลิเมอร์ชนิดที่ชอบน้ำ (hydrophilic polymer) เคลือบที่บริเวณพื้นผิวของอนุภาคจึงทำให้มีแรงกระทำระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์และโมเลกุลของน้ำส่งผลทำให้การแยกตัวของอนุภาคออกจากน้ำเกิดได้ช้าลงซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้ว่าการเคลือบพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วย hydrophilic polymer จะส่งผลต่อการแยกอนุภาคออกจากน้ำ [23]



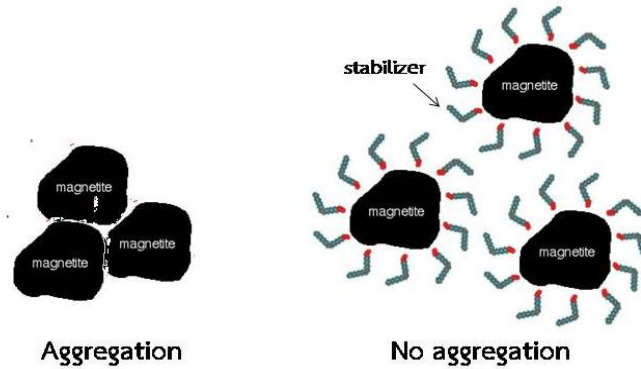
รูปที่ 4.13 การดูดแยกอนุภาคออกจากสารละลาย (A) สภาวะที่ปราศจากสนามแม่เหล็กจากภายนอก และ (B) ภาพบนแสดงสภาวะที่มีการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอก 1 นาที และภาพล่างแสดงสภาวะที่มีการให้สนามแม่เหล็กจากภายนอกจนเกิดการแยกอย่างสมบูรณ์

3.4 ความเสถียรในการกระจายตัวของอนุภาคนาโนแม่เหล็กแขวนลอย

ศึกษาเสถียรภาพในการกระจายตัวในน้ำของอนุภาคที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC เปรียบเทียบกับอนุภาค MNPs ที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปรพื้นผิวภายใต้สภาวะปราศจากแรงจากสนามแม่เหล็กภายนอก จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.14 พบว่าอนุภาคที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC ชนิด MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 แสดงเสถียรภาพในการกระจายตัวในน้ำได้ดีไม่เกิดการตกตะกอนในขณะที่ MNPs และ MNPs-PMAMPC10 จะเกิดการตกตะกอนภายในเวลา 15 นาที และ 60 นาที (ลูกศรสีน้ำเงิน) ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเคลือบพื้นผิวอนุภาคด้วย PMAMPC จะช่วยเพิ่มความสามารถในการกระจายตัวในน้ำและมีเสถียรภาพในการกระจายตัวที่ดี เนื่องจาก PMAMPC เป็นพอลิเมอร์ที่มีความชอบน้ำและการมีหมู่ COO^- ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างประจุลบภายในสายโซ่พอลิเมอร์และระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ทำให้อนุภาคเกิดการกระจายตัวไม่เกาะรวมกลุ่มกันเป็นก้อนขนาดใหญ่แล้วเกิดการตกตะกอน หรืออาจกล่าวได้ว่า PMAMPC ที่เคลือบอยู่บนอนุภาคทำหน้าที่เป็น stabilizer ให้กับอนุภาคป้องกันการรวมกลุ่มกันของอนุภาคเกิดเป็นก้อนอนุภาคขนาดใหญ่ (aggregation) แสดงแบบจำลองการป้องกันการเกิด aggregation ดังรูปที่ 3.15



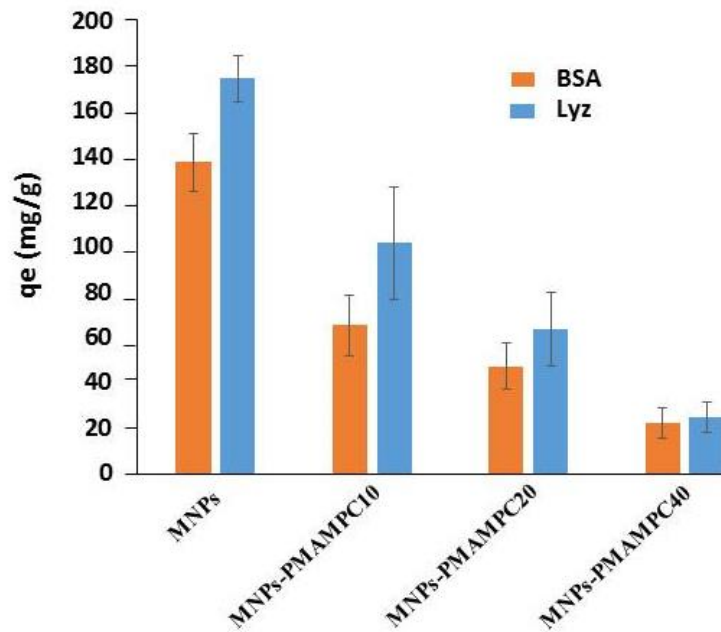
รูปที่ 3.14 ภาพถ่ายอนุภาคแขวนลอยของอนุภาคชนิดต่างๆ ในสภาวะปราศจากสนามแม่เหล็กภายนอก



รูปที่ 3.15 แบบจำลองการเกิด aggregation และการป้องกันการเกิด aggregation ของอนุภาค

3.5 การดูดซับโปรตีน (Protein adsorption)

