

การศึกษาการตรึงโปรตีนอย่างง่ายบนพื้นผิวโดยพอลิเมอร์เชื่อมขวาง  
ด้วยแสงเพื่อการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด

THE STUDY OF SIMPLE PROTEIN IMMOBILIZATION ON  
SUBSTRATE BY PHOTO - CROSSLINKED POLYMER FOR DEVELOPMENT  
AS A BLOOD GROUPING DEVICE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิศวกรรมวัสดุนาโน  
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE STUDY OF SIMPLE PROTEIN IMMOBILIZATION ON  
SUBSTRATE BY PHOTO - CROSSLINKED POLYMER FOR  
DEVELOPMENT AS A BLOOD GROUPING DEVICE



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

2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2018

COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาควิชาภาคนาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี  
 วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 โครงการพิเศษ

หัวข้อโครงการพิเศษ      การศึกษาการตรึงโปรตีนอย่างง่ายบนพื้นผิวโดยพอลิเมอร์เชื่อมขวาง  
 ด้วยแสงเพื่อการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด

Special Project Title      The study of simple protein immobilization on  
 substrate by photo - crosslinked polymer  
 for development as a blood grouping device

นักศึกษา                      นางสาว สิริลักษณ์ เพชรมาศ

รหัสประจำตัว                58110061

ปริญญา                      วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต


ภาควิชา                      นาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี

สาขาวิชา                    วิศวกรรมวัสดุภาคนาโน

ปีการศึกษา                 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา            ผศ.ดร. นงลักษณ์ หวงก้าแหง

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม      .....

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.กนกพร สมพรไพลิน ดร.กนกทิพย์ บุญยรัตกลิน ผศ.ดร. นงลักษณ์ หวงก้าแหง	

ภาควิชาภาคนาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังอนุมัติให้  
 โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมวัสดุภาคนาโน  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดารินี พรหมโยธิน)  
 หัวหน้าภาควิชาภาคนาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี  
 วันที่..... 20 ..... เดือน..... 5.ป. .... พ.ศ. 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	การศึกษาการตรึงโปรตีนอย่างง่ายบนพื้นผิวโดยพอลิเมอร์เชื่อมขวางด้วยแสงเพื่อการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด
นักศึกษา	นางสาวสิริลักษณ์ เพชรมาศ
รหัสประจำตัว	58110061
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมวัสดุนาโน
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นงลักษณ์ หวงกำแหง

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการตรึงโปรตีนอย่างง่ายโดยอาศัยหลักการของการเชื่อมขวางพอลิเมอร์ด้วยแสง (photo cross-link polymer) ของสารเบนโซฟีโนน (benzophenone) เพื่อพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด สารเบนโซฟีโนนเกิดการแตกสลายตัวเมื่อได้รับการฉายแสงยูวี (ultraviolet light) เมื่อเกิดการดูดซับโฟตอนที่มีความยาวคลื่นประมาณ 250 - 365 นาโนเมตร ในกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน ทำให้สารเบนโซฟีโนนเกิดการแตกตัวและมีอนุมูลอิสระ สามารถไปจับกับคาร์บอนของอะตอมข้างเคียง จึงทำให้เกิดการยึดติดบนพื้นผิวได้ การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือดทำได้โดยการเคลือบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ซึ่งมีองค์ประกอบของสารเบนโซฟีโนนลงบนพื้นผิวแผ่นพลาสติก PMMA จากนั้นทำการฉายยูวีเพื่อกระตุ้นให้พอลิเมอร์ PDMAA-MaBP เกิดการสลายตัวและมีอนุมูลอิสระ สามารถจับกับคาร์บอนบนพื้นผิวแผ่นพลาสติก PMMA จากนั้นทำการหยดแอนติบอดีและแอนติบอดีบิลงบนพื้นผิว และนำไปฉายยูวีเพื่อทำให้แอนติบอดีติดบนพื้นผิวผ่านอะตอมของคาร์บอนโดยได้ศึกษาถึงเงื่อนไขต่างๆ ที่มีผลต่อการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว และทำการทดสอบตรวจวัดหมู่เลือดโดยใช้หมู่เลือดเอ บี และโอ จากนั้นเก็บผลการทดสอบด้วยการถ่ายภาพและนำไปวิเคราะห์หาความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวด้วยโปรแกรม Image J ได้จากการทดลอง พบว่าเงื่อนไขต่างๆ ที่เหมาะสมสำหรับการตรึงแอนติบอดี เพื่อตรวจวัดหมู่เลือด คือ ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ใช้ในการเคลือบพื้นผิวที่ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พลังงานยูวีที่ใช้ในการทำให้เกิดการเชื่อมขวางของพอลิเมอร์ 5000 ไมโครจูล พลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี 12500 ไมโครจูล ความเข้มข้นของแอนติบอดี 60 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาของแอนติเจนกับแอนติบอดี 20 นาที นอกจากนี้ยังพบว่าชิ้นงานสามารถเก็บได้เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง และยังสามารถออกแบบสวดลายเพื่อประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือดได้

<b>Special Project Title</b>	THE STUDY OF SIMPLE PROTEIN IMMOBILIZATION ON SUBSTRATE BY PHOTO - CROSSLINKED POLYMER FOR DEVELOPMENT AS A BLOOD GROUPING DEVICE
<b>Student</b>	Miss Sirilux Petmart
<b>Student ID</b>	58110061
<b>Degree</b>	Bachelor of Engineering
<b>Program</b>	Nanomaterial Engineering
<b>Year</b>	2018
<b>Special Project Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Nongluck Hounkhang

## ABSTRACT

This research studied a simple protein immobilization on substrate by the principle of photo cross-linked polymer of benzophenone for development as a blood grouping device. Benzophenone is decomposed when exposes to the ultraviolet (UV) or visible light in the polymerization process. When absorbing photons with a wavelength of about 250 - 365 nm, benzophenone breaks down and free radicals can catch on to the carbon of the neighboring atoms. Blood grouping device was achieved by coating the PDMAA-MaBP polymer which composed of benzophenone on the PMMA substrate. Then this substrate was shined by a UV light to decompose on PMMA substrate. and form the free radicals that can catch on the surrounding carbon atoms. Then antibody-A and antibody-B were dropped on to the surface and passed with the UV light to immobilize the antibodies onto the surface through carbon atoms. The blood group testing was done by using blood samples group A, B and O. The results were collected by taking a photo and measured the blood intensity via the Image J program .The optimal conditions were studied involved with the concentration of the cross-linked polymer 1 mg/ml , UV energy for cross-link of polymer 5000  $\mu$ J, UV energy for immobilizing antibodies 12500  $\mu$ J, concentration of antibody 60 percent by volume and can be stored for a period of at least 7 days at room temperature. Moreover, the pattern of immobilized antibodies was performed for easy reading results and could be applied for portable blood grouping device.

## กิตติกรรมประกาศ

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

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.กนกพร สมพรไพลิน และ ดร.กนกทิพย์ บุญยรัตกลิน ประธานและกรรมการสอบ ที่ให้คำชี้แนะและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สำเร็จได้ด้วยความสำเร็จด้วยความเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. เต็มศักดิ์ ศรีศิริรินทร์ และ หน่วยเสริมสร้างศักยภาพทางนาโนศาสตร์ และนาโนเทคโนโลยี (NANO) ที่สนับสนุนอุปกรณ์ และสารที่นำมาในใช้งานต่างๆ

ขอขอบพระคุณ อาจารย์วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังทุกท่าน ที่ให้ความรู้และชี้แนะแนวทางการดำเนินชีวิต

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง ที่สร้างประสบการณ์ดีๆ ในการทำงานวิจัย และในการใช้ชีวิตในรั้วสถาบันนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณพ่อแม่ ญาติพี่น้อง และผู้อยู่เบื้องหลังทุกท่าน ที่คอยให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน จนทำให้ดิฉันประสบความสำเร็จต่อการศึกษาและงานวิจัยในครั้งนี้

สิริลักษณ์ เพชรมาศ

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ii
กิตติกรรมประกาศ.....	iii
สารบัญ.....	iv
สารบัญรูป.....	v
สารบัญรูป(ต่อ).....	vi
สารบัญรูป(ต่อ).....	vii
สารบัญตาราง.....	xii
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	3
1.3 สมมติฐานงานวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตการดำเนินการ.....	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
1.6 แผนการดำเนินงานวิจัย.....	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการทํางาน.....	6
2.1 เซนเซอร์และไบโอสเซนเซอร์.....	6
2.1.1 ส่วนประกอบของไบโอสเซนเซอร์.....	8
2.1.2 หลักการทํางานของไบโอสเซนเซอร์.....	9
2.1.3 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้ไบโอสเซนเซอร์.....	10
2.1.4 คุณลักษณะของไบโอสเซนเซอร์.....	11
2.2 เลือด (blood).....	12

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.1 ส่วนประกอบของเลือด .....	13
2.3 การจำแนกหมู่เลือดในระบบ ABO .....	17
2.3.1 หมู่เลือดในระบบ ABO .....	17
2.3.2 หมู่เลือดในระบบ Rh .....	18
2.3.3 หลักในการให้เลือดในหมู่ ABO .....	19
2.3.4 หลักในการให้เลือดในหมู่ Rh .....	21
2.4 แอนติบอดีหรือสารภูมิกัมกัน (Antibody) .....	22
2.4.1 โครงสร้างแอนติบอดี .....	22
2.4.2 ชนิดของแอนติบอดี .....	23
2.5 Poly(methyl methacrylate) .....	25
2.5.1 การพัฒนาอะคริลิก .....	26
2.5.2 สมบัติอะคริลิก .....	27
2.5.3 ประโยชน์อะคริลิก .....	27
2.6 พอลิเมอร์เชื่อมขวางด้วยแสง (Photo cross-link Polymer) .....	29
2.7 การทบทวนวรรณกรรม (Literature Reviews) .....	32
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย .....	34
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย .....	35
3.1.1 สารเคมีและสารชีวโมเลกุลในการวิจัย .....	35
3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย .....	36
3.1.3 เครื่องมือวิเคราะห์ผลในงานวิจัย .....	36
3.2 วิธีการเตรียมสารละลายต่างๆ .....	36
3.2.1 การเตรียมสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ .....	36
3.2.2 การเตรียมสารละลายพอลิเมอร์ไวแสงสำหรับเคลือบผิว (coating polymer) .....	36

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.3 การเตรียมสารตัวอย่างเลือด .....	37
3.3 การเคลือบพื้นผิวพลาสติกด้วยพอลิเมอร์ไวแสง (coating polymer) และการตรึงแอนติบอดีลงบนพื้นผิว.....	37
3.3.1 การทำความสะอาดแผ่นพลาสติก .....	37
3.3.2 การเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer).....	37
3.3.3 การกระตุ้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวี .....	37
3.3.4 การตรึงแอนติบอดีลงบนชิ้นงาน .....	38
3.4 การทดสอบตรวจวัดหมู่เลือด .....	40
3.4.1 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของพอลิเมอร์ไวแสงที่เคลือบบนพื้นผิวที่เหมาะสม ...	41
3.4.2 การตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว .....	41
3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของการติดเลือด.....	43
3.5 การวิเคราะห์ทดสอบพื้นผิวพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer... 48	
3.5.1 การวัดมุมสัมผัสของน้ำ (contact angle) .....	48
3.5.2 การวัดค่าการส่องผ่านของแสง (%Transmission; %T) .....	49
3.5.3 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).....	49
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	51
4.1 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของพอลิเมอร์ไวแสงสำหรับเคลือบบนพื้นผิว.....	51
4.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติพื้นผิวพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer.....	58
4.2.1 การวัดมุมสัมผัสของน้ำ (contact angle) .....	58

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.2 การวัดค่าการส่องผ่านของแสง (Transmission; %T).....	61
4.2.3 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).....	63
4.3 การตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว .....	65
4.3.1 การหาค่าพลังงาน UV ที่เหมาะสมในการสร้างพันธะเชื่อมขวางของ Coating Polymer .....	65
4.3.2 การเลือกพลังงาน UV ที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี.....	71
4.3.3 การเลือกความเข้มข้นแอนติบอดีที่เหมาะสม .....	76
4.4 การทดสอบประสิทธิภาพการติดเลือด.....	81
4.4.1 การทดสอบระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดและแอนติบอดีบนพื้นผิว.....	81
4.4.2 การทดสอบระยะเวลาการเก็บชิ้นงาน.....	86
4.4.3 การทดสอบการติดของเลือดแบบจำเพาะและไม่จำเพาะเพื่อสร้างเป็นตัวอักษร.....	88
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	90
บรรณานุกรม.....	93
ประวัติผู้เขียน.....	95

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างและหลักการการทำงานของไปโอเซนเซอร์ .....	7
2.2 องค์ประกอบของไปโอเซนเซอร์ .....	8
2.3 แสดงองค์ประกอบของไปโอเซนเซอร์ .....	10
2.4 ส่วนประกอบของเลือด .....	13
2.5 เซลล์เม็ดเลือดแดง .....	13
2.6 เซลล์เม็ดเลือดขาว .....	15
2.7 อิเล็กตรอนไมโครกราฟของเกล็ดเลือด .....	16
2.8 น้ำเลือด .....	16
2.9 แสดงข้อมูลการจำแนกโลหิตในระบบ ABO .....	18
2.10 แสดงโครงสร้าง Rh+ และโครงสร้าง Rh- .....	18
2.11 ตารางเทียบหมู่เลือด ABO และ Rh .....	19
2.12 แผนภาพแสดงการให้และรับเลือด .....	21
2.13 แผนภาพแสดงโครงสร้างพื้นฐานของอิมมูโนโกลบูลิน .....	23
2.14 แผนภาพแสดงโครงสร้าง Polymer(methylmethacrylate) .....	25
2.15 วัสดุอะคริลิก .....	26
2.16 การเตรียมเมทิลไครเลตมอนอเมอร์ .....	27
2.17 อุโมงค์ไดน้ำที่ทำจากพลาสติกอะคริลิก .....	28
2.18 แสดงปฏิกิริยาการแตกตัวของเบนโซอินอีเธอร์โดยแสง .....	29
2.19 แสดงปฏิกิริยาการแตกตัวของเบนโซฟีโน .....	30
2.20 สมการการแยกสลายเบนโซฟีโน .....	30
3.1 แผนผังแสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย .....	34
3.2 โครงสร้าง PDMAA-MaBP Polymer .....	35
3.3 แผนภาพแสดงขั้นตอนการตรึง Polymer ลงบนพื้นผิวพลาสติก .....	38
3.4 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมแอนติบอดีลงบนชิ้นงาน .....	39
3.5 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นงานและทดสอบเลือด .....	40
3.6 แผนภาพจำลองการติดของเซลล์เม็ดเลือดแดงบนชิ้นงาน .....	43

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.7 ภาพแสดงการจับกันแบบจำเพาะของแอนติบอดีกับหมู่เลือดเอ.....	45
3.8 ภาพแสดงการจับกันแบบจำเพาะของแอนติบอดีกับหมู่เลือดบี.....	45
3.9 ภาพแสดงการจับแบบไม่จำเพาะของแอนติบอดี A, B กับหมู่เลือด O.....	46
3.10 การอ่านค่า Mean Control.....	47
3.11 การอ่านค่า Mean Intensity.....	48
4.1 ภาพแสดงการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงกับแอนติบอดี บนพื้นผิวที่ถูกเคลือบ ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.05, 0.1, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร.....	52
4.2 กราฟแสดงค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอบนพื้นผิว เปรียบเทียบกับบน พื้นผิวที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	54
4.3 กราฟแสดงค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่บีบนพื้นผิว เปรียบเทียบกับบนพื้นผิวที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	55
4.4 กราฟแสดงค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่โอบนพื้นผิว พื้นผิวที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	57
4.5 ภาพแสดงการวัดมุมสัมผัสของน้ำบนพื้นผิว PMMA หลังเคลือบด้วยพอลิเมอร์.....	59
4.6 แสดงค่ามุมสัมผัสของน้ำบนพื้นผิว PMMA หลังการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	60
4.7 แสดงค่าการส่องผ่านของแสง (%Transmission) บนพื้นผิว PMMA ที่ผ่านการ เคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ A.การวัดค่าการส่อง ผ่านของแสงที่ความเข้มต่างกัน B.วัดค่าการส่องผ่านแสง (%T) ในช่วง 400-650 นาโนเมตร.....	62
4.8 แสดงค่าการส่องผ่านของแสง (%Transmission) บนพื้นผิว PMMA ที่ผ่าน การเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆในช่วงความ ยาวคลื่น 575.....	63
4.9 แสดงมุมฟังก์ชันของโมเลกุลบนพื้นผิว PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย PDMAA -MaBP coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	64

