



เซนเซอร์สำหรับตรวจวัดโฮโมซิสเตอินเพื่อบ่งชี้ภาวะโรคหัวใจและหลอดเลือด

Sensor for Homocysteine Measurement in the Indicate Cardiovascular Disease

ศุภฤกษ์ อุ่นจิตร*

Suparek Oonchit

หยาดนภา ผาเจริญ**

Yardnapar Parcharoen

เบญญา เชิดหิรัญกร***

Benya Cherdhirunkorn

ชिरาวุฒิ เพชรเย็น***

Chiravoot Pechyen

Received : May 29, 2023

Revised : May 21, 2024

Accepted : June 30, 2024

บทคัดย่อ

โรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นโรคเรื้อรังที่มีความอันตรายเป็นอันดับต้น ซึ่งตัวบ่งชี้ภาวะโรคหัวใจและหลอดเลือดที่สามารถแสดงถึงอาการกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบได้นั้นคือโฮโมซิสเตอินเนื่องจากมีความจำเพาะและความไวต่ออาการโรค ในปัจจุบันนี้ วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโฮโมซิสเตอินจะใช้ระบบโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่ใช้ฟลูออเรสเซนส์เป็นตัวตรวจวัด หรือการวิเคราะห์โดยระบบอิมมูโนซึ่งใช้แอนติบอดีต่อโฮโมซิสเตอิน วิธีเหล่านี้ให้ผลการวิเคราะห์โฮโมซิสเตอินที่มีความถูกต้องเป็นที่ยอมรับ แต่มีข้อด้อยคือใช้เวลาในการวิเคราะห์ เครื่องมือมีราคาสูง และไม่สามารถนำไปใช้งานในภาคสนามหรือจุดบริการทางการแพทย์ได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มีการสังเคราะห์ไบโอรีเซพเตอร์เทียมสำหรับตรวจวัดโฮโมซิสเตอิน ด้วยวิธีการปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กโทรดด้วยวัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ปริมาณ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 กรัม ร่วมกับโคโคซานที่ปริมาณ 0.2 กรัม ทุกๆ อัตราส่วน โดยกลองจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดได้ถูกนำมาใช้เพื่อ

*นักศึกษาลัทธิศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีวัสดุและสิ่งทอ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Master of Science Program Student Materials and Textile Technology Faculty of Science and Technology Thammasat University

**อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

Lecturer at Faculty of Industrial Technology Kamphaeng Phet Rajabhat University

**อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีวัสดุและสิ่งทอ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Lecturer in Materials and Textile Technology Faculty of Science and Technology Thammasat University(Corresponding Author) e-mail: Chiravoot.p@gmail.com

ยืนยันผลการปรับปรุงพื้นผิวด้วยวัสดุนาโนและการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีไฟฟ้าด้วยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี ผลการทดลองพบว่าพื้นผิวที่ปรับปรุงด้วยวัสดุนาโนนั้นจะมีความสามารถในการตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เสถียรภาพและใช้เวลาในการวิเคราะห์ผลที่รวดเร็ว และหวังว่าเซนเซอร์ที่ออกแบบนี้จะสามารถนำไปใช้เป็นไบโอรีเซพเตอร์รูปแบบใหม่สำหรับตรวจหาโปรตีนที่มีโครงสร้างซับซ้อนในซีรัมตัวอย่างได้

คำสำคัญ : โรคหัวใจและหลอดเลือด / เซนเซอร์ / โฮโมซิสเตอีน

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are top-mortal chronic disease. The indicator of cardiac diseases that can show myocarditis is homocysteine (Hcy) because of its specificity and susceptibility. Currently, the method for quantity analysis of homocysteine uses a high-performance liquid chromatography system that uses fluorescence as a detector or an analysis by immune system using antibodies to homocysteine. These methods acceptable exact homocysteine analysis results but the disadvantage is that it takes time to analyze, the tool is expensive, and cannot be used in the field or at medical service points. Thus, in this research, an artificial bioreceptor has been synthesized for binding homocysteine by the surface modification of the electrode with composite material of multi-wall carbon nanotubes at the amount of 0.25, 0.5, 0.75 and 1 gram together with chitosan at the amount of 0.2 gram in every ratio. The SEM has been confirm the surface modification with nanocomposite and the analysis of electrochemical properties with Cyclic voltammetry (CV). Results revealed that the surface modification with nanocomposite is capable of effective homocysteine detection, stability and fast analysis time. This sensor design will be employed as a new bioreceptor for detect complex protein structures on serum samples.

