

ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าแบบส่วนต่อขยายขาเกต  
สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลงโดยอาศัยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

EXTENDED-GATE FIELD EFFECT TRANSISTOR FOR PESTICIDE  
DETECTION BASED ON ENZYME INHIBITION ASSAY



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิศวกรรมวัสดุนาโน

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EXTENDED-GATE FIELD EFFECT TRANSISTOR FOR PESTICIDE  
DETECTION BASED ON ENZYME INHIBITION ASSAY



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT  
FROM THE DEGREE OF BACHELOR OF ENGINEERING  
IN NANOMATERIAL ENGINEERING  
COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2017

COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG




เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี  
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
โครงการพิเศษ

หัวข้อโครงการพิเศษ ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าแบบส่วนต่อขยายขาเกตสำหรับตรวจวัด  
ยาฆ่าแมลงโดยอาศัยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

Special Project Title Extended-Gate Field Effect Transistor for Pesticide  
Detection Based on Enzyme Inhibition Assay

นักศึกษา นางสาวณฤฎา เลิศทรัพย์จินดา  
รหัสประจำตัว 57110024  
ปริญญา วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต  
ภาควิชา นาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี  
สาขาวิชา วิศวกรรมวัสดุนาโน  
ปีการศึกษา 2560  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นงลักษณ์ หวงกำแหง  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. กรกช อ่อนละออ	
ผศ.ดร. ดารินี พรหมโยธิน	
ผศ.ดร. นงลักษณ์ หวงกำแหง	

ภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังอนุมัติ  
ให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมวัสดุนาโน

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดารินี พรหมโยธิน)

หัวหน้าภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี

วันที่.....15.....เดือน.....มิถุนายน.....พ.ศ. 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าแบบส่วนต่อขยายขาเกตสำหรับตรวจวัด ยาฆ่าแมลงโดยอาศัยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์
นักศึกษา	นางสาวณัฐนาฏ เลิศทรัพย์จินดา
รหัสประจำตัว	57110024
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมวัสดุนาโน
พ.ศ.	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นงลักษณ์ หวงก้าแหง

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาและพัฒนาอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตของอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าหรืออีจีเฟตสำหรับการตรวจวัดยาฆ่าแมลง โดยอาศัยหลักการของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริล โดยทำการสร้างส่วนต่อขยายขาเกตของอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าด้วยกระจกนำไฟฟ้าไอทีโอขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร นำไปตรวจวัดค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณในสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์ 4, 7 และ 10 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่  $55 \pm 2.54$  มิลลิโวลต์ต่อพีเอช และค่าสัมประสิทธิ์การแปรผันอยู่ที่ประมาณ 4.605 เปอร์เซ็นต์ มิลลิโวลต์/พีเอช จากนั้นทำการหยดอากาศโรสเจลความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อใช้ตรึงเอนไซม์ความเข้มข้น 0.5 ยูนิต ไว้ใน แล้วนำเซนเซอร์ไปทดสอบปฏิกิริยาในสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์กับซัสเตรทอะซิติลโคลีนคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และตรวจวัดคาร์บาริลด้วยวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จากผลการทดลองให้ค่าความไวในการตรวจวัดคาร์บาริลที่ 65.838 มิลลิโวลต์/log โมลาร์ ช่วงความเข้มข้นที่ตรวจวัดอยู่ที่  $5 \times 10^{-7}$  โมลาร์ ถึง  $5 \times 10^{-5}$  โมลาร์ จากนั้นนำเซนเซอร์ไปตรวจวัดคาร์บาริลที่ไม่ทราบความเข้มข้นในน้ำผักซึ่งสกัดจากถั่วฝักยาว และนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์เทียบกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงซึ่งเป็นเทคนิคมาตรฐาน ผลการทดลองพบว่าเซนเซอร์อีจีเฟตสามารถใช้งานในการตรวจวัดคาร์บาริลในน้ำผักสกัดจริงได้ โดยให้ค่าการตรวจวัดค่อนข้างใกล้เคียงกับเทคนิคมาตรฐานและมีโอกาสที่จะพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดยาฆ่าแมลงแบบพกพาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Extended-Gate Field Effect Transistor for Pesticide Detection Based on Enzyme Inhibition Assay
Student	Miss Naruenard Loedsapchinda
Student ID	57110024
Degree	Bachelor of Engineering
Program	Nanomaterial Engineering
Year	2017
Special Project	Asst. Prof. Dr. Nongluck Houngkamhang
Advisor	

## ABSTRACT

This research studied and developed the Extended-Gate Field Effect Transistor (EGFET) for pesticide detection. The principle based on the inhibition of acetylcholinesterase ( AChE ) by carbaryl pesticides. The Extended-Gate (EG) made from conductive indium thin oxide (ITO) with size 5x5 mm<sup>2</sup>. This EGFET was tested the sensitivity in buffer solution at pH 4, 7 and 10 which provided the sensitivity around  $55 \pm 2.54$  mV/pH and Coefficient of variation around 4.605% mV/pH. The 1.5% w/v agarose gel contained with 0.5 unit of AChE was drop onto the EG substrate. The sensor was measured in 5 mM acetylthiocholine choride (AChCl) substrate and followed with the carbaryl through the enzyme inhibition assay. From the result found that the EGFET provided the sensitivity for carbaryl detection around 65.838 mV/log M and can be measured carbaryl in the range of  $5 \times 10^{-7}$  to  $5 \times 10^{-5}$  M. Then the EGFET was used to measure the unknown concentration of carbaryl in extracted long bean solution and compared the result with the High Performance Liquid Chromatography as a standard technique. From the result found that the EGFET can be used to detect carbaryl in real sample and the measurement value was quite close to the standard technique. This EGFET has potential to be developed as a portable pesticide device.

## กิตติกรรมประกาศ

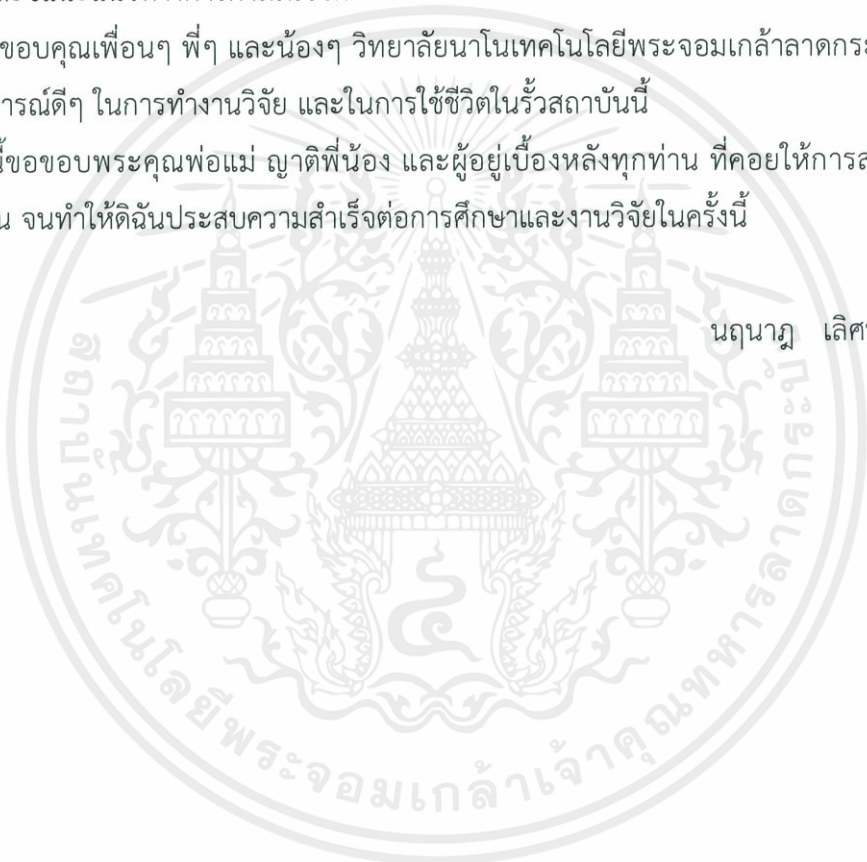
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะไม่เสร็จสมบูรณ์ ถ้าหากไม่ได้ ผศ.ดร. นงลักษณ์ หวงกำแหง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ คอยให้คำปรึกษาและชี้แนะแนวทางต่างๆ ทั้งในภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติ ทำให้การทำงานวิจัยผ่านไปได้ ดิฉันจึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.กรกช อ่อนล่อ และ ผศ.ดร.ตารินี พรหมโยธิน ประธานและกรรมการสอบ ที่ให้คำชี้แนะและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สำเร็จได้ด้วยความสำเร็จด้วยความเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ อาจารย์วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังทุกท่าน ที่ให้ความรู้และชี้แนะแนวทางการดำเนินชีวิต

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง ที่สร้างประสบการณ์ดีๆ ในการทำงานวิจัย และในการใช้ชีวิตในรั้วสถาบันนี้  
สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณพ่อแม่ ญาติพี่น้อง และผู้อยู่เบื้องหลังทุกท่าน ที่คอยให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน จนทำให้ดิฉันประสบความสำเร็จต่อการศึกษาและงานวิจัยในครั้งนี้

นฤนาฏ เลิศทรัพย์จินดา



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ii
กิตติกรรมประกาศ.....	iii
สารบัญ .....	iv
สารบัญรูป.....	vii
สารบัญตาราง .....	ix
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 สมมติฐานงานวิจัย .....	3
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย .....	4
1.6 รายละเอียดงานวิจัย .....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการทำงาน	
2.1 ยาฆ่าแมลง.....	6
2.1.1 ชนิดยาฆ่าแมลงที่ใช้ในงานวิจัย.....	8
2.2 เอนไซม์.....	10
2.2.1 สมบัติของเอนไซม์ .....	11
2.2.2 หลักการทำงานของเอนไซม์.....	11
2.2.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ .....	11
2.2.4 เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase , AChE) .....	12
2.2.5 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส .....	12
2.3 อากาโรส (Agarose) .....	13
2.4 ทรานซิสเตอร์แบบมอสเฟต (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor : MOSFET) .....	14
2.4.1 ชนิดของมอสเฟต.....	14
2.4.2 หลักการทำงานของมอสเฟต.....	16
2.5 อุปกรณ์เซนเซอร์ไอส์เฟต (Ion Sensitivity Field Effect Transistor : ISFET).....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.6 อุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟต (Extended – Gate Field Effect Transistor : EGFET) .....	18
2.6.1 หลักการทำงานของส่วนต่อขยายขาเกต .....	19
2.7 เทคนิคการแยกและวิเคราะห์สาร ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) .....	20
2.8 การทบทวนวรรณกรรม (Literature Reviews).....	21
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี .....	24
3.2 วิธีการเตรียมสารละลาย .....	24
3.2.1 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline: PBS) .....	24
3.2.2 สารละลายเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase : AChE) .....	25
3.2.3 สารละลายซัสเตรทอะซิติลโคลีนคลอไรด์ (Acetylthiocholine chloride : AChCl) .....	25
3.2.4 สารละลายยาฆ่าแมลงคาร์บาริล (Carbaryl Pesticide) .....	25
3.2.5 สารละลายน้ำผัก .....	25
3.3 การเตรียม การทดสอบ และการประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต.....	26
3.3.1 การเตรียมกระจกนำไฟฟ้า ITO เพื่อใช้เป็นส่วนต่อขยายขาเกต .....	26
3.3.2 การทดสอบความไวของอุปกรณ์ส่วนต่อขยาย .....	27
3.3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของอีจีเฟตแต่ละชิ้นงาน .....	28
3.3.4 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยอุปกรณ์ส่วนต่อขยายโดยวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอร์เรส .....	28
3.4 กราฟมาตรฐาน (Calibration curve).....	30
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ .....	31
3.6 การวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยเทคนิค เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC).....	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ(ต่อ)

หน้า

## บทที่ 4 ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะสัญญาณการตอบสนองของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่างๆ.....	34
4.2 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ละลายในสารละลายพีอีเอสบัฟเฟอร์ด้วยกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์.....	38
4.3 การทดสอบหาความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงในสารละลายน้ำผักจริงด้วยอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต โดยอาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์.....	42
4.4 การวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยเทคนิคการแยกและวิเคราะห์สาร เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) .....	44

## บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง.....	48
บรรณานุกรม.....	50
ประวัติผู้เขียน.....	52

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แผนภาพแสดงรูปแบบการทำงานของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต .....	2
2.1 โครงสร้างของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล .....	10
2.2 หลักการทำงานของเอนไซม์.....	11
2.3 สมการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase : AChE) .....	12
2.4 หลักการทำงานและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส.....	13
2.5 โครงสร้างอากาศาโรส .....	13
2.6 โครงสร้างของมอสเฟสแบบดีฟริชั่น.....	14
2.7 โครงสร้างมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์.....	15
2.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของกระแสเดรน และแรงดันที่ขาเดรนกับขอส.....	17
2.9 โครงสร้างอุปกรณ์เซนเซอร์อีสเฟต .....	18
2.10 อุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต (EGFET) .....	20
3.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำความสะอาดกระจกนำไฟฟ้า (ITO).....	26
3.2 ภาพส่วนต่อขยายที่ใช้ในการทดลอง.....	27
3.3 การเชื่อมต่ออุปกรณ์สำหรับการทดลอง.....	27
3.4 แผนภาพขั้นตอนการตรวจวัดยาฆ่าแมลง .....	29
3.5 กราฟ semi-log plot .....	30
3.6 กราฟการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์.....	32
4.1 สัญญาณการตอบสนองของ EGFET เทียบกับเวลาเมื่อวัดในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 4.0, 7.0 และ 10.0.....	35
4.2 ค่าสัญญาณ $V_{GS}$ เทียบกับพีเอชของสารละลาย จาก EGFET 3 ชิ้นงาน.....	36
4.3 กราฟการเปรียบเทียบค่าความไวของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตจากทั้งหมด 20 ชิ้นงาน.....	37
4.4 กราฟการเปลี่ยนแปลงค่าสัญญาณไฟฟ้า ( $V_{GS}$ ) เทียบกับเวลา ของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) เมื่อทำการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่างๆโดยอาศัยหลักการทำงานของเอนไซม์.....	39
4.5 กราฟการเปลี่ยนแปลงของค่าความต่างของสัญญาณ ( $\Delta mV$ ) ของสารละลายซัสเตรทกับสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์ เทียบกับความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล .....	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.6 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานเอนไซม์ เทียบกับความเข้มข้นของยาฆ่าแมลง ที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	41
4.7 โครมาโตแกรมจากการตรวจวิเคราะห์สารคาร์บาริลด้วยเทคนิค HPLC .....	44
4.8 กราฟผลการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเครื่อง HPLC โดยจะเปรียบ เทียบระหว่าง ค่าพื้นที่ใต้กราฟของพีคเทียบกับยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	45
4.9 โครมาโตแกรมจากการตรวจวิเคราะห์สารคาร์บาริลในน้ำผักสดโดยเทคนิคHPLC .....	46



# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณการตกค้างของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในผลผลิตทางการเกษตร.....	9
2.2 สรุปการทบทวนวรรณกรรมจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	22
3.1 ตารางแสดงเงื่อนไขการตรวจวัดสารละลายคาร์บาริลด้วยเทคนิค HPLC .....	33
4.1 แสดงค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตในแต่ละ ชิ้นงาน.....	36
4.2 ตารางแสดงผลการทดลองการสกัดน้ำผัก.....	42
4.3 ตารางแสดงผลการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายน้ำผักจริง ด้วยอุปกรณ์หัววัด แบบส่วนต่อขยายขาเกต.....	43
4.4 ตารางเปรียบเทียบความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผัก.....	47



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ยาฆ่าแมลงเป็นสารที่ใช้กำจัดและลดการแพร่พันธุ์ของแมลง ซึ่งยาฆ่าแมลงนั้นเป็นสารอันตรายที่ส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งหลายไม่ว่าจะเป็นจะสัตว์บก สัตว์น้ำ สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ หรือไม่เว้นแม้แต่มนุษย์ หากเมื่อได้รับยาฆ่าแมลงเข้าไปร่างกายมากๆ จะทำให้ร่างกายเกิดการสะสมสารพิษที่มาจากยาฆ่าแมลงทำให้ระบบภายในร่างกายถูกทำลายจนไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติ เช่น เกิดการเวียนศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง กล้ามเนื้อกระตุก หายใจไม่สะดวก หรือร้ายแรงที่สุดอาจมีผลถึงชีวิตของผู้ที่รับยาฆ่าแมลงเข้าไป [1]

ยาฆ่าแมลงถูกนำมาประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ เช่น ทางด้านการเกษตร การแพทย์ อุตสาหกรรม และใช้ในครัวเรือน ซึ่งโดยส่วนใหญ่ที่เราพบเห็นจะเป็นทางด้านเกษตร เนื่องจากประชากรที่เพิ่มมากขึ้น จึงมีความต้องการทางด้านอาหารจำพวกพืชผลทางการเกษตรมากขึ้น ทำให้เกษตรกรใช้ยาฆ่าแมลงเป็นตัวเร่งผลผลิตให้เพียงพอกับความต้องการของประชากร เพราะเหตุนี้ทำให้เกิดงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัด และทดสอบพืชผลทางการเกษตรว่าปลอดภัยต่อการบริโภคหรือไม่

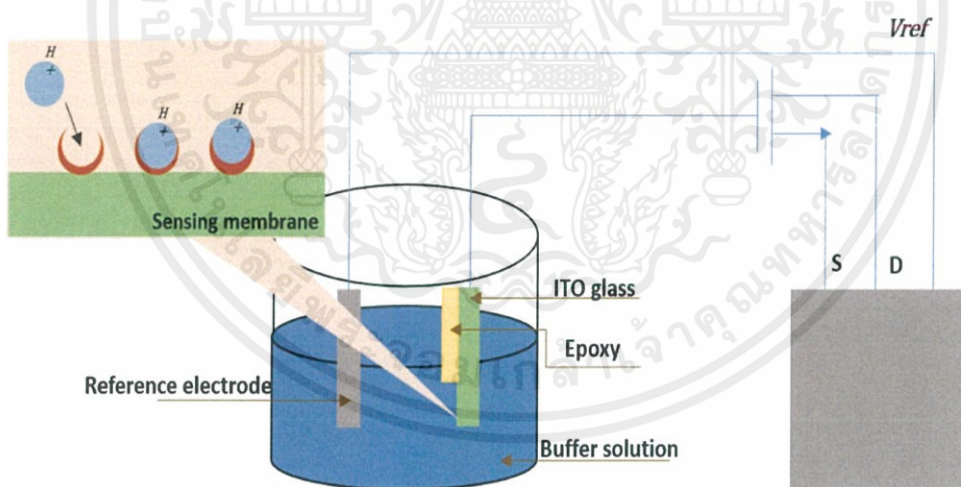
ปัจจุบันได้มีการคิดค้นการตรวจวัด และทดสอบเพื่อหาปริมาณของยาฆ่าแมลงมากมาย โดยส่วนใหญ่เป็นการประยุกต์เอาหลักการการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme) และซับสเตรท (Substrate) มาใช้ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphorus : OPs) และกลุ่มคาร์บาเมท (Carbamate : Car) โดยอาศัยการทำงานร่วมกันกับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase : AChE) กับอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ซับสเตรท (Acetylcholine : AChCl) ซึ่งผลผลิตที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่าง หรือ ค่าพีเอช (pH) ในสารละลาย ดังสมการที่ 1.1



ทางผู้ดำเนินงานวิจัยจึงสนใจที่จะเอาหลักการนี้มาประยุกต์ใช้ร่วมกับตัวอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต (Extended – Gate Field Effect Transistor : EGFET) ซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่าง หรือค่าพีเอช (pH) ในสารละลายได้ โดยอ้างอิงจากไอออนไฮโดรเจนในสารละลาย ซึ่งอุปกรณ์นี้เป็นอุปกรณ์ที่ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือขนาดใหญ่หรือว่า

ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทาง รูปแบบตัวอุปกรณ์สามารถปรับเปลี่ยนได้ตามความเหมาะสม และเป็นอุปกรณ์ที่มีต้นทุนต่ำ

อุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต (EGFET) เป็นอุปกรณ์ที่ถูกพัฒนามาจากทรานซิสเตอร์แบบมอส (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor : MOSFET) ซึ่งจะมีความสามารถในการตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่างในสารละลาย แต่จะแตกต่างกับทรานซิสเตอร์แบบมอสตรงที่ขาเกตไม่มีชั้นของโลหะที่ติดต่อกับขาเดรนและขาซอส โดยหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟตจะประกอบไปด้วย ขาเดรน (Drain) ขาซอส (Source) และส่วนที่เป็นขาเกต (Gate) ซึ่งขาเกตของอีจีเฟตจะทำหน้าที่ในการเป็นพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ (Sensing membrane) จะถูกต่อขยายออกมาจากอุปกรณ์นำไฟฟ้า โดยมีสายนำไฟฟ้าเชื่อมอยู่กับขาเดรนและขาซอส ทำให้ส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟตสามารถทำงานได้ โดยหลักการการทำงานคือการต่อหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟตร่วมกับขั้วอ้างอิงซึ่งในที่นี้คือ ซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) จากนั้นจุ่มในสารละลายที่ต้องการตรวจวัด ถ้าในสารละลายนั้นมีประจุไฟฟ้าอยู่ เช่น ไฮโดรเจนไอออน ก็จะเกิดการเหนี่ยวนำให้มาอยู่บริเวณขาเกตหรือพื้นที่ที่ตอบสนองสัญญาณของอีจีเฟต และจะเหนี่ยวนำให้ประจุไฟฟ้าตรงข้ามในอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟตเกิดการเคลื่อนที่เข้ามาบริเวณผิวรอยต่อซึ่งจะทำให้เกิดเป็นเส้นทางไหลของสนามไฟฟ้า โดยโครงสร้างของอุปกรณ์อีจีเฟต แสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 แผนภาพแสดงรูปแบบการทำงานของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต

สำหรับการประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟตเพื่อตรวจวัดยาฆ่าแมลง จะต้องอาศัยหลักการทำงานร่วมกับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ซับสเตรท โดยที่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยานี้จะเป็น โคลีน และกรดอะซีติกดังสมการที่ 1.1 ซึ่งไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารละลาย หรือจะเรียกอีกอย่างว่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนมีผลต่อการทำงานของ อุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต แต่เมื่อมียาฆ่าแมลงเข้าไปในระบบ ยาฆ่าแมลงจะไปยับยั้งปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรท จึงส่งผลให้ไอออนไฮโดรเจนในระบบลดลง ทำให้แรงดันทางไฟฟ้าที่พื้นผิวตอบสนองและกระแสในวงจรของตัวอุปกรณ์เปลี่ยนไป ซึ่งสามารถนำเอาการเปลี่ยนแปลงนี้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณของยาฆ่าแมลง

ในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาการเตรียมอุปกรณ์อีจีเฟตด้วยกระจกนำไฟฟ้า ITO และทดสอบ การตรวจวัดในสารละลายพีเอชต่างๆ เพื่อหาความไวของอุปกรณ์และทำการทดสอบประสิทธิภาพ ของการเตรียมอีจีเฟตในแต่ละชิ้นงาน และแต่ละชุดการทดลอง และนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด ยาฆ่าแมลงคาร์บาริล โดยอาศัยปฏิกิริยาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลง ซึ่ง เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสจะถูกตรึงบนพื้นผิวด้วยอากาศโรสเจล และทำการศึกษถึงสัญญาณ การตอบสนองที่เปลี่ยนแปลงไปของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟตเมื่อจุ่มใน สารละลายยาฆ่าแมลง รวมไปถึงการทดสอบหาค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงในน้ำผักจริง ซึ่งจาก งานวิจัยนี้จะทำให้ได้เซนเซอร์ตรวจวัดยาฆ่าแมลงที่มีขนาดเล็ก สามารถพกพาไปนอกสถานที่ได้ และมีราคาไม่แพง

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาการสร้างอุปกรณ์และใช้งานหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต
- 1.2.2 เพื่อหาความไวของอุปกรณ์อีจีเฟตและทดสอบประสิทธิภาพการเตรียมอีจีเฟตในแต่ละชิ้นงาน
- 1.2.3 เพื่อประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต สำหรับการตรวจวัดยา ฆ่าแมลงคาร์บาริลโดยอาศัยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส

## 1.3 สมมติฐานงานวิจัย

อุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต เป็นอุปกรณ์ที่สามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลง ค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย เมื่อประยุกต์ใช้อีจีเฟตกับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเอนไซม์อะ ซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ซับสเตรทในการตรวจวัดปริมาณยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ที่สามารถไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และลดปริมาณไอออนไฮโดรเจนในระบบได้ ดังนั้นอุปกรณ์อี จีเฟตที่ถูกพัฒนาขึ้นจะสามารถตรวจวัดสัญญาณความต่างศักย์ที่เปลี่ยนแปลงหลังเกิดปฏิกิริยายับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ และมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่มีในระบบ

## 1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.4.1 ศึกษาเกี่ยวกับระบบเซนเซอร์และอุปกรณ์โครงสร้างหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต
- 1.4.2 มีการสร้างอุปกรณ์โครงสร้างหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟตและทดสอบหาความไว (Sensitivity) ของอุปกรณ์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย
- 1.4.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของอีจีเฟตที่เตรียมขึ้นในแต่ละชิ้นงาน
- 1.4.4 ทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลผ่านการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ยับยั้ง
- 1.4.5 ทดสอบหาความเข้มข้นของคาร์บาริลจากสารตัวอย่างน้ำผักจริง

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้จากงานวิจัย

- 1.5.1 สามารถที่จะให้ความรู้ต่อคนทั่วไปให้มีความรู้ความเข้าใจในการใช้อุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกต
- 1.5.2 สามารถที่จะลดขั้นตอนการตรวจวัดยาฆ่าแมลง ให้มีขั้นตอนการตรวจวัดที่ลดลง ประหยัดเวลา และบุคคลที่ไม่มีความเชี่ยวชาญก็สามารถนำไปใช้งานได้
- 1.5.4 สามารถที่จะนำลักษณะการเตรียมอุปกรณ์เซนเซอร์นี้ไปประยุกต์ใช้กับอุปกรณ์ไบโอเซนเซอร์ชนิดอื่นๆ ได้

## 1.6 รายละเอียดของงานวิจัย

- วิทยานิพนธ์เล่มนี้ แบ่งเนื้อหาเป็น 5 บท ซึ่งแต่ละบทจะกล่าวถึง
- บทที่ 1 บทนำ กล่าวถึง ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย วัตถุประสงค์ของงานวิจัย สมมติฐานงานวิจัย ขอบเขตของงานวิจัย ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้จากงานวิจัย และรายละเอียดงานวิจัย
  - บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการทํางาน โดยจะกล่าวถึงยาฆ่าแมลงและชนิดของยาฆ่าแมลง เอนไซม์ และการทำงานร่วมกันของเอนไซม์กับยับยั้งสาร โครงสร้างและหลักการทํางานของทรานซิสเตอร์มอสเฟต อุปกรณ์เซนเซอร์อีจีเฟต และอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟต และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
  - บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย จะกล่าวถึง อุปกรณ์และสารเคมี การเตรียมสารละลาย การทดสอบความไวของอุปกรณ์อีจีเฟต การทดสอบประสิทธิภาพการเตรียมชิ้นงานอีจีเฟต การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยอุปกรณ์อีจีเฟต โดยวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์
  - บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง โดยกล่าวถึงผลการทดสอบการตรวจวัดลักษณะสัญญาณของเซนเซอร์อีจีเฟต ความไว และประสิทธิภาพในการเตรียมอีจีเฟตในแต่ละชิ้นงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และผลการตรวจวัดคาร์บอนในสารละลายมาตรฐานและการตรวจวัดความเข้มข้นของคาร์บอนใน  
น้ำฝัก

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและหลักการทำงาน

### 2.1 ยาฆ่าแมลง

ยาฆ่าแมลง หมายถึง สารเคมีที่สามารถกำจัดหรือลดการเพาะพันธุ์ของแมลง ซึ่งสารเคมีชนิดนี้มีการนำไปใช้ที่เด่นชัดอยู่ 2 ทางคือใช้ในทางการเกษตร และใช้ในทางสาธารณสุขเพื่อควบคุมแมลงศัตรูในบ้านเรือน ไม่ให้นำโรคมานุษย์และสัตว์ โดยการเลือกใช้สารเคมีแต่ละชนิดต้องคำนึงถึงผลกระทบที่จะตามมา ดังนั้นผู้ใช้งานจึงต้องมีการศึกษาข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับสารเคมี

ในปัจจุบันได้มีการนำเอายาฆ่าแมลงมาใช้ในทางการเกษตรมากขึ้น เนื่องจากประชากรมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ทำให้มีความต้องการที่จะบริโภคผลผลิตทางเกษตรเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งเป็นผลทำให้เกษตรกรนำเอายาฆ่าแมลงมาใช้ เพราะมีความเชื่อว่ายาฆ่าแมลงสามารถที่จะเพิ่มและเร่งผลผลิตทางการเกษตรได้ ทำให้มีการใช้ยาฆ่าแมลงอย่างแพร่หลายในกลุ่มของเกษตรกร สารเคมีของตัวยาฆ่าแมลงจึงได้ถูกกระจายในสิ่งแวดล้อมเป็นจำนวนมาก ทำให้เกิดการตกค้างของสารเคมีชนิดนี้ในสิ่งแวดล้อม จนเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในระบบนิเวศ แม้ยาฆ่าแมลงบางตัวจะย่อยสลายง่าย แต่ก็จะมีบางชนิดที่ย่อยสลายยาก เช่น ดีลตริน (Dieldrin) ออลดริน (Aldrin), ท็อกซาฟีน (Toxaphene) เป็นต้น แต่เกษตรกรที่นำเอายาฆ่าแมลงมาใช้นั้นไม่ได้คำนึงถึงผลกระทบที่จะตามมา เนื่องจากการตกค้างของยาฆ่าแมลงที่ใช้ซึ่งอาจส่งผลต่อตนเอง ต่อสิ่งแวดล้อม และต่อผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันได้มีการคิดค้นวิธีทำความสะอาดพืชผลทางการเกษตรให้มีความสะอาดและสามารถที่จะบริโภคได้ เช่น การล้างที่ละเอียด การล้างในส่วนผสมที่มีเกลือ ต่างๆ ทับทิม หรือน้ำส้มสายชู ซึ่งเป็นวิธีที่ทำให้ผักสะอาดขึ้นได้ แต่ทั้งนี้การล้างด้วยวิธีดังกล่าวไม่สามารถทำให้ผักปลอดจากสารเคมียาฆ่าแมลงได้หมด แต่จะช่วยสร้างความมั่นใจให้ผู้บริโภคในการรับประทานที่ปลอดภัยมากขึ้น

กลุ่มยาฆ่าแมลง แบ่งตามองค์ประกอบทางเคมีเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ [2] คือ

#### 1. สารประกอบอินทรีย์ (organic compounds)

สารประกอบอินทรีย์เป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ไม่มีองค์ประกอบของคาร์บอน (C) อยู่ในโครงสร้าง มีคุณสมบัติค่อนข้างคงทน มีการตกค้างยาวนาน ส่วนใหญ่ละลายน้ำได้ แต่สารกลุ่มนี้มักมีพิษสูงและเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์ เช่น สารหนู (arsenic) กำมะถัน พรอท เป็นต้น ปัจจุบันสารกลุ่มนี้ถูกแทนที่ด้วยสารประกอบอินทรีย์ไปแล้วเนื่องจากมีความปลอดภัยและฤทธิ์ตกค้างไม่ยาวนานเกินไป ตัวอย่างสารประกอบกลุ่มนี้ได้แก่ copper sulfate , sodium arsenite , boric acid , sodium fluoride เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. สารประกอบอินทรีย์ (Organic compounds)

สารประกอบอินทรีย์เป็นสารที่มนุษย์สังเคราะห์หรือสกัดขึ้นมาจากพืช มีธาตุองค์ประกอบที่สำคัญ คือ คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) เป็นหลัก และมีธาตุอื่นๆ มาประกอบรวมด้วย เช่น คลอรีน (Cl) ออกซิเจน (O) ฟอสฟอรัส (P) และไนโตรเจน (N) ซึ่งธาตุเหล่านี้เป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อหรือสารเคมีต่างๆ ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งสารประกอบสามารถย่อยสลายได้ง่ายกว่าสารประกอบอินทรีย์ สามารถแบ่งสารประกอบอินทรีย์เป็นกลุ่มย่อยต่างๆ ได้แก่ สารสกัดจากพืช (Botanical insecticide) หรืออาจเรียกว่าสารกำจัดแมลงจากธรรมชาติ (natural insecticides) หมายถึง สารเคมีที่ได้จากพืช แต่เป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นสารกำจัดแมลง ยกตัวอย่างเช่น สารสกัดจากสะเดา (*Azadirachta indica*)

- สารประกอบออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine : OC) สารกลุ่มนี้เป็นสารอินทรีย์สังเคราะห์เป็นกลุ่มที่ประกอบด้วยธาตุไฮโดรเจน (H), คาร์บอน (C), และคลอรีน (Cl) สารเคมีกลุ่มนี้มีการสลายตัวช้าและพบว่าการสะสมอยู่ตามดิน น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในร่างกายของมนุษย์และสัตว์เลี้ยง สารเคมีที่รู้จักกันดีและใช้กันมากได้แก่ ดีดีที (DDT) , ดีลดริน (Dieldrin) , ออลดริน (Aldrin), ท็อกซาฟีน (Toxaphene), คลอเดน (Chlordane), ลินเดน (Lindane) และแกมมา เอช ซีเอช (gamma HCH) เป็นต้น มีกลไกการออกฤทธิ์โดยไปมีผลต่อการส่งกระแสประสาทในเส้นประสาท axon โดยทำลายความสมดุลของโซเดียมและโพแทสเซียมไอออนในเส้นประสาทดังกล่าวทั้งในแมลงและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

- สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphorus : Ops) สารกลุ่มนี้เป็นสารอินทรีย์สังเคราะห์เป็นกลุ่มที่ประกอบด้วยฟอสฟอรัสเป็นตัวหลัก เป็นพิษเกิดขึ้นได้เร็วกว่า Organo-chlorine และสลายตัวก็เร็วกว่า สารเคมีในกลุ่มนี้ที่ใช้กันมาก ได้แก่ มาลาไรออน (Malathion) เฟนิโตรไอออน (Fenitrothion) ไพริมิฟอสเมทิล (Pirimiphos methyl) และไดคลอวอส (Dichlorvos หรือ DDVP) เป็นต้น กลไกการทำงานของสารกลุ่มนี้ส่งผลให้กล้ามเนื้อสั่นและชัก กระตุกรุนแรงทำให้แมลงอัมพาต และตายในที่สุด

- สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate : Car) เป็นสารประกอบอีกกลุ่มหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการกำจัดแมลง โดยที่คาร์บาเมตจะแสดงอาการเป็นพิษได้เร็วและสลายตัวเร็ว ซึ่งสารเคมีในกลุ่มนี้จะมีคาร์บาริลรูปเป็นตัวหลัก ยกตัวอย่างเช่น โพรพ็อกเซอร์ (Propoxur) เบนไดโอคาร์บ (Bendiocarb) และแลนดริน (Landrin) เป็นต้น สารกลุ่มนี้มีการออกฤทธิ์ในการควบคุมแมลงเหมือนสารกลุ่ม organophosphates แต่จะมีสารตกค้างน้อยกว่า organophosphates และยังสามารถออกฤทธิ์ในการควบคุมแมลงได้กว้างขวาง

- กลุ่มไพเรทรอยด์ (Pyrethroids : Pry) เป็นสารเคมีกลุ่มที่เกิดจากการสังเคราะห์ขึ้น โดยมีความสัมพันธ์ตามโครงสร้างของ pyrethrins ซึ่งสกัดได้จาก pyrethrum (ดอกเบญจมาศ) เป็นสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่อแมลงสูง แต่มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ ซึ่งสารเคมีกลุ่มนี้มีราคา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แพงมากเมื่อเทียบกับสารเคมีกลุ่มอื่นๆ ยกตัวอย่างเช่น เดลตาเมธริน (Deltamethrin) เพอร์เมธริน (Permethrin) เรสเมธริน (Resmethrin) และไบโอเรสเมธริน (Bioresmethrin) เป็นต้น

### 2.1.1 ชนิดยาฆ่าแมลงที่ใช้ในงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษเกี่ยวกับอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกต หรือ อีจีเฟต เพื่อใช้วัดยาฆ่าแมลง โดยสารยาฆ่าแมลงที่ใช้ในการวัดคือ คาร์บาริล ซึ่งอยู่ในกลุ่มของคาร์บาเมต เพื่อเป็นตัวอย่างในการพัฒนาและประยุกต์ใช้หัววัดยาฆ่าแมลงตัวอื่นต่อไป

#### 1. คาร์บาริล (Carbaryl)

ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลเป็นยาฆ่าแมลงในกลุ่มคาร์บาเมตที่มีการนำเข้ามาในประเทศไทยเป็นอันดับที่ 3 โดยข้อมูลสถิติการนำเข้ายาฆ่าแมลงของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร (2558) และคาร์บาริลยังถือว่าเป็นสารอันตรายทางการเกษตรถ้าหากมีปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดเกินกำหนด ซึ่งค่าปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด เรียกว่า ค่า MRL: Maximum Residue Limit for Pesticide จะถูกกำหนดขึ้นโดยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าทางการเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งคาร์บาริลนั้นพบว่ามีความเข้มข้นอยู่ในเนื้อสัตว์ ผักและผลไม้หลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.1 ซึ่งเป็นตารางสถิติสารตกค้างของคาร์บาริลในพืชผักที่มีการผลิตและค้าขายในประเทศ [3]

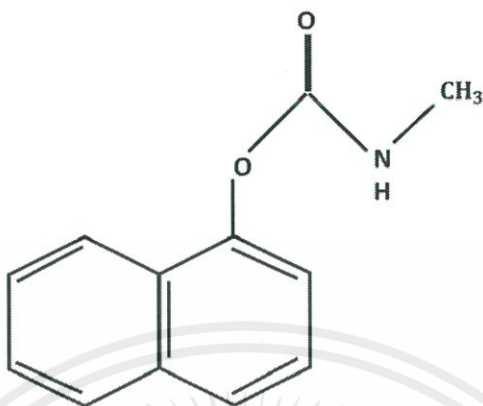
ตารางที่ 2.1 ปริมาณการตกค้างของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในผลผลิตทางการเกษตร [3]

สารพิษอันตรายที่ตกค้าง ทางการเกษตร	สินค้าทางการเกษตร	ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (MRL) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
คาร์บาริล (Carbaryl)	กระถิน	0.02
	ข้าวโพด	0.1
	ข้าวฟ่าง	10
	ข้าวสาร	1
	เงาะ	1
	แตงกวา	3
	แตงโม	1
	ทุเรียน	1
	ปาล์มน้ำมัน	0.05
	กะหล่ำปลี	1
	พริก	0.5
	พริกแห้ง	2
	พริกหวาน	5
	มะพร้าว	1
	มะม่วง	1
	มังคุด	1
	มันฝรั่ง	0.2
	เมล็ดโกโก้	0.02
	ถั่วลิสง	2
	ลำไย	1
	ลิ้นจี่	1
	ส้ม	7
	อ้อย	0.5
	องุ่น	5
	เนื้อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	0.05
	เครื่องในสัตว์เลี้ยงลูก ด้วยนม	1
	เนื้อสัตว์ปีก	0.05
ไข่	0.05	
นม	0.05	

คาร์บาริล เป็นสารประกอบที่มีลักษณะโครงสร้างดังรูป 2.1 ซึ่งคาร์บาริลนั้นจะสามารถไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase, AChE) ซึ่งเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารสื่อประสาทของสิ่งมีชีวิต เมื่อเอนไซม์ชนิดนี้ถูกยับยั้งก็จะส่งผลให้แมลงนั้นเป็นอัมพาตและตายลงในที่สุด



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล

คาร์บาริลถูกใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชจำพวก เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น มะม่วง หนอนเจาะข้าว แมลงปีกแข็ง มด และปลวก ซึ่งคาร์บาริลนั้นมีหลายรูปแบบ เช่น เป็นผง ผุ่น ละออง สารละลาย รวมถึงเป็นเม็ด ทำให้คาร์บาริลนั้นสามารถใช้งานได้ง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้จึงทำให้คาร์บาริลเป็นยาฆ่าที่เป็นที่นิยมในประเทศไทยเป็นอย่างมาก แต่การนำยาฆ่าแมลงมาใช้นั้นย่อมส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และสัตว์ชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่ศัตรูพืช [3]

## 2.2 เอนไซม์ ( Enzyme )

เอนไซม์เป็นสารโปรตีนชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ต่างๆ มีความเกี่ยวข้องต่อระบบการทำงานของร่างกายทุกระบบ เพราะเอนไซม์เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ที่อยู่ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต ทำให้ระบบภายในร่างกายสามารถทำงานได้อย่างสมดุลและปกติ หากร่างกายขาดเอนไซม์หรือปริมาณเอนไซม์ลดลงแล้วนั้น จะทำให้ระบบการทำงานของร่างกายนั้นเกิดการการทำงานที่ผิดปกติ

ซึ่งในการเตรียมเอนไซม์โดยส่วนใหญ่จะไม่ทราบความเข้มข้นเป็นโมลาร์ที่แท้จริง ดังนั้นจึงต้องแสดงออกมาเป็นค่าแอกติวิตี และเพื่อให้การรายงานค่าแอกติวิตีออกมาเป็นค่ามาตรฐาน Commission on Enzyme จึงได้กำหนดให้เป็นหน่วยมาตรฐาน (Unit : U) หรือ International unit (IU) คือ เอนไซม์ 1 หน่วย เป็นปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาให้เกิดผลผลิต 1 ไมโครโมล/นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.1 สมบัติของเอนไซม์