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.10 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย Polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวีแตกต่างกันที่ 2000 3000 5000 7000 และ 10,000 ไมโครจูล และตรึงด้วยแอนติบอดีเอและบีบี.....	66
4.11 ค่า % Intensity ที่วัดได้จากการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบีจากชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย coating polymer โดยใช้พลังงานยูวีที่แตกต่างกัน โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบด้วยเลือดเอ บี และโอ จำนวน 3 ชิ้นงาน A.ทดสอบเลือดหมู่เอ B.ทดสอบเลือดหมู่บี C.ทดสอบเลือดหมู่โอ.....	67
4.12 ปฏิกริยาการแตกตัวของเบนโซฟีโนนเมื่อทำการกระตุ้นด้วยแสงยูวี.....	70
4.13 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล และตรึงด้วยแอนติบอดีเอและบีที่พลังงานยูวีแตกต่างกันที่ 5000 7500 10,000 12,500 15,000 และ 17,500 ไมโครจูล.....	72
4.14 ค่า % Intensity ที่วัดได้จากการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบี จากชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย coating polymer โดยใช้พลังงานยูวี ในการตรึงแอนติบอดีที่แตกต่างกันโดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบด้วยเลือดเอ บี และโอ จำนวน 3 ชิ้นงาน A.ทดสอบหมู่เลือดเอ B.ทดสอบหมู่เลือดบี C.ทดสอบหมู่เลือดโอ.....	74
4.15 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ตรึงด้วยแอนติบอดีเอและบีที่พลังงานยูวี 12,500 ไมโครจูล และความเข้มข้นแอนติบอดีที่แตกต่างกัน 30 %, 60 %, 80% และ 100%.....	77
4.16 ค่า % Intensity ที่วัดได้จากการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิวแอนติ บอดีเอและบี จากชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย coating polymer โดยใช้ความเข้มข้นแอนติบอดีที่แตกต่างกันโดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบด้วยเลือดเอ บี และโอ จำนวน 3 ชิ้นงาน A.ทดสอบเลือดเอ B.ทดสอบเลือดบี C.ทดสอบเลือดโอ.....	79

## สารบัญญรูป(ต่อ)

รูปที่

หน้า

- 4.17 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ตรึงด้วยแอนติบอดีเอ และบีที่พลังงานยูวี 12,500 ไมโครจูล ความเข้มข้นแอนติบอดีที่แตกต่างกัน 60 % และระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวที่ต่างกัน.....82
- 4.18 ค่า % Intensity ที่วัดได้จากการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิวแอนติ บอดีเอและบี จากชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย coating polymer โดยใช้ความระยะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีที่แตกต่างกันโดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบด้วยเลือดเอ บี และโอ จำนวน 3 ชิ้นงาน A.ทดสอบเลือดเอ B.ทดสอบเลือดบี C.ทดสอบเลือดโอ.....84
- 4.19 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ตรึงด้วยแอนติบอดีเอ และบีที่พลังงานยูวี 12,500 ไมโครจูล ความเข้มข้นแอนติบอดีที่ 60 % ระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิว 20 นาที และใช้ระยะเวลาในการเก็บชิ้นงาน โดยใช้สารคงสภาพ (Stabilization) ที่แตกต่างกัน.....87
- 4.20 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ตรึงด้วยแอนติบอดีเอ และบีที่พลังงานยูวี 12,500 ไมโครจูล สร้างเป็นรูปแบบตัวอักษรด้วยความเข้มข้นแอนติบอดี 60 % ระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 20 นาที.....89

# สารบัญ

ตารางที่	หน้า
1. ตารางแผนดำเนินงานวิจัยแผนที่ 1 (สิงหาคม-ธันวาคม พ.ศ.2561).....	5
2. ตารางแผนดำเนินงานวิจัยแผนที่ 2 (มกราคม-พฤษภาคม พ.ศ.2562).....	5



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

การตรวจสอบหมู่เลือด (blood typing) เป็นขั้นตอนสำคัญสำหรับการให้เลือด (blood transfusion) ในกรณีผู้ป่วยที่เสียเลือดมากไม่ว่าจะสาเหตุจากอุบัติเหตุหรือจากการผ่าตัด ซึ่งจะต้องได้รับเลือดจากผู้บริจาค (donor) หากการให้เลือดจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกบุคคลหนึ่งไม่ถูกต้องตรงหมู่ จะทำให้เกิดอันตรายที่ร้ายแรงตามมาได้ อาทิเช่น การถ่ายเลือดผิดหมู่ จะเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (Antigen–Antibody) จับกลุ่มกันตกตะกอน (Agglutination) ซึ่งต่างจากการแข็งตัวของเลือดเมื่อเกิดบาดแผล เรียกว่า Coagulation ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อให้เลือดผิดหมู่ เรียกว่า hemolytic transfusion reaction เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อมีการให้และรับเลือดที่ผิดหมู่ เมื่อผู้ให้และผู้รับมีเลือดที่เข้ากันไม่ได้จะทำให้เซลล์อื่นๆ และเม็ดเลือดแดง เกิดการแตกทำลายเม็ดเลือดแดงอย่างฉับพลัน ก่อให้เกิดการอุดตันในระบบไหลเวียนของเลือด ส่งผลให้ร่างกายขาดออกซิเจน มีความดันโลหิตต่ำ และอาจเกิดภาวะไตล้มเหลวฉับพลันได้ โดยอาการเบื้องต้นของผู้ป่วยที่ได้รับการถ่ายเลือดที่ผิดหมู่ เมื่อมีการถ่ายเลือดเพียง 2-3 นาที จะแสดงอาการออกมาชัดเจนคือ มีความดันโลหิตต่ำ เกิดอาการช็อก มีอาการแน่นหน้าอก ปวดบริเวณบั้นเอวและขา ในบางรายอาจเกิดการเสียชีวิตได้ เพราะฉะนั้นการให้เลือดโดยทั่วไปจะให้เลือดกับคนที่มีเลือดหมู่เดียวกันจะปลอดภัยที่สุด การให้เลือดจะไม่ให้แอนติเจนของผู้ให้ตรงกับแอนติบอดีของผู้รับเด็ดขาด ไม่เช่นนั้นจะทำให้เกิดการตกตะกอน ยกตัวอย่างเช่น คนที่หมู่เลือด A จะมีแอนติเจน A และมีแอนติบอดี B ดังนั้นคนหมู่เลือด A ไม่สามารถให้เลือดแก่คนที่หมู่เลือด B ได้เพราะหมู่เลือด B มีแอนติเจน B และแอนติบอดี A (แอนติเจนตรงกับแอนติบอดีของผู้รับ) เลือดจะตกตะกอน โดยความเสี่ยงที่อาจก่อให้เกิดการถ่ายเลือดที่ผิดหมู่ อาจมาจากการนำเลือดไปให้ผิดคน ความผิดพลาดทางด้าน cross-matching หรือการเจาะ grouping matching ผิดคน เพราะฉะนั้นแล้ว หลักในการพิจารณาหาเลือดที่เหมาะสมและเข้ากันได้กับผู้ป่วยที่ต้องได้รับเลือดเพื่อการรักษาภาวะผิดปกติของร่างกาย เพื่อไม่ให้เกิดผลข้างเคียงจากการรับเลือดจึงมีความสำคัญอย่างมาก [1]

โดยการตรวจสอบหมู่เลือดในปัจจุบัน ซึ่งสามารถเห็นได้จากการไปบริจาคเลือดตามโรงพยาบาล จะมีการตรวจสอบหมู่เลือดเบื้องต้น ณ จุดตรวจ เพื่อจำแนกหมู่เลือดของบุคคลว่าเป็นหมู่เลือดใด และสามารถบริจาคได้หรือไม่ โดยมีวิธีการคือทำการหยดแอนติบอดีเอ และ แอนติบอดีบีบนกระจกสไลด์ และเจาะเลือดด้วยปลายเข็มขนาดเล็กที่ปลายนิ้วผู้บริจาค จากนั้นนำเลือดมาหยดลงบนกระจกสไลด์ และตรวจสอบผลการตกตะกอน ซึ่งบ่งบอกถึงการจับตัวกันของกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีที่จำเพาะกับหมู่เลือดนั้นๆ โดยการแปรผลคือ บุคคลที่มีหมู่เลือดเอ จะเห็นการ

ตกตะกอนของเลือดกับแอนติบอดีเอ แต่ไม่เกิดการตกตะกอนกับแอนติบอดีบี บุคคลหมู่เลือดบี จะเห็นการตกตะกอนของเลือดกับแอนติบอดีบี แต่ไม่เกิดการตกตะกอนกับแอนติบอดีเอ ส่วนบุคคลหมู่เลือดเอบี จะเห็นการตกตะกอนในแอนติบอดีทั้งสองชนิด และบุคคลหมู่เลือดโอ จะไม่เห็นการตกตะกอนของเลือดในแอนติบอดีทั้งสองชนิด [2] การตรวจสอบหมู่เลือดระบบเอบีโอ (ABO blood typing) โดยทั่วไป เช่น การตรวจสอบหมู่เลือดโดยการใช้หลอดทดลอง ซึ่งเทคนิคนี้เป็นเทคนิคมาตรฐานทั่วไปที่นิยมใช้ โดยจะใช้น้ำแอนติบอดีที่มีความเข้มข้นค่อนข้างมาก ราคาแพง ใช้เวลานานในการทดสอบตรวจวัดหมู่เลือด และวัสดุอุปกรณ์ที่นำมาใช้ที่มีจำนวนมาก หรือการตรวจสอบหมู่เลือดด้วยไมโครเพลท มีความสะดวก ทำได้รวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่าย หรือแม้กระทั่งการตรวจวัดหมู่เลือดบนกระดาษ [3] การตรวจสอบหมู่เลือดของผู้บริจาคเลือดตามโรงพยาบาลหรือห้องปฏิบัติการ หรือแม้กระทั่งการตรวจสอบหมู่เลือดเบื้องต้นในพื้นที่ห่างไกลที่ขาดแคลนเครื่องมือ ในปัจจุบันนิยมใช้วิธีการตกตะกอนเลือดบนสไลด์ (slide test) ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่าย แต่การตรวจจำเป็นต้องใช้น้ำยาแอนติบอดีที่ต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสม ไม่เช่นนั้นจะทำให้ น้ำยาที่มีโปรตีนอยู่ด้านใน เกิดการเสื่อมสภาพได้ ซึ่งน้ำยาที่ใช้อยู่ในรูปสารละลาย อาจทำให้เกิดการหก ขณะใช้งาน หรือไม่สะดวกต่อการปฏิบัติงาน และมีการใช้กระจกสไลด์เป็นตัวชิ้นงาน อาจมีการแตกของกระจกสไลด์และเกิดอุบัติเหตุขณะปฏิบัติงานได้ และการอ่านผลหมู่เลือดจากตัวอย่างที่นำมาตรวจ หากมีจำนวนตัวอย่างที่มากอาจเกิดความล่า เกิดความคลาดเคลื่อนในการตรวจสอบจากผู้ปฏิบัติงานได้ (human error) และเมื่ออ่านผลหมู่เลือดแล้ว จำเป็นที่จะต้องล้างอุปกรณ์ตรวจหมู่เลือดทันที ไม่สามารถเก็บผลการตรวจไว้ได้ [4]

หลักการ Photo cross-link polymer เป็นกระบวนการเกี่ยวกับพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) เริ่มต้นด้วยหมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive specy) หมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยาอาจเป็นอนุมูลอิสระ เรียกว่า (free radical) หมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยาเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลมอนอเมอร์ จะทำการแตกพันธะพาย ( $\pi$ -bond) ของมอนอเมอร์ให้เกิดการแตกออก กลไกเหล่านี้สามารถเกิดขึ้นได้โดยตัวเริ่มปฏิกิริยาที่แตกตัวโดยใช้แสง (photo initiator) จะใช้สารเบนโซฟีโนน (benzophenone) ทำการกระตุ้นด้วยแสงยูวี (ultraviolet light) ให้เกิดปฏิกิริยาการแตกสลายตัวของพันธะแล้วเกิดธาตุคาร์บอนอิสระจับกับอะตอมข้างเคียงในหลักการเดียวกันสามารถตรึงโปรตีนลงบนพื้นผิวแล้วทำการกระตุ้นด้วยด้วยแสงยูวี (ultraviolet light) ก็จะทำให้พอลิเมอร์ที่เคลือบบนพื้นผิวสามารถจับกับโปรตีนได้จึงเกิดการยึดติดบนพื้นผิวเกิดขึ้น

โดยทางผู้วิจัยนี้ได้สังเกตเห็นถึงข้อดีของพัฒนาชิ้นงานสำหรับใช้ในการตรวจสอบหมู่เลือดแบบพกพาได้ เพื่อให้เหมาะกับการใช้งานการตรวจสอบหมู่เลือดในปริมาณมาก หรือการตรวจสอบหมู่เลือดในพื้นที่ห่างไกล ที่สามารถรู้ผลได้ ณ จุดตรวจ โดยทำการสร้างชิ้นงานตรวจสอบหมู่เลือดที่ทำจากแผ่นพลาสติกที่มีราคาถูก และทำการตรึงสารแอนติบอดีลงบนพื้นผิวด้วยพันธะโควาเลนต์โดยใช้

พอลิเมอร์ไวแสง ซึ่งมีข้อดีคือ เป็นวิธีการตรึงสารที่ง่าย ไม่ซับซ้อน และสามารถนำชิ้นงานไปใช้งานในการตรวจสอบหมู่เลือดได้ โดยไม่ต้องทำการหยดน้ำยาแอนติบอดีใหม่ทุกครั้งที่ต้องตรวจสอบ ทั้งยังใช้น้ำยาแอนติบอดีในปริมาณน้อย โดยทำการทดสอบหาเงื่อนไขต่างๆ ที่เหมาะสมสำหรับการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิวพลาสติก เช่น ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ไวแสง พลังงานที่ใช้ในการสร้างพันธะเชื่อมขวางพอลิเมอร์ไวแสงบนพื้นผิวพลาสติก พลังงานที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีในชั้นพอลิเมอร์ รวมถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของแอนติบอดีและเซลล์เม็ดเลือดแดง หลักการทำงานของชิ้นงานคือเมื่อนำเลือดที่ต้องการตรวจสอบหยดลงบนพื้นผิวที่ถูกตรึงด้วยแอนติบอดี ถ้าหากเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้นมีแอนติเจนสามารถเกิดปฏิกิริยาจับกันได้กับแอนติบอดีบนพื้นผิว ผลที่เกิดขึ้นจะเห็นเป็นสีแดงตรงบริเวณที่เกิดการจับกันของแอนติบอดีและแอนติเจน ส่วนกรณีที่มีเม็ดเลือดแดงนั้นไม่มีแอนติเจนที่สามารถเกิดปฏิกิริยาการจับกันกับแอนติบอดีบนพื้นผิว จะถูกชะให้หลุดออกจากพื้นผิวด้วยการใช้บัฟเฟอร์ ซึ่งทำการอ่านผลด้วยตาเปล่า และสามารถใช้โปรแกรม Image J ในการวัดค่าความเข้มบริเวณที่มีการติดของเซลล์เม็ดเลือดแดงบนพื้นผิวเปรียบเทียบกับบริเวณที่ไม่มีการติดของเซลล์เม็ดเลือด โดยชิ้นงานที่ทำการพัฒนาสามารถออกแบบให้ได้ชิ้นงานขนาดเล็ก อ่านผลเบื้องต้นได้โดยไม่ต้องอาศัยความชำนาญ และสามารถเก็บชิ้นงานไว้วิเคราะห์ในภายหลังได้