Keywords : Cardiovascular Diseases / Sensor / Homocysteine

บทนำ

ปัจจุบันสัดส่วนประชากรสูงอายุของประเทศไทยมีแนวโน้มสูงขึ้นเป็นลำดับ การมีประชากรสูงอายุมากขึ้นจะมีอุบัติการณ์ของโรคในกลุ่มไม่ติดต่อ(Non-communicable diseases: NCDs) โรคที่มีความสำคัญในกลุ่มนี้คือโรคเกี่ยวข้องกับโรคหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดกับลักษณะทางพันธุกรรม รวมถึงการมีอายุที่สูงขึ้น ซึ่งระบบการดูแลสุขภาพของประชากรที่ดีสามารถป้องกันไม่ให้เกิดความผิดปกติเหล่านี้ขึ้นได้

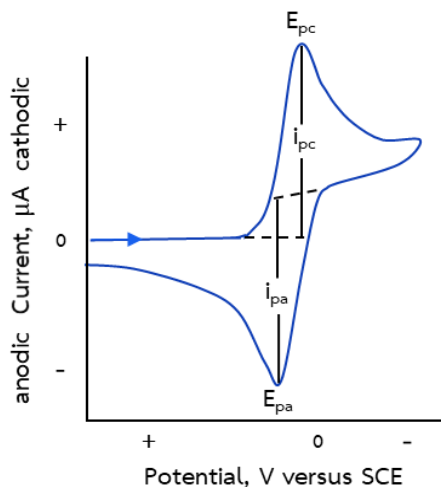
สำหรับโรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นปัญหาคุณภาพของประชากรอย่างมาก จากรายงานขององค์การอนามัยโลก (WHO) ในปี 2559 พบทั่วโลกมีผู้เสียชีวิตปีละประมาณ 57 ล้านคน โดยโรคหัวใจขาดเลือดเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับ 1 มีผู้เสียชีวิตประมาณ 9.2 ล้านคน สำหรับประเทศไทยในปี 2560 พบว่าคนไทย

มีแนวโน้มการป่วยด้วยโรคหัวใจขาดเลือดถึง 326,946 คน และเสียชีวิตจากโรคหัวใจขาดเลือดถึง 20,746 คน เฉลี่ยเสียชีวิตวันละ 57 คน และมีแนวโน้มการป่วยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ข้อมูลจากองค์การอนามัยโลกระบุว่า ตลอดช่วงเวลา 10 ปีที่ผ่านมา โรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งของคนไทย ซึ่งส่วนใหญ่เสียชีวิตก่อนอายุ 60 ปี แม้ว่าพันธุกรรม เพศ และอายุจะเป็นสาเหตุหนึ่งในการเกิดโรค ซึ่งเพศชายจะมีความเสี่ยงมากกว่าเพศหญิง โดยเพศชายจะมีความเสี่ยงตั้งแต่อายุ 35 ปีขึ้นไป และเพศหญิงจะมีความเสี่ยงตั้งแต่อายุ 55 ปีขึ้นไป แต่ประมาณร้อยละ 80-90 ของผู้ป่วยมีปัจจัยเสี่ยงเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมในชีวิตประจำวัน ไม่ว่าจะเป็น ความเครียด ความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน การกินอาหาร ไขมันในเลือดสูง การออกกำลังกายไม่สม่ำเสมอ รวมไปถึงการสูบบุหรี่เป็นประจำ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีแนวโน้มทำให้คนเสียชีวิตด้วยโรคหัวใจและหลอดเลือดเพิ่มมากขึ้น แต่มีการพบว่า 25-30 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยโรคนี้ที่รับตัวไว้ในโรงพยาบาล มีไขมันในเลือดปกติ ความดันปกติ ไม่สูบบุหรี่ โดยมีการพบว่ามีปัจจัยเสี่ยงชนิดหนึ่งที่บางคนไม่รู้ซึ่งเป็นสารอันตรายที่มีชื่อว่า โฮโมซิสเตอีน (Homocysteine) สารอันตรายนี้เป็นสารที่ก่อให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้โรคหัวใจเป็นโรคที่อันตรายอย่างมาก แต่ก็สามารถป้องกันได้โดยการรักษาสุขภาพ หลีกเลี่ยงปัจจัยที่ก่อให้เกิดความเครียด และปัจจัยที่ไดกล่าวไว้ข้างต้น

โฮโมซิสเตอีนเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่มีอะตอมของกำมะถันเป็นองค์ประกอบสามารถพบได้ในร่างกายของมนุษย์ โดยเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนเมไทโอนีน (methionine) ซึ่งในคนปกติจะมีระดับโฮโมซิสเตอีนในพลาสมา 5-15 ไมโครโมลาร์ หากระดับโฮโมซิสเตอีนในพลาสมาสูงขึ้นเกินกว่าปกติ (hyperhomocysteinemia) (Avinash Kumar et al, 2017) จะเป็นพิษต่อผนังเซลล์หลอดเลือดได้ โดยจะไปทำลายผนังด้านในของหลอดเลือดโดยเฉพาะหลอดเลือดขนาดเล็ก เช่น หลอดเลือดหัวใจ หลอดเลือดที่อยู่ ในสมอง มีรายงานจากงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าปริมาณโฮโมซิสเตอีนในพลาสมาที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (Dan Rong, et al., 2020) ตัวอย่างเช่น ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) เกิดเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณโฮโมซิสเตอีนสูงขึ้น (Ubbink, J.B., et al, 1991 and A Von Eckardstein, et al, 1994) ดังนั้นจึงมีแนวโน้มการใช้โฮโมซิสเตอีนเป็นตัวบ่งชี้ความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดสูงขึ้น (Per M Ueland, et al, 2000; Earl S Ford, et al. and David S Wald, et al, 2002) การวิเคราะห์โฮโมซิสเตอีนทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปใช้ระบบโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high-performance liquid chromatography) ที่ใช้ฟลูออเรสเซนส์เป็นดีเทคเตอร์ การวิเคราะห์โดยระบบอิมมูโน โดยมากจะใช้แอนติบอดีต่อโฮโมซิสเตอีนหรือแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (gas chromatography-mass spectrophotometry, GC-MS) (Yoshihiko Shinohara, et al. (2001) and Jens Pietzsch, et al, 1997), Chemiluminescence immunoassay (CMLA) (Christophe Chassaing, et al, 1999), enzyme-linked immunoassay (EIA) หรือ fluorescence polarization immunoassay (FPIA) (Kuanping Gong, et al, 2004) วิธีเหล่านี้ให้ผลการวิเคราะห์โฮโมซิสเตอีนที่มีความถูกต้องเป็นที่ยอมรับ แต่มีข้อด้อยคือใช้เวลานาน การวิเคราะห์ที่ค่อนข้างนาน เครื่องมือมีราคาสูง และไม่สามารถนำไปใช้งานในภาคสนามหรือจุดบริการทางการแพทย์ได้ สำหรับทางการแพทย์การวิจัยพัฒนาไบโอเซนเซอร์เพื่อตรวจวัดโฮโมซิสเตอีนยังมีค่อนข้างจำกัด