ในการทดลองนี้ได้ศึกษาความสามารถในการต้านการดูดซับโปรตีนของอนุภาคภายหลังการเคลือบด้วย PMAMPC โดยทำการศึกษาการดูดซับของโปรตีน 2 ชนิดคือ bovine serum albumin ซึ่งเป็นตัวแทนของโปรตีนที่มีประจุเป็นลบ และ lysozyme ซึ่งเป็นตัวแทนของโปรตีนที่มีประจุเป็นบวกบนอนุภาคที่เตรียมได้ทั้ง 4 ชนิด คือ MNPs, MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.16 พบว่า อนุภาคที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC มีปริมาณการดูดซับโปรตีนทั้ง 2 ชนิด ต่ำกว่าอนุภาคที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปรพื้นผิวซึ่งแสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC สามารถลดการดูดซับของโปรตีนทั้งชนิดที่มีประจุเป็นบวกและลบได้เนื่องจาก PMAMPC มีคุณสมบัติในการต้านการดูดซับอย่างไม่จำเพาะเจาะจงของโปรตีนต่าง ๆ ได้ และนอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการต้านการดูดซับของโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณของพอลิเมอร์ที่เคลือบติดบนพื้นผิวอนุภาค ดังนั้นจึงทำให้อนุภาคชนิด MNPs-PMAMPC40 แสดงประสิทธิภาพในการต้านการดูดซับของโปรตีนสูงที่สุด



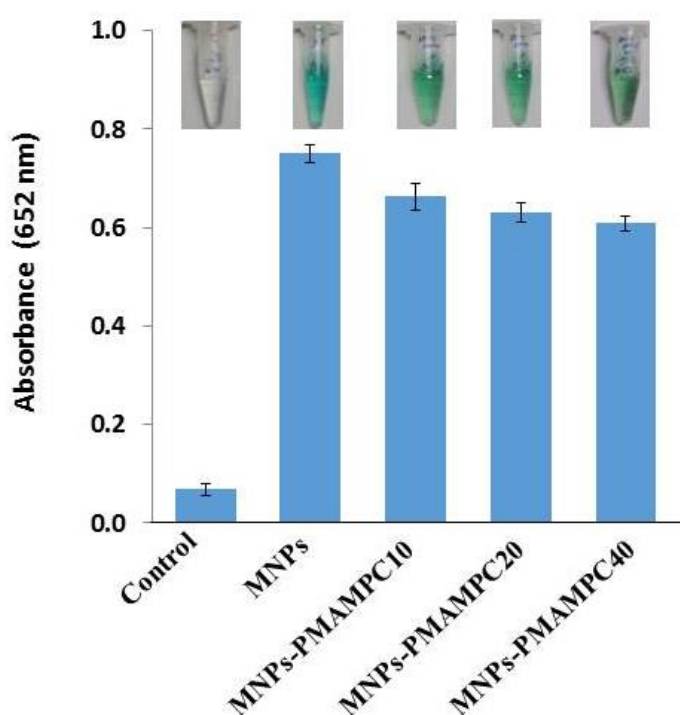
รูปที่ 3.16 ปริมาณการดูดซับโปรตีน bovine serum albumin และ lysozyme ของอนุภาคชนิดต่างๆ

3.6 สมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของเปอร์ออกซิเดตซ์บสเตอร์ท (peroxidase-like activity)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการค้นพบว่า อนุภาคนาโนแม่เหล็กชนิด Fe_3O_4 มีสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของเปอร์ออกซิเดตซ์บสเตอร์ท (peroxidase-like activity) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้งานด้านอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ (biosensor) ดังนั้นในงานวิจัยจึงสนใจศึกษาสมบัติ peroxidase-like activity โดยสนใจศึกษาการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของเปอร์ออกซิเดตซ์บสเตอร์ท คือ 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) ในสภาวะที่มี H_2O_2 จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ TMB จากใสไม่มีสีกลายเป็นสีน้ำเงิน โดยความสามารถในการเป็นตัวเร่ง (catalytic activity) ของอนุภาคจะสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณการเปลี่ยนแปลงสีของ TMB ที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าและตรวจวัดได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร

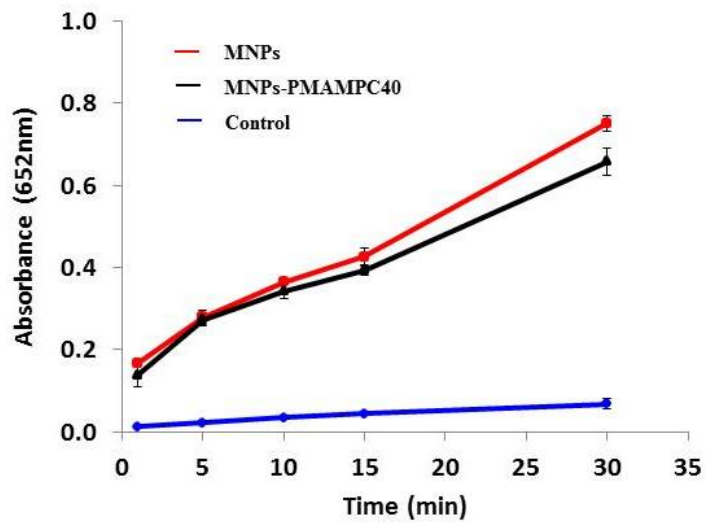
จากผลการทดลอง แสดงดังรูปที่ 3.17 พบว่าอนุภาคทุกชนิดสามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB ได้ซึ่งแสดงถึงสมบัติ peroxidase-like activity โดยสามารถเปลี่ยนสี TMB จากสารละลายใสไม่มีสีให้กลายเป็นสารละลายสีน้ำเงินที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ยังพบว่าอนุภาคที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วย PMAMPC ยังคงแสดงสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสี TMB ได้เหมือนกับอนุภาค MNPs ที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปร เมื่อนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร ด้วยเทคนิค UV-Visible spectroscopy ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันตรงกับ catalytic activity พบว่า catalytic