1. มีความจำเพาะเจาะจง คือ เอนไซม์หนึ่งชนิดจะทำงานร่วมกับซับสเตรตได้เพียงหนึ่งชนิดเท่านั้น

2. เอนไซม์ทำหน้าที่เป็นตัว คตะลิสต์ (Catalyst) ที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถที่จะเร่งปฏิกิริยาได้หลายเท่า มากกว่าการเกิดปฏิกิริยาที่ไม่ได้ทำการใส่

### 2.2.2 หลักการทำงานของเอนไซม์

เริ่มต้นจากการที่ สารตั้งต้น ที่เรียกว่า ซับสเตรต (Substrate) ทำการเข้าคู่กับโมเลกุลของเอนไซม์ ด้วยการต่อกับผิวของเอนไซม์ในส่วนของบริเวณเร่ง (Active site) ซึ่งเป็นบริเวณที่จำเพาะ และบริเวณนี้จะสามารถจับได้กับซับสเตรตเพียงชนิดเดียวเท่านั้น ดังนั้นจึงได้มีการเปรียบเทียบรูปแบบการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์กับซับสเตรตว่าเปรียบเทียบเหมือน แม่กุญแจกับลูกกุญแจ (Lock and Key) ซึ่งเมื่อเอนไซม์กับซับสเตรตทำปฏิกิริยากัน เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งจะสลายตัวทำให้เกิดตัวผลิตภัณฑ์ และได้เอนไซม์กลับคืนมาเหมือนเดิม ซึ่งเมื่อเอนไซม์เกิดสารประกอบเชิงซ้อนขึ้นมาจะทำให้พลังงานกระตุ้นมีค่าน้อยลง ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้น [4] ดังที่แสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 หลักการทำงานของเอนไซม์ [5]

### 2.2.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์

1. อุณหภูมิ เอนไซม์จะทำงานได้ดีจะต้องอุณหภูมิที่เหมาะสม
2. pH เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หาก pH ไม่เหมาะสมจะทำให้เอนไซม์ทำงานได้ไม่เต็มที่
3. ความเข้มข้นของเอนไซม์ หากเอนไซม์มีความเข้มข้นที่มากขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่รวดเร็วขึ้น แต่ถ้ามากเกินไปจะทำให้ปฏิกิริยานั้นเกิดการคงที่
4. ปริมาณสารตั้งต้น มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เมื่อทำการเพิ่มซับสเตรตอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น แต่เมื่อปริมาณของซับสเตรตที่มากเกินไปจะส่งผลให้อัตรา

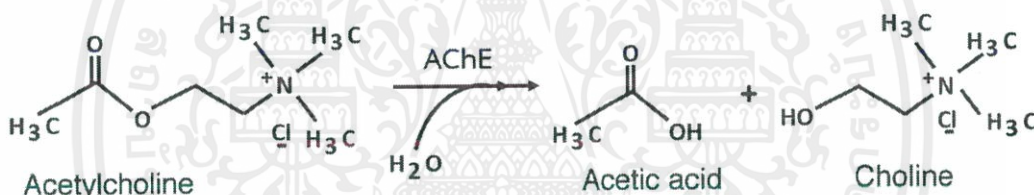
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดปฏิกิริยาที่ช้า เมื่อถึงระดับหนึ่งหากไม่ทำการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ จะทำให้ปฏิกิริยานั้นเกิดการคงที่

#### 2.2.4 เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase , AChE)

คู่ปฏิกิริยาของ เอนไซม์ กับ ซับสเตรทที่เลือกใช้ในงานวิจัยนี้คือ เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase : AChE) กับคู่ซับสเตรทอะซิติลโคลีนคลอไรด์ (Acetylthiocholine choride , AChCl) ซึ่งจะทำงานในรูปแบบแม่กุญแจกับลูกกุญแจ

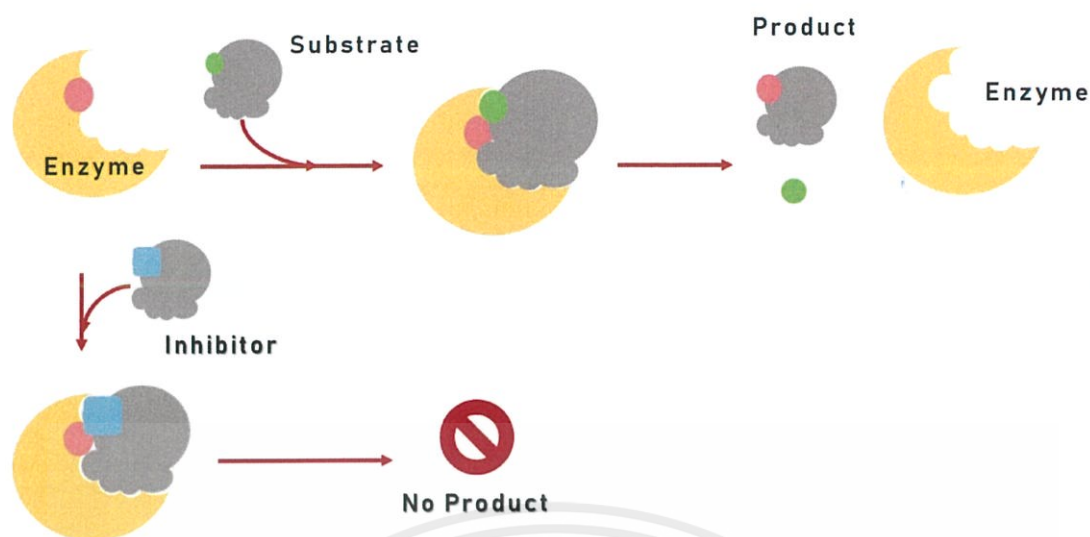
เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสนั้น สามารถพบได้มากในเม็ดเลือดแดงและ ระบบประสาท เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลส์ (Hydrolyse) สารสื่อประสาทอะเซทิลโคลีน (acetylcholine) เมื่อสารสื่อประสาทชนิดนี้เกิดปฏิกิริยาการทำงาน จะทำให้เกิดโคลีนและอะซิเตต ดังสมการในรูปที่ 2.3 โดยสารสื่อประสาทชนิดนี้หากมีการสะสมบริเวณรอยต่อระหว่างเซลล์ประสาทจะกระตุ้นการทำงานของเซลล์ประสาทให้ทำงาน แต่ถ้าหากมีการสะสมที่มากและนานเกินไปจากปกติ จะทำให้ระบบประสาทอัตโนมัติและระบบประสาทส่วนกลางเกิดการดำเนินงานที่ผิดปกติ ซึ่งจะส่งผลต่อร่างกายคือ จะทำให้ร่างกายเกิดการเหนื่อยล้าและเกิดการชักกระตุกอย่างต่อเนื่องและรุนแรง [6]



รูปที่ 2.3 สมการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase , AChE) [7]

#### 2.2.5 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

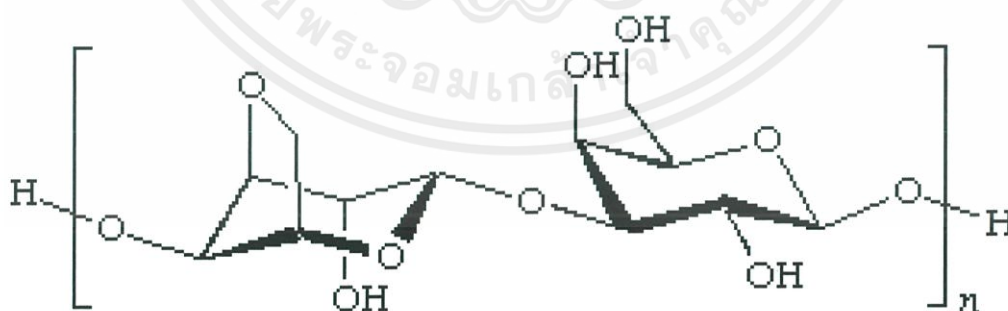
เอนไซม์ชนิดนี้สามารถถูกยับยั้งการทำงานได้จากยาฆ่าแมลงในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และ กลุ่มคาร์บาเมท โดยที่ยาฆ่าแมลงเหล่านี้จะเข้าไปจับกับบริเวณเร่งหรือบริเวณจำเพาะของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำการเข้าคู่กับซับสเตรทของเอนไซม์ได้ ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แย่ง โดยจะแสดงหลักการการทำงานและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 หลักการทำงานและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส [8]

### 2.3 อากาโรส (Agarose) [9]

อากาโรส เป็นพอลิเมอร์สายยาวของน้ำตาลกาแลคโตส (galactose) โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วย หน่วยย่อยของน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharides) คืออากาโรสไบโอส (agarobiose) ซึ่งประกอบด้วย  $\beta$ -D-galactose เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง 1 $\rightarrow$ 3 และ 3,6-anhydro- $\alpha$ -L-galactose เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง 1 $\rightarrow$ 4 โดยที่ในแต่ละโมเลกุลมีการต่อสลับกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic linkage) อากาโรสค่อนข้างเป็นกลางทางไฟฟ้าหรือมีประจุน้อยมากจึงถูกเรียกว่า non-ionic polysaccharide โดยโครงสร้างของอากาโรสจะมีลักษณะดังรูปที่ 2.5 และอากาโรสจะมีคุณสมบัติในการละลายได้ดีในน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิที่สูงกว่า 85 องศาเซลเซียสขึ้นไป



รูปที่ 2.5 โครงสร้างอากาโรส [9]

ซึ่งในงานวิจัยนี้ จะใช้อากาโรสที่มีสถานะเป็นเจล เป็นตัวตรึงเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส เนื่องจากอากาโรสมีลักษณะเป็นเจล เนื้อใส และเป็นกลาง ทำให้อากาโรสไม่ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ และสามารถกักเก็บเอนไซม์ไว้ข้างในได้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 ทรานซิสเตอร์แบบมอส (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor : MOSFET)

มอสเฟต (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor : MOSFET) หรืออีกชื่อที่เรียกว่า ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้า เป็นอุปกรณ์อุปกรณ์สารกึ่งตัวนำ ที่มีการทำงานในลักษณะที่แปลงแรงดันเป็นกระแส ซึ่งกระแสที่ได้นั้นเป็นผลมาจากอิเล็กตรอน (electron) หรือโฮล (hole) ซึ่งเป็นพาหะข้างมาก (Majority Carrier) ขึ้นอยู่กับว่าอุปกรณ์ดังกล่าวเป็น มอสเฟตชนิดเอ็น (NMOS) หรือ มอสเฟตชนิดพี (PMOS)

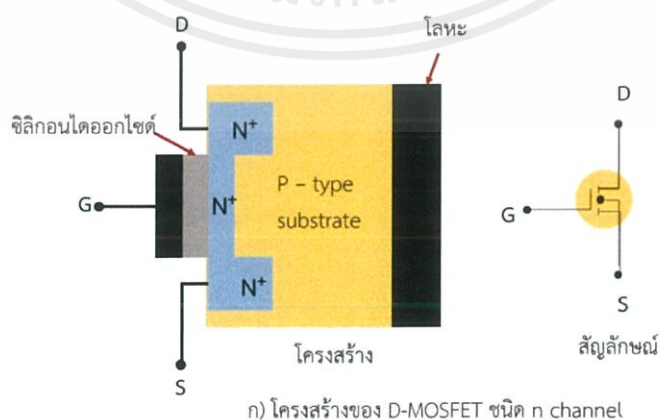
มอสเฟตสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ มอสเฟตแบบดีพลีชัน (Depletion) และมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ ซึ่งในแต่ละประเภทยังสามารถแบ่งแยกย่อยได้อีก 2 ชนิด คือ มอสเฟตชนิดเอ็น (NMOS) ซึ่งมีประจุพาหะอิเล็กตรอนเป็นตัวนำกระแส และมอสเฟตชนิดพี (PMOS) ซึ่งจะมีประจุพาหะโฮลเป็นตัวนำกระแส

### 2.4.1 ชนิดของมอสเฟต

#### 1. มอสเฟตแบบดีพลีชัน (Depletion MOSFET)

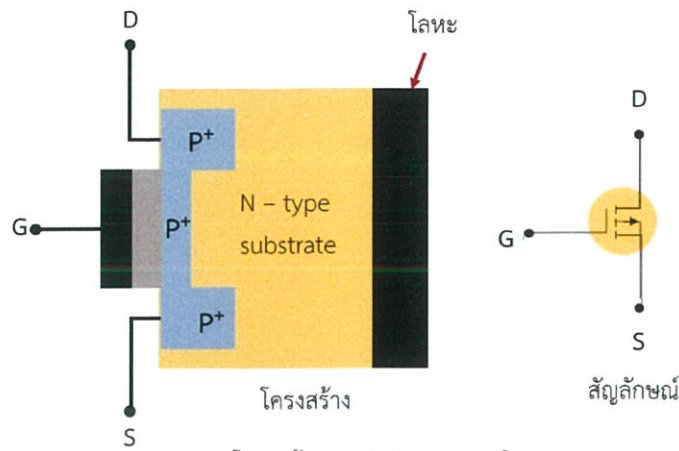
มอสเฟตแบบดีพลีชัน หรือ D-MOSFET เป็นมอสเฟตชนิดแชนแนล (channel) ที่เกิดจากการแพร่สารเจือ ซึ่งหมายความว่าจะทำให้แรงที่ขาเกตเป็นศูนย์ ก็จะมีแชนแนลเกิดขึ้น เนื่องจากมีการแพร่ประจุไอออนของสารเจือเพื่อสร้างให้เกิดแชนแนลขึ้น ดังนั้นจึงทำให้กระแสขาเดรนสามารถไหลได้ แม้แรงดันที่ขาเกตเป็นศูนย์ ซึ่งแชนแนลสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ เอ็นแชนแนล (n channel) และ พีแชนแนล (p channel)

โครงสร้างของมอสเฟตแบบดีพลีชันจะประกอบไปด้วยขาหรือขั้วที่ต่อใช้งาน 3 ขา คือ ส่วนขาเข้าสัญญาณ Source (S) ส่วนขาออกสัญญาณ Drain (D) และส่วนขาเกต (Gate) ดังที่แสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของมอสเฟสแบบดีพลีชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

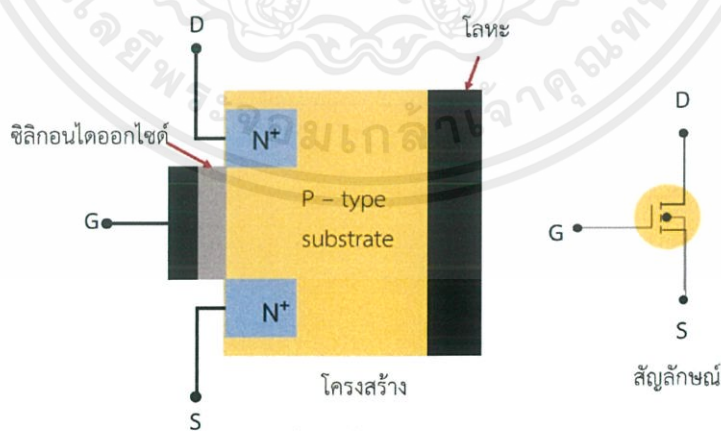


ข) โครงสร้างของ D-MOSFET ชนิด p channel

รูปที่ 2.6 (ต่อ) โครงสร้างของมอสเฟสแบบตีพรีซัน

2. มอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ (Enhancement MOSFET)

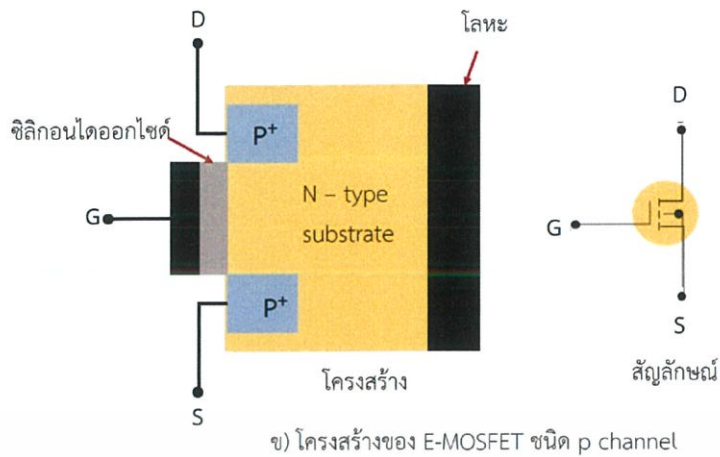
มอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์หรือ E-MOSFET เป็นมอสเฟตชนิดแชนแนลที่เกิดจากการเหนี่ยวนำ ซึ่งหมายความว่าถ้าแรงดันที่ขาเกตเป็นศูนย์ จะไม่มีแชนแนลเกิดขึ้น และกระแสที่ขาเดรนก็จะไม่ไหล ทำให้ทรานซิสเตอร์ไม่ทำงาน แต่เมื่อขาเกตได้รับแรงดันที่เหมาะสมและมากพอ สนามไฟฟ้าที่ขาเกตจะเหนี่ยวนำให้เกิดแชนแนลขึ้นที่ผิวของสารกึ่งตัวนำ ทำให้กระแสที่ขาเดรนสามารถไหลผ่านได้ ซึ่งโครงสร้างของมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ จะมีลักษณะเช่นเดียวกับมอสเฟตแบบตีพรีซัน ดังแสดงในรูปที่ 2.7



ก) โครงสร้างของ E-MOSFET ชนิด n channel

รูปที่ 2.7 โครงสร้างมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 (ต่อ) โครงสร้างมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์

ซึ่งในงานวิจัยจะเป็นการศึกษา อุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต หรือเรียกว่า อีจีเฟต (Extended – Gate Field Effect Transistor : EGFET) ที่ถูกพัฒนามาจากทรานซิสเตอร์มอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ ชนิด n channel ดังนั้นในส่วนนี้จึงอธิบายในส่วนเอ็นฮานซ์เมนต์ ชนิด n channel เท่านั้น

#### 2.4.2 หลักการทำงานของมอสเฟต

การให้แรงดันไบอัสแก้มอสเฟต ทำได้โดยแรงดันที่ขาเกต  $V_G$  จะถูกไบอัสเพื่อควบคุมให้มีการเหนี่ยวนำประจุพาหะชนิดเดียวกับส่วนซอสและเดรน นั่นคือการควบคุมให้เกิดแขนแนลระหว่างซอสและเดรน ซึ่งขั้วของซอสและฐานรองจะถูกต่อลงกราวด์ และส่วนเดรนได้รับศักย์ไฟฟ้าซึ่งทำให้อรอยต่อพี-เอ็น ที่ส่วนขาเดรนเป็นไบอัสย้อนกลับ (Reverse Bias) ดังนั้นในกรณีแขนแนลที่มีศักย์ไฟฟ้าที่ขาเกตและขาเดรนจะเป็นบวก ในกรณีเดียวกันของพีแขนแนล ศักย์ไฟฟ้าที่ขาเกตและขาเดรนจึงมีค่าเป็นลบ

ในกรณีที่ไม่มีแรงดันไบอัสที่ขาเกต-ซอส หรือแรงดันที่ขาเกต-ซอสเป็นศูนย์ ทำให้ไม่มีสนามไฟฟ้าในชั้นของออกไซด์ ดังนั้นที่ผิวสัมผัสระหว่าง  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  ในสารกึ่งตัวนำจะไม่มีเปลี่ยนแปลงใดๆ เกิดขึ้น ทำให้ไม่มีบริเวณปลอดพาหะและแขนแนลในย่านนี้ และถึงแม้ว่าแรงดันที่ขาเดรน  $V_{DS} > 0$  ก็ตาม กระแสที่ขาเดรนหรือ  $I_{DS}$  ก็จะมีค่าเท่ากับศูนย์ ซึ่งจะถือว่าทรานซิสเตอร์นี้อยู่ในสถานะ OFF แต่เมื่อได้รับแรงดันขาเกตเป็นบวก  $V_{GS} = 0 \text{ V}$  และมากพอที่จะทำให้สนามไฟฟ้าที่ชั้นออกไซด์สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดแขนแนลเอ็นได้ หรือ  $V_{DS} > V_T$  แขนแนลที่เกิดขึ้นจะต่อเชื่อมระหว่างขาเดรนและขาซอส และยังเป็นช่องทางการไหลของกระแสขาเดรน โดยกระแสขาเดรนจะเพิ่มขึ้นกับแรงดันขาเดรนในช่วงแรก และเมื่อแรงดันขาเดรนเพิ่มขึ้นในที่สุด จะถึงค่าแรงดันพินช์ออฟ (Pinch off voltage :  $V_p$ ) หรือแรงดันอิ่มตัว และจะเขียนสมการได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