ไบโอเซนเซอร์ส่วนใหญ่ใช้เอนไซม์เป็นสารทางชีวภาพ อย่างไรก็ตามไบโอเซนเซอร์ที่สร้างขึ้นด้วยวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดของความไวในการตรวจวัด ซึ่งยังคงเป็นประเด็นสำคัญที่ต้องได้รับการพัฒนา การตรวจวัดนั้นได้มีวิวัฒนาการของการตรวจสอบสารเคมีในปัจจุบันที่มีการตรวจถึงระดับบอกรักษาของโรคโดยมีการนำเทคโนโลยีด้านข้อมูลข่าวสารมาใช้ในการวิเคราะห์สารหลายชนิดและอ้างอิงกับฐานข้อมูลเพื่อเทียบบอกถึงความเสี่ยงและอาการก่อเกิดของโรคที่ยังไม่แสดงอาการ เพื่อทดแทนข้อจำกัดวิธีการวิเคราะห์แบบเดิม ไม่ว่าจะเป็นวิธี Gas chromatography (GC), Microsphere-based arrays (MBA), Radioimmunoassay (RIA) และวิธีอื่นๆ ที่ได้กล่าวไปข้างต้น ซึ่งต่างก็มีข้อจำกัดในแง่ของระยะเวลาการตรวจวัด ขั้นตอนที่ยุ่งยาก และเกี่ยวข้องกับการใช้สารเคมีอันตราย จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์คิดวิเคราะห์หาเทคนิควิธี กระบวนการใหม่ๆ มาประยุกต์ใช้

สำหรับการตรวจวัดปริมาณไฮโมซีสเทอีนในปัจจุบันนิยมใช้เครื่องมือคือ การวิเคราะห์สมมติทางเคมีไฟฟ้าด้วยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี (Cyclic voltammetry: CV) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สามารถใช้ตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เสถียรภาพและใช้เวลาในการวิเคราะห์ผลที่รวดเร็ว ในงานวิจัยนี้จะพัฒนาไบโอเซนเซอร์ที่สามารถวัดปริมาณไฮโมซีสเทอีนที่วิเคราะห์ด้วยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรีให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งทางผู้วิจัยได้ทำการศึกษาที่จะปรับปรุงขั้วไฟฟ้าโดยจะทำการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซาน เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นไบโอเซนเซอร์



ภาพที่ 1 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

ดังนั้นในงานวิจัยที่จะดำเนินการจึงเป็นการพัฒนาวัสดุไบโอเซนเซอร์โดยการใช้วัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซานมาปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กโทรด ซึ่งถูกปรับปรุงให้มีความว่องไวต่อการวิเคราะห์ปริมาณไฮโมซีสเทอีน และเพิ่มค่าการนำไฟฟ้าได้ดี ด้วยหลักการดังกล่าวจะทำให้ความว่องไวของการวิเคราะห์เพิ่มสูงขึ้น และสามารถใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโมซีสเทอีนได้

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

คาร์บอนนาโนทิวบ์ (Multiwall carbon nanotube; MWCNT; Nano generation Co., Ltd, Chiang Mai, Thailand; purity, 99.99%), ไคโตซาน (Chitosan; CS; Aldrich, Steinheim, Germany; low molecular weight), โฮโมซิสเตอีน (Homocysteine; Hcy; Sigma, Buchs, Switzerland; titration, 98%), กรดอะซิติก (Acetic acid: CH₃COOH; RCI Labscan Limited, Bangkok, Thailand; Glacial AR., 99.8%), โซเดียมโดเดซิลเบนซีนซัลโฟเนต (sodium dodecylbenzene sulfonate; NaDDBS; Aldrich, Steinheim, Germany; technical grade) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy; SEM) และเครื่องตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า (Potentiostat)

การสังเคราะห์คาร์บอนนาโนทิวบ์

นำผงคาร์บอนนาโนทิวบ์ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 20-50 นาโนเมตร) ปริมาณ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1.00 กรัม ตามลำดับ ผสมกับร้อยละ 1 โดยน้ำหนักของโซเดียมโดเดซิลเบนซีนซัลโฟเนต จากนั้นผสมกับน้ำ DI แล้วนำไปสั่นผสมด้วยเครื่องอัลตราโซนิกส์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายมาเติมเอทานอล แล้วนำไปกวนพร้อมใส่แท่งแม่เหล็ก กวนสารเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ได้เป็นสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์

การสังเคราะห์ไคโตซาน

นำผงไคโตซานปริมาณ 0.2 กรัม มาละลายในกรดอะซิติกเข้มข้น 3% แล้วนำไปกวนพร้อมใส่แท่งแม่เหล็ก กวนสารที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (ค่อยๆ ใส่ไคโตซานทีละน้อยลงในกรดอะซิติกระหว่างกวนสารจนหมด) ได้เป็นสารละลายไคโตซาน