activity ของอนุภาคที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวจะมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับอนุภาค MNPs และมีแนวโน้มการลดลงตามปริมาณของพอลิเมอร์ที่เคลือบติดบนพื้นผิว ซึ่งคาดว่าเป็นผลเนื่องมาจากการที่อนุภาคถูกเคลือบด้วย PMAMPC ทำให้เกิดการบดบังบริเวณพื้นผิวของอนุภาคที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นความสามารถในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจึงลดลง สอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ผ่านมาที่กล่าวไว้ว่า catalytic activity ของอนุภาค Fe_3O_4 NPs จะมีค่าลดลงเมื่อความหนาของชั้นสารเคลือบบนอนุภาคเพิ่มมากขึ้น [24-25] แต่ถึงอย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณา catalytic activity ของอนุภาคชนิด MNPs-PMAMPC10, MNPs-PMAMPC20 และ MNPs-PMAMPC40 เปรียบเทียบกับอนุภาคที่ไม่ได้ผ่านการดัดแปรพบว่ามี catalytic activity ลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงเพียง 11.8%, 15.8% และ 19.0% ตามลำดับ

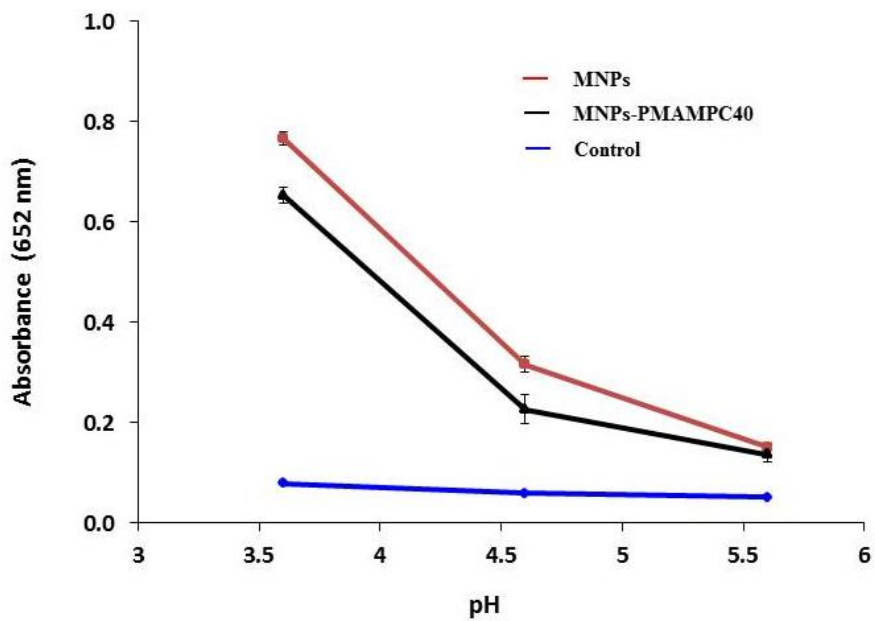


รูปที่ 3.17 การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB ที่สภาวะไม่มีการเติมอนุภาค (Control) และสภาวะที่มีการเติมอนุภาคชนิดต่างๆ

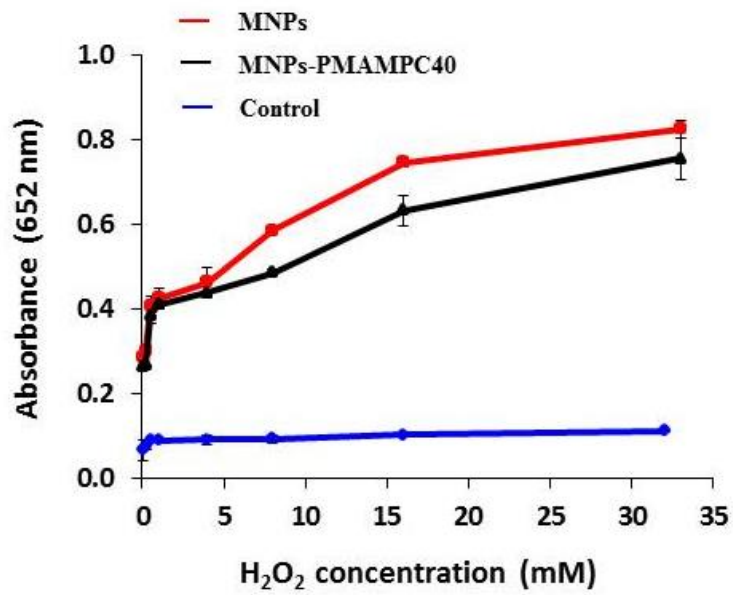
เพื่อประโยชน์ในการนำอนุภาค MNPs-PMAMPC ไปประยุกต์ใช้งานร่วมกับการตรวจวัดทางชีวภาพที่สามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่าต่อไป จึงได้ทำการศึกษาอิทธิพลต่างๆ ที่มีผลต่อ catalytic activity ของอนุภาค จากผลการทดลองพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อ catalytic activity คือ เวลา, pH ของสารละลาย, ความเข้มข้นของ H_2O_2 และปริมาณของอนุภาค แสดงผลการทดลองดังรูปที่ 3.18, รูปที่ 3.19, รูปที่ 3.20 และ รูปที่ 3.21 ตามลำดับ