## 1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อศึกษาเงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับการตรึงแอนติบอดีลงบนพื้นผิวพลาสติกโดยอาศัยพอลิเมอร์เชื่อมขวางด้วยแสง (photo cross-linked polymer)
- 1.2.2 เพื่อศึกษาปฏิกิริยาการจับตัวแบบจำเพาะเจาะจงและไม่จำเพาะเจาะจงของแอนติบอดีบนพื้นผิวและแอนติเจนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดง
- 1.2.3 เพื่อสร้างชิ้นงานตรวจสอบหมู่เลือดระบบเอบีโอแบบพกพาได้

## 1.3 สมมติฐานงานวิจัย

ชิ้นงานตรวจสอบหมู่เลือดที่ทำจากพลาสติก สามารถรองรับการตรึงแอนติบอดีลงบนพื้นผิวได้ โดยอาศัยพอลิเมอร์เชื่อมขวางด้วยแสง ซึ่งทำให้แอนติบอดีถูกตรึงลงบนพื้นผิวอย่างแข็งแรงผ่านพันธะโควาเลนต์ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาการจับแบบจำเพาะเจาะจงของแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวได้ ทำให้อ่านผลการจำแนกหมู่เลือดได้ชัดเจนและมีประสิทธิภาพ

## 1.4 ขอบเขตการดำเนินการ

- 1.4.1 ทดสอบหาความเข้มข้นของพอลิเมอร์เคลือบพื้นผิว (coating polymer) ที่เหมาะสม
- 1.4.2 ทดสอบหาพลังงานในการฉายแสงยูวีที่เหมาะสมสำหรับทำให้เกิดการเชื่อมขวางของพอลิเมอร์กับพื้นผิว
- 1.4.3 ทดสอบหาพลังงานในการฉายแสงยูวีที่เหมาะสมสำหรับการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว
- 1.4.4 ทดสอบความเข้มข้นของแอนติบอดีที่เหมาะสม
- 1.4.5 ทดสอบระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของเซลล์เม็ดเลือดแดงกับแอนติบอดีบนพื้นผิว
- 1.4.6 ทดสอบการเก็บรักษาชิ้นงาน
- 1.4.7 ประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือดโดยแสดงผลเป็นตัวอักษร

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 ได้ความรู้ในการตรึงโปรตีนบนพื้นผิวโดยอาศัยพอลิเมอร์เชื่อมขวางด้วยแสง
- 1.5.2 ได้ชิ้นงานตรวจสอบหมู่เลือดแบบพกพาได้ ใช้งานสะดวก
- 1.5.3 การใช้งานอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือดได้ง่ายขึ้น

## 1.6 แผนการดำเนินงานวิจัย

ตารางที่ 1 ตารางแผนดำเนินงานวิจัยแผนที่ 1 (สิงหาคม-ธันวาคม พ.ศ.2561)

ขั้นตอนการดำเนินงาน	ระยะเวลาในการทำงาน				
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.
1. ศึกษาค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับพอลิเมอร์, การตรึงแอนติบอดี และพลังงานยวี่					
2. การทดสอบเบื้องต้นของปฏิกิริยาการจับกันของหมู่เลือดกับแอนติบอดี					
3. ทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเคลือบพอลิเมอร์ไวแสงลงบนพื้นผิวพลาสติก					
4. ทดสอบหาพลังงานยวี่ที่เหมาะสมสำหรับการเชื่อมขวางพอลิเมอร์ (cross-linked polymer)					

ตารางที่ 2 ตารางแผนดำเนินงานวิจัยแผนที่ 2 (มกราคม-พฤษภาคม พ.ศ.2562)

ขั้นตอนการดำเนินงาน	ระยะเวลาในการทำงาน				
	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.
7. ศึกษาและทดสอบพลังงานยวี่ที่เหมาะสมสำหรับการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว					
8. ศึกษาความเข้มข้นของแอนติบอดี					
9. ทดสอบระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของเซลล์เม็ดเลือดแดงกับแอนติบอดีบนพื้นผิว					
10. ทดสอบการเก็บรักษาชิ้นงาน					
11. เลือกเงื่อนไขที่ดีที่สุด เพื่อนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือดโดยแสดงผลเป็นตัวอักษร					
12. สรุปผลและดำเนินการเขียนเล่มวิจัย					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและหลักการทำงาน

ในบทนี้ได้ทำการศึกษารวบรวมหลักการต่างๆ และองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับอุปกรณ์ตรวจวัด หมู่เลือด เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการทำงานของไบโอเซนเซอร์ ซึ่งมีหลักและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

### 2.1 เซนเซอร์และไบโอเซนเซอร์

เซนเซอร์เป็นอุปกรณ์ที่สามารถใช้ในการตรวจวัดหรือตรวจจับ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมี เช่น อุณหภูมิ มวล แรงดัน แสง และอื่นๆ รวมถึงการช่วยวิเคราะห์ข้อมูลได้อย่างรวดเร็ว หรืออาจกล่าวได้ว่า ตามเวลาที่เกิดได้จริง ซึ่งเซนเซอร์ที่สามารถเห็นได้โดยทั่วไป ยกตัวอย่างเช่น เซนเซอร์ตรวจจับการเคลื่อนไหว เซนเซอร์วัดอุณหภูมิความชื้นในอากาศ เซนเซอร์ตรวจวัดอุณหภูมิในร่างกาย เซนเซอร์ประตูอัตโนมัติ อุปกรณ์วัดการนำไฟฟ้า อุปกรณ์วัดความเร็วลม อุปกรณ์ตรวจวัดความชื้นในอากาศ และอื่นๆ อีกมากมาย ซึ่งดังนั้นก็เห็นได้ว่าอุปกรณ์ตรวจจับหรือเซนเซอร์นั้น มีอยู่ทุกที่ และเราสามารถพบได้ในชีวิตประจำวัน โดยถ้าทำการเปรียบเทียบกับร่างกาย ตา ก็เปรียบเสมือนเซนเซอร์แสง การรับภาพ การมองเห็น ทำให้ประมวลลักษณะความเข้มสี และแสงต่างๆ มือ จะเปรียบได้กับเซนเซอร์ที่ใช้ตรวจวัดทางกายภาพ ทางสัมผัส โดยรับรู้รูปร่าง และรูปทรงต่างๆ หรือแม้กระทั่งลักษณะของสสาร ลิ่น เป็นอีกหนึ่งเซนเซอร์ที่มีความสำคัญ โดยเป็นเซนเซอร์ตรวจจับรสชาติของเครื่องดื่ม และอาหาร โดยมีเอนไซม์ในปาก มีปุ่มรับรสต่างๆที่สัมผัสถึงความแตกต่างของรสชาติ และอีกหนึ่งเซนเซอร์ร่างกายที่มีความสำคัญมากคือ จมูก โดยสามารถเปรียบได้กับเซนเซอร์ตรวจวัดแก๊ส และสามารถระบุได้ว่า มีกลิ่นเป็นกลิ่นอะไร

ซึ่งในปัจจุบันได้ทำการออกแบบเซนเซอร์มากมายหลายอย่าง เพื่อนำมาอำนวยความสะดวกสบายให้แก่ผู้ใช้งาน และเพื่อนำมาใช้งานให้ทันยุคสมัยของเทคโนโลยีสมัยใหม่ เพราะฉะนั้นเซนเซอร์ที่ได้ถูกคิดค้นและประดิษฐ์ขึ้นมานั้น ประหนึ่งว่าเป็นการจำลองประสาทสัมผัสทั้งห้าของมนุษย์ เพื่อนำสิ่งเหล่านั้นมาใช้งานทดแทนกัน ยกตัวอย่างเช่น เซนเซอร์ลิ้นอิเล็กทรอนิกส์ (E-tongue) เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพอาหาร หรือนำไปใช้เป็นงานเพื่อตรวจวัดคุณภาพของสารละลายต่างๆ ยกตัวอย่างเช่น ความสะอาดของแหล่งน้ำ ดังนั้นจึงมีการเกิดเป็นไบโอเซนเซอร์ขึ้นมาเพื่อตรวจวัดสารทางชีวภาพ

ไบโอเซนเซอร์เป็นระบบในการตรวจวัดปริมาณของสารแบบหนึ่ง โดยนำสารที่มีความสามารถในด้านการทำปฏิกิริยาได้อย่างจำเพาะเจาะจงกับสารที่เป็นสารตัวอย่างที่ต้องการศึกษา และวิเคราะห์ โดยนำมาตรึงกับตัวตรวจจับหรือตัวทรานสดิวเซอร์(Transducer) ที่เหมาะสมกับรูปสัญญาณและชนิดของสัญญาณที่เกิดขึ้นจากผลของการทำปฏิกิริยา หรือมีการจับของสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และสารชีวภาพ ลักษณะของสัญญาณจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอาจจะเป็นไปได้ทั้ง ความร้อน แสง อิเล็กตรอน โพรตอน แก๊ส และไอออน ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างและหลักการการทำงานของไบโอเซนเซอร์

ไบโอเซนเซอร์ หรือที่เรียกว่า ตัวตรวจวัดทางชีวภาพ เป็นเครื่องมืออุปกรณ์ตรวจวัดโดยอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่าง 1. ส่วนรับรู้ (Bioreceptor) และ 2. ทรานสดิวเซอร์ (Transducer) ที่ต่อเข้ากับส่วนที่ทำการประมวลผลของข้อมูล ซึ่งทางนักวิทยาศาสตร์ได้พัฒนาเป็นไบโอเซนเซอร์เพื่อนำมาทำเป็นประโยชน์หลายด้าน ยกตัวอย่างเช่น ทางด้านอุตสาหกรรม ทางด้านการแพทย์ โดยสำหรับวัสดุตอบสนองทางชีวโมเลกุล (Biological Sensing Element) หรือ ตัวรับ (Receptor) โดยอาจจะเป็น เซลล์ (Cell) แอนติบอดี (Antibody) และเอนไซม์ (Enzyme) หรือแม้กระทั่งสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ โดยสารเหล่านี้จะมีความจำเพาะเจาะจง ต่อสารที่ต้องการทำการตรวจวัดเหมือนลักษณะของ ลูกกุญแจและแม่กุญแจ เมื่อนำสารที่ต้องการตรวจวัดเข้ามาใกล้บริเวณ หรือสัมผัสบริเวณ พื้นที่รับรู้หรือตอบสนอง มันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเอกลักษณ์ ที่จำเพาะเจาะจง เช่น การเกิดอิเล็กตรอน ความร้อน แสง สี และการเกิดไอออนโดยสิ่งที่เกิดขึ้นเราจะรับรู้ได้จาก อุปกรณ์ ทรานสดิวเซอร์ ซึ่งจะสามารถวัดค่าออกมาเป็นสัญญาณในรูปของไฟฟ้าได้ และจะทำการประมวลผลข้อมูลออกมาเป็นสัญญาณดิจิทัลผ่านส่วนของการประมวลผลข้อมูลต่างๆ โดยจะเห็นการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลทางกายภาพที่ชัดเจนต่างๆ และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากหรือน้อย จะต้องขึ้นกับปริมาณของสารที่ต้องการจะทำการตรวจวัด รวมไปถึงสถานะต่างๆที่เหมาะสมต่อการใช้งานตัวเซนเซอร์อีกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 องค์ประกอบของไบโอเซนเซอร์

## 2.1.1 ส่วนประกอบของไบโอเซนเซอร์

### 2.1.1.1 สารชีวภาพ

สารชีวภาพที่นำมาใช้กับงานทางด้านไบโอเซนเซอร์จะต้องเป็นสาร หรือวัสดุที่มีความไวในทางชีวภาพ ซึ่งจะต้องทำหน้าที่จับหรือทำปฏิกิริยาอย่างจำเพาะเจาะจงกับสารตัวอย่างที่ต้องการจะศึกษาหรือวิเคราะห์ และจะต้องทำให้เกิดสัญญาณขึ้นาที่สามารถแปลงไปเป็นสัญญาณทางไฟฟ้าโดยตัว ทรานสดิวเซอร์ โดยสารชีวภาพแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ดังนี้

#### 1) สารภูมิต้านทาน (Antibody) หรือตัวรับ (Receptor)

การใช้สารต่อต้านเป็นสารชีวภาพโดยอาศัยหลักการการจับกันระหว่างสารต่อต้าน (Antibody) กับตัวแอนติเจน การจับกันนี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนของความถี่แล้วมวลเกิดขึ้น ที่จะสามารถตรวจจับได้ด้วยทรานสดิวเซอร์ โดยสารชีวภาพที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับ อาจเป็นสารประกอบของโปรตีน หรืออาจจะเป็นโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ที่จะสามารถทำปฏิกิริยาจำเพาะเจาะจง โดยในที่นี้อาจจะเป็นไปได้ทั้ง สารโมเลกุลเล็กๆ อย่างเช่น สเตอรอยด์ กรดอะมิโน หรืออาจจะเป็นสารโมเลกุลใหญ่ๆ อย่างเช่น โปรตีน หรือเปปไทด์ หรือจุลินทรีย์ และไวรัสต่างๆ

#### 2) เอนไซม์

อาศัยหลักการ การเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารที่ต้องการจะวิเคราะห์กับตัวเอนไซม์ เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารที่ต้องการจะวิเคราะห์ และมีการเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ออกมา การเอนไซม์ สารชีวภาพนี้ ตัวเอนไซม์อาจทำการตรึงอยู่บนตัวทรานสดิวเซอร์ หรืออาจถูกตรึงอยู่บนตัวยึดเกาะตัวอื่น ยกตัวอย่างเช่น แผ่นเยื่อบางๆ โดยใช้วิธีการดูดซับหรือการเกาะ โดยค่อยนำแผ่นเยื่อบางๆ ไปยึดเกาะบนจตัวทรานสดิวเซอร์อีกครั้ง

### 3) เซลล์หรือชิ้นส่วนจุลินทรีย์

เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ระหว่างสารที่ต้องการหาปริมาณ กับเซลล์จุลินทรีย์ เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารที่ต้องการหาปริมาณ กับเอนไซม์ของตัวจุลินทรีย์ การใช้เซลล์จุลินทรีย์ มีข้อได้เปรียบกว่าการใช้เอนไซม์ที่บริสุทธิ์ คือไม่เสียเวลาในการทำให้บริสุทธิ์ และไม่เสียเวลาในการแยก นอกจากนี้เอนไซม์บางตัวต้องการตัวเร่งเพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ดีขึ้น

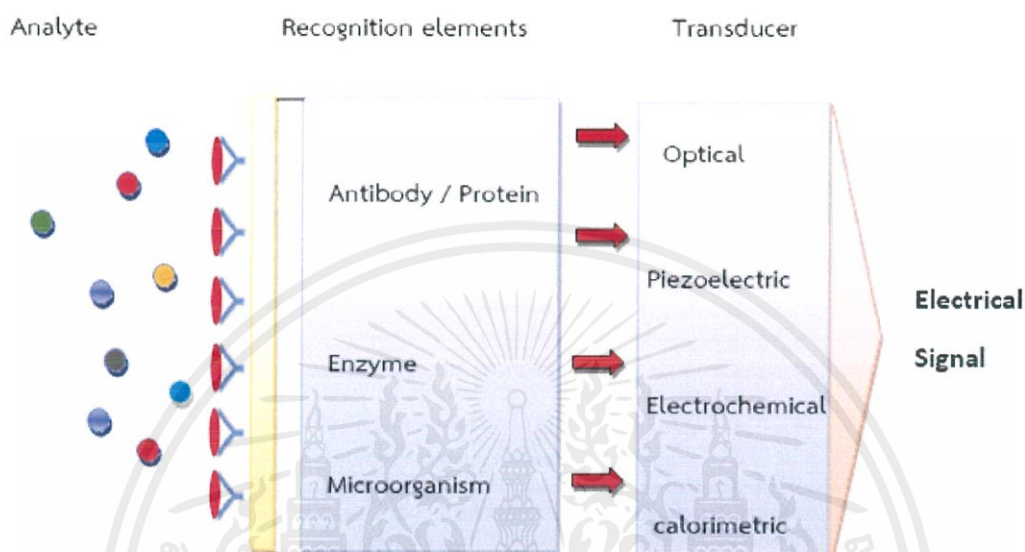
#### 2.1.1.2 ทรานสดิวเซอร์

เป็นส่วนที่สำคัญในการทำหน้าที่แปลงสัญญาณที่เกิดจากการจับกันของสารชีวภาพกับสารที่ต้องการจะศึกษาหรือวิเคราะห์ โดยจะให้สัญญาณออกมาในรูปแบบไฟฟ้า ตัวทรานสดิวเซอร์ที่ดีนั้นจะต้องมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของสัญญาณชั้นนำที่ดีที่สุด และจะต้องมีความไวไว ตอบสนองช่วงปริมาณสัญญาณได้อย่างเหมาะสม