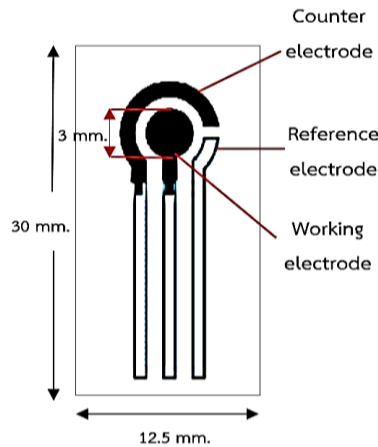
การสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซาน

1. นำสารละลายไคโตซานผสมลงในสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ ภายใต้การกวนสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์อยู่ เติมสารละลายไคโตซานลงไปช้าๆ จนหมด จากนั้นกวนสารละลายผสมให้เข้ากัน ที่อุณหภูมิห้อง

2. นำสารละลายผสมที่ได้มาหยดแอมโมเนีย จนสารละลายผสมมีค่า pH ประมาณ 9-10 หลังจากนั้นเติมเอทานอล 3 มิลลิลิตร และกวนสารละลายผสมอีก 30 นาที

ขั้วไฟฟ้า

ขนาดของอิเล็กโทรดจะมีความกว้าง 12.5 มิลลิเมตร และความยาว 30 มิลลิเมตร โดยที่ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode) และขั้วไฟฟ้าช่วย (Counter electrode) จะมีการเคลือบคาร์บอน ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) จะมีการเคลือบซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ โดยที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขั้วไฟฟ้าใช้งานจะมีขนาด 3 มิลลิเมตร พื้นที่ขนาด 7.065 ตารางมิลลิเมตร และวัสดุพื้นผิวจะใช้เป็นแผ่นพลาสติกหรืออลูมินา โดยจะแสดงองค์ประกอบของขั้วไฟฟ้าอิเล็กโทรด ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 องค์ประกอบของขั้วไฟฟ้า

การปรับปรุงขั้วไฟฟ้าใช้งานด้วยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวร่วมกับไคโตซาน

นำสารละลายวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวร่วมกับไคโตซานที่ผ่านการกวนแล้ว นำมาหยดลงบนขั้วไฟฟ้าใช้งาน โดยใช้ปริมาตรสาร 0.5 ไมโครลิตร และนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หรือวางไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแห้ง

การเตรียมสารละลายเพื่อนำไปทดสอบคุณภาพการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ปรับปรุงโดยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวร่วมกับไคโตซาน

1. เตรียมโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลลาร์, โพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์-เรตความเข้มข้น 5 มิลลิโมลลาร์ และโพแทสเซียมเพอร์โรไซยาไนด์ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลลาร์
2. ผสมโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตและโพแทสเซียมเพอร์โรไซยาไนด์เข้าด้วยกัน แล้วนำมาละลายในโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลลาร์

การทดสอบคุณภาพการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ปรับปรุงโดยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวร่วมกับไคโตซาน

1. ติดตั้งเครื่องวัดทางเคมีไฟฟ้าโพเทนชิโอสแตตกับคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรม PSTrace software 5.9 ในการวิเคราะห์ที่ไซคลิกโวลแทมเมตรี
2. นำขั้วไฟฟ้ามาต่อกับวงจรและนำสารละลายที่เตรียมจากข้อก่อนหน้ามา 100 ไมโครลิตร หยดสารละลายให้ครอบคลุมขั้วไฟฟ้าใช้งาน ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าช่วย
3. ทำการวิเคราะห์ไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยเปรียบเทียบคุณสมบัติการนำไฟฟ้าของขั้วระหว่างขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงโดยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวร่วมกับไคโตซานและขั้วไฟฟ้าเปล่า

การทดสอบประสิทธิภาพการตอบสนองต่อไฮโมซิสเตอิน

นำสารละลายไฮโมซิสเตอินมาตรฐานมาหยดลงบนขั้วไฟฟ้าใช้งาน จากนั้นทำการวิเคราะห์ไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยทดสอบประสิทธิภาพการตอบสนองต่อไฮโมซิสเตอิน เปรียบเทียบระหว่างขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงโดยวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซานและขั้วไฟฟ้าเปล่า