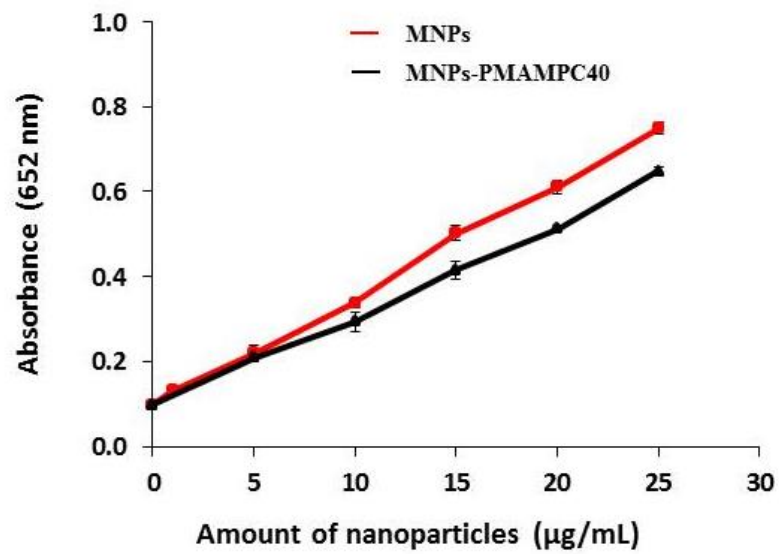
รูปที่ 3.18 อิทธิพลของเวลาต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB



รูปที่ 3.19 อิทธิพลของ pH สารละลายต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB



รูปที่ 3.20 อิทธิพลของ [H₂O₂] ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB



รูปที่ 3.21 อิทธิพลของปริมาณอนุภาคต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย TMB

4. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการทดลอง

สามารถสังเคราะห์และดัดแปรพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วยพอลิเมอร์ชนิด PMAMPC โดยอาศัยปฏิกิริยาการตกตะกอนร่วมระหว่างเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) และ เฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ในสภาวะเบสภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน นอกจากนี้ยังประสบความสำเร็จในการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ที่มีความง่าย สะดวกและไม่ซับซ้อนด้วยการใช้ปฏิกิริยาแบบ “one-pot reaction” การดัดแปรพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วย PMAMPC ช่วยทำให้อนุภาคนาโนแม่เหล็กมีเสถียรภาพในการกระจายตัวในน้ำได้ดีไม่เกิดการตกตะกอนแต่ยังสามารถแยกออกจากสารละลายได้ง่ายด้วยการให้สนามแม่เหล็กภายนอก นอกจากนี้ PMAMPC ที่เคลือบบนพื้นผิวของอนุภาคนาโนแม่เหล็กยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการดูดซับอย่างไม่จำเพาะเจาะจงของโปรตีนซึ่งเหมาะแก่การนำไปพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโมเลกุลเป้าหมาย (selectivity) และที่สำคัญอนุภาคนาโนแม่เหล็กที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวนี้อย่างคงคุณสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของเปอร์ออกซิเดตซ์ับเสตรท (peroxidase-like activity) สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานร่วมกับการตรวจวัดทางชีวภาพที่สามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่าต่อไปได้

4.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าอนุภาคชนิด MNPs-PMAMPC40 มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ในการตรวจวัดทางชีวภาพ (biosensor) ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโมเลกุลที่ต้องการตรวจวัด และสามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่าโดยอาศัยสมบัติ peroxidase-like activity ของอนุภาคชนิดนี้ ซึ่งเป็นวิธีการตรวจวัดที่ไม่จำเป็นต้องอาศัยอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่มีราคาแพงในการตรวจวิเคราะห์ ส่วนหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิล ($COOH$) ที่อยู่ในโครงสร้างของพอลิเมอร์ชนิดนี้สามารถนำมาใช้ในการตรึงโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวตรวจวัดหรือโพรบได้โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างหมู่คาร์บอกซิลและหมู่อะมิโนของโพรบ ซึ่งเป็นการเพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดโมเลกุลเป้าหมาย

ผลผลิต (Output)

1. Boonjamnian, S., Trakulsujaritchok, T., & **Na Nongkhai, P.** Preparation and characterization of PMAMPC-functionalized MNPs by one-pot reaction. International Polymer Conference of Thailand (PCT-6), 2016, 425-429.
2. Boonjamnian, S., Trakulsujaritchok, T., & **Na Nongkhai, P.** Synthesis and characterization of anti-biofouling Fe₃O₄ nanoparticles. เสนอผลงานแบบโปสเตอร์: การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ “The 2016 Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2016)”