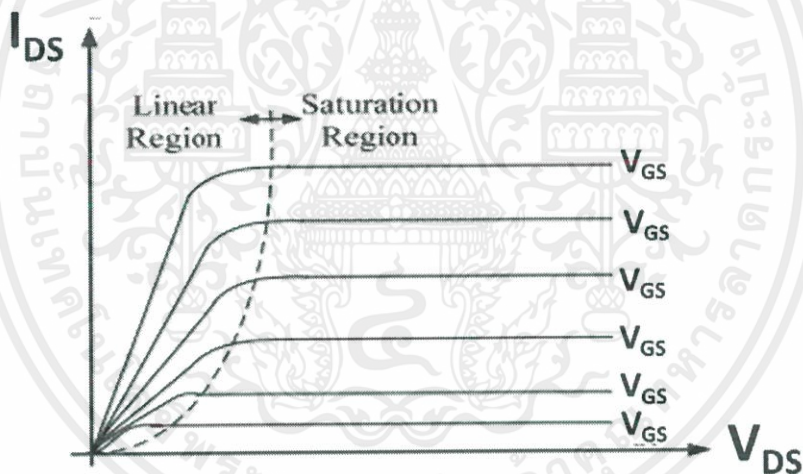
$$(V_{GS} - V_{DS(sat)}) = V_t \quad (2.1)$$

$$V_p - V_{DS(sat)} = (V_{GS} - V_T) \quad (2.2)$$

จากสมการที่ 2.2 แรงดันอิ่มตัว  $V_{DS(sat)}$  จะแปรผันตามแรงดันขากเกต  $V_{GS}$  เมื่อแรงดันขากเกตเพิ่มขึ้นด้วย ดังสมการที่ 2.3

$$I_{DS(sat)} = \frac{V_{DS(sat)}}{R_{eff(n-ch)}} = \frac{V_G - V_T}{R_{eff(n-ch)}} \quad (2.3)$$

ดังนั้นคุณสมบัติ  $I_{DS} - V_{DS}$  ของมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ ชนิด n channel ที่แรงดันขากเกตคงที่ค่าต่างๆ ดังแสดงได้ในรูปที่ 2.8



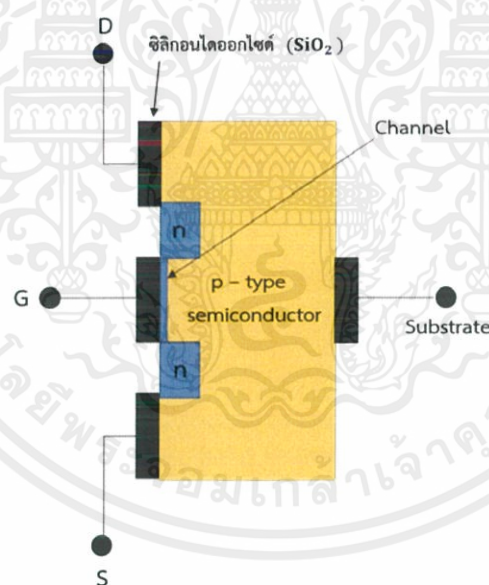
รูปที่ 2.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของกระแสเดรน และแรงดันที่ขาคูเกตกับขอส

## 2.5 อุปกรณ์เซนเซอร์ไอส์เฟต (Ion Sensitive Field Effect Transistor : ISFET)

อุปกรณ์เซนเซอร์ไอส์เฟตซึ่ง เป็นอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์ที่ถูกพัฒนามาจากทรานซิสเตอร์มอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ ชนิด n channel โดยที่ไอส์เฟตเป็นทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่สร้างขึ้นเพื่อใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณความเข้มข้นของไอออนในสารละลายต่างๆ เช่น ใช้ตรวจจับไอออนบวกของไฮโดรเจน ( $H^+$ ) หรือใช้เป็นหัววัดความเป็นกรดต่าง (pH-Meter) เป็นต้น โดยทั่วไปแล้ว ไอส์เฟตจะมีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับมอสเฟตเพียงแต่ว่าไอส์เฟตนั้นจะไม่มี การต่อขั้วเกต ในการใช้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานจะอาศัยปริมาณความเข้มข้นไอออนในสารละลาย ทำหน้าที่เป็นตัวสร้างสนามไฟฟ้าที่ขั้วเกต แทนการไบอัสจากแรงดันภายนอก ซึ่งโครงสร้างของอุปกรณ์เซนเซอร์ไอสเฟต (ดังรูปที่ 2.9) จะประกอบไปด้วย 3 ขา คือ ส่วนขาเข้าสัญญาณ Source (S) ส่วนขาออกสัญญาณ Drain (D) และ ส่วนขาเกต (Gate) หรือ ชั้นพื้นที่ตอบสนองต่อไอออน (Ion Sensing Membrane : ISM) ซึ่งส่วนนี้ ถือเป็นส่วนสำคัญของไอสเฟต และมีการใช้ชั้นขาเกตหนาแน่นกว่าหนึ่งชั้น สำหรับฉนวนที่สัมผัสกับ ฐานรองซิลิกอน จะนิยมใช้ฟิล์มซิลิกอนไดออกไซด์ที่ปลูกจากกระบวนการออกซิเดชันด้วยความร้อน เนื่องจากการอินเทอร์เฟซที่ดี ชั้นเมมเบรนที่ไวต่อไอออนบนซิลิกอน มีความสำคัญมากสำหรับการ วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง เนื่องจากเป็นชั้นที่ป้องกันการไหลผ่านเข้าไปยังรอยสัมผัสของ ซิลิกอนไดออกไซด์กับซิลิกอน กล่าวคือ สามารถแสดงถึงการเลือก และความสามารถในการ ตอบสนองความเป็นกรด - ด่าง หรือปริมาณไอออนในสารละลาย

หลักการทำงานของไอสเฟตนั้นจะคล้ายคลึงกับการทำงานของมอสเฟตจะต่างกันตรงที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วเกตหรือพื้นที่บริเวณตอบสนองของไอสเฟตจะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของไอออน จากนั้นค่าความต่างศักย์ที่ขั้วก็จะเป็นตัวควบคุมการไหลของกระแสในแชนแนล



รูปที่ 2.9 โครงสร้างอุปกรณ์เซนเซอร์ไอสเฟต

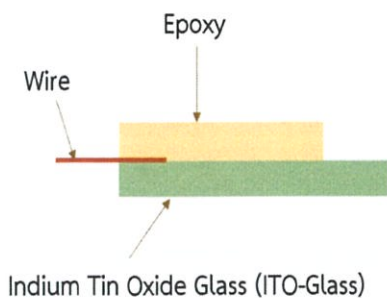
## 2.6 อุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟต (Extended – Gate Field Effect Transistor : EGFET)

จากที่กล่าวมาว่าไอสเฟตเป็นอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์ ที่ถูกพัฒนามาจากทรานซิสเตอร์มอสเฟส และสามารถใช้ตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายได้ ซึ่งมีการนำเอาอุปกรณ์ไอสเฟตไปใช้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

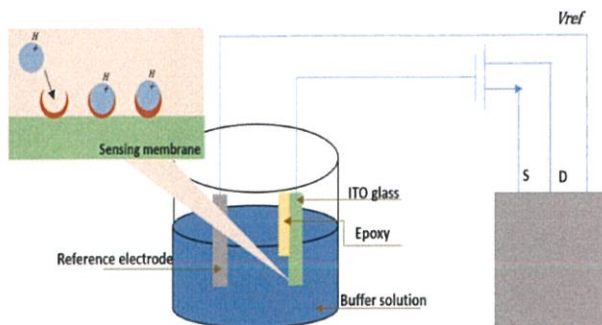
งานในการตรวจวัดค่า pH อย่างแพร่หลาย การพัฒนาและปรับเปลี่ยนรูปแบบอุปกรณ์ให้เหมาะสมต่อการใช้งานและมีราคาที่ไม่แพง ในงานวิจัยนี้จึงต้องการพัฒนาหัววัดแบบต่อขยายขาเกตหรือที่เรียกว่าอีจีเฟต โดยอีจีเฟตจะมีความแตกต่างกับมอสเฟตตรงที่ไม่มีชั้นของโลหะเป็นขาเกตที่ติดกับขาเดรนและซอส แต่ในส่วนของ อีจีเฟตนั้น ขาเกตจะเป็นพื้นที่ตอบสนองสัญญาณหรือเป็นบริเวณที่มีการแลกเปลี่ยนไอออนกับสารละลาย โดยจะเป็นส่วนที่เอาลักษณะโครงสร้างของอีสเฟตมาปรับใช้ แต่จะต่างกับอีสเฟตตรงที่ ส่วนที่เป็นพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ (Sensing membrane) จะถูกต่อขยายมาจากตัวอุปกรณ์ โดยมีสายไฟฟ้าเชื่อมต่อกับขาเดรนและขาซอส ทำให้ส่วนต่อขยายขาเกต หรือ extended gate : EG นั้นสามารถที่จะใช้แล้วทิ้งได้ (Disposable electrode) เนื่องจากส่วนต่อขยายขาเกต (Extended gate) ทำขึ้นจากวัสดุกระจกอินดีอุม (Indium Thin Oxide Glass : ITO – Glass) ซึ่งมีราคาถูกกว่าซิลิกอนที่ใช้ในอีสเฟต ทำให้ค่าใช้จ่ายในการผลิตนั้นถูกกว่า ทั้งยังเหมาะสำหรับการนำไปใช้งานภาคสนาม ซึ่งเป็นข้อดีที่ผู้วิจัยต้องการที่จะศึกษาและปรับปรุงให้ดีขึ้น

### 2.6.1 หลักการทำงานของส่วนต่อขยายขาเกต

ส่วนต่อขยายขาเกต หรือ อีจีเฟต นั้นจะต้องทำงานร่วมกันกับวงจรอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์ มอสเฟตโดยทั่วไป อีจีเฟตนั้นมีความพิเศษตรงที่ส่วนตอบสนองนั้น สามารถที่จะถอดออกจากอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์มอสเฟตได้ โดยเราจะเรียกส่วนนั้นว่า ส่วนต่อขยายขาเกต (Extended Gate : EG) ซึ่งทำให้อีจีเฟตสามารถที่จะเปลี่ยนลักษณะของส่วนตอบสนองสัญญาณตามความเหมาะสมหรือการประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ ได้ โดยที่ค่ากระแสหรือแรงดันของวงจรมัน จะถูกตั้งให้เป็นค่าคงที่ จากรูปที่ 2.10 จะแสดงให้เห็นถึงรูปแบบและลักษณะการทำงานของอุปกรณ์อีจีเฟต ซึ่งจะเห็นได้ว่าขาเกตและขั้วอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ) จะจุ่มอยู่ในสารละลาย เมื่อสารละลายมีไอออน หรือสารที่ต้องการตรวจวัดอยู่ในบริเวณพื้นที่ตอบสนองหรือที่เรียกว่าขาเกตนั้น ทำให้แรงดันไฟฟ้าที่บริเวณนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งส่งผลให้กระแสระหว่างขาเดรนและขาซอสที่มอสเฟตเกิดการไหล ทำให้กระแสที่บริเวณขาเดรนกับขาซอสเกิดการเปลี่ยนแปลงเช่นกัน ซึ่งจะสัมพันธ์กับค่าความต่างศักย์ระหว่างขาเกต ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง กับขาซอส ซึ่งตรงส่วนนี้จะถูกนำไปวิเคราะห์ผลต่อไป



ก) รูปส่วนต่อขยายขาคเกต (Extended gate)



ข) โครงสร้างและการทำงานของอุปกรณ์ออร์แกนิกฟิลด์

### รูปที่ 2.10 อุปกรณ์หัววัดส่วนต่อขยายขาคเกต (EGFET)

## 2.7 เทคนิคการแยกและวิเคราะห์สารด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง หรือ HPLC เป็นเครื่องมือในการแยกและวิเคราะห์สารที่อยู่ในสถานะของเหลว โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) จะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับ mobile phase หรือ stationary phase สารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับ mobile phase สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อนส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับ mobile phase หรือเข้ากันได้ดีกับ stationary phase ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโทแกรม[14] โดยการทำงานของเครื่อง HPLC จะประกอบไปด้วย

1. Mobile phase / Solvent : ตัวทำละลายที่ใช้ในการแยกสาร มีสถานะเป็นของแข็ง ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่ stationary phase (ในที่นี้คือ คอลัมน์) เพื่อให้เกิดกระบวนการแยกภายในคอลัมน์
2. Pump : ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลาย (mobile phase) เข้าสู่ระบบ HPLC
3. Injector / Auto sampler : ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ HPLC
4. Column : หรือจะเรียกว่า stationary phase มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล เป็นเฟสอยู่กับที่ทำหน้าที่ให้เกิดกระบวนการแยกของสารที่สนใจ โดยการบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่าง mobile phase กับ stationary phase
5. Detector : คือ ตัวตรวจวัดสัญญาณ ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากกระบวนการแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.8 การทบทวนวรรณกรรม (Literature Reviews)

ในปี ค.ศ. 2000 Li-Lun Chi และคณะ จากภาควิชาวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์มหาวิทยาลัย Chung Yuan Christian ประเทศไต้หวัน [10] ได้ทำการศึกษาถึงการใช้งานอุปกรณ์เซนเซอร์อัสเฟต และอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟต โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์รูปแบบการใช้งานของอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟตให้มีต้นทุนในการผลิตที่ถูกลง และมีความไวต่อการรับสัญญาณที่ดี โดยแบ่งวิธีการทำออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนแรกจะเป็นส่วนของการผลิตส่วนต่อขยาย หรือ ส่วนพื้นที่ตอบสนอง ซึ่งเริ่มจากการทำความสะอาดพื้นผิวซิลิกอน และเคลือบอลูมิเนียมด้วยวิธีการ Thermal evaporation หลังจากนั้นทำการเคลือบด้วยซิลิกอนไดออกไซด์ด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยง ( sputtering ) และทำการลงอีพอกซีในบริเวณที่ไม่ต้องการ ส่วนขั้นตอนที่สองจะเป็นส่วนของการตรวจวัด โดยจะนำเอาอุปกรณ์ส่วนต่อขยายนี้ไปวัดในสารละลายพีเอช 2, 4, 6, 8, 10, และ 12 โดยผลการทดลองที่ได้จากการตรวจวัด จะได้ค่าความไวต่อการรับสัญญาณอยู่ที่ 56-58 มิลลิโวลต์/พีเอช ซึ่งสรุปได้ว่าอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟตนั้น สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ได้ เพราะมีต้นทุนในการผลิตที่ต่ำ และขั้นตอนในการผลิตที่ค่อนข้างง่าย

ในปี ค.ศ. 2003 Jia-ChyiChen และคณะ [11] ได้ทำการศึกษาอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟต โดยได้นำเอาอีจีเฟตมาทำการตรวจวัดยูเรีย (Urea) เพื่อจะประยุกต์ให้ตัวอุปกรณ์ส่วนต่อขยายนี้สามารถนำไปใช้กับผู้ป่วยโรคไต โดยการดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็นสองส่วนใหญ่ ส่วนที่หนึ่งคือการผลิตส่วนต่อขยายขาเกต หรือส่วนพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำการเคลือบแคสซิเทอไรต์ (Cassiterite :  $\text{SnO}_2$ ) ลงบนกระจกนำไฟฟ้าไอทีโอ (Indium Thin Oxide Glass : ITO – Glass) และนำไปวัดในสารละลายพีเอช 2 – 10 เพื่อทำการตรวจวัดหาค่าการตอบสนองหรือความไว (Sensitivity) ของตัวอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟตที่ทำการเคลือบ ซึ่งผลค่าการไวต่อการตอบสนองสัญญาณอยู่ที่ 59.3 มิลลิโวลต์ / พีเอช

ขั้นตอนการดำเนินงานในส่วนที่สองคือ การตรึงเอนไซม์ยูเรียเอส (urease) ผสมกับ PVA-SbQ ละลายในสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ หลังจากนั้นนำไปวัดในสารละลายยูเรียที่มีความเข้มข้น 0.25 ถึง 256 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์ ซึ่งผลที่ได้จากวัดคือ เมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายยูเรียสัญญาณที่ได้จะเพิ่มมากขึ้น แสดงให้เห็นว่าตัวอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟตสามารถที่จะทำการตรวจวัดยูเรียในผู้ป่วยโรคไตได้ โดยเซนเซอร์ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้อยู่ที่  $4 \times 10^{-6}$  โมล/ลิตร

ในปี ค.ศ. 2005 Jung-Chuan CHOU และคณะ [12] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการนำเอาอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟตมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ โดยนำไปใช้ตรวจวัดยาระงับประสาทโพรเคน (Procaine) โดยการดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนการสร้างและเตรียมอุปกรณ์อีจีเฟต และส่วนที่สองคือ การวัดเพื่อตรวจสอบคุณสมบัติของอีจีเฟต เริ่มจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างตัวเซนเซอร์อีจีเฟต โดยการตัดกระจกนำไฟฟ้าไอทีโอให้มีขนาด 5\*5 มิลลิเมตร ทำการติดขั้วและลง Epoxy จากนั้นทำการหยดสารละลายที่มีส่วนประกอบ คือ Scale PVC, phosphor-tungstic acid และ plasticizer ที่อัตราส่วน 4 : 2.5 : 5 ลงบนอีจีเฟส และทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ในอุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นจึงนำไปทำการตรวจวัดในสารละลายโพรเคนที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-2} - 1 \times 10^{-6}$  โมล/ลิตร จากผลการทดลองแสดงพบว่าเซนเซอร์มีการตอบสนองหรือความไว (Sensitivity) สำหรับตรวจวัดโพรเคนมีค่าอยู่ที่ 54.6 มิลลิโวลต์/โพรเคน และมีค่าความเสถียรภาพอยู่ที่ 200 วินาที ถือว่าเป็นค่าการตอบสนองที่ค่อนข้างดีและมีความเสถียรในการตอบสนองเป็นอย่างมาก และสามารถตรวจวัดโพรเคนความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ที่  $1 \times 10^{-6}$  โมล/ลิตร

ในปี ค.ศ. 2009 Elidia Maria Guerra และคณะ [13] ได้ทำการศึกษาอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟต โดยการทำฟิล์มวานาเดียมเพนตะออกไซด์ (vanadium pentoxide) ที่สังเคราะห์ด้วยวิธีการ Sol - gel เคลือบลงบนส่วนพื้นที่ตอบสนอง ซึ่งในงานวิจัยนี้ผู้ดำเนินงานวิจัยเลือกใช้ กระจกคาร์บอน (glassy carbon) ในการเป็นพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ และนำไปตรวจวัดในสารละลายพีเอช 2, 4, 6, 7, 8, 10 และ 12 เพื่อทำการตรวจวัดหาค่า การตอบสนองหรือความไว (Sensitivity) ของตัวอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟต ซึ่งผลที่ได้จากการตรวจวัดค่าความไวต่อการตอบสนองของอีจีเฟตที่เคลือบฟิล์ม วานาเดียมเพนตะออกไซด์ มีค่าอยู่ที่ 58.1 มิลลิโวลต์ / พีเอช จะแสดงให้เห็นว่าค่าความไวต่อการตอบสนองสัญญาณอยู่ในช่วงที่ค่อนข้างดี เหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ ซึ่งสามารถสรุปงานวิจัยที่ทบทวนมาได้ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 สรุปการทบทวนวรรณกรรมจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Device	Substate	pH Range	Sensitivity ( mV/pH )	Applied in measurement	Concentration of measurement ( mol/L )	Detection limit ( M )	Reference
EGFET	Al/Si	2-12	56-58	-	-	-	[10] Li-Lun C. , 2000
	SnO <sub>2</sub> / ITO glass	2-10	59.3	Urea	$5 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-3}$	$4 \times 10^{-6}$	[11] Jai C. , 2003
	ITO glass	1-11	55	Procaine	$1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-2}$	$1 \times 10^{-6}$	[12] Jung-Chuan C., 2005
	V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> / glassy carbon	2-12	58.1	-	-	-	[13] Elidia M. , 2009

ซึ่งจากงานวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ที่หลากหลายของอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตอีจีเฟต ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่สามารถตรวจวัดค่า ความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลาย งานวิจัยนี้จึงนำเอาอีจีเฟตมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงโดยอาศัยหลักการของการยับยั้งการทำงาน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริล เพราะในปัจจุบันได้มีการใช้ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในการเร่งผลผลิตทางการเกษตร ทางผู้วิจัยจึงต้องการพัฒนาให้อุปกรณ์ตรวจวัดยาฆ่าแมลงที่สามารถที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

# วิธีดำเนินงานวิจัย

### 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1. กระจกไอทีโอ (Indium Thin Oxide Glass : ITO – Glass)

โดยกระจกนำไฟฟ้าไอทีโอ มีค่าความต้านทาน (ITO sheet resistance)  $\leq 15 \text{ ohm/sq}$  (10-13 ohm/sq) ค่าการทะลุผ่าน (Transparency) ที่ 550 นาโนเมตร อยู่ที่  $\leq 85$  เปอร์เซ็นต์ ฟิล์มไอทีโอมีความหนา  $155 \pm 20$  นาโนเมตร และกระจกมีความหนา 1.1 มิลลิเมตร ซึ่งวัสดุไอทีโอมีค่า work function 4.8-4.9 eV

2. ขั้วไฟฟ้า (Electrode)

3. กาวเงิน

4. เจลอากาโรส (Agarose gel)

ชื่อทางการค้า AGAR, coarse powder มีค่าความแข็งของเจล (Gel strength) 800 กรัมต่อมิลลิลิตร ค่าความชื้น (Moisture) 22 เปอร์เซ็นต์ และค่าการละลายน้ำในน้ำเดือด 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