#### 2.1.2 หลักการทำงานของไบโอเซนเซอร์

ไบโอเซนเซอร์ มีความสำคัญในการนำไปใช้งานในยุคปัจจุบันอย่างมาก และกำลังเป็นที่นิยมในการใช้งาน โดยได้มีการพัฒนาส่วนที่สำคัญของอุปกรณ์ไบโอเซนเซอร์ คือส่วนบริเวณตัวตรวจจับหรือส่วนที่รับรู้โดยการตอบสนอง (Bioreceptor) เพราะการเลือกใช้งานในส่วนนี้นั้นมีความจำเป็นและขึ้นอยู่กับกับสารที่นำมาวิเคราะห์ (Analyst) อย่างเช่น สารชีวโมเลกุลต่างๆ ไวรัส และแบคทีเรีย ดังนั้นจึงมีความสำคัญมาก ที่จะต้องเลือกตัวตรวจจับที่ดีและเหมาะสมที่สุด หรือมีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการจะทำการตรวจวัด (Specific) อย่างเช่น เอนไซม์ และแอนติบอดี เป็นต้น เมื่อตัวตรวจจับ ได้ทำการจับเข้ากับสารที่คู่กัน จะเกิดปฏิกิริยาเกิดขึ้น หรือจะเกิดการเปลี่ยนแปลง อย่างเช่น มีสัญญาณทางเคมี ความร้อน กรด-เบส แสง แร่ง และเสียง อย่างเช่น สารชีวโมเลกุลต่างๆ ไวรัส และแบคทีเรีย ดังนั้นจึงมีความสำคัญมาก ที่จะต้องเลือกตัวตรวจจับที่ดีและเหมาะสมที่สุด หรือมีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการจะทำการตรวจวัด (Specific) อย่างเช่น เอนไซม์ แม่พิมพ์โมเลกุล และแอนติบอดี เป็นต้น เมื่อตัวตรวจจับ ได้ทำการจับเข้ากับสารที่คู่กัน จะเกิดปฏิกิริยาเกิดขึ้น หรือจะเกิดการเปลี่ยนแปลง อย่างเช่น มีสัญญาณทางเคมี ความร้อน กรด-เบส แสง แร่ง และเสียง โดยตัวทรานสดิวเซอร์จะทำหน้าที่รับสิ่งเหล่านี้มาเพื่อประมวลผลข้อมูล และทำการเปลี่ยนสัญญาณเป็นสัญญาณไฟฟ้า เพื่อจะได้นำสัญญาณดังกล่าวไปวิเคราะห์ผลต่อ เมื่อตัวตรวจจับ ได้ทำการจับเข้ากับสารที่คู่กัน จะเกิดปฏิกิริยาเกิดขึ้น หรือจะเกิดการเปลี่ยนแปลง อย่างเช่น มีสัญญาณทางเคมี ความร้อน กรด-เบส แสง แร่ง และเสียง โดยตัวทรานสดิวเซอร์จะทำหน้าที่รับสิ่งเหล่านี้มาเพื่อประมวลผลข้อมูล และทำการเปลี่ยนสัญญาณ เป็นสัญญาณไฟฟ้า เพื่อจะได้นำสัญญาณดังกล่าวไปวิเคราะห์ผลต่อ ในส่วนของการประมวลผลนั้น

จะทำการวิเคราะห์สัญญาณที่ได้มา เพื่อให้ได้ค่าที่แปลออกมา และได้ค่าที่ถูกต้องโดยแสดงลักษณะสัญญาณออกมาในรูปของสัญญาณดิจิทัล ซึ่งแสดงออกมาได้นั้น อยู่ที่ผู้ใช้งานเป็นคนกำหนดขึ้น หรืออาจจะให้สัญญาณแสดงผลออกมาในเชิงของตัวเลข อย่างเช่น ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า แผนภูมิรูปภาพต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงองค์ประกอบของไบโอเซนเซอร์

### 2.1.3 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้ไบโอเซนเซอร์

การที่ไบโอเซนเซอร์ สามารถนำมาใช้วิเคราะห์และหาปริมาณสารต่างๆ ได้หลายชนิดนั้น มีการจำเพาะเจาะจงในการวัด โดยใช้ค่าใช้จ่ายในการวัดที่ต่ำ และสามารถพัฒนาทำเป็นเครื่องอ่านค่า และแสดงผลออกมาได้ โดยสามารถใช้ในระบบออนไลน์ได้ จึงมีการนำไปประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ ดังนี้ [5]

#### 2.1.3.1 ด้านอุตสาหกรรม

ในด้านอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องของการหมัก ประเภทเครื่องดื่มและอาหาร มีความต้องการในการใช้เครื่องมือในการตรวจวัดที่ง่ายในการใช้งาน และสามารถใช้งานได้อย่างรวดเร็ว เพื่อนำมาใช้ในการแสดงผลข้อมูลของการผลิตได้ทัน และยังช่วยควบคุมกระบวนการในการดำเนินงานให้มีทิศทางไปในทางเดียวกัน โดยเฉพาะในกรณีที่มีตัวแปรในเชิงชีวเคมีเข้ามาเกี่ยวข้องในเรื่องปริมาณสารอาหาร อย่างเช่น แป้ง ซูโครส กลูโคส และผลิตภัณฑ์จากแอลกอฮอล์ ซึ่งในกระบวนการผลิต ยังไม่มีเครื่องมือตรวจวัดที่สามารถทำงานได้อย่างต่อเนื่อง และแสดงข้อมูลในขณะนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกมาได้ จึงมีการนำตัวอย่างที่ต้องการมาวิเคราะห์ด้วยวิธีทางชีวเคมีและทางเคมี ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์ผลค่อนข้างนาน และมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ผลค่อนข้างสูง และที่ยุ่งยากไปกว่านั้นจะทำการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปใช้กับเครื่องมืออื่นๆ ดังนั้นกระบวนการไบโอเซนเซอร์จึงเหมาะสมกับขั้นตอนดังกล่าว

ปัจจุบันมีการนำไบโอเซนเซอร์มาใช้ในด้านอุตสาหกรรมในการสารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ หาปริมาณกรดอะมิโน สารแต่งสี สารปรุงรสต่างๆ หรือเป็นการหาปริมาณวัตถุอันตรายในอาหาร

### 2.1.3.2 ด้านสิ่งแวดล้อม

ใช้ไบโอเซนเซอร์กับระบบป้องกัน และเตือนภัย โดยวัดปริมาณสารต่างๆ ในอากาศ น้ำเสีย แหล่งน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่มีน้ำเสียในปริมาณที่มาก หรือบริเวณโรงงานที่มีการทิ้งน้ำเสีย โดยสามารถพัฒนาตัวไบโอเซนเซอร์เพื่อทำการหาปริมาณของเสีย หรืออากาศที่เสียและแสดงค่าหรือมีการเตือนของสัญญาณว่าในบริเวณต่างๆ มีการเจือปนของสารเคมีหรือสิ่งสกปรกมากขึ้น

### 2.1.3.3 ด้านการแพทย์

ในการตรวจโรคต่างๆ แพทย์จะต้องมีความรวดเร็วและความแม่นยำ จึงได้มีการพัฒนาและนำหลักการทางไบโอเซนเซอร์มาใช้งานมากที่สุด ไบโอเซนเซอร์ที่ใช้สำหรับตรวจหาปริมาณกลูโคสในเลือด อะไมเลส และกรดยูริก โดยปัจจุบันมีการพัฒนาไบโอเซนเซอร์ในทางการแพทย์ด้วยกันหลายแบบ อย่างเช่น เครื่องวัดแบบแถบจุ่มหรือเครื่องวัดแบบปากกา (Strip Test) โดยมีการใช้สำหรับตรวจวัดน้ำตาลในเส้นเลือดของผู้ป่วย โดยผู้ป่วยสามารถตรวจเองได้ โดยไม่ต้องให้แพทย์หรือผู้เชี่ยวชาญตรวจให้ เพราะเมื่อทำการตรวจจะมีผลการตรวจแสดงบนอุปกรณ์ จึงทำให้ผู้ที่ตรวจสามารถทราบผลได้ง่าย และยังรวดเร็วอีกด้วย

### 2.1.4 คุณลักษณะของไบโอเซนเซอร์

คุณสมบัติหลักๆของไบโอเซนเซอร์มีดังนี้

- 1). ความสามารถในการวัดซ้ำ (Reproducibility) ขึ้นอยู่กับวิธีการตรึงสารชีวภาพ และคุณภาพในการตรึงสารชีวภาพ เป็นต้น
- 2). เวลาในการตอบสนอง (Response time) ขึ้นกับวิธีการตรึงสารชีวภาพบนตัวตรวจวัด ทำให้เวลาในการตอบสนองเร็วขึ้น และขึ้นกับวิธีการใช้ในการตรึงสารชีวภาพ อย่างเช่น การตรึงสารชีวภาพไว้ในฟิล์มของชั้นพอลิเมอร์นำไฟฟ้า
- 3). ความไววิเคราะห์ในการตรวจวัด (Sensitivity) แสดงถึงขีดความสามารถในการวิเคราะห์ เพิ่มความไวในการวิเคราะห์ผลด้วยไบโอเซนเซอร์ อย่างเช่น วิธีการเพิ่มปริมาณสารชีวภาพ โดยใช้วัสดุนาโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4). ความสามารถในการคัดเลือก (Selectivity) ค่าที่แสดงถึงความสามารถของเทคนิคไบโอเซนเซอร์ในการจับพื้นผิวที่แตกต่างกัน อย่างเช่น แอนติบอดี มีความจำเพาะเจาะจงต่อแอนติเจนที่เป็นคู่ของตัวเอง หรือเอนไซม์แต่ละตัวจะมีความจำเพาะเจาะจงต่อพื้นผิวที่ต้องการตรวจวัด เป็นต้น

## 2.2 เลือด (blood)

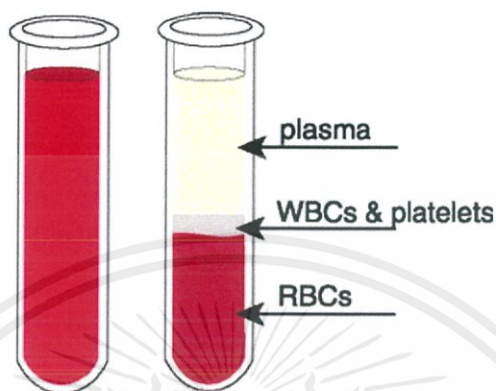
เลือดมีลักษณะเป็นของเหลวสีแดง ซึ่งสีแดงกล่าวเป็นสีของฮีโมโกลบินที่อยู่ภายในเซลล์ของเม็ดเลือดแดง โดยปริมาณของออกซิเจนที่เปลี่ยนแปลงไป หรือแตกต่างกันนั้นส่งผลให้ เกิดการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินอีก เลือดเกิดการหมุนเวียนไปตามร่างกาย โดยระบบหัวใจและเส้นเลือด (cardiovascular system) ส่วนประกอบของเลือดถูกแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ 1. น้ำเลือด หรือพลาสมา (plasma) มีประมาณ 45-65 % 2. เซลล์เม็ดเลือด (corpuscles) ชนิดต่างๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว (leukocytes or white blood cells) เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocytes or red blood cells) และ 3. เกล็ดเลือด (thrombocytes or platelets) ในน้ำเลือด 90 % จะเป็นองค์ประกอบของน้ำ และอีกประมาณ 10 % จะเป็นสารจำพวกโปรตีนชนิดต่างๆ สารอนินทรีย์ และสารอินทรีย์ เช่น สารอิเล็กโทรไลต์ ก๊าซออกซิเจน และ ฮอรโมน เมื่อทำการเจาะใส่ในหลอดทดลอง (test tube) และจากนั้นตั้งทิ้งไว้ พบว่าเลือดเกิดการแข็งตัว และเกิดการแยกออกเป็น 2 ชั้น เลือดที่แข็งตัวและเกิดการเกาะรวมตัวกันเป็นก้อนนั้น จะเป็นส่วนที่อยู่ด้านล่างของหลอด เรียกว่า ลิ่มเลือด (blood clot) ส่วนใสๆ บริเวณด้านบนนั้น และมีสีเหลืองจะเรียกว่า ซีรัม (serum) เมื่อทำการดูดเลือดนำไปใส่หลอดแก้ว และนำหลอดแก้วที่มีเลือดนั้น ทำการผสมเข้ากับสารป้องกันการตกตะกอนของเลือด และนำเข้าปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) พบว่า เลือดถูกแยกออกจากกัน และแบ่งออกเป็น 3 ส่วนชัดเจน โดยส่วนที่ 1.ชั้นล่างนั้นเป็นส่วนที่มีสีแดง คือ เซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆที่เกิดการอัดตัวกันจนแน่น ส่วนที่ 2. ชั้นบนที่เป็นของเหลว เรียกว่า พลาสมา หรือ น้ำเลือด (plasma) และส่วนที่ 3. เป็นส่วนของเหลวมีที่น้อยในบริเวณชั้นกลาง คือ ส่วนของเกล็ดเลือด (platelets) และเซลล์เม็ดเลือดขาว (leukocyte)

โดยส่วนประกอบที่แตกต่างกันของพลาสมาซีรัม และ ซีรัม คือ ถ้าในเลือด ซีรัมจะไม่มีส่วนที่เป็นสารโปรตีนอยู่ จนรวมไปถึงสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดอีกด้วย เช่น โปรตีนไฟบริโนเจน (fibrinogen) [6]

ในร่างกายโดยทั่วไป เช่น น้ำเหลืองและเลือด เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบภายในอยู่ตลอดเวลา และร่างกายมีกลไกที่ช่วยควบคุมการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น โดยจะทำให้อยู่ในสภาวะสมดุลเสมอ สัตว์แต่ละชนิดก็จะมีปริมาณเลือดในร่างกายที่แตกต่างกัน โดยเฉลี่ยแล้วจะมีเลือดเพียง 7-9 % ของน้ำหนักตัว โดยทั่วไปการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีค่าระหว่าง 7.20-7.68 และมีค่า

ความถ่วงจำเพาะในเลือดมีค่าประมาณ 1.042-1.060 และมีค่าความดันออสโมซิสเท่ากับ 0.85% ของความดันออสโมซิส (osmotic pressure) ของสารละลายเกลือแกง

## 2.2.1 ส่วนประกอบของเลือด



รูปที่ 2.4 ส่วนประกอบของเลือด [7]

### 2.2.1.1 เซลล์เม็ดเลือดแดง (red blood cells; RBCs)



รูปที่ 2.5 เซลล์เม็ดเลือดแดง [8]

เซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นเซลล์ที่มีมากที่สุด และมีความสำคัญมากที่สุดเช่นกัน โดยในร่างกายจะมีเซลล์เม็ดเลือดแดงร้อยละ 45 ของเลือดทั้งหมด หรือ 4 – 6 ล้านเม็ดต่อเลือด 1 ตารางเซนติเมตร (cubic millimeter) โดยลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดแดงมีรูปร่างกลมแบนเว้า 2 ด้าน (biconcave) ทำให้มีพื้นที่ผิวมากขึ้นและช่วยให้เกิดการจับตัวกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเกิดการปลดปล่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