- [1] Lin, P. -C.; Chou, P. -H.; Chen, S. -H.; Liao, H. -K.; Wang, K. -Y.; Chen, Y. -J.; Lin, C. -C., Ethylene glycol-protected magnetic nanoparticles for a multiplexed immunoassay in human plasma. *Small*. 2005, 2, 485-489.
- [2] Chou, P. -H.; Chen, S. -H.; Liao, H. -K.; Lin, P. -C.; Her, G. -R.; Lai, A. C. -Y.; Chen, J. -H.; Lin, C. -C.; Chen, Y. -J., Nanoprobe-based affinity mass spectrometry for selected protein profiling in human plasma. *Anal. Chem*. 2005, 77, 5990-5997.
- [3] Liu, J. -C.; Tsai, P. -J.; Lee, Y. C.; Chen, Y. -C., Affinity capture of uropathogenic *Escherichia coli* using pigeon ovalbumin-bound Fe₃O₄@Al₂O₃ magnetic nanoparticles. *Anal. Chem*. 2008, 80, 5425-5432.
- [4] Qiu, J.; Zhou, Y.; Chen, H.; Lin, J. -M., Immunomagnetic separation and rapid detection of bacteria using bioluminescence and microfluidics. *Talanta*. 2009, 79, 787-795.
- [5] Woo, M. -A.; Kim, M. I.; Jung, J. H.; Park, K. S.; Seo, T. S.; Park, H. G., A Novel Colorimetric Immunoassay Utilizing the Peroxidase Mimicking Activity of Magnetic Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci*. 2013, 14, 9999-10014.
- [6] Gao, L. Z.; Zhuang, J.; Nie, L.; Zhang, J. B.; Zhang, Y.; Gu, N.; Wang, T. H.; Feng, J.; Yang, D. L.; Perrett, S.; Yan, X. Y., Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nat. Nanotechnol*. 2007, 2, 577-583.
- [7] Zhang, Z.; Wang, Z.; Wang, X.; Yang, Xirong., Magnetic nanoparticle-linked colorimetric aptasensor for the detection of thrombin. *Sensors and Actuators B*. 2010, 147, 428-433.
- [8] Akkhat, P.; Kiatkamjornwong, S.; Yusa, S.; Hoven, V. P.; Iwasaki, Y., Development of a novel antifouling platform for biosensing probe immobilization from methacryloyloxyethyl phosphorylcholine-containing copolymer brushes. *Langmuir* 2012, 28, 5872-5881.
- [9] Yu, F. Q.; Huang, Y. Z.; Cole, A. J.; Yang, V. C., The artificial peroxidase activity of magnetic iron oxide nanoparticles and its application to glucose detection. *Biomaterials* 2009, 30, 4716-4722.
- [10] Kurosawa, S.; Aizawa, H.; Talib, Z. A.; Atthoff, B.; Hilborn, J. Synthesis of tethered-polymer brush by atom transfer radical polymerization from a plasma-polymerized film-coated quartz crystal microbalance and its application for immunosensors. *Biosens. Bioelectron*. 2004, 20, 1165-1176.
- [11] Dai, J.; Bao, L. Z.; Sun, L.; Hong, U. S.; Baker, L. G.; Bruening, L. M. High-capacity binding of proteins by poly(acrylic acid) brushes and their derivatives. *Langmuir* 2006, 22, 4274-4281

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [12] Akkahat, P.; Hoven, V. P., Introducing surface-tethered poly(acrylic acid) brushes as 3D functional thin film for biosensing applications. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* 2011, *86*, 198-205.
- [13] Akkahat, P.; Mekboonsonglarp, W.; Kiatkamjornwong, S.; Hoven, V. P., Surface-grafted poly(acrylic acid) brushes as a precursor layer for biosensing applications: effect of graft density and swellability on the detection efficiency. *Langmuir* 2012, *28*, 5302-5311.
- [14] Drmota, A. Kosak, A. and Znidarsic, A. A mechanism for the adsorption of carboxylic acid onto the surface of magnetic nanoparticle. *Material in technology* 2008, *42*, 79-83.
- [15] Chiu, Y. -C.; Chen, Y. -C., Carboxylate-functionalized iron oxide nanoparticles in surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for the analysis of small biomolecules. *Analytical Letters* 2008, *41*, 260-267.
- [16] Thiramanas, R.; Jangpatarapongsa, K.; Tangboriboonrat, P.; Polpanich, D., Detection of *Vibrio cholerae* Using the Intrinsic Catalytic Activity of a Magnetic Polymeric Nanoparticle. *Anal. Chem.* 2013, *85*, 5996-6002.
- [17] Li, X.; Wen, F.; Creran, B.; Jeong, Y.; Zhang, X.; Rotello, V. M., Colorimetric Protein Sensing Using Catalytically Amplified Sensor Arrays. *Small* 2012, *8*, 3589-3592.
- [18] Mazur, M.; Barras, A.; Kuncser, V.; Galatanu, A.; Zaitzev, V.; Turcheniuk, K. V.; Woisel, P.; Lyskawa, J.; Laure, W.; Siriwardena, A.; Boukherroub, R.; Szunerits, S., Iron oxide magnetic nanoparticles with versatile surface functions based on dopamine anchors. *Nanoscale*, 2013, *5*, 2692-2702.
- [19] Hajdú, A.; Szekeres, M.; Tóth, I. Y.; Bauer, R. A.; Mihály, J.; Zupkó, I.; Tombácz, E., Enhanced stability of polyacrylate-coated magnetite nanoparticles in biorelevant media. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2012, *94*, 242-249.
- [20] Tümtürk, H.; Sahin, F.; Turan, E., Magnetic nanoparticles coated with different shells for biorecognition: high specific binding capacity. *Analyst*, 2014, *139*, 1093-1100.
- [21] 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.
- [22] Ciprian, M.C., Trishikhi, R., & Subhasis, G. (2011), Systematic comparison of the size, surface characteristics and colloidal stability of zero valent iron nanoparticles pre- and post-grafted with common polymers, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *390*, 95-104.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [23] Xie, L.; Lan, F.; Li, W.; Liu, Z.; Ma, S.; Yang, Q.; Wu, Y.; Gu, Z., Polyacrylic acid brushes grafted from P(St-AA)/Fe₃O₄ composite microspheres via ARGET-ATRP in aqueous solution for protein immobilization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, 123, 413–418.
- [24] Gao, L. Z., Zhuang, J., Nie, L., Zhang, J., Zhang, Y., Gu, N., Wang, T., Feng, J., Yang, D., Perrett, S., & Yan, X., Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nature Nanotechnology*, 2007, 2, 577-583.
- [25] Yu, F.Q., Huang, Y.Z., Cole, A.J., & Yang, V.C., The artificial peroxidase activity of magnetic iron oxide nanoparticles and its application to glucose detection. *Biomaterials*, 2009, 30, 4716-4722.