5. เอนไซม์อะซิลทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase , AChE)

โดยซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich ความเข้มข้น 302 ยูนิต/มิลลิกรัมของแข็ง 420 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

6. คู่ซัสเตรทอะซิลทิลโคลีนคลอไรด์ (Acetylthiocholine choride , AChCl)

โดยซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich มีน้ำหนักโมเลกุล 197.73 กรัม/โมล

7. ยาฆ่าแมลงคาร์บาริล (Carbaryl Pesticide)

หรือ Carbaryl Pestanal บริษัทที่ชื่อ Sigma-Aldrich ซึ่งจะใช้อีทานอล 100 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย

8. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline : PBS)

### 3.2 วิธีการเตรียมสารละลาย

3.2.1 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline : PBS)

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ถูกเตรียมโดยผสมสารโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 4 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 1.45 กรัม โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0.1 กรัม และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.1 กรัม ในสารละลายยาไร้ประจุ 1 ลิตร ซึ่งทำเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปรับค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ pH 7 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือ สารละลายไฮโดรคลอริก (HCl) ในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์นี้จะใช้ในการทำละลายเอนไซม์ (AChE) และซัสเตรท (AChCl)

### 3.2.2 สารละลายเอนไซม์อะซิลทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase , AChE)

การเตรียมสารละลายเอนไซม์อะซิลทิลโคลีนเอสเทอร์เรสในงานวิจัยนี้จะเตรียม 2 ความเข้มข้น คือ 0.1 ยูนิต สำหรับอัสเฟตและความเข้มข้น 0.5 ยูนิต สำหรับอิปेट โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7 เป็นตัวทำละลาย จากนั้นทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้งาน โดยจะใช้ ปริมาณ 2 ไมโครลิตรทั้งสองความเข้มข้นในการหยดลงบนพื้นผิววัสดุ

### 3.2.3 สารละลายซัสเตรทอะซิลโคลีนคลอไรด์ (Acetylthiocholine choride , AChCl)

สารละลายซัสเตรทอะซิลโคลีนคลอไรด์ ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ถูกเตรียมโดยการชั่ง อะซิลโคลีนคลอไรด์ (AChCl) 0.0198 กรัม ละลายในสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์ 20 มิลลิลิตร

### 3.2.4 สารละลายยาฆ่าแมลงคาร์บาริล (Carbaryl Pesticide)

ยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ถูกละลายใน 100 เปอร์เซ็นต์เอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ หลังจากนั้นทำการเจือจาง ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลใน สารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล-ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ โดยความเข้มข้นที่ใช้ในงานวิจัยนี้ อยู่ในช่วงตั้งแต่  $5 \times 10^{-7}$  โมลาร์ ถึง  $5 \times 10^{-5}$  โมลาร์

### 3.2.5 สารละลายน้ำผัก

ในงานวิจัยนี้จะทำการทดสอบอุปกรณ์อัสเฟต สำหรับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงในน้ำผักจริง ซึ่ง ต้องทำการสกัดน้ำผักจากผักที่มียาฆ่าแมลงคาร์บาริลเจือปน แล้วนำไปทดสอบเพื่อตรวจหาปริมาณยา ฆ่าแมลงในน้ำผัก โดยมีขั้นตอนการสกัดน้ำผักที่มียาฆ่าแมลงดังต่อไปนี้

1. นำผักที่ต้องการทำการสกัด ไปล้างสะอาด จากนั้นหั่นเป็นชิ้น ๆ ขนาดประมาณ 1-2 นิ้ว และนำไปชั่งในปริมาตรที่ต้องการ (ประมาณ 5 กรัม)
2. นำผักที่ชั่งน้ำหนักแล้วไปแช่ในยาฆ่าแมลงที่ละลายใน สารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอลในพีเอสบัฟเฟอร์ (5% EtOH in PBS) ความเข้มข้นยาฆ่าแมลง 5 พีพีเอ็ม โมลาร์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำผักชิ้นมาผึ่งเพื่อให้หน้าที่ติดอยู่กับผักหยดลงในภาชนะเดิม เป็นเวลา 15 นาที
3. นำภาชนะที่มีสารละลายยาฆ่าแมลงไปชั่งน้ำหนัก เพื่อหาปริมาณสารละลายที่เหลือ อยู่ในภาชนะ จะได้น้ำหนักสารละลายยาฆ่าแมลงที่หายไป เพื่อคำนวณหาปริมาณของยาฆ่าแมลงที่ติดไปกับผัก จากนั้นนำผักใส่ถุงซิปล็อค และทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
4. นำผักที่อยู่ในถุงซิปล็อคไปทำการบดให้ละเอียด

5. จากนั้นเติมสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอลในพีบีเอสบัฟเฟอร์ปริมาตร 10 กรัม ลงไปในถุงซิปล แล้วเขย่าเป็นเวลา 1 นาที และวางทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที เพื่อสกัดเอาเยาฆ่าแมลงที่ติดอยู่ในผักออกมา

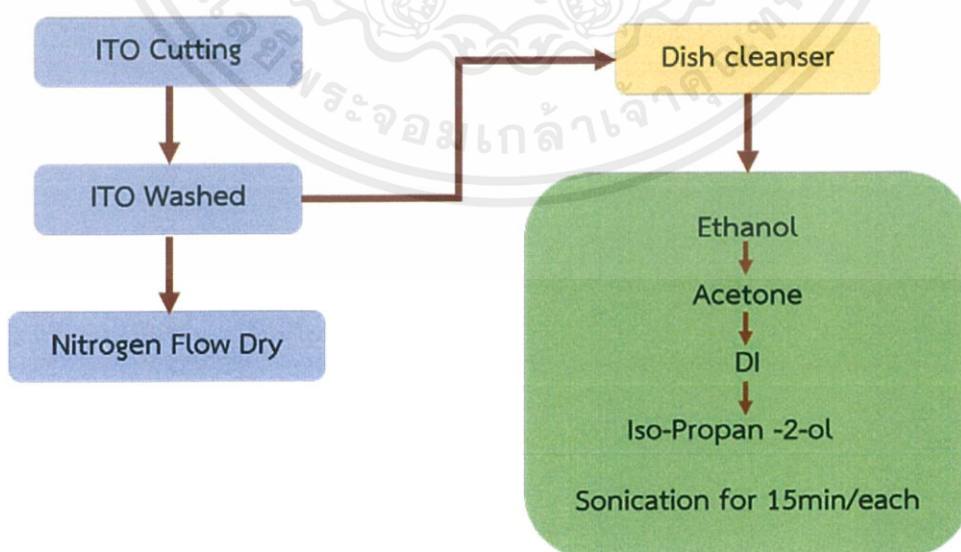
6. ทำการกรองเอาสารละลายน้ำผักที่อยู่ในถุงซิปลออกมา ใส่ภาชนะที่เตรียมไว้ ทำการชั่งน้ำหนักสารละลายน้ำผักที่ได้ จะได้น้ำผักสกัดที่มียาฆ่าแมลงออกมาเพื่อนำไปใช้ในการตรวจวัดต่อไป

### 3.3 การเตรียม การทดสอบ และการประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต

อุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตนั้นสามารถใช้ชุดการตรวจวัดเดียวกันกับอุปกรณ์เซนเซอร์อีสเฟตได้ โดยอุปกรณ์ส่วนต่อขยายนั้นจะมีการเตรียมและการทดสอบดังต่อไปนี้

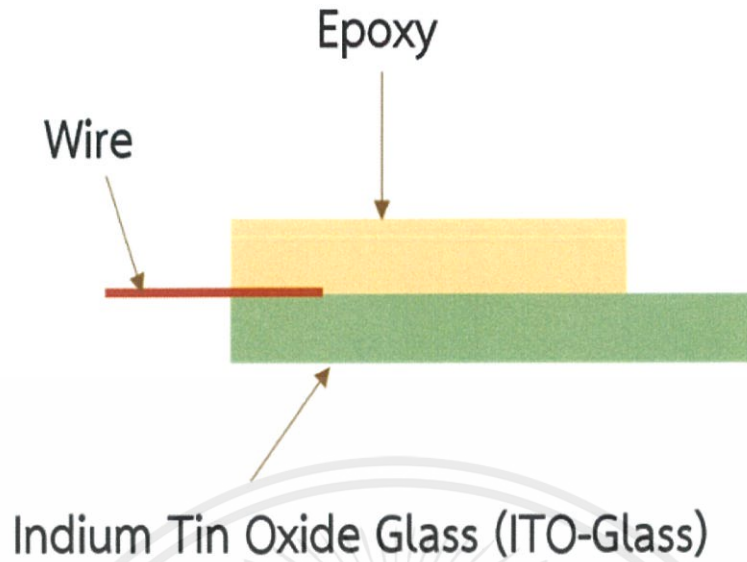
#### 3.3.1 การเตรียมกระจกนำไฟฟ้า ITO เพื่อใช้เป็นส่วนต่อขยายขาเกต

ส่วนพื้นที่ตอบสนองสัญญาณของอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต ทำโดยเริ่มจากการตัดกระจกนำไฟฟ้า ITO ตามขนาดที่ต้องการ และทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน และนำไปทำการ sonicate ด้วย อะซิโตน เอทานอล น้ำไร้ประจุ และไอโซโพรพานอล อย่างละ 15 นาที จากนั้นไปทำการเป่าให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน ดังแสดงในรูปที่ 3.1 หลังจากนั้นนำกระจกนำไฟฟ้ามาทำการตัดขั้วไฟฟ้าด้วยกาวเงินและนำไปอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการกำหนดพื้นที่ตอบสนองสัญญาณให้มีขนาด 3x3 หรือ 5x5 มิลลิเมตร และทำการปิดส่วนบริเวณที่ไม่ต้องการด้วยเทปคาร์บอน ดังแสดงในรูป 3.1 และทำการจัดเก็บในบริเวณที่ไม่โดนฝุ่น ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 3.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทำความสะอาดกระจกนำไฟฟ้า ITO

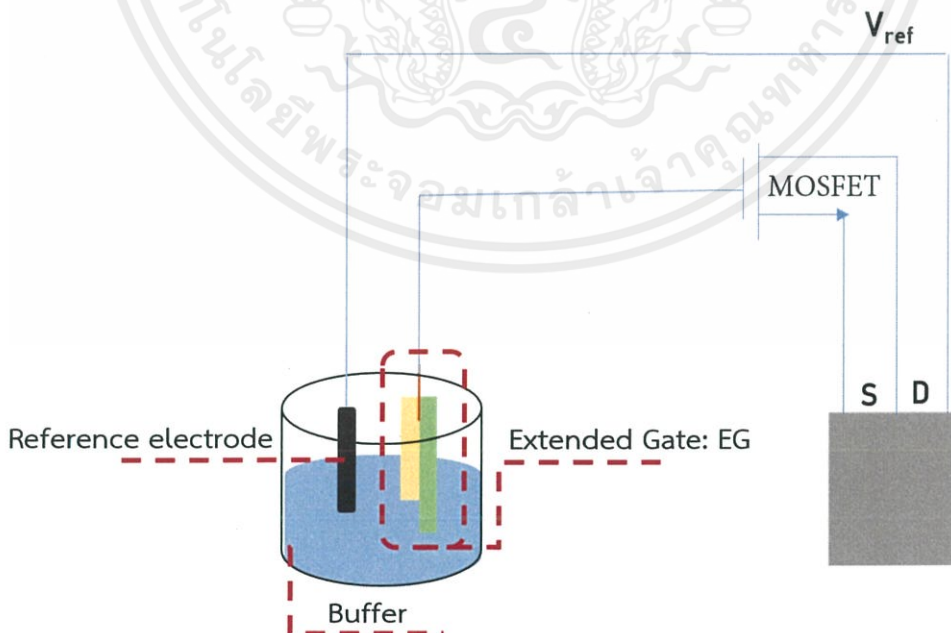
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 ภาพส่วนต่อขยายที่ใช้ในการทดลอง

### 3.3.2 การทดสอบความไวของอุปกรณ์ส่วนต่อขยาย

การทดสอบความไวนั้นจะต้องทดสอบก่อนที่จะนำเอาอุปกรณ์หัววัดแบบต่อขยายขาเกตนี้ไปใช้ในการทำงานต่างๆ โดยจะทำการเชื่อมต่ออุปกรณ์การตรวจวัดดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 การเชื่อมต่ออุปกรณ์สำหรับการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำการทดสอบอุปกรณ์ส่วนต่อขยายในสารละลาย พีอีเอชบัฟเฟอร์ 4, 7 และ 10 โดยจะทำการเชื่อมต่ออุปกรณ์การทดลองดังรูปที่ 3.3 ซึ่งจะมีขั้นตอนการทดสอบดังต่อไปนี้

1. เตรียมสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ 4, 7, 10 ในบีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร โดยจะมีปริมาตรของสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ 4 มิลลิลิตร
2. ทำการต่ออุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตเข้ากับอุปกรณ์ตรวจวัด และต่อขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl จากนั้นทำการจุ่มหัวอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตและหัวขั้วอ้างอิงลงในสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ เพื่อทำการอ่านค่า
3. เริ่มทำการตรวจวัดอุปกรณ์ส่วนต่อขยายและขั้วไฟฟ้าอ้างอิงในสารละลายพีเอช 4 เป็นเวลา 60 วินาที หลังจากนั้นทำการล้างด้วยสารละลายไร้ประจุ
4. จากนั้นทำการตรวจวัดนาสารละลายพีเอช 7 และสารละลายพีเอช 10 เช่นเดียวกับข้อ 3 โดยจะทำซ้ำทั้งสามสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ 4, 7, 10 เป็นจำนวน 3 รอบเพื่อทำการหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความไวอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกต
5. ทำการบันทึกผลการทดลอง

### 3.3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของอีจีเฟดแต่ละชิ้นงาน

ในการทดสอบนี้ต้องการทราบผลของการเตรียมอีจีเฟดในแต่ละชิ้นงานที่เตรียมในเวลาต่างกัน จะมีประสิทธิภาพหรือความไวในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดของสารละลายเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างไร โดยทำการเตรียมอีจีเฟด 20 ชิ้นงาน โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง ที่เตรียมในช่วงเวลาต่างกัน ซึ่งแต่ละชุดการทดลองจะเตรียมอีจีเฟด 4 ชิ้นงาน

นำอีจีเฟดแต่ละชุดไปวัดสัญญาณในสารละลายพีเอช 4 7 และ 10 เพื่อหาค่าความไวของชิ้นงาน ซึ่งทำการทดลองทั้ง 5 ชุดของอีจีเฟด แล้วนำค่าความไวที่ได้มาเปรียบเทียบกับ เพื่อหาค่าความแม่นยำ (ค่า Relative Standard Deviation (RSD) หรือ ค่า Coefficient of Variation (CV) บ่งบอกว่าชิ้นงานที่เตรียมขึ้นในแต่ละครั้งมีความแม่นยำมากน้อยเพียงใด

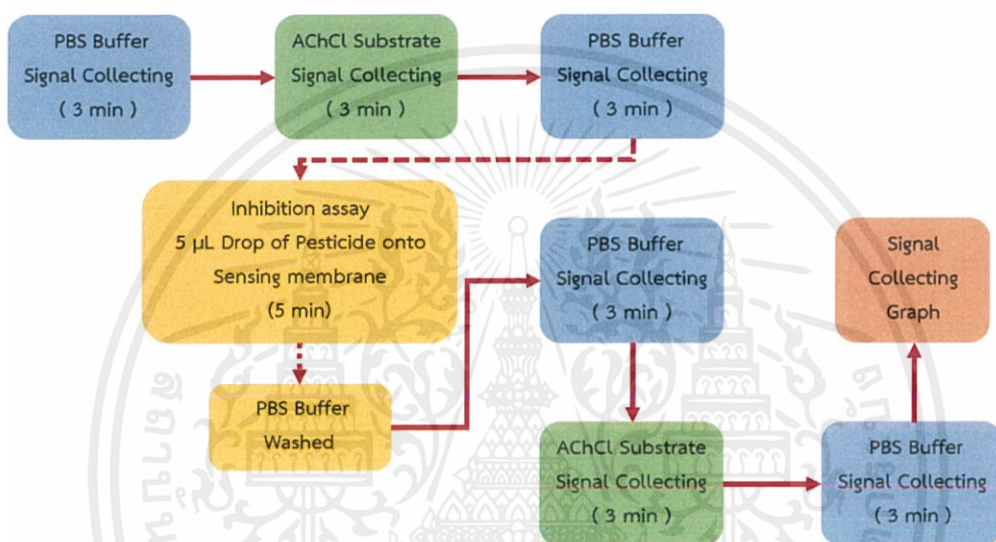
### 3.3.4 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยอุปกรณ์ส่วนต่อขยายโดยวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิลทิลโคลีนเอสเทอร์เรส

1. การตรึงเอนไซม์อะซิลทิลโคลีนเอสเทอร์เรสบนพื้นผิวอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกต  
โดยในส่วนของการเตรียมพื้นผิวของอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตนั้น จะใช้อากาโรสเจลที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร (% W/V) ในการตั้งเอนไซม์ โดยจะหยดอากาโรสเจล 3 ไมโครลิตรลงบนส่วนพื้นที่ตอบสนองสัญญาณของส่วนต่อขยายขาเกต ทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นจึงทำการหยดเอนไซม์ความเข้มข้น 0.5 ยูนิต ลงบนพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ และทำการทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปทำการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานด้วยอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกต

การตรวจวัดยาฆ่าแมลง ได้ทำการทดสอบยาฆ่าแมลงในความเข้มข้นต่างๆ โดยจะทำการถอดอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตที่เป็นพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ วางระนาบ แล้วทำการหยดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล 5 ไมโครลิตร ทำการทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อรอให้กระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำงาน แล้วจึงทำการจุ่มล้างในสารละลายฟิซีเอสบัฟเฟอร์ ซึ่งกระบวนการและวิธีการวัดจะเป็นไปตามรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 แผนภาพขั้นตอนการตรวจวัดยาฆ่าแมลง

โดยก่อนที่จะทำการทดสอบยาฆ่าแมลงนั้นจะต้องทำการทดสอบตัวอุปกรณ์เซนเซอร์อีจีพีดีที่ตรึงเอนไซม์ด้วยอากาศโรสเจลกับและสารละลายซัสเตรทเบื้องต้นก่อน เพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสัญญาณก่อนที่เอนไซม์จะถูกยับยั้งการทำงานด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริล โดยการเปลี่ยนของซัสเตรทกับบัฟเฟอร์เริ่มต้นจะคิดเป็นสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการตรวจวัดในสารละลายบัฟเฟอร์อีกครั้ง ก่อนที่จะทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริล โดยจะนำอุปกรณ์เซนเซอร์อีจีพีดีออกมาวางโดยให้พื้นที่ตอบสนองสัญญาณอยู่ด้านบน ชี้น้ำบริเวณโดยรอบของอุปกรณ์เซนเซอร์ จากนั้นจึงทำการหยดยาฆ่าแมลงที่เตรียมไว้ และวางทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที ทำการซับเอาสารละลายยาฆ่าแมลงคาร์บาริลโดยรอบออกแล้วทำการจุ่มล้างหัวอุปกรณ์เซนเซอร์อีจีพีดีตรงบริเวณพื้นที่ตอบสนองสัญญาณในบัฟเฟอร์ และจึงนำมาตรวจวัดค่าสัญญาณในสารละลายฟิซีเอส และต่อด้วยการวัดค่าในสารละลายซัสเตรทหลังเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยคาร์บาริล ดังที่แสดงในรูป

### 3.1

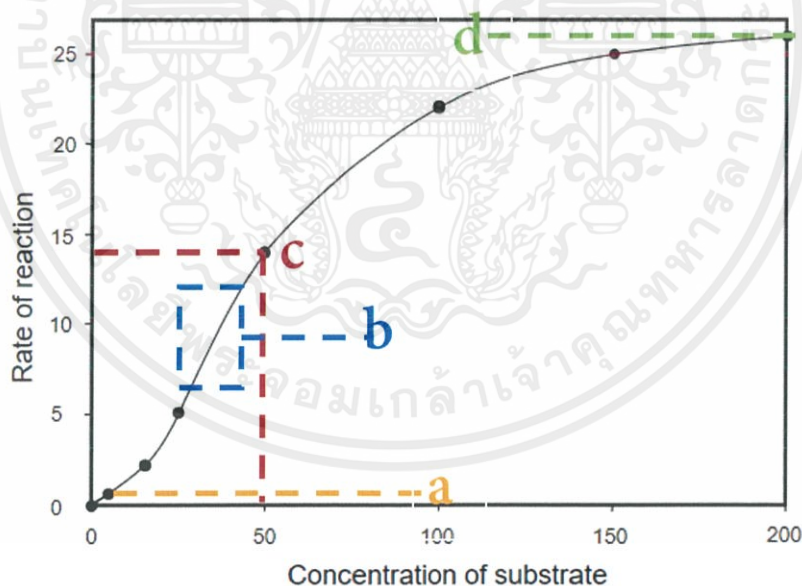
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การทดสอบหาความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงในสารละลายน้ำผักจริงด้วยอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกต

การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายน้ำผัก จะทำการตรวจวัดโดยการใช้น้ำผักที่สกัดจากหัวข้อ 3.2.5 แล้วนำไปวัดปริมาณยาฆ่าแมลงโดยใช้อุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตที่เตรียมขึ้น โดยใช้กระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เช่นเดียวกับในหัวข้อ 2 แต่เปลี่ยนจากสารละลายคาร์บาริลในบัฟเฟอร์เป็นสารละลายน้ำผักสกัดที่ทำการสกัดขึ้น

### 3.4 กราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

เส้นมาตรฐาน หรือ Calibration curve เป็นเส้นความสัมพันธ์ของความเข้มข้นในแกน x และสัญญาณที่ตรวจวัดได้ในแกน y ซึ่งถูกสร้างขึ้นจากข้อมูลที่ได้จากการทดลอง โดยในงานวิจัยนี้มีการสร้างเส้นมาตรฐานจากข้อมูล 2 แบบ คือ แบบแรกเป็น semi-log plot ซึ่งจะได้กราฟเป็นรูปตัวเอส (S Curve) ซึ่งเป็นกราฟมาตรฐานระหว่างสัญญาณที่ตรวจวัดได้ในแกน y (linear scale) และค่าความเข้มข้นของสารละลายที่ตรวจวัดในแกน x (log scale) ดังรูปที่ 3.5 ซึ่งจะใช้สมการ Five-Parameter logistic (PL) ในการ fit ข้อมูล ดังสมการที่ 3.1



รูปที่ 3.5 กราฟ semi-log plot [20]

$$y = d + \frac{a-b}{\left[1 + \left(\frac{x}{c}\right)^b\right]^g} \quad (3.1)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เมื่อ  $a$  = estimated response at zero concentration  
 $b$  = slope factor  
 $c$  = mid – range concentration (  $C_{50}$  )  
 $d$  = estimated response at infinite concentration  
 $g$  = asymmetry factor

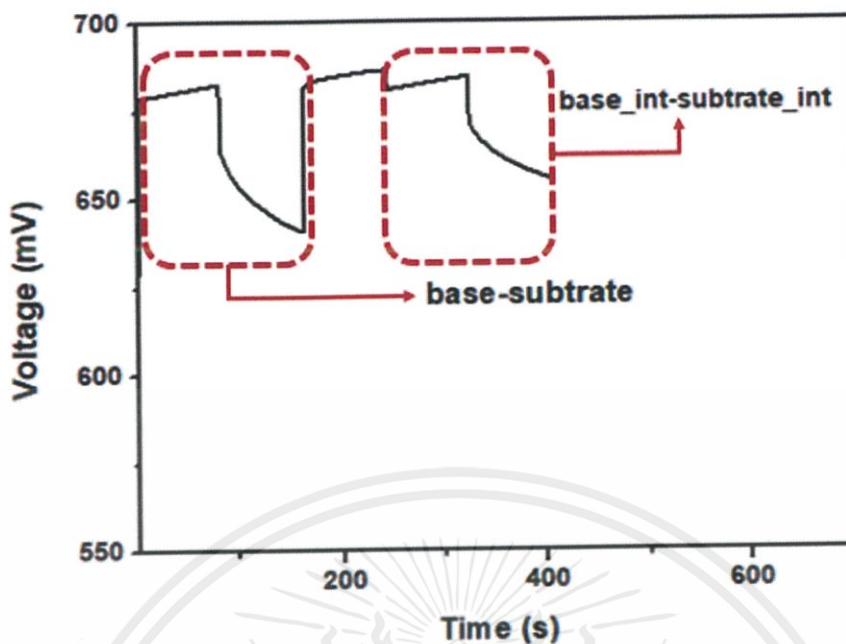
จากการพลอตกราฟแบบ semi-log plot จะทำให้ได้ช่วงของการวัดที่กว้าง ซึ่งตอนกลางของกราฟสัญญาณที่ได้จะเป็นเส้นตรงที่มีความชันมาก แต่ส่วนตอนต้นกับปลายของกราฟสัญญาณที่ได้จะมีความชันเล็กน้อยหรือแทบจะคงที่ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการเทียบความชันเฉพาะช่วงตอนกลางของกราฟ semi-log plot ซึ่งความสัมพันธ์ของข้อมูลในช่วงกลางจะแสดงในลักษณะของสมการเส้นตรง ดังสมการที่ 3.2

$$y = mx + c \quad (3.2)$$

- เมื่อ  $y$  = % Inhibition  
 $x$  = Concentration of Carbaryl  
 $m$  = slope of linear  
 $c$  = estimated response at zero concentration

### 3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

การวิเคราะห์ผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ หรือ การคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%Inhibition) จะคำนวณจากผลต่างของสัญญาณที่วัดได้ระหว่างสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ กับ สารละลายยับยั้ง ก่อนและหลังการถูกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ดังกราฟที่แสดงในรูปที่ 3.6 ซึ่งแสดงเป็นการที่แสดงถึงการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลง จุด  $a$  คือจุดสัญญาณก่อนที่จะทำการยับยั้ง จุด  $b$  คือจุดหลังจากการยับยั้ง โดยจะคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้จากสมการ 3.3



รูปที่ 3.6 แสดงกราฟการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

$$Y = \frac{b-a}{a} \times 100 \quad (3.3)$$

เมื่อ

$Y = \% \text{ Inhibition}$

$a = \text{Signal before inhibition, different signal (base - substrate)}$

$b = \text{Signal after inhibition, different signal (base}_{int} - \text{substrate}_{int})$

### 3.6 การวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยเทคนิค เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลว

ส ม ร ร ธิ -

#### นะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

เป็นการวิเคราะห์เพื่อแยกสารที่สนใจ ซึ่งในงานนี้สนใจวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายพีเอสบีพีเอช 7 เพื่อทำการสร้างกราฟมาตรฐานของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายพีเอสบีพีเอชเปรียบเทียบกับผลการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) และนำน้ำผักจริงที่ได้ทำการตรวจวัดด้วยอุปกรณ์เซนเซอร์ไปทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อหาค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่อยู่ในสารละลายน้ำผักที่ทำการสกัด และนำค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ได้ไปทำการเปรียบเทียบกับผลจากการตรวจวัดด้วยอุปกรณ์เซนเซอร์ โดยใช้เงื่อนไขขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงเงื่อนไขการตรวจวัดสารละลายคาร์บาริลด้วยเทคนิค HPLC

Column :	Acclaim™ 120 C18, 3µm Analytical, 3x150 mm (P/N 063691)
Mobile Phase :	A. Acetonitrile B. 1mM Phosphate buffer , pH 4.5
Gradient :	40% A.(0 - 5 min), 45% A.(5 – 8.5 min), 80% A.(8.5 – 10 min), 40% A.(10 - 15min)
Flow Rate :	0.8 mL/min
Detection :	UV absorbance, 280 nm

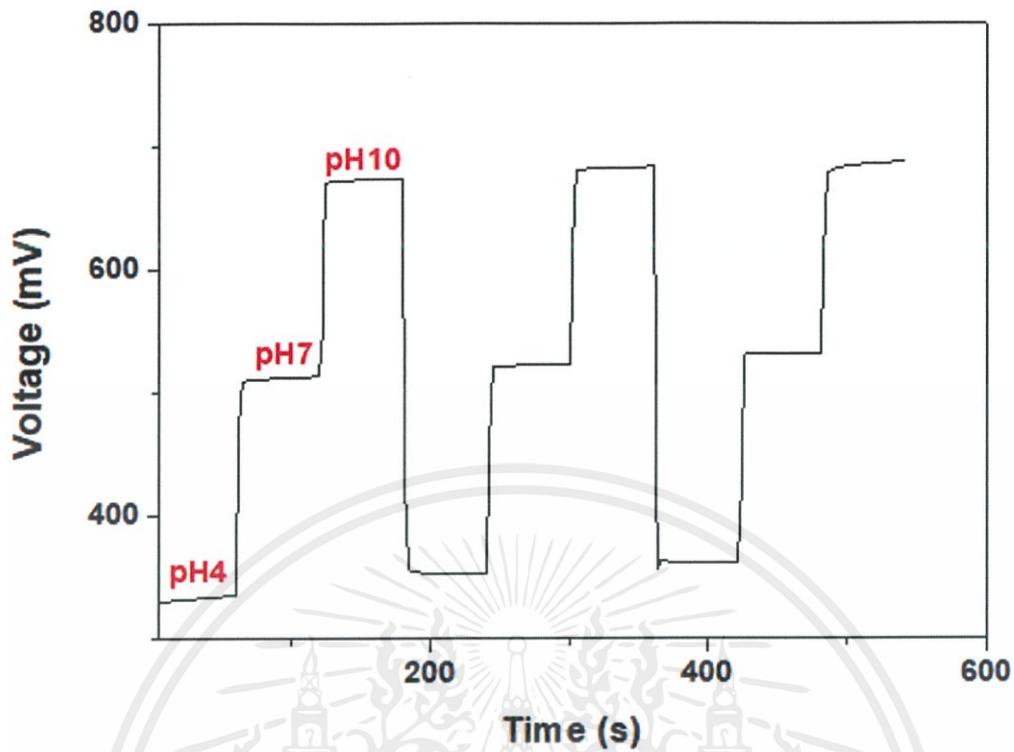
โดยในงานวิจัยนี้จะทำการวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายพีอีเอสบีเฟออร์ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง  $7 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-5}$  โมลาร์ และทำการวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายน้ำผักที่สกัด เพื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลกับผลการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลโดยอาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

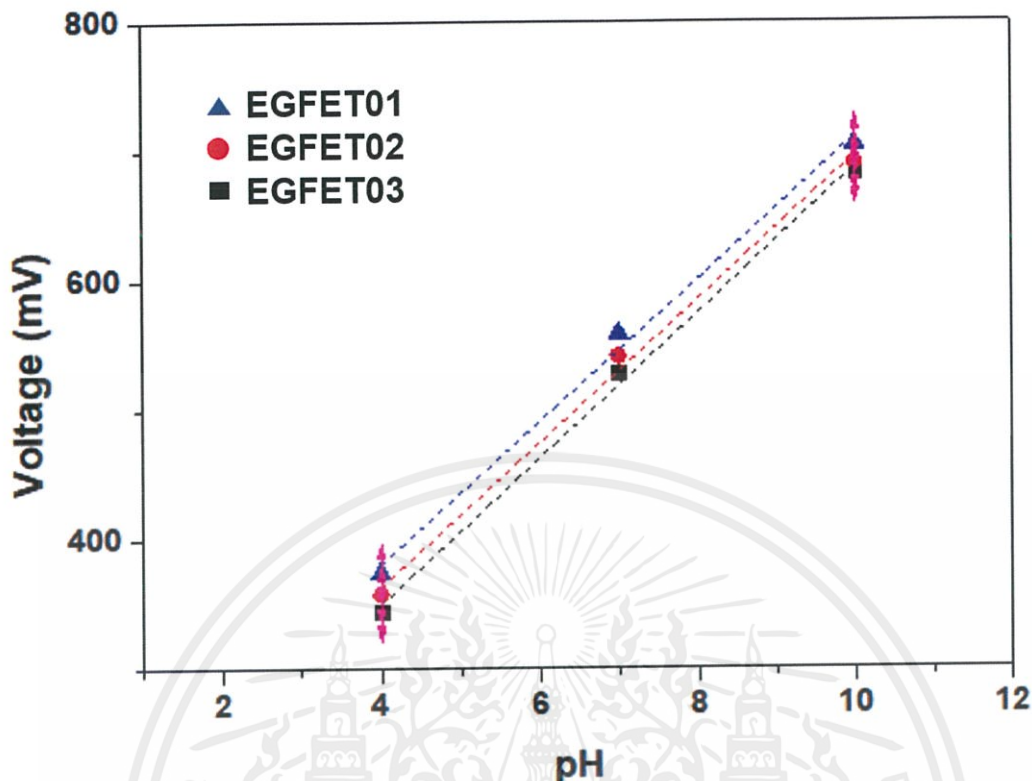
#### 4.1 ลักษณะสัญญาณการตอบสนองของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตต่อสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่างๆ

การใช้งานหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต (Extended Gate : EG) สำหรับทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้า (Field Effect Transistor : FET) นั้น ต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพหรือความไว (sensitivity) ของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างหรือค่าพีเอชในสารละลาย ซึ่งบ่งบอกปริมาณของไฮโดรเจนไอออนที่แตกต่างกัน จากการทดลองได้ทำการทดสอบวัดสัญญาณการตอบสนองของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตที่สารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 4.0, 7.0 และ 10.0 ซึ่งตัวอย่างสัญญาณการตอบสนองของ EGFET แสดงดังรูปที่ 4.1 ซึ่งเป็นกราฟสัญญาณความต่างศักย์ที่ตกคร่อมระหว่างขาเกตและขอส ( $V_{GS}$ ) เทียบกับเวลา โดยสารละลายที่ค่าพีเอชต่ำจะมีสัญญาณ  $V_{GS}$  ที่ต่ำ แต่ถ้าสารละลายมีค่าพีเอชสูง สัญญาณ  $V_{GS}$  จะมีค่าสูง เนื่องจากในสารละลายพีเอชที่ต่ำ หรือมีความเป็นกรดมาก จะมีปริมาณของไฮโดรเจนไอออน ( $H^+$ ) อยู่มาก และเกิดการออกันของประจุบริเวณผิวหน้ารอยต่อขาเกตกับสารละลาย ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนในชั้นเซมิคอนดักเตอร์ เกิดเป็นช่องทางการไหลของกระแสไฟฟ้าจากขาเดรนไปขาซอส ทำให้มีกระแสไฟฟ้า ( $I_{DS}$ ) ไหลในวงจร มีผลทำให้ค่าความต่างศักย์ ( $V_{GS}$ ) มีค่าต่ำ ในทางกลับกันเมื่อสารละลายมีค่าพีเอชที่สูง หรือมีความเป็นเบสมาก ปริมาณไฮโดรเจนไอออนในสารละลายมีน้อย ค่าความต่างศักย์ ( $V_{GS}$ ) จึงมีค่าที่สูง จากกราฟเป็นการวัดสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่างๆ จำนวน 3 รอบ โดยใน 1 รอบ เป็นการวัดในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 4.0, 7.0 และ 10.0 ผลพบว่าที่สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4.0 มีค่าสัญญาณประมาณ 350 มิลลิโวลต์ ที่สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 มีค่าสัญญาณประมาณ 525 มิลลิโวลต์ และที่สารละลายพีเอช 10.0 มีค่าสัญญาณประมาณ 675 มิลลิโวลต์



รูปที่ 4.1 สัญญาณการตอบสนองของ EGFET เทียบกับเวลา เมื่อวัดในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 4.0, 7.0 และ 10.0

นอกจากนี้สามารถนำค่าสัญญาณ  $V_{GS}$  ที่ได้ มาพลอตเทียบกับค่าพีเอชของสารละลายเพื่อหา ค่าความไว (Sensitivity) ต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต โดยเมื่อค่าพีเอชของสารละลายเพิ่มขึ้น ค่าสัญญาณ  $V_{GS}$  จะมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งมีลักษณะความสัมพันธ์แบบเชิงเส้น จากผลการทดสอบอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต 3 ชิ้นงาน พบว่าแต่ละ ชิ้นงานให้ค่า  $V_{GS}$  ที่แตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อวัดในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอชเดียวกัน ดังนั้นในการ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ EG จะทำการเปรียบเทียบเป็นค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลง สัญญาณของอุปกรณ์ EG ในแต่ละชิ้นงาน ให้มีค่าใกล้เคียงกันและยอมรับได้ ซึ่งมีค่าประมาณ 45-60 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช ค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณหาได้จากค่าความชัน (Slope) ที่ได้จากการสมการเส้นตรงที่บอกความสัมพันธ์เชิงเส้นของกราฟที่พล็อตระหว่างค่าสัญญาณ  $V_{GS}$  กับค่า พีเอชของสารละลาย ซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 ค่าสัญญาณ  $V_{GS}$  เทียบกับพีเอชของสารละลาย จาก EGFET 3 ชิ้นงาน

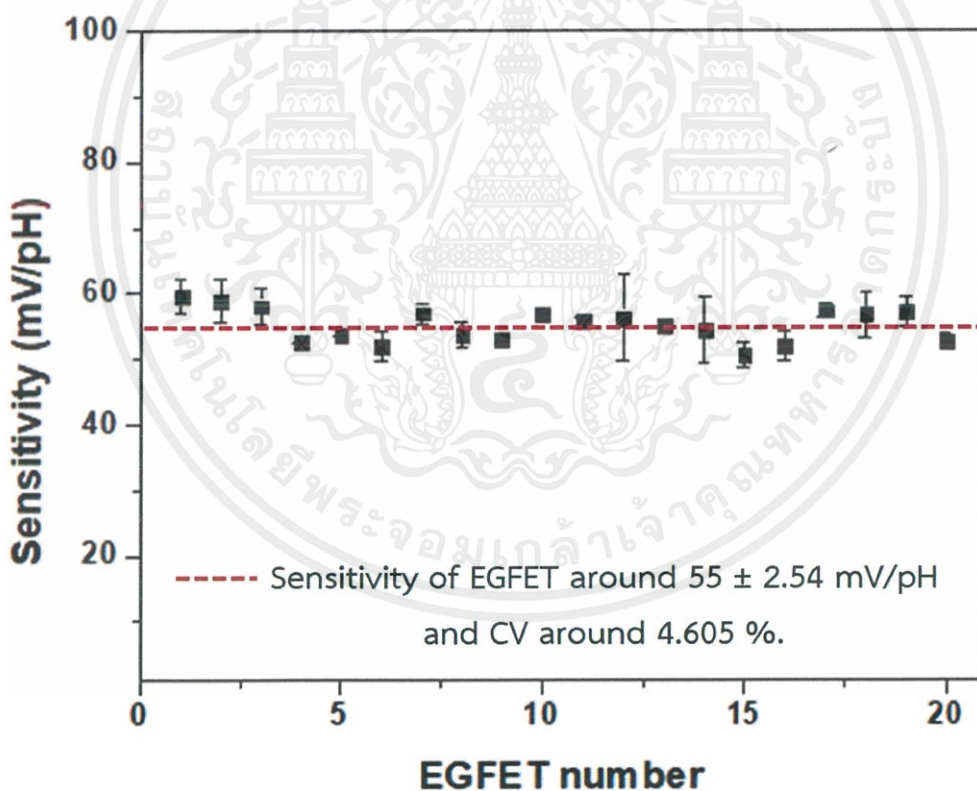
ซึ่งจากการทดสอบนี้พบว่า EGFET แต่ละชิ้นงาน มีค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณดังแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งมีค่า 56.34, 55.514 และ 55.525 mV/pH จาก EGFET ชิ้นงานที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยมีค่าความไวเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 55 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้สำหรับการประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์ขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.1 ค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตในแต่ละชิ้นงาน

EGFET number	Sensitivity (mV/pH)	$R^2$
01	56.336	0.9972
02	55.514	0.9964
03	55.625	0.9955

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองการหาค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของอุปกรณ์ EGFET ทางผู้วิจัยได้ทำการเตรียม EGFET ขึ้นหลายชิ้นงานและนำค่าความไวของแต่ละชิ้นงานมาเปรียบเทียบกัน เพื่อดูประสิทธิภาพความไวของตัวเซนเซอร์ โดยทำการเปรียบเทียบจาก EGFET ทั้งหมด 20 ชิ้นงาน ในแต่ละชิ้นงานแสดงเป็นค่าความไวเฉลี่ยจากการวัดในสารละลายบัฟเฟอร์ค่าพีเอช 4, 7 และ 10 จำนวน 3 รอบ ผลการทดสอบแสดงดังรูปที่ 4.3 ซึ่งพบว่า EGFET ที่ได้ทำขึ้น มีค่าความไวเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 55 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ที่ประมาณ 2.548 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช และมีค่าสัมประสิทธิ์การแปรผัน (Coefficient of variation : CV) อยู่ที่ประมาณ 4.605 เปอร์เซ็นต์ โดยเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จาก EGFET 20 ชิ้นงาน ซึ่งจะบ่งบอกได้ว่าชิ้นงานอุปกรณ์เซนเซอร์ที่สร้างขึ้นมีคุณภาพ เนื่องจากมีค่า CV ที่น้อยและมีค่าความไวต่อการรับสัญญาณอยู่ในเกณฑ์เดียวกันโดยถือได้ว่าอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตที่สร้างขึ้นนั้นมีประสิทธิภาพที่ดี เนื่องจากมีความไวอยู่ในช่วงที่ต้องการและสามารถใช้งานในขั้นตอนถัดไปได้