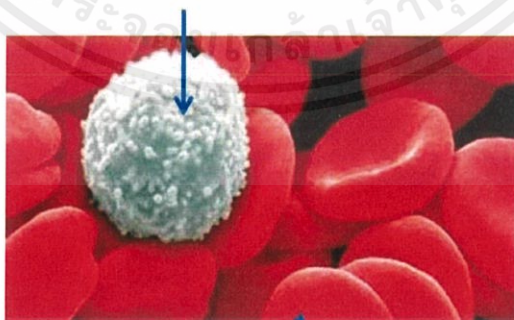
ก๊าซออกซิเจนออกมาให้ในระบบร่างกาย เพื่อนำไปให้กับเนื้อเยื่อต่างๆ หรือสามารถเกิดการแลกเปลี่ยนก๊าซต่างๆ ได้ดีขึ้น นอกจากนี้เซลล์เม็ดเลือดแดงยังเกิดความยืดหยุ่นได้อีกด้วย โดยหลักการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดแดง เมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงเกิดการเคลื่อนที่ผ่านหลอดเลือดฝอยเล็กๆ จำนวนมากๆ ที่อาจจะเล็กกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงเอง มันจะสามารถผ่านไปได้ ส่วนเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีอายุมากนั้น (senescent erythrocytes) จะเสียความยืดหยุ่นเหล่านี้ไป เซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นเซลล์ที่ไม่มีไมโทคอนเดรีย และมีอายุของเซลล์เพียง 100 – 120 วัน โดยภายในมีโปรตีนหนึ่งชนิดชื่อว่าฮีโมโกลบิน ซึ่งมีหน้าที่ในการขนส่ง ฮีโมโกลบินโดยมีองค์ประกอบเป็นสายเพปไทด์ 4 สาย และมีกลุ่มของฮีโมอยู่บริเวณตรงกลางของแต่ละสาย โดยอะตอมของเหล็กนั้นจะฝังอยู่ตรงกลางของฮีโมแต่ละกลุ่ม โดยโมเลกุลของเหล็กจะจับกับโมเลกุลของออกซิเจน โดยแต่ละโมเลกุลของฮีโมโกลบินสามารถบรรจุอะตอมของออกซิเจนได้สูงสุดถึง 4 โมเลกุล

โดยทั่วไปลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีรูปร่างกลม (circular discs) มีความเว้าทั้ง 2 ด้าน (biconcave) เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นเซลล์ที่ไม่มีนิวเคลียส ข้อดีของการเว้าของเซลล์เม็ดเลือดแดงนี้ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการส่งก๊าซออกซิเจน และการส่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แต่สัตว์ปีกเซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีนิวเคลียสตลอด ตั้งแต่เกิดจนตายและเซลล์เม็ดเลือดแดงยังมีความยืดหยุ่นดี สามารถโค้งงอได้และผ่านเข้าไปในเส้นเลือดฝอยได้ โดยเซลล์เม็ดเลือดแดงที่โตเต็มที่แล้วจะหลุดออกจากไขกระดูก และเข้ามาลอยในน้ำเลือดภายในเส้นเลือดชนิดต่างๆ

แต่เซลล์ที่หมดอายุแล้วถูกทำลายที่บริเวณม้าม (spleen) โดยเซลล์เม็ดเลือดแดงที่หมดอายุจะถูกทำให้แตก แต่โปรตีนฮีโมโกลบินสามารถนำกลับมาใช้ได้ใหม่ที่ไขกระดูก สามารถนำกลับไปใช้ในกระบวนการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดงอีกครั้ง และฮีโมโกลบินบางส่วนถูกสร้างเป็นเม็ดสีในน้ำดี โดยถูกนำไปเก็บไว้ที่ตับอีกด้วย

### 2.2.1.2 เซลล์เม็ดเลือดขาว (white blood cells or leukocytes, WBCs)

เซลล์เม็ดเลือดขาว



รูปที่ 2.6 เซลล์เม็ดเลือดขาว [9]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

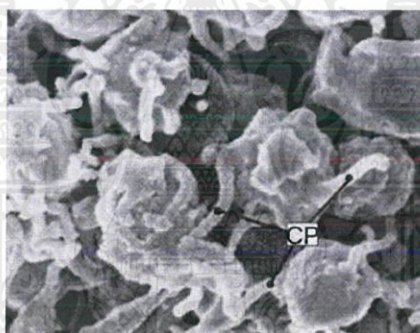
เซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด อาจมีนิวเคลียสหลายอันภายในหนึ่งเซลล์เม็ดเลือดขาว (multi-nucleated giant cell) โดยมีขนาดประมาณ 12-15 ไมครอน เซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีปริมาณน้อยที่สุดในร่างกาย แต่จะมีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นในกรณีที่เกิดการติดเชื้อ

โดยหน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวคือ การป้องกันเชื้อโรคต่างๆ ที่จะเข้าสู่ร่างกาย ยกตัวอย่างเช่น แบคทีเรีย ไวรัส เชื้อโรคต่างๆ และจะช่วยกินเซลล์ต่างๆ ที่หมดอายุ และยังช่วยซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ที่เกิดการอักเสบหลังการติดเชื้อ จึงมีความสำคัญมากในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์

อายุของเซลล์เม็ดเลือดขาว มีอายุเพียง 2-3 ชั่วโมง หรืออาจจะอยู่ได้ 200 วัน ขึ้นกับการใช้งานและสภาพร่างกาย ในกรณีที่มีการติดเชื้อเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีอายุของเซลล์ที่สั้นลง เพราะเซลล์ต้องเข้าไปทำลายเชื้อโรคและเซลล์ของเม็ดเลือดขาวจะมีอายุเพิ่มขึ้น

เซลล์เม็ดเลือดขาวสร้างจากไขกระดูก เหมือนกับเซลล์เม็ดเลือดแดง นอกจากนี้เซลล์เม็ดเลือดขาวสร้างสามารถ ต่อมน้ำนม ม้าม และต่อมน้ำเหลือง เซลล์เม็ดเลือดขาวที่ถูกสร้างที่ไขกระดูกจะสามารถโตเจริญเป็นเซลล์ที่สมบูรณ์ได้

### 2.2.1.3 เกล็ดเลือด หรือเศษเม็ดเลือด (blood platelets or thrombocytes)



รูปที่ 2.7 อิเล็กตรอนไมโครกราฟของเกล็ดเลือด [10]

เกล็ดเลือดที่พบเป็นเซลล์ที่ไม่สมบูรณ์ เป็นเพียงชิ้นส่วนของไซโตพลาสซึมภายในของเซลล์เม็ดเลือด ที่สามารถพบได้ภายในไขกระดูก รูปร่างและลักษณะของ เกล็ดเลือดมีรูปร่างเป็นวงรี หรือวงกลม หรืออาจจะมียูปร่างที่ไม่แน่นอน มีเม็ดแกรนูล เกิดการกระจายตัวอยู่ในไซโตพลาสซึม เซลล์ไม่มีนิวเคลียสเช่นเดียวกับเซลล์เม็ดเลือดแดง ส่วนประกอบของเกล็ดเลือดมีน้ำเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 85 โดยองค์ประกอบที่เหลือเป็นเอ็นไซม์ต่างๆ แร่ธาตุ โปรตีน คอลเรสเตอรอล และมีไขมันในรูปฟอสฟอไลปิด

หน้าที่ของเกล็ดเลือดมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด หรือทำให้เลือดหยุดไหลเมื่อเกิดบาดแผลเกิดขึ้น อายุของเกล็ดเลือดมีอายุเพียง 9-11 วันเท่านั้น ในกรณีที่สภาพร่างกายปกติจะพบเกล็ดเลือดประมาณ 2 ใน 3 ของเกล็ดเลือดทั้งหมด และส่วนที่เหลือจะพบอยู่ในม้าม

#### 2.2.1.4 น้ำเลือด (plasma)



รูปที่ 2.8 น้ำเลือด [11]

น้ำเลือด หรือ พลาสมาเป็นของเหลว มีส่วนประกอบของน้ำประมาณร้อยละ 90-92 ที่เหลือร้อยละ 8-9 เป็นส่วนของแข็งคือ โปรตีนสาร อนินทรีย์ชนิดต่างๆและสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยโปรตีนอัลบูมินจะมีปริมาณมากที่สุดในน้ำเลือด

หน้าที่ของน้ำเลือด ทำหน้าที่รักษาสสมดุลในระบบเลือด และมีสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ ที่พบในน้ำเลือด คือ คลอเรสเตอรอล ไขมัน ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน เอ็นไซม์ชนิดต่างๆ และ ฮอร์โมนต่างๆ ได้แก่ กลีโคแอมโมเนีย ยูเรีย สารครีเอทีนิน (creatinine) กรดอะมิโน และสารครีเอทีน (creatine) เป็นต้น ส่วนสารอนินทรีย์นั้นจะทำหน้าที่รักษาสภาพการเป็นกรดและด่างภายในเลือดเท่านั้น

### 2.3 การจำแนกหมู่เลือดในระบบ ABO

#### 2.3.1 หมู่เลือดในระบบ ABO

การที่คนเรามีเลือดที่ต่างกันนั้นมีสารจำพวกโปรตีนที่อยู่ภายในพลาสมาหรือภายในน้ำเลือดที่เรียกว่า แอนติบอดี ( Antibody ) ที่อยู่ในร่างกายที่แตกต่างกัน และมีสารที่เรียกว่า แอนติเจน ( Antigen ) อยู่ที่บริเวณพื้นผิวเซลล์ของเม็ดเลือดแดงที่แตกต่างกัน

โดยมีหมู่เลือดหลักอยู่ 4 หมู่ เป็นหมู่เลือดที่สำคัญ ซึ่งในระบบหมู่เลือด ABO สามารถจำแนกหมู่เลือดได้ออกเป็น 4 หมู่คือ หมู่เลือด A, B, AB และ O ได้ดังนี้

1. คนหมู่เลือด A มีแอนติเจน A บนพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดง และมีแอนติบอดีชนิด B ในพลาสมาหรือน้ำเลือด
2. คนหมู่เลือด B มีแอนติเจน B บนพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดง และมีแอนติบอดีชนิด A ในพลาสมาหรือน้ำเลือด
3. คนหมู่เลือด AB มีแอนติเจน A และ แอนติเจน B บนพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดง และจะไม่มีแอนติบอดี A และ แอนติบอดี B ในพลาสมาหรือน้ำเลือด
4. คนหมู่เลือด O ไม่มีแอนติเจน A และ แอนติเจน B บนพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดง แต่จะมีแอนติบอดี A และ แอนติบอดี B ในพลาสมาหรือน้ำเลือด ดังแสดงในรูปที่ 2.9

	หมู่เลือด A	หมู่เลือด B	หมู่เลือด AB	หมู่เลือด O
เซลล์เม็ดเลือดแดง				
แอนติบอดี (สารภูมิคุ้มกัน)			ไม่มี	
แอนติเจน (สารก่อภูมิคุ้มกัน)	A แอนติเจน	B แอนติเจน	A และ B แอนติเจน	ไม่มี

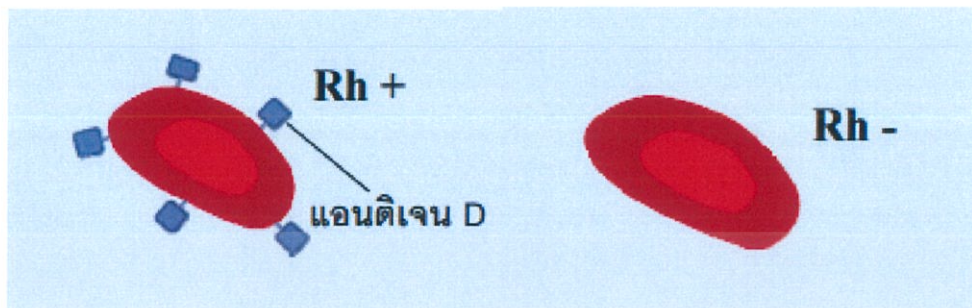
รูปที่ 2.9 แสดงข้อมูลการจำแนกโลหิตในระบบ ABO [12]

### 2.3.2 หมู่เลือดในระบบ Rh

สามารถแบ่งออกเป้น 2 ชนิด ดังนี้

1. อาร์เอชบวก (Rh+) โดยคนที่หมู่เลือด Rh+ จะมีแอนติเจน Rh ชนิด D บนพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดง

2. อาร์เอชลบ (Rh-) ส่วนคนที่ไม่มี แอนติเจนชนิดนี้บนพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดง จะเป็นผู้ที่มีหมู่เลือด Rh- และจะสามารถสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน Rh ชนิด D ในกรณีที่ได้รับเลือดที่มี Rh+ เป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 แสดงโครงสร้าง Rh+ และโครงสร้าง Rh- [13]

ส่วนคนที่ไม่มี แอนติเจนชนิดนี้บนพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดง จะเป็นผู้ที่มีหมู่เลือด Rh- และจะสามารถสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน Rh ชนิด D ในกรณีที่ได้รับเลือดที่มี Rh+ เป็นองค์ประกอบ

ดังนั้นการสร้างแอนติบอดีของหมู่เลือดระบบ Rh จึงมีความแตกต่างจากการสร้าง แอนติบอดีของหมู่เลือดระบบ ABO โดยแอนติบอดีของหมู่เลือดระบบ Rh ไม่สามารถเกิดขึ้นเองได้ จะต้องได้รับการกระตุ้นโดยสารต่างๆ ที่มีอยู่ในธรรมชาติ หรือแอนติบอดีของหมู่เลือด Rh เกิดมาจากการได้รับเลือดของคนที่มี Rh+ ในร่างกายหรืออาจจะเกิดจาก เม็ดเลือดแดงของลูกในครรภ์ที่มีระบบหมู่เลือดที่เป็น Rh+ ปนเปื้อนเข้าไปในร่างกายของแม่ที่เป็น Rh- ร่างกายจะทำการกระตุ้นให้แม่สร้างแอนติบอดีระบบ Rh ขึ้นมา

ดังนั้นเมื่อพิจารณาหมู่เลือดระบบ ABO และ Rh ร่วมกันจะสามารถพบหมู่เลือดที่แตกต่างกันได้ถึง 8 แบบคือ

ABO, Rh	
A, Rh+	A, Rh-
B, Rh+	B, Rh-
AB, Rh+	AB, Rh-
O, Rh+	O, Rh-

รูปที่ 2.11 ตารางเทียบหมู่เลือด ABO และ Rh [14]

### 2.3.3 หลักในการให้เลือดในหมู่ ABO

การให้เลือดที่มีความปลอดภัยมากที่สุดจะต้องคำนึงถึงความเข้ากันได้ระหว่างหมู่เลือด ABO และ Rh ของผู้รับเลือดและผู้บริจาคเลือดเป็นสิ่งแรก ในกรณีที่มีการได้รับเลือดที่ผิดหมู่หรือเลือดที่เข้ากันไม่ได้ จะทำให้เลือดของผู้บริจาคเกิดการจับกลุ่มกันและเกิดการอุดตันของหลอดเลือด ซึ่งจะทำให้เลือดไม่สามารถไหลผ่านหลอดเลือดไปได้ และไม่สามารถไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายผู้รับได้ หรือในกรณีที่มีการให้เลือดที่ผิดหมู่นั้น อาจจะมีการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดและจะทำลายเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคในร่างกายผู้รับได้อีกด้วย

ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ของแอนติบอดีของผู้รับเลือดกับแอนติเจนบนพื้นผิวเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคเลือด เมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงเกิดการแตก โปรตีนฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงจะถูกปล่อยออกมาและไหลเข้าไปในกระแสเลือด ทำให้เป็นอันตรายต่อร่างกายและมีความรุนแรงส่งผลต่อร่างกาย หรืออาจเกิดการเสียชีวิตได้

#### หลักการให้เลือดทำได้ดังนี้

##### 1. หมู่เลือด A

เซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีแอนติเจนชนิด A บนเยื่อหุ้มเซลล์และจะมีแอนติบอดี (antibody) ชนิด B ที่คอยดักจับทำลายแอนติเจน (antigen) ชนิด B ที่เป็นสิ่งแปลกปลอม

ดังนั้นคนที่มีหมู่เลือด A จะมีแอนติเจนชนิด A (A antigen) และแอนติบอดีชนิด B (anti-B) ถ้าคนที่มีหมู่เลือดนี้ได้รับการบริจาคเลือดจากผู้ที่มีหมู่เลือด B แอนติบอดีชนิด B ในคนที่มีหมู่เลือด A