ชื่อโครงการวิจัย พอลิเมอร์ชีวภาพโคโตซาน/เจลาติน ที่มีสมบัติแม่เหล็กสำหรับเป็นเรซิน
แลกเปลี่ยนไอออนและกำจัดโลหะหนักในน้ำทิ้ง

ชื่อโครงการวิจัย การกำจัดโลหะอันตรายในน้ำทิ้งจากห้องปฏิบัติการด้วยอนุภาคแม่เหล็กนา
โน (Fe_3O_4) เคลือบด้วยพอลิเมอร์

1.6.3) งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

ชื่องานวิจัย อนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพอลิเมอร์สำหรับการประยุกต์เป็นอุปกรณ์
ตรวจวัดทางชีวภาพ

การเผยแพร่ Boonjamnian, S., Trakulsujaritchok, T., & Na Nongkhai, P.
Preparation and characterization of PMAMPC-functionalized
MNPs by one-pot reaction. International Polymer Conference
of Thailand (PCT-6), 2016, 425-429.

สถานภาพ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งทุน เงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.
2558

ชื่องานวิจัย การพัฒนาอนุภาคนาโนเหล็กออกไซด์ที่ถูกเคลือบด้วยโคพอลิเมอร์ของพอลิ
เมทาคริลิกแอซิดและพอลิ(2-เมทาคริโลอิลออกซีเอทิลฟอสโฟริลโครีน)

การเผยแพร่ Bunsai, B.; Suksombat, O.; Na Nongkhai, P. "Synthesis and
characterization of PMAMPC copolymer-coated magnetic
nanoparticles" Burapha Science Journal, 2014, 19, 414-421.

สถานภาพ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งทุน ทุนอุดหนุนการวิจัยเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ประจำปีงบประมาณ 2556

ชื่องานวิจัย การสังเคราะห์เม็ดพอลิ(VBC/ST/DVB) ที่มีหมู่ฟังก์ชันนัลบนผิวหน้าโดย
ปฏิกิริยาคลิกสำหรับใช้กำจัดสีย้อมในน้ำ

การเผยแพร่ Singkaew, H., Trakulsujaritchok, T., Na Nongkhai, P. (2014).
Removal of dyes from aqueous solutions by chelating
poly(glycidyl methacrylate-co- 2-hydroxyethyl methacrylate-
codivinyl benzene) in The 2014 IUPAC World Polymer Congress
(MACRO 2014), (pp 287-290).

Lapwanit, S.; Na Nongkhai, P.; Trakulsujaritchok, T. Chelating
magnetic copolymer composite modified by click reaction for
removal of heavy metal ions from aqueous solution, Chemical
Engineering Journal, 2015, 12, 289.

สถานภาพ ผู้ร่วมวิจัย

แหล่งทุน เงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.

ชื่องานวิจัย อนุภาคพอลิเมอร์ผสมแบบ IPNs ที่เตรียมจากพอลิ(อะคริลาไมด์) สำหรับควบคุมการปลดปล่อยยาต้านไวรัส

การเผยแพร่ นริศรา คะประสพ ธนิตา ตระกูลสุจริตโชค และปิยะพร ณ หนองคาย. 2556. การสังเคราะห์และวิเคราะห์ไฮโดรเจลของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส/พอลิอะคริลาไมด์สำหรับควบคุมการปลดปล่อยยา ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 39, (หน้า 462-469). กรุงเทพมหานคร

สถานภาพ ผู้ร่วมวิจัย

แหล่งทุน เงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

ชื่องานวิจัย Development of paper-based device for food and agricultural product analysis

การเผยแพร่ Sameenoi, Y.; Na Nongkhai, P.; Nouanthavong, S.; Henryb, C. H.; Nacaprichac, D. One-step polymer screen-printing for microfluidic paper-based analytical device (mPAD) fabrication, Analyst, 2014, 139, 6580-1588.

สถานภาพ ผู้ร่วมวิจัย

แหล่งทุน พสวท.

1.6.4) งานวิจัยที่กำลังทำ

ชื่อโครงการวิจัย อนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพอลิเมอร์สำหรับการประยุกต์เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ

แหล่งทุน เงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

สถานภาพ หัวหน้าโครงการวิจัย

สถานภาพการวิจัย ดำเนินงานไปแล้ว 90%

2) ผู้ร่วมวิจัย

- 2.1) ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางธนิตา ตระกูลสุจริตโชค
ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Thanida Trakulsujaritchok
- 2.2) ตำแหน่งบริหาร / วิชาการ ปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
- 2.3) หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ถนนลงหาด ต. แสนสุข อ.เมือง ชลบุรี 20131

โทรศัพท์ 038-103039, 081-7234246 โทรสาร 038-393-494
E-mail thanida@buu.ac.th

2.4) ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปี พ.ศ.
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง	วท.บ.	เคมีอุตสาหกรรม	2534
จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย	วท.ม.	วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์	2538
Loughborough University, UK	Ph.D.	ปิโตรเคมี	2543

2.5) สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ

- Simultaneous and Sequential Interpenetrating Polymer Networks : Correlation Between Mechanical Damping and Interphase Content
- Molecularly Imprinted Polymers : Synthesis and Characterization
- Highly Porous Copolymer Beads Prepared by Suspension Polymerization