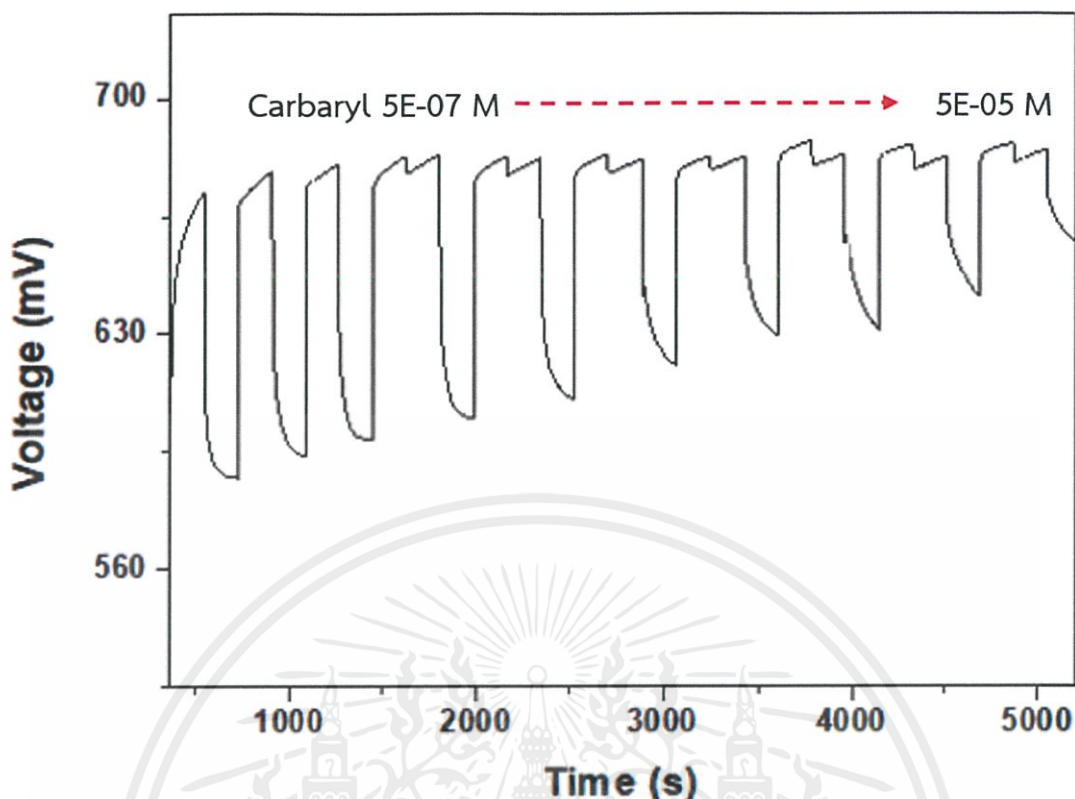


รูปที่ 4.3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่าความไวของอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตจากทั้งหมด 20 ชิ้นงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

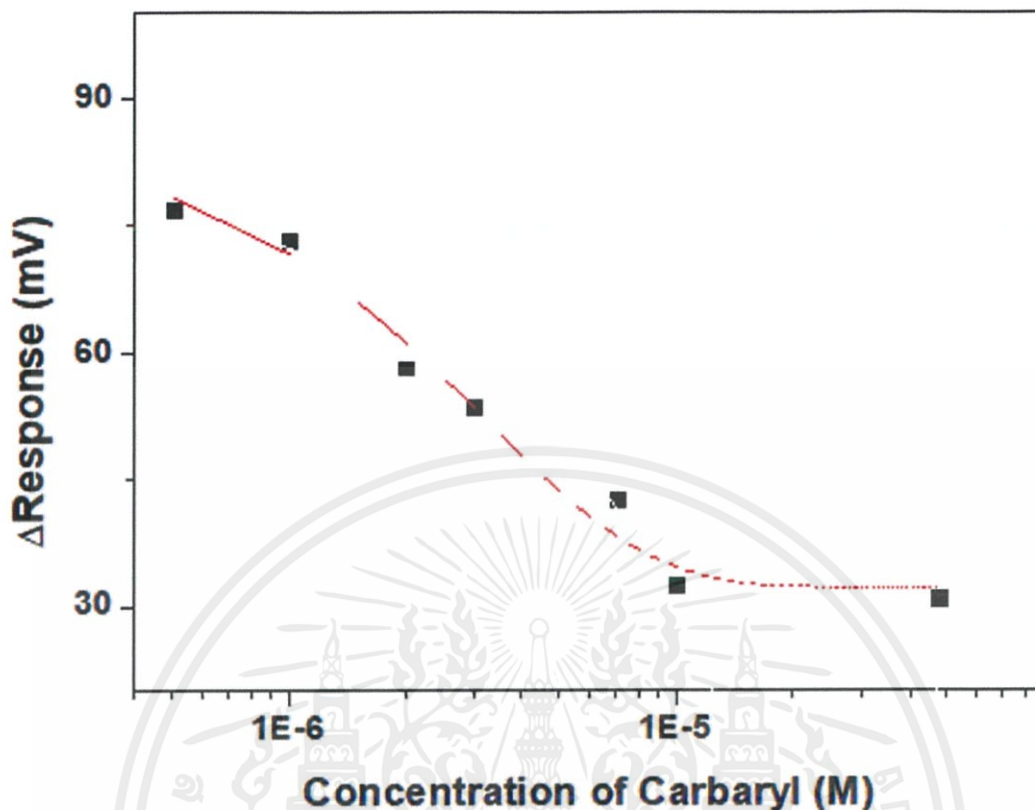
## 4.2 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ละลายในสารละลายพีอีเอสบัฟเฟอร์ด้วย กระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

การทดลองนี้ทำการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้อุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตที่เตรียมขึ้น ด้วยอากาโรสเจลความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์ 0.5 ยูนิต ซึ่งช่วงความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ทำการตรวจวัด คือ  $5 \times 10^{-7}$  ถึง  $5 \times 10^{-5}$  โมลาร์ ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่แสดงให้เห็นถึงลักษณะการตอบสนองของสัญญาณได้อย่างชัดเจน โดยขั้นตอนแรกของการตรวจวัดเราจะทำการจุ่มอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตที่ได้ทำการตรึงเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเทอร์เรสลงบนบริเวณพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ (Sensing membrane) ในสารละลายพีอีเอสบัฟเฟอร์พีเอช 7 เพื่อทำการเก็บสัญญาณตั้งต้นจากนั้นจึงทำการจุ่มอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตในสารละลายยับยั้งที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ โดยในทุกขั้นตอนจะใช้เวลา 180 วินาที หรือเป็นเวลา 3 นาทีในการตรวจวัด ซึ่งค่าสัญญาณ  $V_{GS}$  ที่วัดได้จากการจุ่มเซนเซอร์ในสารละลายยับยั้งจะมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับค่าสัญญาณ  $V_{GS}$  ที่ตรวจวัดได้เมื่อจุ่มเซนเซอร์ในสารละลายพีอีเอส และหลังทำการตรวจวัดในสารละลายพีอีเอสกับสารละลายยับยั้ง จึงนำเอาค่าสัญญาณที่ได้มาหาค่าความต่างของสัญญาณ ( $\Delta mV$ ) เพื่อเก็บเป็นสัญญาณตั้งต้นที่ได้จากการทำงานของเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเทอเรสและยับยั้ง จากนั้นทางผู้วิจัยจึงทำการถอดบริเวณส่วนต่อขยายขาเกต (EG) ของตัวอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตออก โดยจะวางระนาบกับพื้นเพื่อทำการหยดยาฆ่าแมลงที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยผลที่ได้จากการตรวจวัดสัญญาณเทียบกับเวลา แสดงในรูปที่ 4.4



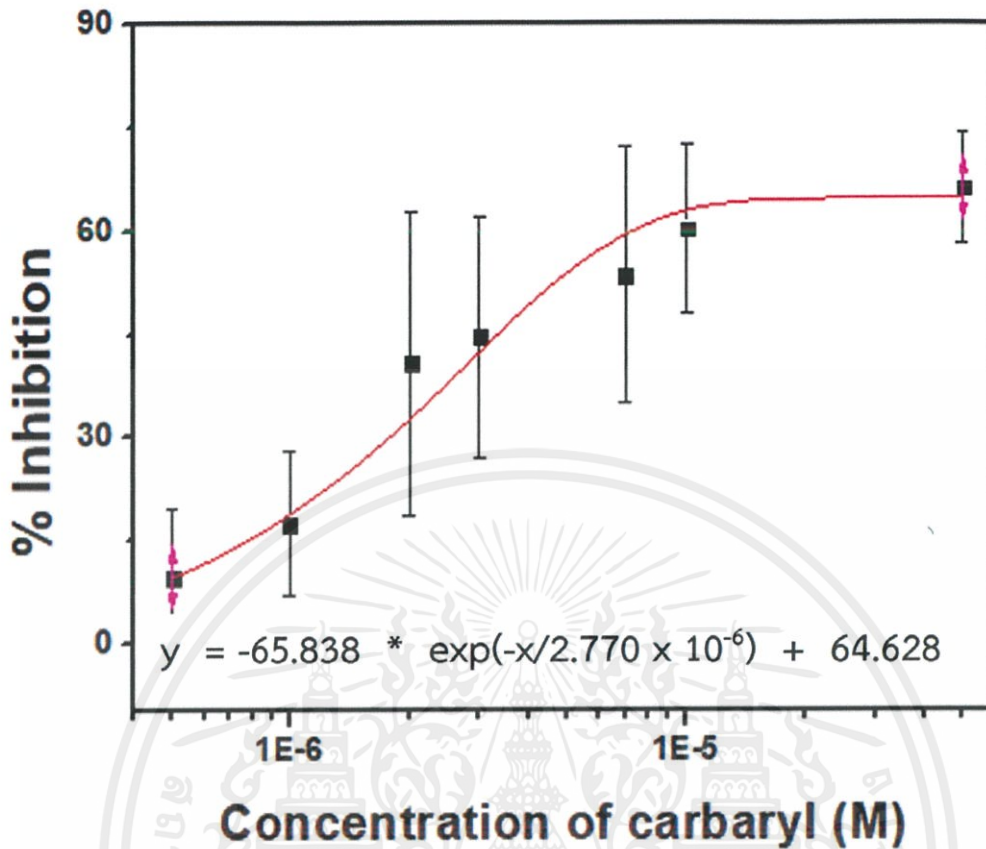
รูปที่ 4.4 กราฟการเปลี่ยนแปลงค่าสัญญาณไฟฟ้า ( $V_{GS}$ ) เทียบกับเวลาของอุปกรณ์หัววัดแบบ ส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) เมื่อทำการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยอาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

จากรูปที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าเมื่อยาฆ่าแมลงที่มีความเข้มข้นมากขึ้น ทำให้ค่าความต่างของสัญญาณพีเอสเทียบกับซับสเตรท ( $\Delta mV$ ) มีค่าน้อยลง เนื่องมาจากการที่ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลเข้าไปยับยั้งการทำงานตรงตำแหน่ง active site ของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส ทำให้ซับสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ได้ ส่งผลให้ปริมาณของไฮโดรเจนไอออนในระบบลดลง โดยจะนำค่า ค่าความต่าง ( $\Delta mV$ ) ของสัญญาณที่ได้มาทำการพล็อตเทียบกับความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล เพื่อดูลักษณะค่าความต่างสัญญาณเมื่อทำการตรวจวัดยาฆ่าแมลงที่มีความเข้มข้นมากขึ้น ซึ่งผลที่บ่งบอกได้ว่าเมื่อยาฆ่าแมลงมีความเข้มข้นมากขึ้นค่าความต่างของสัญญาณจะมีค่าน้อย โดยจะแสดงดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความต่างของสัญญาณ ( $\Delta mV$ ) ของสารละลาย ซัสเตรทกับสารละลายพีอีเอสบีเฟออร์ เทียบกับความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล

จากนั้นจึงนำเอาค่าความต่างของสัญญาณ ( $\Delta mV$ ) ที่ได้ มาทำการหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานเอนไซม์ (%Inhibition) โดยนำค่า  $\Delta mV$  ก่อนที่ตรอยยาฆ่าแมลงคาร์บาริลแทนค่า a และค่า  $\Delta mV$  หลังทำการหยดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลแทนค่า b ในสมการที่ 3.3 (ในบทที่ 3) เพื่อหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าเมื่อคาร์บาริลความเข้มข้นสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะมีค่าสูงมากขึ้น แต่จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าในยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในช่วง  $10^{-5} - 5 \times 10^{-5}$  โมลาร์ ค่าสัญญาณที่ได้จะค่อนข้างใกล้เคียงกัน เพราะยาฆ่าแมลงคาร์บาริลเข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จนทำให้เอนไซม์ไม่สามารถที่จะจับกับซัสเตรทได้ทำให้ค่าสัญญาณที่ได้ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลง แต่ในงานวิจัยนี้จะสนใจสัญญาณที่เป็นช่วงเส้นตรง ซึ่งก็คือ 20 – 60 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยจะแสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เทียบกับความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงที่ความเข้มข้นต่างๆ

เมื่อทำการแปลงค่าสัญญาณความต่าง ( $\Delta mV$ ) ระหว่างพีเอสบัพเฟอร์และขั้วสเตรทที่ผ่านกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยคาร์บาริลเป็นค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (%inhibition) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของคาร์บาริลเพิ่มขึ้น ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.6

เมื่อทำการ fit curve หาความสัมพันธ์เชิงเส้นของข้อมูลในรูปที่ 4.6 จะแสดงได้ดังสมการที่ 4.1 โดยมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.981

$$y = -65.838 * \exp(-x/2.770 \times 10^{-6}) + 64.628 \quad (4.1)$$

จากสมการที่ 4.1 มีค่าความชันหรือค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณในการตรวจวัดอยู่ที่ 65.838 มิลลิโวลต์ต่อโมลาร์ และช่วงความเข้มข้นดังกล่าว ( $5 \times 10^{-7}$  ถึง  $5 \times 10^{-5}$  โมลาร์) อยู่ในช่วงที่ใช้ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลจริงที่อยู่ในผักกลุ่ม Brassica Vegetable ที่มีค่าไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิน 5 ppm หรือประมาณ  $2.5 \times 10^{-5}$  โมลาร์ ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานที่มีกำหนดโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ซึ่งเหมาะสมที่จะส่งออกและบริโภคได้ [3]

#### 4.3 การทดสอบหาความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงในสารละลายน้ำผักจริงด้วยอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต โดยอาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

ในงานวิจัยนี้ได้นำ EGFET มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายน้ำผักจริง โดยเริ่มแรกทำการแช่ผักที่มียาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่รู้ความเข้มข้นตั้งต้น จากนั้นทำการสกัดน้ำผักและคำนวณหาค่าความเข้มข้นของคาร์บาริลที่มีในน้ำผักสกัด ซึ่งทางผู้วิจัยได้เลือกใช้ถั่วฝักยาวที่ปลอดสารพิษ โดยขั้นตอนแรกจะนำถั่วฝักยาวไปชั่งน้ำประมาณ 5 กรัม จากนั้นฉีกยาฆ่าแมลงคาร์บาริลความเข้มข้น 5 ppm ที่ละลายในสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอลในพีบีเอสบัฟเฟอร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และวางทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำผักไปแช่ในสารละลายยาฆ่าแมลงคาร์บาริลอีกเป็นเวลา 10 นาที และทำการฝั่งเพื่อให้น้ำที่ติดอยู่กับผักหยดลงในภาชนะเดิม เป็นเวลา 15 นาที และนำภาชนะที่มีสารละลายยาฆ่าแมลงไปชั่งน้ำหนัก เพื่อหาปริมาณสารละลายที่เหลืออยู่ในภาชนะ จะได้น้ำหนักสารละลายยาฆ่าแมลงที่หายไป และนำผักที่ได้ใส่ภาชนะเพื่อเก็บโดยทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำผักที่ได้มาทำการตัดให้มีขนาดประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร จากนั้นจึงทำการใส่สารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอลในพีบีเอสบัฟเฟอร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที วางทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงทำการสกัดน้ำผักออกมา โดยค่าที่บันทึกของการทดลองสกัดน้ำผักแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่าต่างๆ ที่ได้จากการสกัดน้ำผัก

ชนิดผัก	ความเข้มข้นสารละลายคาร์บาริลตั้งต้น (ppm)	น้ำหนักสารละลายคาร์บาริลที่ติดไปกับผัก (g)	น้ำหนักน้ำผักที่สกัดได้ (g)
ถั่วฝักยาว	5	1.93	12.02

จากนั้นจึงนำน้ำผักที่สกัดได้ไปทำการตรวจวัดยาฆ่าแมลงด้วยอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต ที่เตรียมขึ้นด้วยอากาศโรสเจลความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส 0.5 ยูนิต ซึ่งจะทำการตรวจวัดแบบเดียวกันกับขั้นตอนการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ แต่เปลี่ยนเป็นการใช้คาร์บาริลในน้ำผักที่สกัดได้ในการตรวจวัดแทนคาร์บาริลในสารละลายบัฟเฟอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยจะดูผลที่ได้จากการตรวจวัดคือค่าความต่างของสัญญาณ ( $\Delta mV$ ) ที่ได้ระหว่างการตรวจวัดสารละลายพีอีเอสบีพีเฟอร์กับสารละลายซีสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ก่อนและหลังจากที่ผ่านขั้นตอนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยน้ำฝักสกัด ซึ่งจะมีค่าที่ต่างกันเกิดจากการที่คาร์บาริลที่อยู่ในน้ำฝักเข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับสารละลายซีสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ ทำให้ค่าสัญญาณที่ก่อนและหลังการตรวจในน้ำฝักมีค่าที่ต่างกัน

ทางผู้วิจัยจึงได้นำค่าความต่างสัญญาณที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ได้อยู่ที่ 47.276 จากนั้นจึงนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมาแทนค่า  $y$  ในสมการที่ 4.1 เพื่อหาค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลจากผลการคำนวณจะได้ค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำฝักอยู่ที่  $3.209 \times 10^{-6}$  โมลาร์ หรือประมาณ 0.645 พีพีเอ็มโดยจะแสดงค่าที่ได้ในตารางที่ 4.3

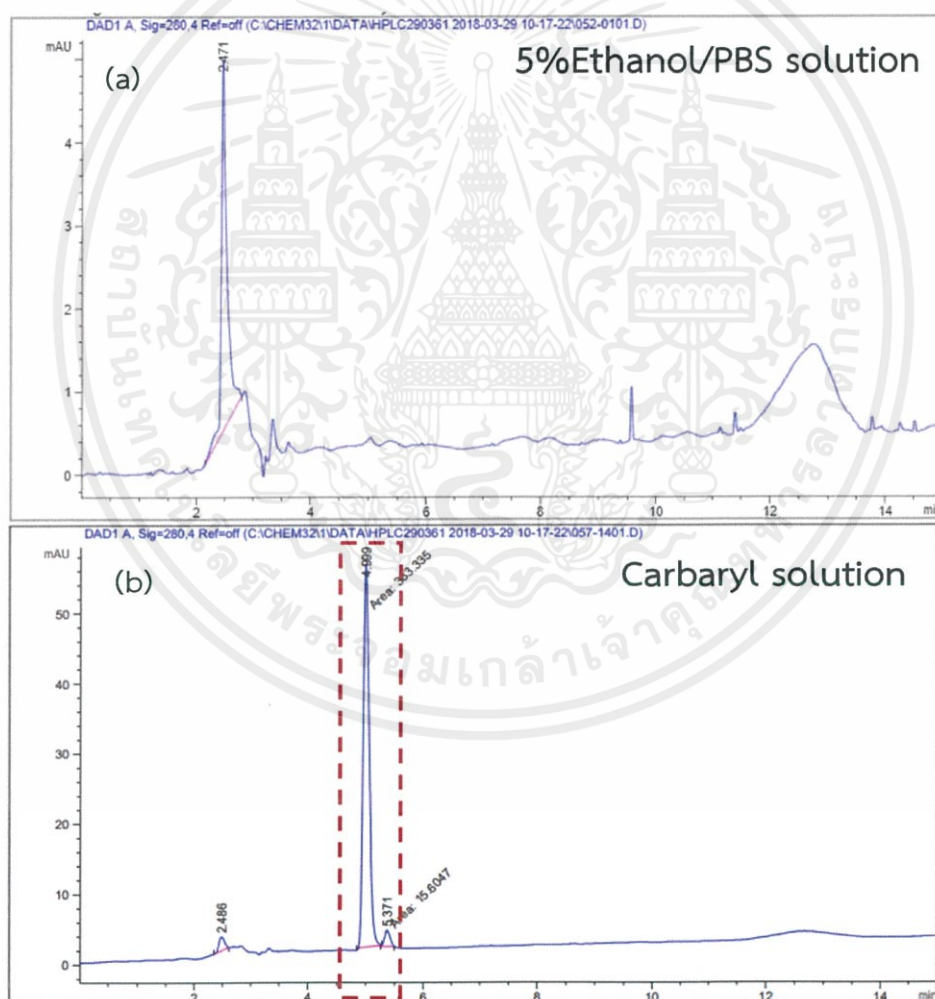
ตารางที่ 4.3 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายน้ำฝักจริง ด้วยอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต

% การยับยั้ง	ความเข้มข้นคาร์บาริลในน้ำฝักที่ตรวจวัดได้
47.276	$3.209 \times 10^{-6}$ M (0.645ppm)