(ผู้รับ) ก็จะไปทำลายเซลล์ที่เข้ามา ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาการจับตัวของเลือด และเกิดเป็นตะกอนและเกิดการแตกสลายในที่สุด (hemolytic transfusion reaction)

แต่ถ้าได้รับบริจาคเลือดจากหมู่เลือด A จะไม่เกิดปฏิกิริยาการแตกตัวของเลือด และการจับตัวของเลือดแบบในกรณีได้รับบริจาคเลือดหมู่ B เนื่องจากแอนติบอดีของผู้รับไม่ได้จดจำเซลล์ที่มีแอนติเจน A ว่าเป็นสิ่งแปลกปลอมเพราะมีแอนติเจนที่เหมือนกับตนเอง

## 2. หมู่เลือด B

เซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีแอนติเจนชนิด B บนเยื่อหุ้มเซลล์และจะมีแอนติบอดี (antibody) ชนิด A ที่คอยดักจับทำลายแอนติเจน (antigen) ชนิด A ที่เป็นสิ่งแปลกปลอม

ดังนั้นคนที่มีหมู่เลือด B จะมีแอนติเจนชนิด B (B antigen) และแอนติบอดีชนิด A (anti-A) ถ้าคนที่มีหมู่เลือดนี้ได้รับการบริจาคเลือดจากผู้ที่มีหมู่เลือด A แอนติบอดีชนิด A ในคนที่มีหมู่เลือด B (ผู้รับ) ก็จะไปทำลายเซลล์ที่เข้ามา ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาการจับตัวของเลือด และเกิดเป็นตะกอนและเกิดการแตกสลายในที่สุด (hemolytic transfusion reaction)

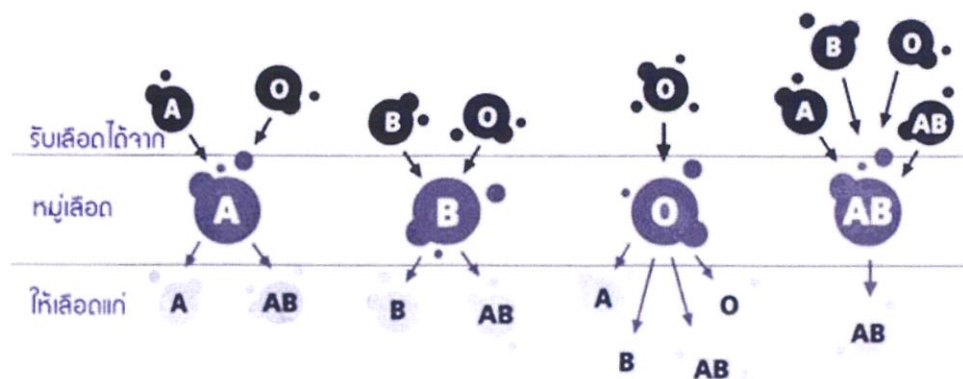
แต่ถ้าได้รับบริจาคจากคนที่มีหมู่เลือด B จะไม่เกิดปฏิกิริยาการแตกตัวและการจับตัวของเลือด เนื่องจากแอนติบอดีของผู้รับไม่จดจำเซลล์ที่มีแอนติเจน B ว่าเป็นสิ่งแปลกปลอมเพราะมีแอนติเจนที่เหมือนกับตนเอง

## 3. หมู่เลือด AB

บริเวณผิวเยื่อหุ้มเซลล์จะมีทั้งแอนติเจนชนิด A และ แอนติเจนชนิด B ดังนั้นจะสามารถรับเลือดได้ทุกหมู่เลือด เพราะไม่มีแอนติบอดีคอยดักจับสิ่งแปลกปลอม จึงเรียกบุคคลเหล่านี้ว่า “ผู้รับสากล”

## 4. หมู่เลือด O

จะไม่มีแอนติเจนบนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง แต่จะมีแอนติบอดีชนิด A และแอนติบอดีชนิด B ดังนั้นจะสามารถรับเลือดหมู่ O ได้เพียงหมู่เดียว



รูปที่ 2.12 แผนภาพแสดงการให้และรับเลือด [15]

ดังนั้นการคำนึงถึงความปลอดภัยของการบริจาคเลือดของทั้งผู้ให้บริจาค และผู้ที่ได้รับบริจาค นั้นจึงจำเป็นต้องยึด หลักการว่าในพลาสมาหรือน้ำเลือดของผู้รับบริจาคจะต้องไม่มีแอนติบอดี ที่จะสามารถจับกับแอนติเจนบนพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดงของผู้บริจาค

#### 2.3.4 หลักในการให้เลือดในหมู่ Rh

1. คนที่มีเลือด Rh + สามารถรับได้ทั้ง Rh + และ Rh - เพราะคนที่มีเลือด Rh+ไม่สามารถสร้างแอนติบอดีได้
2. คนที่มีเลือด Rh - รับเลือด Rh + ครั้งแรกไม่เกิดอันตรายเพราะว่า แอนติบอดียังมีน้อย แต่จะเกิดอันตรายรุนแรงขึ้นเรื่อย ๆ ในครั้งต่อไป
3. ถ้าแม่มีเลือด Rh + รับเลือด Rh - เมื่อมีลูก จะปลอดภัยไม่ว่าลูกจะมีเลือดเป็น Rh + หรือ Rh -
4. ถ้าแม่มีเลือด Rh - พ่อ Rh + ถ้าลูกมีเลือด Rh - ลูกจะปลอดภัยแต่ ถ้าลูกมีเลือด Rh + ลูกจะไม่ปลอดภัยโดยเฉพาะลูกคนต่อ ๆ ไปเพราะ แอนติบอดี Rh ที่อยู่ในเลือดจากการตั้งครรภ์ครั้งแรกจะเข้าสู่เลือดของเด็กและเกิดปฏิกิริยาขึ้นได้

#### 2.4 แอนติบอดีหรือสารภูมิกัมกัน (Antibody)

สารภูมิต้านทาน หรือแอนติบอดี (Antibody , Ab) หรืออิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin, Ig) เป็นโปรตีนโกลโคเจนสร้างมาจากระบบภูมิกัมกัน ที่ต้านทานโรคของมนุษย์ และพวกสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม และซึ่งมีอยู่ในเลือดและสารคัดหลั่งในร่างกาย ถ้าพิจารณาในเลือดจะพบ อิมมูโนโกลบูลิน ว่าอยู่ในส่วนในส่วนประกอบของน้ำเหลือง (serum) โดยทำการเรียก

อิมมูโนโกลบูลินชนิดนี้ว่า secreted Ig เมื่อทำการทดสอบนำน้ำเหลืองมาแยกด้วยกระบวนการทางกระแสไฟฟ้า (electrophoresis) พบว่าอิมมูโนโกลบูลินส่วนใหญ่เป็นแกมมาโกลบูลิน ( $\gamma$ -globulin) และประกอบด้วยเบต้าโกลบูลิน ( $\beta$ -globulin) และแอลฟาโกลบูลิน ( $\alpha$ -globulin) เป็นส่วนน้อย [16]

นอกจากนี้โมโนโกลบูลินยังถูกสร้างและพบได้บนผิวของเม็ดเลือดขาวชนิด B lymphocyte (B cell) สร้างขึ้นมาเพื่อต่อต้านต่อแอนติเจนที่เข้ามาในร่างกาย ซึ่งแอนติบอดีจะมีปฏิกิริยาจำเพาะ แอนติเจนที่มากระตุ้นเท่านั้น แอนติบอดีจะจำเพาะกับแอนติเจนของตัวเอง และเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนเกิดขึ้นจะทำให้เกิดผลต่าง ๆ ตามมา ยกตัวอย่างเช่น ทำให้มีการรวมกันของโปรตีนหลายตัวในเซรุ่ม ซึ่งจะช่วยให้แบคทีเรียหรือเซลล์ที่มีแอนติบอดีจับอยู่ถูกเม็ดเลือดขาวจับกินได้ง่าย [17]

#### 2.4.1 โครงสร้างแอนติบอดี

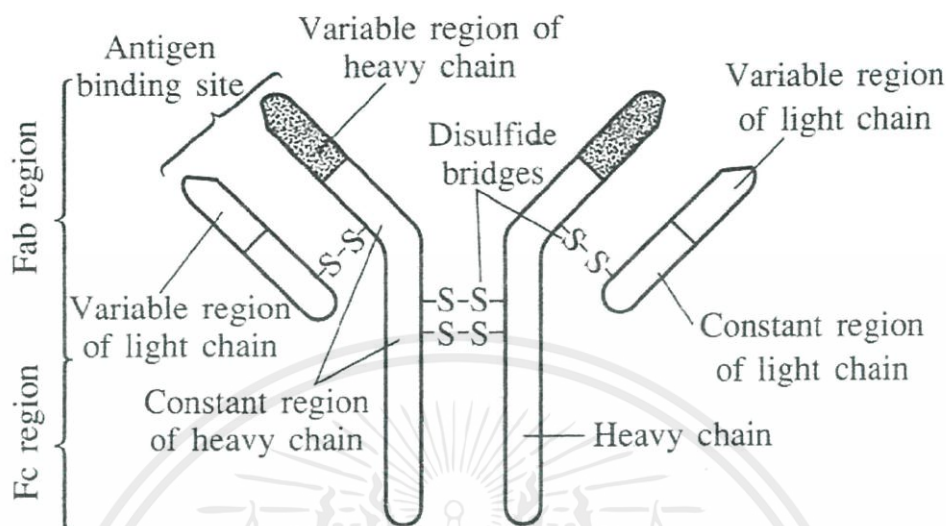
โครงสร้างของแอนติบอดี มีองค์ประกอบดังนี้ พอลิเพปไทด์จำนวน 4 สาย ซึ่งมีการเชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ โดยพอลิเพปไทด์ทั้ง 4 สายนั้น ประกอบไปด้วยสายยาว 2 สายที่เหมือนกันหรือเรียกอีกอย่างว่า สายหนัก (Heavy chain หรือ H chain) ซึ่งในแต่ละสายจะมีกรดอะมิโนประมาณสายละ 440 ตัว และสายสั้น 2 สายที่เหมือนกันหรือเรียกอีกอย่างว่า สายเบา (Light chain หรือ L chain) ซึ่งในแต่ละสายจะมีกรดอะมิโนประมาณสายละ 220 ตัว โดยสารหนักแต่ละสายจะเชื่อมกับสายเบาด้วยพันธะโควาเลนต์

นอกจากนี้ สายเบาและสายหนักจะประกอบด้วย 2 บริเวณ คือ 1.บริเวณที่เกิดการเปลี่ยนแปลงได้หรือเรียกว่า (Variable region หรือ V region) และ 2.บริเวณที่คงที่หรือเรียกว่า (Constant region หรือ C region) โดยบริเวณที่คงที่ของสายเบาและสายหนักนั้นจะประกอบด้วยกรดอะมิโน 105 ตัว ในสายเบา และ 320 ตัว ในสายหนักซึ่งทั้งสองสายจะไม่ค่อยมีความแตกต่างกันมากในอิมมูโนโกลบูลินแต่ละชนิด ส่วนกรดอะมิโนที่อยู่บริเวณที่เกิดเปลี่ยนแปลงได้ของทั้งสายหนักและสายเบา จะมีลำดับของกรดอะมิโนที่มีความแตกต่างกันซึ่งจะมีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติบอดีแต่ละชนิดโดยไม่ซ้ำกัน

ส่วนของแอนติเจนที่จับกับอิมมูโนโกลบูลิน ส่วนนี้ถูกเรียกว่า Fab (antigen-binding site) ซึ่งอยู่ทางด้านที่มีปลายหมู่กรดอะมิโน โดยจะประกอบด้วย บริเวณที่เปลี่ยนแปลงได้ของเพปไทด์ทั้งสายเบาและสายหนัก

ส่วน Fc (Crystallization fragment) อยู่ทางด้านที่มีปลายหมู่คาร์บอกซิล ความสำคัญของส่วนนี้นั้น คือมีความสำคัญในการจับกับตัวรีเซพเตอร์ของเซลล์ชนิดต่าง ๆ หรือกระตุ้นการทำงานของคอมพลีเมนต์ โดยการเกิดการจับกันระหว่างอิมมูโนโกลบูลินกับแอนติเจน โดยอาศัยพันธะ

ไฮโดรเจน แรงแดึงดูคววนเดอวาล และแรงอิเล็กโทรสแตติก เนื่องจากอิมิวโนโกลบิน 1 โมเลกุลจะมี บริเวณที่จับกับแอนติเจนได้ถึง 2 บริเวณโดยการเรียงตัวเช่นนี้เรียกว่า ไบวาเลนต์ ( Bivalent )



รูปที่ 2.13 แผนภาพแสดงโครงสร้างพื้นฐานของอิมิวโนโกลบิน [18]

#### 2.4.2 ชนิดของแอนติบอดี

แอนติบอดีในมนุษย์ แบ่งออกได้เป็น 5 ชนิด ได้แก่ (IgM, IgD, IgG, IgA, and IgE) โดยขึ้นอยู่กับสายไฮโดรเจน โดยแต่ละชนิดมีบทบาทหน้าที่ที่แตกต่างกัน [19]

1.อิมิวโนโกลบิน จี ( Immunoglobulin G , IgG ) เป็นแอนติบอดีหลักในเลือด และพบมากในซีรัม โดยมีร้อยละ 85 ของร่างกายทั้งหมด มีความสำคัญมากในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย มีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเทียบกับ Ig ชนิดอื่น และยังสามารถผ่านรกของแม่ไปสู่ลูกได้

2.อิมิวโนโกลบิน เอ ( Immunoglobulin A , IgA ) มีมากรองจากอิมโมโกลบิน จี โดยมีร้อยละ 13 พบในน้ำลาย น้ำนม น้ำตา เป็นต้น หรืออาจเรียกว่า ซีครีทอรีแอนติบอดี ( Secretory antibody ) มีหน้าที่ ปกป้องเยื่อเมือกจากพวกแบคทีเรีย ไวรัสต่างๆ IgA พบในรูป ไดเมอร์ พอลิเมอร์ในซีรัม และในรูปมอนอเมอร์ จะอยู่ในรูปของไดเมอร์ เมื่ออยู่ในสารคัดหลั่ง จะประกอบไปด้วย ซีครีทอรีคอมโพเนนท์ ( Secretory component ,SC ) และ 2H2 L2 สาย J ( J chain ) ถูกสังเคราะห์โดยเซลล์เยื่อผิว ที่ช่วยให้ผ่านผิวชั้นโคซา และช่วยปกป้องจากการถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีนชนิดเอส ที่เป็นโปรตีนในทางเดินอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อิมมิวโนโกลบูลิน เอ็ม ( Immunoglobulin M , IgM ) มีขนาดใหญ่มากที่สุด โดยมีน้ำหนักประมาณ 900,000 ดาลตัน พอลิเพปไทด์สายหนักเป็นชนิด มิว ( mu ) โดยประกอบด้วยหน่วยพื้นฐานจำนวน 5 หน่วยโดยแต่ละหน่วยพื้นฐานมาเชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์มีลักษณะเป็นรูปดาว ซึ่งเชื่อมกันด้วยสาย ซีครีทอรีคอมโพเนนท์ ( Secretory component , SC ) และสาย J ( J chain ) เป็นอิมมิวโนโกลบูลิน เอ็ม เมื่อร่างกายถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน จะสร้างขึ้นมาเป็นตัวแรก ปฏิกิริยาที่เกิดของ IgM 1.ปฏิกิริยาแอกกลูตินเนชัน และ 2.ปฏิกิริยาออปโซโนเซชัน สามารถป้องกันพวกไวรัสและแบคทีเรียได้ดี อิมมิวโนโกลบูลินชนิดนี้ ไม่สามารถผ่านรกเด็กได้ แต่ถ้าในกรณีที่เด็กทารกเกิดการติดเชื้อจะสร้างขึ้นมาเอง และเป็นอิมมิวโนโกลบูลินชนิดแรกที่เด็กทารกสามารถสร้างขึ้นมาได้

4. อิมมิวโนโกลบูลิน ดี ( Immunoglobulin D , Ig D ) เป็นชนิดที่พบน้อยที่สุดในเลือด โดยมีร้อยละ 0.2 พอลิเพปไทด์สายหนักเป็นชนิดเดลตา โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับรู้เบื้องต้น ( Primary receptor ) กับแอนติเจนบนผิวบีลิมโฟไซด์ของเด็กทารก และมีการควบคุมอิมมิวโนโกลบูลินชนิดอื่น ๆ ร่วมด้วย