2.6) ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

2.6.1) งานวิจัยที่เป็นหัวหน้าโครงการ

ชื่อโครงการวิจัย Synthesis of Interpenetrating Polymer Networks for Cholesterol Adsorption

ชื่อโครงการวิจัย Synthesis of Interpenetrating Polymer Networks for Damping Materials

ชื่อโครงการวิจัย Biodegradable Polyethylene Films for Commercial Purpose

ชื่อโครงการวิจัย Surface Modification of Nanosized ZnO Particles by Graft Polymerization

ชื่อโครงการวิจัย Synthesis and characterization of porous hydroxyethyl Methacrylate copolymer beads for removal of heavy metals

ชื่อโครงการวิจัย การสังเคราะห์เม็ดพอลิ(VBC/ST/DVB) ที่มีหมู่ฟังก์ชันนัลบนผิวหน้าโดยปฏิกิริยาคลิกสำหรับใช้กำจัดสีย้อมในน้ำ

ชื่อโครงการวิจัย อนุภาคพอลิเมอร์ผสมแบบ IPNs ที่เตรียมจากพอลิ(อะคริลาไมด์) สำหรับควบคุมการปลดปล่อยยาต้านไวรัส

ชื่อโครงการวิจัย พอลิเมอร์ชีวภาพโคโตซาน/เจลาติน ที่มีสมบัติแม่เหล็กสำหรับเป็นเรซินแลกเปลี่ยนไอออนและกำจัดโลหะหนักในน้ำทิ้ง

2.6.2) งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

- ชื่องานวิจัย Synthesis of Interpenetrating Polymer Networks for Cholesterol Adsorption
Synthesis of Interpenetrating Polymer Networks for Damping Materials
Surface Modification of Nanosized ZnO Particles by Graft Polymerization
การสังเคราะห์เมตพอลิ(VBC/ST/DVB) ที่มีหมู่ฟังก์ชันลบบนผิวหน้าโดยปฏิกิริยาคลีคัลสำหรับใช้กำจัดสีย้อมในน้ำ
อนุภาคพอลิเมอร์ผสมแบบ IPNs ที่เตรียมจากพอลิ(อะคริลาไมด์) สำหรับควบคุม
การปลดปล่อยยาต้านไวรัส
- การเผยแพร่ **ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค** และ เต็มสุข แต่งหอม. การสังเคราะห์และการทดสอบคอเลสเทอรอล- อิมพริ้นต์พอลิ(ไฮดรอกซีเอทิล เมทาไครเลท) ที่เตรียมโดยกระบวนการเกิดพอลิเมอร์แบบขบวนการลอย. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. ปีที่ 11 (ฉบับที่ 1) มกราคม-มิถุนายน 2549 : 3-10.
- T. Trakulsujaritchok**, “Interpenetrating Polymer Networks”. วารสาร วิทยาศาสตร์บูรพา. ปีที่ 11 (ฉบับที่ 2) กรกฎาคม-ธันวาคม 2549 : 77-88.
- T. Trakulsujaritchok**, D.J. Hourston, “Damping Characteristics and Mechanical Properties of Silica Filled PUR/PEMA Simultaneous Interpenetrating Polymer Networks”, European Polymer Journal, 42, 2968-2976, 2006.
- R. Saeeng, U. Sirion, Y. Sirichan, **T. Trakulsujaritchok**, P.Sahakitpichan, “Convertible Formation of Different Glycoside Using Molecular Iodine”, Heterocycles, 81(11), 2569-2580, 2010.
- T. Trakulsujaritchok**, N. Noiphom, N. Tangtreamjitmun, R. Saeeng, “Adsorptive features of poly(glycidyl methacrylate-co-hydroxyethyl methacrylate): effect of porogen formulation on heavy metal ion adsorption”, Journal of Materials Science, 46(16), 5350-5362, 2011.
- Singkaew, H., **Trakulsujaritchok**, T., Na Nongkhai, P. (2014). Removal of dyes from aqueous solutions by chelating poly(glycidyl methacrylate-co- 2-hydroxyethyl

methacrylate-codivinyl benzene) in *The 2014 IUPAC World Polymer Congress (MACRO 2014)*, (pp 287-290).

นริศรา คะประสบ **ธนิดา ตระกูลสุจริตโชค** และปิยะพร ณหนองคาย. 2556. การสังเคราะห์และวิเคราะห์ไฮโดรเจลของโพลีเอมีนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส/พอลิอะคริลาไมด์สำหรับควบคุมการปลดปล่อยยา ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 39*, (หน้า 462-469). กรุงเทพมหานคร

Lapwanit, S.; Na Nongkhai, P.; **Trakulsujaritchok , T.** Chelating magnetic copolymer composite modified by click reaction for removal of heavy metal ions from aqueous solution, *Chemical Engineering Journal*, 2015, 12, 289.