การวิเคราะห์และทดสอบขั้วอิเล็กโทรดที่ได้จากการปรับปรุงผิวหน้าด้วยวัสดุเชิงประกอบ

หลังจากสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์/ไคโตซาน และปรับปรุงพื้นผิวขั้วอิเล็กโทรดแล้ว จากนั้นจะนำวัสดุเชิงประกอบและขั้วอิเล็กโทรดที่สัดส่วนต่างๆ มาทดสอบสมบัติทางกายภาพสมบัติทางเคมีไฟฟ้า ที่ได้รับการทดลอง ดังนี้

1. การวิเคราะห์สมบัติทางไฟฟ้าเคมี โดยการศึกษาค่าการนำไฟฟ้าที่ต้องให้ศักย์ไฟฟ้าที่คงที่ใส่เข้าไปในวงจรและวัดกระแสที่เกิดขึ้นได้จากการทำปฏิกิริยากันของสารละลาย โดยเครื่องจะมีองค์ประกอบสำคัญอยู่คือ โปเทนชิโอสแตต (Potentiostat) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมี ในการควบคุมการจ่ายความต่างศักย์และการวัดกระแสไฟฟ้าด้วยเครื่องวิเคราะห์ของ PalmSens BV

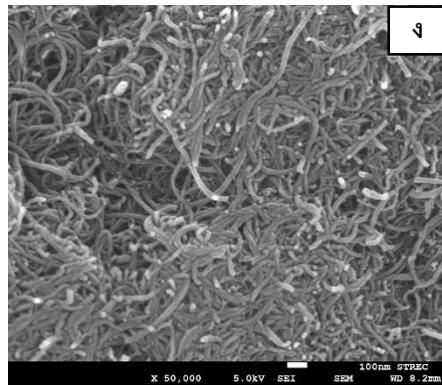
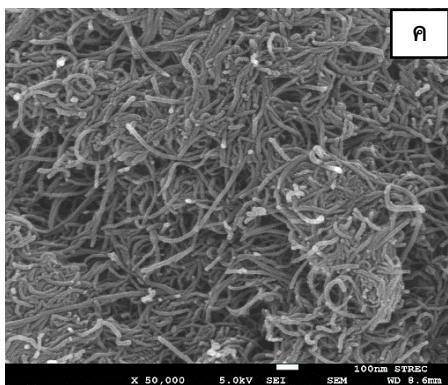
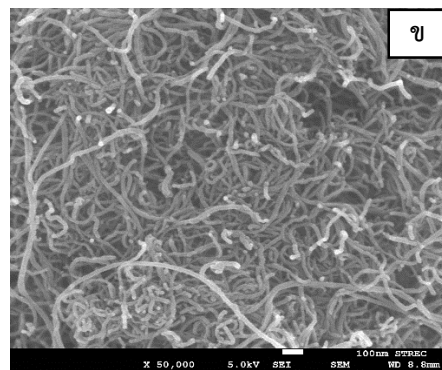
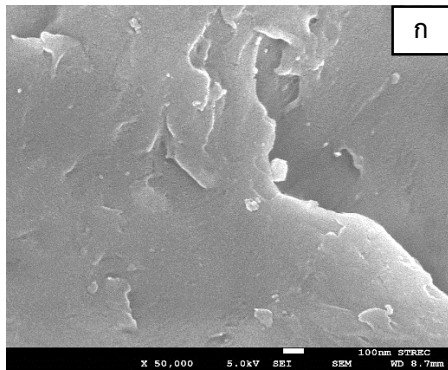
2. การวิเคราะห์สมบัติเชิงเคมี โดยการศึกษาโครงสร้างของผลึกของวัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซานโดยเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบของสารด้วยการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffraction: XRD)

3. ลักษณะปรากฏทางกายภาพ โดยการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของวัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซานด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดพิวอิมิชชั่น (Field Emission Scanning Electron Microscope: FESEM) (JEOL, JSM-7610F)