จากตารางที่ 4.3 แสดงค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำฝักสกัดที่คำนวณได้ ซึ่งมีค่าอยู่ที่  $3.209 \times 10^{-6}$  หรือ 0.645 พีพีเอ็ม แสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์เซนเซอร์ที่สร้างขึ้นสามารถตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำฝักจริงได้ โดยมีการรบกวนจากสารอื่นๆ จากน้ำฝักสกัดน้อยมาก ซึ่งอ้างอิงจากผลการทดลองของนายศุภณัฐ [21] ที่ได้ลองนำน้ำฝักสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบกับ EGFET ที่ตรึงด้วยเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสในเงื่อนไขเดียวกัน พบว่าน้ำฝักสกัดมีผลรบกวนต่อการตรวจวัดสัญญาณน้อยมาก ซึ่งมีค่าอยู่ที่ประมาณ 5 มิลลิโวลต์ (หรือน้อยกว่า 5%) และนอกจากนี้เพื่อเป็นการตรวจสอบการทดลองที่สร้างขึ้น ทางผู้วิจัยจึงนำน้ำฝักที่ทำการสกัดได้ไปตรวจวัดกับเครื่องมาตรฐานโดยใช้เทคนิคของการแยกและวิเคราะห์สาร เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) ซึ่งจะแสดงผลในหัวข้อถัดไป

#### 4.4 การวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยเทคนิคการแยกและวิเคราะห์สาร เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC)

จากผลสร้างกราฟมาตรฐานของคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้อุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) ทางผู้วิจัยต้องการยืนยันด้วยการเปรียบเทียบกับเทคนิคมาตรฐาน HPLC ว่า EGFET ที่ทำขึ้น มีค่าความถูกต้องในการตรวจวัดคาร์บาริลหรือไม่ จึงนำสารละลายคาร์บาริลที่ละลายในสารละลายฟิโซสัฟเฟอร์ ที่ตรวจวัดด้วยอุปกรณ์เซนเซอร์แล้ว ไปทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลอง โครมาโตแกรมที่ตรวจวัดได้แสดงดังรูปที่ 4.7 โดยเงื่อนไขการตรวจวัดแสดงในตารางที่ 3.1 (ในบทที่ 3)

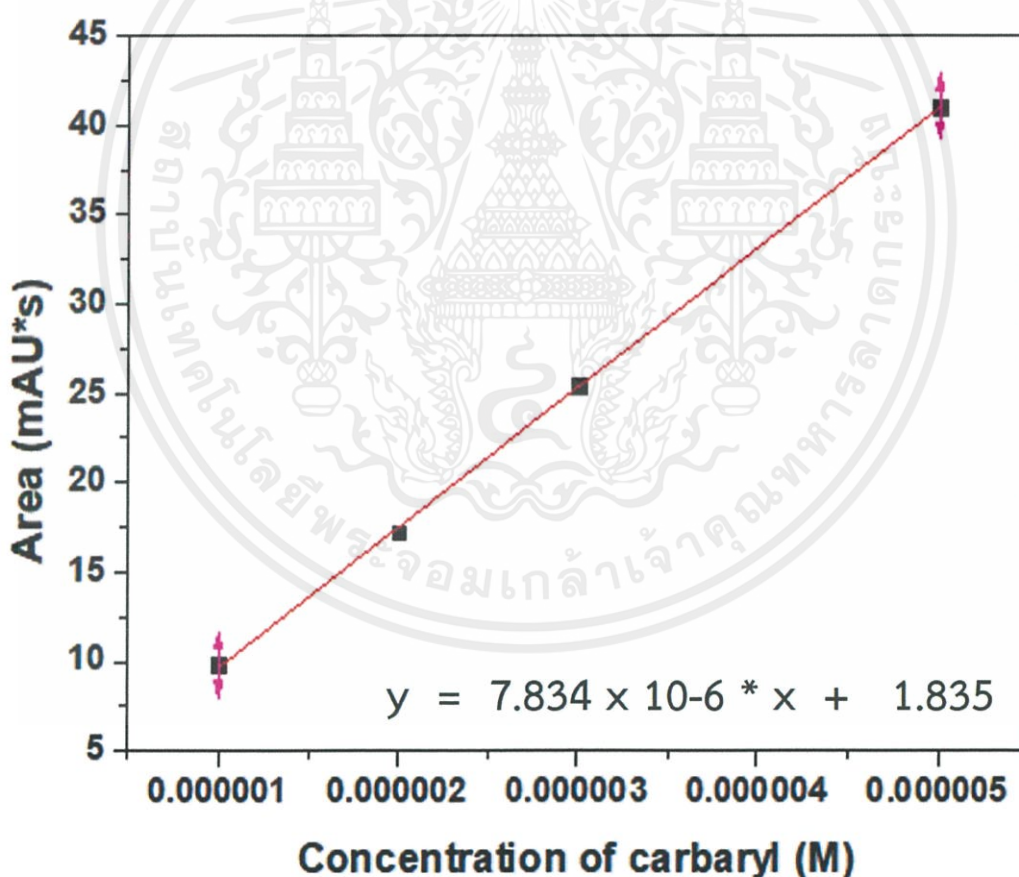


รูปที่ 4.7 โครมาโตแกรมจากการตรวจวิเคราะห์สารคาร์บาริลด้วยเทคนิค HPLC โดยที่  
(a) สารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอลในฟิโซสัฟเฟอร์ (ไม่มีคาร์บาริล) เปรียบเทียบกับ

(b) คาร์บาริลที่ละลายในสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอลในฟิโซสัฟเฟอร์เปรียบเทียบ  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.7 แสดงโครมาโตแกรมที่พลอตระหว่างค่า milli absorbance unit (mAU) ในแกน y กับ retention time (min) ในแกน x ที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายคาร์บาริลที่สารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอลในพีบีเอสบัฟเฟอร์และ สารละลายบัฟเฟอร์ที่ไม่มีคาร์บาริล จากผลการวิเคราะห์พบพีกคาร์บาริลเกิดขึ้นในเวลาที่ 5 นาที ในสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์เอทานอลในพีบีเอสบัฟเฟอร์ไม่มี จะพบแต่พีกในตำแหน่งเวลาประมาณ 2-3 นาที ซึ่งมีค่าต่ำมาก เมื่อเทียบกับพีกของคาร์บาริลที่ตรวจพบที่สูงถึงประมาณ 50 mAU ทางผู้วิจัยจึงเลือกวิเคราะห์ผลพื้นที่ได้กราฟ ณ ตำแหน่งเวลา 5 นาที ซึ่งเป็นพีกที่บ่งบอกถึงสารคาร์บาริล

จากนั้นจึงนำสารละลายคาร์บาริลที่ละลายในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ความเข้มข้นต่างๆ ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของคาร์บาริล โดยทำการพลอตค่าระหว่างพื้นที่ได้กราฟของพีกคาร์บาริล ณ เวลา 5 นาที เทียบกับความเข้มข้นของคาร์บาริล ซึ่งแสดงผลดังรูปที่ 4.8



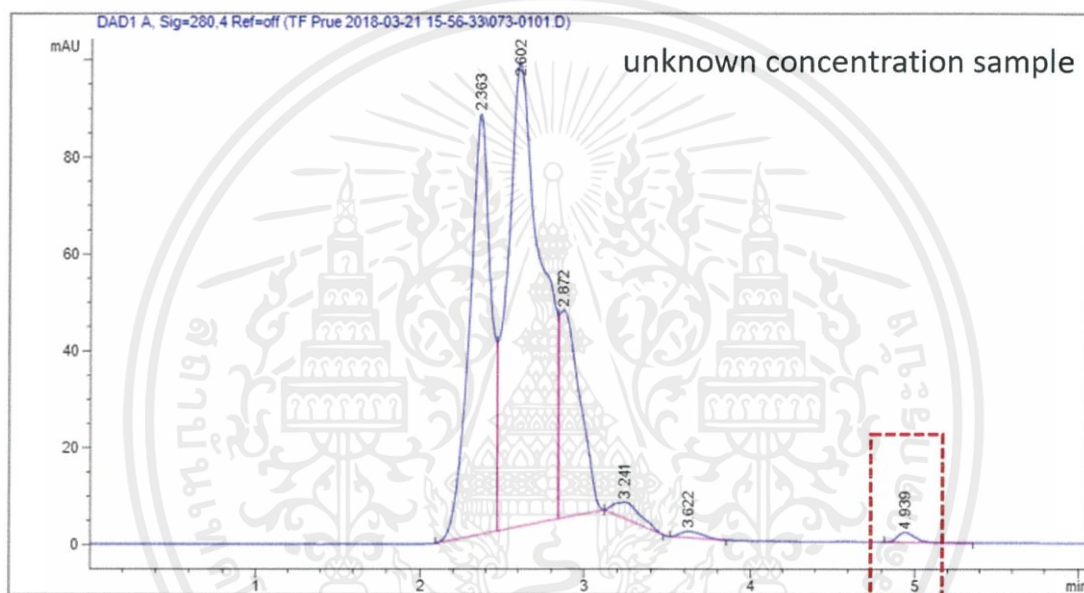
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงผลการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเครื่อง HPLC โดยจะเปรียบเทียบระหว่าง ค่าพื้นที่ได้กราฟของพีกเทียบกับยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการ fit curve หาความสัมพันธ์เชิงเส้นของข้อมูลในรูปที่ 4.8 จะแสดงได้ดังสมการที่ 4.2 โดยมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.996

$$y = 7.834 \times 10^{-6} * x + 1.835 \quad (4.2)$$

จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ผลของน้ำผักสกัดตัวอย่างเดียวกันกับที่ใช้ทำการตรวจวัดด้วยอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต โดยจะใช้เงื่อนไขการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์คาร์บาริลในสารละลายพีอีเอสบีเฟออร์ ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 โครมาโตแกรมจากการตรวจวิเคราะห์สารคาร์บาริลในน้ำผักสกัดโดยเทคนิคHPLC

จากรูปที่ 4.9 แสดงผลการวิเคราะห์น้ำผักสกัดด้วยเครื่อง HPLC โดยพีคที่ทางผู้วิจัยสนใจคือพีคที่เวลา 5 นาที ซึ่งจะมีค่าพื้นที่ใต้กราฟอยู่ที่ 15.5 mAU\*s โดยนำค่าที่ได้มาแทน y ในสมการที่ 4.2 เพื่อหาค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผัก ซึ่งจากการคำนวณจะได้ค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผักที่สกัดอยู่ที่  $3.924 \times 10^{-6}$  โมลาร์ หรือ 0.789 พีพีเอ็ม

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายน้ำผักที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC และอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) มีค่าความเข้มข้นค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดยจากเทคนิค HPLC มีค่า  $3.924 \times 10^{-6}$  โมลาร์ หรือ 0.789 พีพีเอ็ม ส่วนเทคนิค EGFET มีค่า  $3.209 \times 10^{-6}$  โมลาร์ หรือ 0.645 พีพีเอ็ม ซึ่งทางผู้วิจัยได้ทำการคำนวณเพื่อหาความเข้มข้นตั้งของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่อยู่ในน้ำผัก จากการคำนวณได้ค่าความเข้มข้นตั้งต้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผักอยู่ที่  $3.985 \times 10^{-6}$  โมลาร์ หรือ 0.802 พีพีเอ็ม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจากผลเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การการคำนวณหาความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล มีค่าใกล้เคียงกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC และผลจากการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) โดยอาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยจะแสดงค่าการเปรียบเทียบผลในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ตารางเปรียบเทียบความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผัก

ค่าความเข้มข้นยาฆ่าแมลงคาร์บาริลตั้งต้นที่คำนวณได้	ค่าความเข้มข้นยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	ค่าความเข้มข้นยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ตรวจวัดด้วย EGFET
$3.985 \times 10^{-6}$ M (0.802 ppm)	$3.924 \times 10^{-6}$ M (0.789 ppm)	$3.209 \times 10^{-6}$ M (0.645 ppm)

จากตารางที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตโดยอาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์มีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกับเครื่องมือ HPLC และใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นยาฆ่าแมลงตั้งต้นที่คำนวณ ซึ่งสามารถบอกได้ว่าอุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตมีความสามารถในการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลได้ และสามารถพัฒนาต่อเพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดคาร์บาริลในสารตัวอย่างน้ำผักจริงได้

## สรุปผลการทดลอง

## 5.1 สรุปผลการทดลอง

อุปกรณ์หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต (Extended-gate field effect transistor : EGFET) ที่ถูกสร้างขึ้นจะผ่านการทดสอบประสิทธิภาพก่อนนำไปประยุกต์ใช้งาน โดยการทดสอบในสารละลายพีเอช 4, 7 และ 10 เพื่อหาค่าความไว (Sensitivity) ต่อการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของอุปกรณ์เซนเซอร์ ซึ่งค่าความไวหาได้จากค่าความชัน (slope) ในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน โดยจาก EGFET 20 ชิ้นงาน มีค่าความไวเฉลี่ย  $55 \pm 2.54$  มิลลิโวลต์ต่อพีเอช และค่าสัมประสิทธิ์การแปรผัน (Coefficient of variation : CV) อยู่ที่ประมาณ 4.605 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือเป็นค่าที่เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้งาน

การประยุกต์ใช้ EGFET ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลนั้น อาศัยหลักการการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสที่ถูกตรึงอยู่บนบริเวณพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ (Sensing membrane) โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรทจะเกิดการเข้าคู่กับแบบแม่กุญแจและลูกกุญแจ เกิดสารผลิตภัณฑ์เป็นไฮโดรเจนไอออนออกมา เมื่อทำการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ซึ่งคาร์บาริลสามารถเข้าไปยับยั้งการทำงานของตรงตำแหน่ง active site ของเอนไซม์ ทำให้ซับสเตรทไม่สามารถเข้ามาจับตรงตำแหน่ง active site ของเอนไซม์ได้ ทำให้มีปริมาณไฮโดรเจนไอออนในระบบลดลง เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณความต่างศักย์ตามความเข้มข้นของคาร์บาริลที่มีในระบบ ซึ่งรายงานเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยเมื่อความเข้มข้นของคาร์บาริลเพิ่มขึ้น ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ก็เพิ่มขึ้นด้วย โดย EGFET สามารถใช้ตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์ในช่วงความเข้มข้น  $5 \times 10^{-7}$  ถึง  $5 \times 10^{-5}$  โมลาร์ และมีค่าความไวในการตรวจวัดอยู่ที่ 65.838 มิลลิโวลต์ต่อโมลาร์

การทดสอบวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผักจริง ซึ่งทำการสกัดจากถั่วฝักยาวและนำไปตรวจวัดด้วย EGFET ในรูปแบบเดียวกันกับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ละลายในพีเอสบัฟเฟอร์ โดยน้ำสกัดถั่วฝักยาวที่ตรวจวัดให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อยู่ที่ 47.276 ซึ่งนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของคาร์บาริลได้เป็น  $3.209 \times 10^{-6}$  หรือ 0.645 พีพีเอ็ม

การวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลด้วยเทคนิค เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) โดยใช้คาร์บาริลที่ละลายในสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์และคาร์บาริลในน้ำถั่วฝักยาวสกัดไปทดสอบเพื่อหาค่าความเข้มข้นของคาร์บาริลในน้ำผักสกัด โดยการสร้างกราฟมาตรฐานของคาร์บาริลที่พลอตระหว่างค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จาก

โครมาโตแกรม ณ ตำแหน่งพีคที่ 5 นาที เทียบกับค่าความเข้มข้นของคาร์บาริล ผลทดสอบที่ได้พบว่าค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผัก มีค่าประมาณ  $3.924 \times 10^{-6}$  โมลาร์ หรือ 0.789 พีพีเอ็ม ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นที่วัดได้จาก EGFET แล้ว พบว่ามีค่าที่ค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดยมีค่าความแตกต่างคิดเป็น 18.25 เปอร์เซ็นต์ และทางผู้วิจัยได้ทำการคำนวณเพื่อหาความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงตั้งต้นของคาร์บาริลที่อยู่ในน้ำผักที่ทำการสกัด ซึ่งจากผลการคำนวณได้ค่าความเข้มข้นยาฆ่าแมลงคาร์บาริลตั้งต้นอยู่ที่  $3.985 \times 10^{-6}$  โมลาร์ หรือ 0.802 พีพีเอ็ม ซึ่งมีค่าที่ใกล้เคียงกับทั้งสองวิธีที่ทำการทดลอง

เพราะฉะนั้นจึงสรุปได้ว่าอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าแบบส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) ที่สร้างขึ้น มีประสิทธิภาพที่ดี โดยมีค่าความไวอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ และยังสามารถที่จะประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผักจริงได้ และนอกจากนั้นยังมีราคาที่ไม่แพง สามารถพัฒนาให้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดแบบพกพา ใช้แล้วทิ้งได้



## บรรณานุกรม

- [1] Allsop, M., Huxdorff, C., Johnston, P., Santillo, D. and Thompson, K. 2015. Pesticide and our Health A GROWING CONCERN. In Greenpeace.
- [2] Crpenter, M. 1990. Hydrolysis of <sup>14</sup>C-Carbaryl in aqueous solutions buffered at pH 5, 7 and 9. In Department of Pesticide Reulation,Sacramento,CA. 169-218.
- [3] FAO, WHO. 2002. Pesticide residues in food 2002. ISS 0259-2517.
- [4] WHO. 2009. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009
- [5] R&P (Rhone-Poulence Ag Company). 1988. Data Sheet for Carbaryl. In Department of Pesticide Reulation,Sacramento,CA. 196-177
- [6] Miriana B Colovic, Danijela Z Krstic, Tamara D Lazarevic-Pasti, Aleksandra M Bondzic and Vesna M Vasic. 2013. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. In Current Neuropharmacology. 315-335.
- [7] J. Wasilewski , University of Scranton, “ A New Chemical Family of insecticides Exemplified by CONFIRM Selective Caterpillar Control Agent and the Related Selective Control Agent MACH 2 and INTEREPID offers a “ Green ” Altemative to Some of the more Conventionally Used insecticides”. Available from: <http://www.scanton.edu/faculty> (accessed Aug 2017)
- [8] PMG Biology, “Enzymes: understandingfor iGCSE Biology”, 2014
- [9] Prince of songkla University, “Agarose gel” Available from: <http://kb.psu.ac.th> (accessed Sep 2017)
- [10] Li-Lun Chi, Jung-Chuan Chou, Wen-Yaw hung, Tai-Ping Sun, Sben-Kan Hsing. “Study on extended gate field effect transistor with tin oxide sensing membrane”. 2000. In MATERIALS CHEMISTRY AND PHYSICS. 19-23
- [11] Jia-ChyiChen, Portable urea biosensor based on the extended-gate field effect transistor. 2003. In Sensors and Actuators B: Chemical .91

- [12] Jung-Chuan CHOU, Jung-Chan Chou, Tai-Ping Sun, Shen-Kan Hsiung.” Portable urea biosensor based on the extended-gate field effect transistor “. 2003. In SENSOR AND ACTUATORS B CHEMICAL. 180-186
- [13] Elidia MariaGuerra, Extended gate field effect transistor using V2O5 xerogel sensing membrane by sol-gel method, Solid State Sciences(2009), 11  
SENSOR AND ACTUATORS B CHEMICAL
- [14] Songkhla Rajabhat University. “High Performance Liquid Chromatography: HPLC” . Available from: <http://science.skru.ac.th>. (accessed Mar 2018)
- [15] Nirton C.S.Vieira, Dendrimers/TiO<sub>2</sub> nanoparticles layer-by-layer films as extended gate FET for pH detection, Sensors and Actuators B: Chemical (2012),169
- [16] ZheXuShengjunYao, Monitoring Enzyme Reaction and Screening of Inhibitors of Acetylcholinesterase by Quantitative Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Fourier Transform Mass Spectrometry, Journal of the American Society for Mass Spectrometry (2008), 19
- [17] Jung-LungChiang, Hydrogen ion sensors based on indium tin oxide thin film using radio frequency sputtering system, Thin Solid Films (2009), 517
- [18] Li-TeYin, Jung-ChuanChou, Wen-YawChung, Tai-PingSun and Shen-KanHsiung. 2000. Separate structure extended gate H<sup>+</sup>-ion sensitive field effect transistor on a glass substrate. In Sensors and Actuators B: Chemical. 106-111.
- [19] Matsuo, T. and Esashi, M. 1981. Methods of ISFET fabrication. In Sensor and Actuators.77-96
- [20] Simonis, A. Krings, T. Lu.. th, H. Wang, J. 2001. A hybrid thin-film pH sensor with integrated thick-film reference. In Sensor. 83-92
- [21] S. Supanat. “ Ion Sensitive Field Effect Transistor for pesticide detector”.2018
- [22] Pin-ChuanYaoa, Jung-Lung Chiangb and Ming-Chih. Lee. 2014. Application of sol-gel TiO<sub>2</sub> film for an extended-gate H<sup>+</sup> ion-sensitive field-effect transistor. In Solid State Sciences. 47-54.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Curriculum Vitae

Miss NARUENARD LOEDSAPCHINDA

## Personal Information

Address: 212/14 Midmitre Road, Dindaeng, Dindaeng

Thailand 10400 Phone: 096-7906868

Email: Njaikong@gmail.com

Birth date: 13 August 1996 Age: 21

## Education

Educational level	Institution	Major	Year of Graduated	GPA
High school	Matthayom wat thatthong school	Science-Math	2014	3.48
Bachelor's degree	college of Nanotechnology, KMITL	Nanomaterial engineering	2017	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้