2.6.3) งานวิจัยที่กำลังทำ

ชื่อโครงการวิจัย พอลิเมอร์ชีวภาพไคโตซาน/เจลาติน ที่มีสมบัติแม่เหล็กสำหรับเป็นเรซินแลกเปลี่ยนไอออนและกำจัดโลหะหนักในน้ำทิ้ง

แหล่งทุน เงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 และ 2559

สถานภาพ หัวหน้าโครงการวิจัย

สถานภาพการวิจัย ดำเนินงานไปแล้ว 70%

ภาคผนวก

รายงานสรุปการเงิน
เลขที่โครงการระบบบริการงานวิจัย 2558A10802349 สัญญาเลขที่ 88/2558
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558
มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ อนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพอลิเมอร์สำหรับการประยุกต์เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ

(Polymer-coated magnetic nanoparticles for biosensing applications)

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน อ.ดร. ปิยะพร ณ หนองคาย

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2557 ถึงวันที่ 6 ตุลาคม 2559

ระยะเวลาดำเนินงาน 2 ปี - เดือน (ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม 2557 ถึง 6 ตุลาคม 2559)

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%)	325,000 บาท	เมื่อวันที่ 16 ธันวาคม 2557
งวดที่ 2 (40%)	260,000 บาท	เมื่อวันที่ 18 มิถุนายน 2558
งวดที่ 3 (10%)	65,000 บาท	ยังไม่ได้รับเงิน
รวม	650,000 บาท	

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/ เกิน
1. งบบุคลากร	120,000	120,000	0
2. ค่าตอบแทนนักวิจัย	130,000	130,000	0
3. ค่าใช้สอย	85,000	85,020	-20.00
4. ค่าวัสดุ	250,000	250,003.14	-3.14
5. อุดหนุนสถาบัน	65,000	65,000	0
6. ค่าครุภัณฑ์	-	-	-
รวม	650,000	650,023.14	-23.14

.....
(ปิยะพร ณ หนองคาย)
หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

(Executive Summary)

ข้าพเจ้า อ.ดร. ปิยะพร ณ หนองคาย ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากมหาวิทยาลัยบูรพา ประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) มหาวิทยาลัยบูรพา โครงการวิจัยเรื่องอนุภาคนาโนแม่เหล็กเคลือบด้วยพอลิเมอร์สำหรับการประยุกต์เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางชีวภาพ (Polymer-coated magnetic nanoparticles for biosensing applications) รหัสโครงการ 2558A10802349 / สัญญาเลขที่ 88/2558 ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 650,000 บาท (หกแสนห้าหมื่นบาทถ้วน)

ระยะเวลาดำเนินงาน 2 ปี - เดือน (ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม 2557 ถึง 6 ตุลาคม 2559)

บทคัดย่อ

อนุภาคนาโนแมกนีไทต์ คืออนุภาคนาโนเหล็กออกไซด์ชนิดหนึ่งที่มีสมบัติซูเปอร์พาราแมกเนติกได้รับความสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้งานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและชีวการแพทย์อย่างแพร่หลาย การนำอนุภาคนาโนแม่เหล็กไปประยุกต์ใช้งานจำเป็นต้องมีการดัดแปรพื้นผิวของอนุภาคเพื่อให้มีความเหมาะสมในงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็กดัดแปรพื้นผิวด้วยโคพอลิเมอร์แบบสุ่มระหว่างพอลิเมทาคริลิกแอซิด และ พอลิ(2-เมทาคริโลอิลออกซีเอทิลฟอสโฟริลโคลีน) ด้วยปฏิกิริยาแบบ “one pot” โดยอาศัยการตกตะกอนร่วมระหว่าง Fe^{2+} และ Fe^{3+} ในสารละลายเบสร่วมกับสถานะที่มีการเติมสารละลายพอลิเมอร์โดยตรง อนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะทรงกลม กระจายตัวได้ดีในน้ำ และมีสมบัติทางแม่เหล็ก มีขนาดอยู่ในช่วง 11-12 นาโนเมตร การดัดแปรพื้นผิวอนุภาคนาโนแม่เหล็กด้วยพอลิเมอร์ชนิดนี้ช่วยลดการดูดซับแบบไม่จำเพาะเจาะจงของโปรตีน นอกจากนี้อนุภาคที่ผ่านการเคลือบพื้นผิวด้วยพอลิเมอร์ยังคงคุณสมบัติที่ดีในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของ 3,3',5,5'-เตตระเมทิลเบนซิดีน (ทีเอ็มบี) ในสถานะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนแมกนีไทต์ที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วยพอลิเมอร์ชนิดนี้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมทั้งในแง่ของการต้านการดูดซับของโปรตีนและการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของทีเอ็มบี สามารถนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการตรวจวัดทางชีวภาพที่สังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยการเปลี่ยนแปลงสีต่อไป

Output / Outcome

1. Boonjamnian, S., Trakulsujaritchok, T., & Na Nongkhai, P. Preparation and characterization of PMAMPC-functionalized MNPs by one-pot reaction. International Polymer Conference of Thailand (PCT-6), 2016, 425-429.

2. Boonjamnian, S., Trakulsujaritchok, T., & Na Nongkhai, P. Synthesis and characterization of anti-biofouling Fe₃O₄ nanoparticles. เสนอผลงานแบบโปสเตอร์: การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ “The 2016 Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2016)”

ข้อเสนอแนะ

อนุภาคชนิด MNPs-PMAMPC40 มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ในการตรวจวัดทางชีวภาพ (biosensor) ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโมเลกุลที่ต้องการตรวจวัด และสามารถสังเกตเห็นการตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่าโดยอาศัยสมบัติ peroxidase-like activity ของอนุภาคชนิดนี้ ซึ่งเป็นวิธีการตรวจวัดที่ไม่จำเป็นต้องอาศัยอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่มีราคาแพงในการตรวจวิเคราะห์ ส่วนหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิล (COOH) ที่อยู่ในโครงสร้างของพอลิเมอร์ชนิดนี้สามารถนำมาใช้ในการตรึงโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวตรวจวัดหรือโพรบได้โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างหมู่คาร์บอกซิลและหมู่อะมิโนของโพรบ ซึ่งเป็นการเพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดโมเลกุลเป้าหมาย