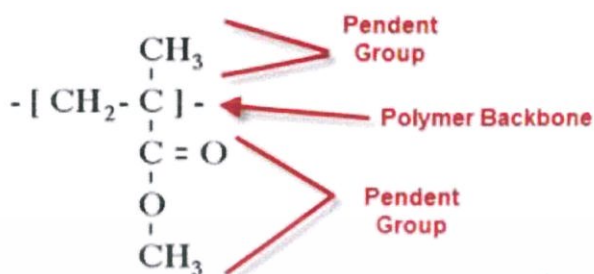
5. อิมมิวโนโกลบูลิน อี ( Immunoglobulin E , Ig E ) เป็นชนิดที่พบน้อยที่สุดในเลือด โดยมีร้อยละ 0.002 พอลิเพปไทด์สายหนักเป็นชนิดเอปซิลิน อิมมิวโนโกลบูลิน อี มีคุณสมบัติชอบเกาะกับมาสต์เซลล์ และแบโซฟิลในเนื้อเยื่อ โดยเกิดการจับด้วยปลาย Fc และสร้าง Ig E ที่ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน จะกระตุ้นให้เกิดภาวะภูมิไวเกินแบบที่ 1 ( Immediate hypersensitivity ) โดยเกิดจากปฏิกิริยาของแอนติเจนแอนติบอดีคอมเพล็กซ์ และเมื่อเกิดการติดเชื้อปรสิต จะพบว่าในร่างกายของบุคคลคนนั้น จะมีปริมาณของ อิมมิวโนโกลบูลิน อี ที่เพิ่มมากขึ้น จึงเกิดภูมิคุ้มกันของโรคติดเชื้อปรสิต

## 2.5 Poly(methyl methacrylate)

Poly (methyl methacrylate) หรือเรียกอีกอย่างว่า PMMA ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ใช้กันโดยทั่วไป เนื่องจากมีราคาค่อนข้างถูกและใช้ในชีวิตประจำวันค่อนข้างมากและ PMMA เป็นพอลิเมอร์ที่มีความสำคัญมากที่สุดในเชิงของการค้าโดย PMMA มีความโปร่งใสค่อนข้างสูง จึงมีการนำมาใช้แทนแก้วเพื่อลดความอันตรายลงและ PMMA ยังเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อมนุษย์ทำให้เป็นวัสดุที่สำคัญสำหรับการปลูกถ่ายและการทำเทียม โดยเฉพาะในสาขาจักษุวิทยาเนื่องจากคุณสมบัติโปร่งใสมาก [20]

อะคริลิกพลาสติก (Acrylic plastic) หรือ กระดาษอะคริลิก (acrylic glass) หรืออาจจะเรียกย่อๆว่า แผ่นอะคริลิก ซึ่งทั้งหมดก็คือพลาสติกชนิดเดียวกันเรียกชื่อเต็มว่า โพลีเมทิลเมทาไครเลต

หรือ พีเอ็มเอ็มเอ (Polymethyl methacrylate, PMMA) และสูตรเคมีของพลาสติกชนิดนี้คือ  $C_5 H_8 O_2$  แสดงดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 แผนภาพแสดงโครงสร้าง Polymer(methylmethacrylate) [21]

PMMA เป็นเทอร์โมพลาสติกชนิดหนึ่ง มีชื่อทางการค้าหลายชื่อยกตัวอย่างเช่น Perspex, Plexiglas, Lucite เป็นต้น โดยพลาสติกชนิดนี้ได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ด้วยกันหลายอย่าง ยกตัวอย่างเช่น วัสดุทางการแพทย์ ป้ายโฆษณาต่างๆ กระจกที่มีความใสบนเครื่องบินหรือแม้กระทั่งตู้ปลา เป็นต้น โดยการนำไปประยุกต์ใช้งานค่อนข้างมากเนื่องจากวัสดุ PMMA ชนิดนี้มีคุณสมบัติในเรื่องความโปร่งใส (transparent) และสมบัติเด่นอีกหนึ่งอย่างคือเรื่องของความเหนียว (toughness) โดยการนำมาขึ้นรูปได้ง่าย และการนำมาใช้งานที่ค่อนข้างหลากหลาย และคุณสมบัติเด่นอีกหนึ่งอย่างคือเรื่องความหนาแน่นต่ำ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่โดดเด่นของวัสดุประเภทพลาสติก PMMA แล้ว เพราะฉะนั้นพลาสติกอะคริลิก หรือ PMMA จึงเป็นวัสดุที่มีการนำมาใช้แทนแก้วในงานที่ค่อนข้างหลากหลาย ดังแสดงในรูปที่ 2.15



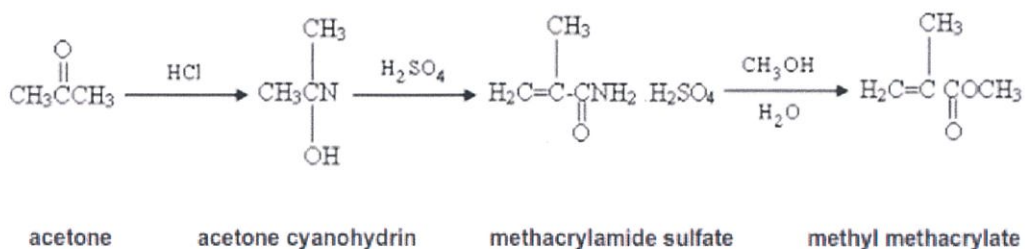
รูปที่ 2.15 วัสดุอะคริลิก [22]

### 2.5.1 การพัฒนาอะคริลิก

PMMA เป็นพลาสติกที่ได้จากการนำมอนอเมอร์ของเมทิลเมทาคริเลต (Methyl methacrylate, MMA) มาทำปฏิกิริยาการเกิดเป็นพอลิเมอร์ (Polymerization) โดยมีนักเคมี 2 คน เป็นชาวเยอรมัน คือ พอล (Paul) และฟิททิจ (Fittig) ทั้งสองสามารถสังเคราะห์โพลีเมทิลเมทาคริเลตได้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1877 แต่เนื่องมาจากการพัฒนาวิธีผลิตให้ได้เพื่อจะทำออกมาเป็นแผ่น จะต้องรอถึงปี ค.ศ. 1933 เมื่อนักเคมีชาวเยอรมัน ที่มีชื่อว่า ออทโท เรห์ม (Otto Rohm) ของดลสิทริบ์ตรการผลิตโพลีเมทิลเมทาคริเลต ให้อยู่ในวิธีผลิตเป็นแผ่นโดยใช้ชื่อทางการค้าว่า Plexiglas และหลังจากนั้นในปี ค.ศ. 1936 มีการผลิตแผ่น Plexiglas ออกมาจำหน่ายในเชิงอุตสาหกรรม และเชิงพาณิชย์

ด้วยความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีปัจจุบันแผ่น PMMA ได้จากการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ได้หลากหลายรูปแบบเช่น การเกิดพอลิเมอร์แบบบัลก์ (Bulk polymerization) และการเกิดพอลิเมอร์แบบอิมัลชัน (Emulsion polymerization) เป็นต้น การผลิตอะคริลิกพลาสติกแบบ “แผ่น” มักใช้เทคนิค การเกิดพอลิเมอร์แบบบัลก์ เนื่องจากมีการเจือปนของสารน้อยกว่ากระบวนการอื่นๆ

โดยขั้นตอนการเตรียมเมทิลเมทาคริเลตมอนอเมอร์สามารถเตรียมได้ดังนี้ เมทิลเมทาคริเลตเป็นของเหลวใส ไม่มีสี และมีสถานะเป็นของแข็ง โดยมีจุดเดือดสูงถึง 100.5 องศาเซลเซียส การเตรียมจะได้โดยใช้อะซิโตนเป็นวัตถุดิบหลักในการเตรียม และทำการการเติมกรดซัลฟิวริกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเพื่อเปลี่ยนเป็นอะซิโตนให้เป็นไซยาโนไฮไดริน และเติมสารละลายเมทานอลในน้ำโดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น [23] ดังแสดงในรูปที่ 2.16



รูปที่ 2.16 การเตรียมเมทิลโครเลตมอนอเมอร์ [24]

### 2.5.2 สมบัติอะคริลิก

1. มีความโปร่งใสและแสงสว่างสามารถส่องผ่านเนื้อพลาสติกได้ถึง 92 เปอร์เซ็นต์ และสามารถเกิดการสะท้อนกลับมายังผิวประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์
2. อะคริลิกไม่ทนต่อตัวทำละลายหลายชนิด
3. แผ่นพลาสติกอะคริลิกมีเนื้อพลาสติกที่อ่อนจึงสามารถเกิดรอยขีดได้ง่าย
4. ทนต่อสภาพแวดล้อมภายนอกดีกว่าพลาสติกชนิดอื่น เช่น โพลีคาร์บอเนต จึงนิยมใช้แผ่นพลาสติกอะคริลิก
5. มีจุดเดือดที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 130-140 องศาเซลเซียส
6. มีความหนาแน่นประมาณ 1.15-1.19 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร
7. มีความสามารถทนต่อการกระแทก (impact strength) สูงกว่าโพลิสไตรีน และแก้ว แต่ต่ำกว่าโพลีคาร์บอเนต

### 2.5.3 ประโยชน์อะคริลิก

ปัจจุบันแผ่นพลาสติกอะคริลิก มีการนำมาประยุกต์ใช้ในงานหลายด้านไม่ว่าจะเป็น ด้านอุปกรณ์ อุปกรณ์ในห้องน้ำ ในเครื่องประดับ ป้ายโฆษณาหรือป้ายชื่อร้าน และอื่นๆ อีกมากมายแต่มีการใช้งาน บางอย่างที่มีการนำจุดเด่นของพลาสติกมาใช้งานอย่างลงตัว กระฉกเลี้ยงปลา โดยส่วนมากจะใช้กระฉกแก้ว เช่นเดียวกับตู้ปลาขนาดใหญ่ในพิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำที่จำเป็นต้องใช้แผ่นกระฉกที่มีความหนาค่อนข้างมาก เพื่อรองรับแรงดันและแรงกดที่มากดังแสดงในรูปที่ 2.19 จุดด้อยของกระฉกหนึ่งอย่างที่สำคัญคือ ขนาดแผ่นกระฉกที่หนาเพิ่มมากขึ้นจะมีผลทำให้เกิดการส่องผ่านหรือการทะลุผ่านได้น้อยลง ทำให้เห็นปลาไม่ชัดเจน ดังนั้นบ่อเลี้ยงปลาขนาดใหญ่สมัยใหม่จึงมีการ

ประยุกต์และปรับใช้แผ่นพลาสติกอะคริลิก แทนกระจกที่เคยใช้เพราะแผ่นพลาสติกอะคริลิกมีข้อดีมากกว่ากระจกหลายอย่าง ยกตัวอย่างเช่น

1. แสงสามารถส่องผ่านแผ่นพลาสติกอะคริลิกได้มากกว่าแก้วเนื่องจากโปร่งแสงได้ร้อยละ 92
2. แผ่นพลาสติกอะคริลิกมีความเป็นฉนวนความร้อนมากกว่าแก้วประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ จึงช่วยลดค่าใช้จ่ายในเรื่องของการให้ความร้อนลงได้
3. มีน้ำหนักที่เบากว่าแก้ว โดยแผ่นพลาสติกอะคริลิกมีความหนาแน่นที่น้อยกว่าแก้วครึ่งหนึ่ง จึงทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายได้ง่ายและเหมาะสำหรับนำมาใช้งาน
4. การเชื่อมต่อแผ่นพลาสติกอะคริลิก สามารถทำการเชื่อมได้ถึงในระดับโมเลกุล โดยทำการทาสารเคมีบางชนิดลงบนแผ่นพลาสติกอะคริลิก ยกตัวอย่างเช่น ไตรคลอโรมีเทน (Trichloromethane) หรือไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) ลงที่ผิวของแผ่นพลาสติกอะคริลิก เพื่อให้แผ่นพลาสติกเกิดการอ่อนตัว หรือมีความเหลวมากขึ้น ก่อนจะนำแผ่นพลาสติกอะคริลิกมาประกบเข้าด้วยกัน โดยวิธีการนี้จะทำให้แผ่นพลาสติกสามารถเชื่อมต่อกัน และเป็นเนื้อเดียวกันได้



รูปที่ 2.17 อโม่งค์ได้นำที่ทำจากพลาสติกอะคริลิก [25]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

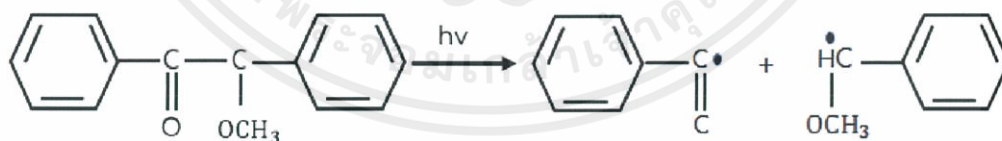
## 2.6 พอลิเมอร์เชื่อมขวางด้วยแสง (Photo cross-link Polymer)

พอลิเมอไรเซชัน (polymerization) เริ่มต้นด้วยหมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive specie) ซึ่งเขียนแทนด้วย  $R^*$  หมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยาสร้างขึ้นจากสารที่เรียกว่า “ตัวริเริ่มปฏิกิริยา (initiator, I)”:



หมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยาอาจเป็นอนุมูลอิสระ เรียกว่า (free radical) อาจเรียกว่า ไอออนบวก (cationic) หรือไอออนลบ (anionic) แล้วแต่ชนิดของตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่ใช้ หมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยาเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลมอนอเมอร์จะทำการแตกพันธะพาย ( $\pi$ -bond) ของมอนอเมอร์ให้เกิดการแตกออก ได้เป็นศูนย์กลางอนุมูลอิสระ ไอออนบวก หรือไอออนลบศูนย์กลางใหม่ซึ่งว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาและเรียกว่า “ศูนย์กลางว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive center)” ปฏิกิริยาระหว่างศูนย์กลางว่องไวต่อปฏิกิริยากับโมเลกุลมอนอเมอร์เกิดต่อไปเรื่อย ๆ ทำให้โซ่พอลิเมอร์เติบโตขึ้น มอนอเมอร์ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันได้แก่ และอัลดีไฮด์กับคีโตน ซึ่งมีพันธะคู่ระหว่างอะตอมคาร์บอนกับออกซิเจน ( $C=O$ ) และ ไวนิลมอนอเมอร์ (vinyl monomers) ที่มีพันธะคู่ระหว่างอะตอมคาร์บอนกับคาร์บอน ( $C=C$ ) แต่ไวนิลมอนอเมอร์ซึ่งมีสูตรโครงสร้างโดยทั่วไปเป็น  $CH_2=CXY$  [X และ Y เรียกว่า หมู่แทนที่ (substitution group)] มีความสำคัญมากกว่า [26]

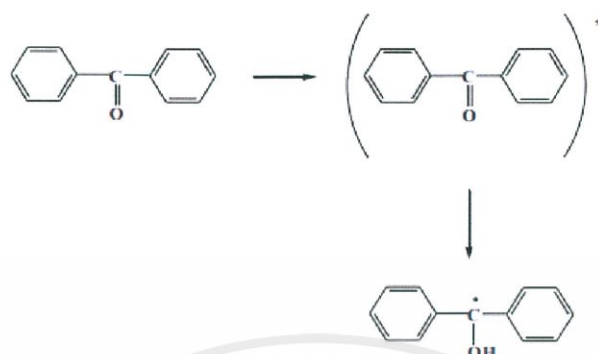
โดยปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้นในกลไก แบบอนุมูลอิสระ เรียกว่า (free radical) สามารถเกิดขึ้นได้โดยอาศัยตัวริเริ่มปฏิกิริยาประเภทต่างๆ เช่น ตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่แตกตัวโดยความร้อน (thermal initiator) ตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่แตกตัวโดยใช้แสง (photo initiator) และตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่แตกตัวโดยผ่านปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox initiator) แต่ปฏิกิริยาที่สำคัญที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ ตัวริเริ่มปฏิกิริยาที่แตกตัวโดยใช้แสง (photo initiator) โดยตัวอย่างของตัวริเริ่มปฏิกิริยาประเภทนี้ได้แก่ เบนโซอินอีเธอร์ซี จะแตกตัวให้อนุมูลอิสระของคาร์บอน 2 ตัว ดังแสดงในรูปที่ 2.18