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาลักษณะปรากฏทางกายภาพ (Microstructure)

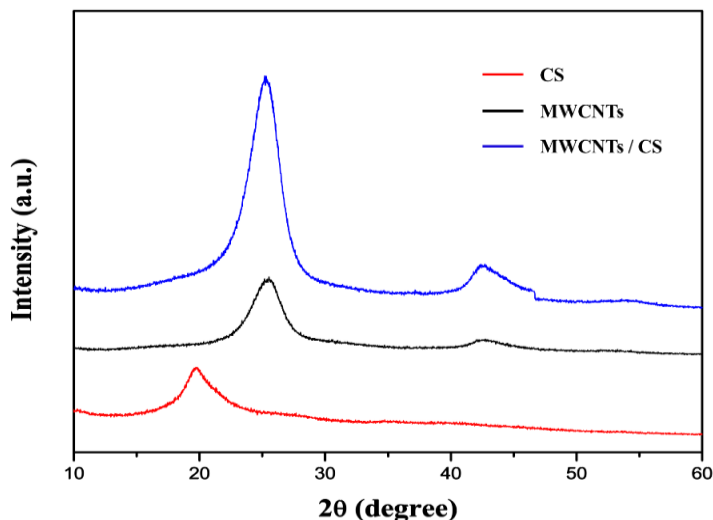
การวิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดชนิดพิวอิมิชชั่น (Field Emission Scanning Electron Microscope: FESEM) แสดงดังภาพที่ 3 โดยจากภาพที่ 3(ก) แสดงภาพของสารไคโตซาน พบว่าไคโตซานมีลักษณะเป็นแผ่นเกาะผืนกันขนาดใหญ่ ไม่มีรูพรุน และเนื้อเยื่อเรียบ ภาพที่ 3(ข) แสดงภาพของมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์มีลักษณะเป็นเส้นร่างแหยาวที่ซ้อนกันอยู่ และภาพที่ 3(ค-ง) เป็นภาพลักษณะสัณฐานวิทยาของมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์เกาะติดอยู่บนไคโตซานที่ซ้อนทับกันเป็นกลุ่มก้อนและอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 100 นาโนเมตร ถ้าอัตราส่วนของไคโตซานมากกว่ามัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์นั้น ลักษณะจะมีการเกาะกันเป็นแผ่นหรือกลุ่มก้อนที่มีขนาดใหญ่และชัดเจนขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบของมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซานนี้เป็นผลอันดี



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดชนิดฟิวอิมิชชั่นของสารที่สังเคราะห์ (ก) ไคโตซาน (CS), (ข) มัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ (MWCNTs), (ค, ง) สารเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์/ไคโตซาน (MWCNTs/CS) ที่สัดส่วน 1.0 : 0.2 และ 0.75 : 0.2 ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์สมบัติเชิงเคมี

การวิเคราะห์โครงสร้างของผลึกของวัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซาน ด้วยเครื่องวิเคราะห์ห่องค์ประกอบของสารด้วยการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffraction: XRD) ใช้แหล่งกำเนิดแสงเป็น $\text{CuK}\alpha$ แสดงดังภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างความเป็นผลึกของไคโตซาน มัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ และวัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซาน พบว่ามัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์พีคที่ตำแหน่ง 2θ คือ 25.5° และ 42.7° แสดงถึงระนาบ (002) และ (100) ตามลำดับ มีโครงสร้างผลึกแบบ Hexagonal ส่วนไคโตซานแสดงตำแหน่งที่เกิดผลึก 2θ คือ 19.7° แสดงถึงระนาบ (220) และวัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซานแสดงตำแหน่งที่เกิดผลึก 2θ คือ 25.2° และ 42.7° จะสังเกตได้ว่าพีคที่ 25.2° มีความเป็นผลึกสูงที่สุด แต่ไม่สามารถระบุตำแหน่งพีคของไคโตซานได้ชัดเจน เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของไคโตซานมีน้อยกว่ามัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างความเป็นผลึกของไคโตซาน (CS), มัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ (MWCNTs) และวัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซาน (MWCNTs/CS)

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางไฟฟ้าเคมี

การวิเคราะห์สมบัติทางไฟฟ้าเคมีของขั้วอิเล็กโทรดที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยวัสดุเชิงประกอบมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับไคโตซานด้วยเครื่องวิเคราะห์ของ PalmSens BV โดยติดตั้งโปรแกรม PSTrace 5.9 สำหรับทำการวิเคราะห์สาร.....

จากผลการทดลอง พบว่าโครงสร้างทางจุลภาคของมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์เกาะติดอยู่บนไคโตซานที่ซ้อนทับกันเป็นกลุ่มก้อนและอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 100 นาโนเมตร โครงสร้างผลึกจะสังเกตได้ว่าพีคที่ 25.2° มีความเป็นผลึกสูงที่สุด แต่ไม่สามารถระบุตำแหน่งพีคของไคโตซานได้ชัดเจน เนื่องจากปริมาณความเข้มของไคโตซานมีน้อยกว่ามัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวบ์

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณกองทุนวิจัยวิทยาลัยแพทยศาสตร์นานาชาติจุฬาภรณ์ที่ได้มอบ “ทุนสนับสนุนงานวิจัยทั่วไป ประเภทพัฒนานวัตกรรมและสิ่งประดิษฐ์ ประจำปี 2562”

References

- Avinash, K., Henry, A.P., Rashmi, P., Philip, J.K., Thomas, W.G. & Subramanyam, N.M. (2017). The metabolism and significance of homocysteine in nutrition and health. **Nutr Metab (Lond)**, **14**, 78.
- A Von, E., Malinow, M.R., Upson, B., Heinrich, J., Schulte, H., Schönfeld, R., Köhler, E. & Assmann, G. (1994). Effects of age, lipoproteins, and hemostatic parameters on the role of homocyst(e)inemia as a cardiovascular risk factor in men. **A Journal of Vascular Biology**, **14(3)**, 460-464.
- Christophe, C., Joyce, G., Christopher, S.W. & Irving, W.W. (1999). Determination of reduced and oxidized homocysteine and related thiols in plasma by thiol-specific pre-column derivatization and capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, **735(2)**, 219-227.
- Dan, R., Weihang, L., Yangyang, G., Jie, L., Guoyi, S., Feng, L., Jiang, X., Xin, J., Hongpeng, Z., Xiaohui, M., Xiaoping, L. & Wei, G. (2020). Associations between elevated plasma total homocysteine level and risk of thromboangiitis obliterans in a Chinese population : A matched case-control study. **Annals of Vascular Surgery**, **62**, 335-341.
- David, S.W., Malcolm, L. & Joan K.M. (2002). Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. **BMJ(Clinical research ed.)**, **325(7374)**, 1202.
- Earl, S.F., Smith, S.J., Donna, F.S., Karen, K.S., Patricia, W.M. & Stephen, B.T. (2002). Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a systematic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case-control studies. **International Journal of Epidemiology**, **31(1)**, 59-70.
- Pietzsch, J., Julius, U. & Hanefeld, M. (1997). Rapid determination of total homocysteine in human plasma by using N(O,S)-ethoxycarbonyl ethyl ester derivatives and gas chromatography-mass spectrometry. **Clinical Chemistry**, **43(10)**, 2001-2004.
- Kuanping, G., Yu, D., Shaoxiang, X., Yi, C. & Lanqun, M. (2004). Novel electrochemical method for sensitive determination of homocysteine with carbon nanotube-based electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**, **20(2)**, 253-259.

- Ueland, P.M., Refsum, H., Beresford, S.A. & Vollset, S.E. (2000). The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. **The American Journal of Clinical Nutrition**, **72**(2), 324-332.
- Ubbink, J.B., Vermaak, W.J., Bennett, J.M., Becker, P.J., Staden, D.A. & Bissbort, S. (1991). The prevalence of homocysteinemia and hypercholesterolemia in angiographically defined coronary heart disease. **Journal of Molecular Medicine**, **69**(12), 527-534.
- Shinohara, Y., Hasegawa, H., Tagoku, K. & Hashimoto, T. (2001). Simultaneous determination of methionine and total homocysteine in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, **758**(2), 283-288.