รูปที่ 2.18 แสดงปฏิกิริยาการแตกตัวของเบนโซอินอีเธอร์โดยแสง [27]

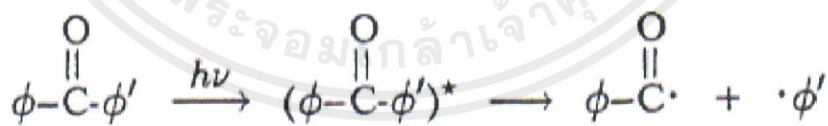
นอกจากนั้น สารเบนโซฟีโนน (benzophenone) ซึ่งนิยมใช้เป็น photo-sensitizer ในปฏิกิริยาเคมีที่ใช้ แสงเป็นตัวกระตุ้นก็สามารถให้อนุมูลอิสระได้เช่นกัน โดย ที่เมื่อได้รับแสงสาร

ดังกล่าวจะถูกกระตุ้นให้ขึ้นไปอยู่ในสถานะเร้า (excited state) จากนั้นจะกลับคืนสู่สถานะปกติ (ground state) ในรูปของอนุมูลอิสระ[27] ดังแสดงในรูปที่ 2.19



รูปที่ 2.19 แสดงปฏิกิริยาการแตกตัวของเบนโซฟีโน [27]

โดยในงานวิจัยนี้สนใจตัวเริ่มปฏิกิริยาที่แตกตัวโดยใช้แสง (photo initiator) โดยใช้สารเบนโซฟีโนน (benzophenone) การเกิดปฏิกิริยาโดยใช้แสงเพื่อทำให้เกิดการแยกสลายตัวนั้น จะเกิดได้เมื่อฉายแสงยูวี (ultraviolet light) หรือแสงขาวในช่วงที่ตามองเห็น (visible light) ไปยังระบบพอลิเมอร์เรซิน ซึ่งเมื่อเกิดการดูดซับโฟตอนที่มีความยาวคลื่นประมาณ 250 - 365 นาโนเมตร ตัวอย่างตัวเริ่มปฏิกิริยากลุ่มนี้ ได้แก่ กลุ่มอะโรมาติกคีโตนโดยชนิดที่ใช้กันมากในทางการค้า คือ เบนโซฟีโนน (benzophenone) และอะซิโตนฟีโนน (acetophenone) การแยกสลายของเบนโซฟีโนนแสดงได้ดังสมการด้านล่าง  $h\nu$  หมายถึง การฉายแสงให้แก่ตัวเริ่มปฏิกิริยา [28] ดังแสดงในรูปที่ 2.20



**Benzophenone**

รูปที่ 2.20 สมการการแยกสลายเบนโซฟีโนน [28]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของการใช้ตัวเริ่มปฏิกิริยาเหล่านี้คือ การสังเคราะห์พอลิเมอร์อาจจะสามารถทำได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิในการสังเคราะห์ที่สูง สามารถควบคุมตำแหน่งในการเกิดปฏิกิริยาได้ สามารถควบคุมการเกิดด้วยแสงเพียงเท่านั้น

มีประโยชน์มากในเชิงอุตสาหกรรมเคลือบผิว (coating), อุตสาหกรรมการพิมพ์ (printing), เตรียมไฮโดรเจลเพื่อนำมาติดพื้นผิวชิ้นงาน, พัฒนาเป็นอุปกรณ์ระดับไมโคร, สร้างเป็นอุปกรณ์ไบโอเซนเซอร์, ใช้ในทางการแพทย์ [29] เป็นต้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.7 การทบทวนวรรณกรรม (Literature Reviews)

ในปี ค.ศ. 1999 Oswald Prucker และคณะ [30] มีวิธีการอย่างง่ายและมีประสิทธิภาพในการยึดติดชั้นของพอลิเมอร์บางๆ ไว้บนพื้นผิวที่เป็นของแข็ง โดยขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาการกระตุ้นด้วยแสงของเบนโซพีนอลที่ถูกยึดติดบนซิลิคอน โดยพื้นผิวถูกเคลือบด้วยพอลิเมอร์และทำปฏิกิริยากับเบนโซพีนอล โดยการส่องสว่างด้วยแสงยูวี ( $> 340$  นาโนเมตร) ผลจากการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่เป็นชั้นบาง ๆ ของพอลิเมอร์ที่ถูกเชื่อมขวางลงบนพื้นผิว ยกตัวอย่าง พวกเราประสบความสำเร็จในการยึดติด poly(styrene) and poly(ethyloxazoline) เพื่อให้เป็นชั้นฟิล์มบาง ความหนาของชั้นฟิล์มขึ้นอยู่กับในการส่องสว่างและน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ และสามารถฉายแสงของโพลี (สไตรีน) ได้ฟิล์มหนาถึง 16 นาโนเมตร

พอลิเมอร์ที่มีการเคลือบด้วยวิธีการหมุนเคลือบ จะได้พอลิเมอร์ที่คลุมทั่วพื้นผิว โดยทั่วไปเรามักจะเคลือบฟิล์มที่มีความหนามากกว่า 100 นาโนเมตร เพื่อไม่ให้ฟิล์มในชั้นสุดท้ายหนาเกินไป และความหนาที่คลุมทั่วถึงจะมีเนื้อเดียวกัน ชั้นเหล่านี้ได้รับการส่องสว่างจาก UV โดยทำการให้ UV ไปที่เบนโซพีนอลที่มีความยาวคลื่น 345 นาโนเมตร

ในปี ค.ศ. 2011 Martin Rendl และคณะ [31] การวิเคราะห์ทางชีวภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการผลิตไมโครอะเรย์ที่มีการตรึงสารชีวโมเลกุลที่พื้นผิวของชิปที่เป็นปัจจัยหลัก ดังนั้นความหลากหลายของเทคนิคที่มีผลเหล่านี้ได้รับการพัฒนาในช่วงหลายปีที่ เพื่อจะทำการตรึงดีเอ็นเอหรือโปรตีนลงบนพื้นผิวดังกล่าว ส่วนใหญ่ต้องใช้กระบวนการผลิตที่ค่อนข้างซับซ้อนและเคมีพื้นผิวที่ซับซ้อน ที่นี้จึงมีการนำเสนอเทคนิคการตรึงรูปแบบง่าย ๆ ซึ่งขึ้นอยู่กับ การสร้างจุดเล็ก ๆ บนเส้นใยของพอลิเมอร์บนพื้นผิวที่ทำการตรึงจะจึงเกิดการประสบความสำเร็จในขั้นตอนแรกคือ โมเลกุลจะผสมกับพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่เป็น photoactive เพื่อทำให้เกิดการ cross-linked เช่นเดียวกับที่ฉายแสงยูวีไปที่บริเวณพื้นผิว ยกตัวอย่างเช่นพื้นผิวธรรมดา โดยใช้กล่องจุลทรรศน์สไลด์แก้วเช่นเดียวกับประเภทต่างๆของพื้นผิวพลาสติกที่มีประสิทธิภาพเทียบเคียง หลังจากนั้นมีการตรึงลงบนพื้นผิวพลาสติกเพื่อทำเป็นรูปแบบแสดงผลใน biochip ข้อดีเนื่องจากราคาถูกและมีแนวโน้มสำหรับความหลากหลายในการนำไปใช้งานที่มีการวินิจฉัยในอุปกรณ์ขนาดเล็ก

ในปี ค.ศ. 2017 Esther K. Riga , และคณะ [32] การปรับเปลี่ยนโควาเลนต์สามารถทำได้โดยใช้ benzophenone โดยเริ่มใช้เป็นครั้งแรกในด้านชีวเคมี (เช่นเป็นตัวทำปฏิกิริยาการติดสำหรับการตรวจจับความสัมพันธ์ระหว่างภาพถ่าย) เนื่องจากความยาวคลื่นที่ยาวกว่าที่จำเป็นสำหรับการกระตุ้น benzophenone หรือ BP ( $\lambda \sim 360$  นาโนเมตร) จะไม่เกิดความเสียหายกับวัสดุที่มีความสำคัญเช่น โปรตีน แสดงให้เห็นว่า benzophenone หรือ BP สามารถใช้กับการทำงานของพื้นผิวที่มีชั้นพอลิเมอร์บาง ๆ ได้ ตามหลักการนี้โพลีเมอร์โมโนเลเยอร์ ที่ทำจากโพลี (ไวนิลแอลกอฮอล์), โพลี (สไตรีน), โพลี (อะคริลิครด) และโพลี (methacrylic acid) ถูกยึดติดกับพื้นผิว

จากนั้นได้มีการพัฒนาโพลีเมอร์ที่มีความสามารถในการเชื่อมติดด้วยตัวเองซึ่งมีคุณสมบัติในการฉายรังสี UV เพื่อให้ได้เครือข่ายโพลีเมอร์ที่ยึดผิวและไฮโดรเจนจากความดันสูง นอกเหนือจากการเป็นตัวทำปฏิกิริยาที่หลากหลายสำหรับการเชื่อมขวางด้วยโควาเลนต์ยังสามารถใช้เบนโซฟีโนน เป็นตัวริเริ่มในการเกิดปฏิกิริยาการเชื่อมขวางได้ โดยมีการนำไปใช้งานคือนำ poly(oxonorbornenes) และ poly(alkenylnorbornenes) กับ benzophenone โดยโพลีเมอร์แต่ละตัวมีการเคลือบลงบนพื้นผิวซิลิคอนด้วยวิธีการหมุนเคลือบที่ทำหน้าที่เป็นเบนโซฟีโนล และมีการฉายรังสีที่มีความยาวคลื่น 254 หรือ 356 นาโนเมตร ตามลำดับโดยมีค่าพลังงานที่แตกต่างกัน โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าพลังงานมีผลต่อการทดลอง

ซึ่งจากงานวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ที่หลากหลายของการนำหลักการ Photo cross-link polymer ของสารเบนโซฟีโนน (benzophenone) หรือ BP มาใช้งาน โดยงานวิจัยนี้ได้ นำโพลีเมอร์เคลือบพื้นผิวด้วยเทคนิคการเคลือบสารบนพื้นผิวแผ่นพลาสติก PMMA ด้วยโพลีเมอร์ชนิด PDMAA-MaBP และตรึงโปรตีนลงบนพื้นผิวแผ่น PMMA โดยโพลีเมอร์ที่เคลือบพื้นผิวแล้วทำการกระตุ้นด้วยแสงยูวีเพื่อทำให้เกิดการแตกตัวของพันธะคาร์บอน และสามารถไปจับกับไฮโดรเจนของอะตอมบนพื้นผิวแผ่นพลาสติก PMMA และเมื่อทำการกระตุ้นด้วยแสงโพลีเมอร์ที่เคลือบบนพื้นผิวสามารถจับกับโปรตีนที่มีพันธะไฮโดรเจนและเกิดการยึดติดของโปรตีนบนพื้น ทางผู้วิจัยจึงต้องการพัฒนาให้อุปกรณ์อุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือดสามารถที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง

### บทที่ 3

## วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้มีอุปกรณ์และวิธีการวิจัย เพื่อการศึกษาการตรึงโปรตีนอย่างง่ายบนพื้นผิวโดยพอลิเมอร์แบบเชื่อมขวางด้วยแสงเพื่อการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วนหลักๆ คือ

1. การเคลือบพื้นผิวด้วยพอลิเมอร์ไวแสง โดยทำการศึกษาและทดสอบหาความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่เหมาะสม ซึ่งทำการศึกษาความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่แตกต่างกันอยู่ในช่วง 0.005 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/mL) และทดสอบหาพลังงานยูวีที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดการเชื่อมขวางพอลิเมอร์ ในช่วง 2,000 ถึง 10,000 ไมโครจูล ( $\mu$ J)
2. การตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว ซึ่งทำการทดสอบหาพลังงานยูวีที่เหมาะสมสำหรับการตรึงแอนติบอดีลงบนพื้นผิวชิ้นงาน
3. การทดสอบประสิทธิภาพการติดเลือด ในส่วนนี้จะทดสอบความเข้มข้นของเลือด และระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิว และระยะเวลาในการเก็บชิ้นงาน ซึ่งรายละเอียดแสดงดังรูปที่ 3.1



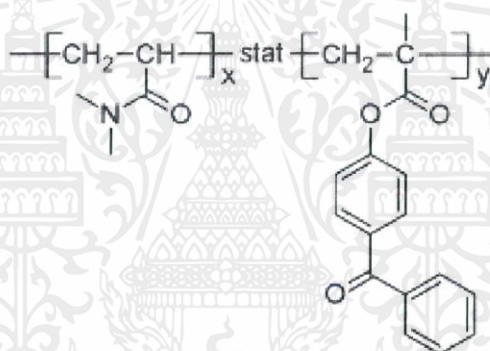
รูปที่ 3.1 แผนผังแสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1.1 สารเคมีและสารชีวโมเลกุลในการวิจัย

- (1) เอทานอล (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) โดยซื้อจากบริษัท sasol reaching new frontiers
- (2) เมทานอล (CH<sub>3</sub>OH) โดยซื้อมาจากบริษัท CARLO ERBA for analysis-ACS-Reag.Ph.Eur.-Reag.USP
- (3) สารละลายเกลือโซเดียมอะซิเตต (CH<sub>3</sub>COONa) โดยซื้อจากบริษัท SIGMA Life Science
- (4) Glacial acetic acid (CH<sub>3</sub>COOH)
- (5) Phosphate buffered saline (PBS) โดยซื้อจากบริษัท SIGMA Life Science
- (6) Poly-dimethylacrylamide-methacryloyloxybenzophenone (PDMAA-MaBP) ซึ่งจะเรียกว่า coating polymer ในการอธิบายในส่วนต่อไป ได้รับจากหน่วยเสริมสร้างศักยภาพทางนาโนศาสตร์และนาโนเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล



รูปที่ 3.2 โครงสร้าง PDMAA-MaBP Polymer [33]

- (7) ชุดทดสอบหมู่เลือด ABO ประกอบไปด้วยสารละลายเลือดหมู่เอ และหมู่บี จากสภากาชาดไทย
- (8) น้ำยาแอนติบอดีเอ และแอนติบอดีบี จากสภากาชาดไทย

### 3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- (1) เครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker
- (2) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- (3) เครื่อง Ultrasonic cleaner หรือ Sonicator
- (4) เครื่องชั่งสารเคมี (balance)
- (5) แผ่นอะคริลิกพลาสติก (Polymethyl methacrylate) หรือ PMMA
- (6) เครื่องเคลือบสาร (dipping machine)

### 3.1.3 เครื่องมือวิเคราะห์ผลในงานวิจัย

- (1) เครื่องวัดมุมสัมผัส (Contact Angle)
- (2) เครื่องวิเคราะห์การดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectroscope) ; รุ่น PG INSTRUMENT LIMITED ยี่ห้อ T92+ UV - VIS Spectrophotometer
- (3) กล้องกล้องจุลทรรศน์ (Microscope) ; รุ่น Digital Microscope ยี่ห้อ H800x / U500x ST2
- (4) โปรแกรม Image J อ่านค่าแปลงผล

## 3.2 วิธีการเตรียมสารละลายต่างๆ

### 3.2.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

นำ Phosphate buffered saline (PBS) 1 เม็ด มาละลายในน้ำปลอดประจุ (Deionized water : DI water) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในภาชนะ ทำการปั่นกวน (stir) จนสารละลายหมด จะได้สารละลายบัฟเฟอร์อีพีเอส มีค่าพีเอช 7.4

### 3.2.2 การเตรียมสารละลายพอลิเมอร์ไวแสงสำหรับเคลือบผิว (coating polymer)

นำพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP มาชั่งตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยยกตัวอย่าง การเตรียมที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของเมทานอล สามารถเตรียมโดย นำพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP 0.01 กรัม ละลายในเมทานอลปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าจนกว่าพอลิเมอร์ละลายหมด โดยในการทดลองจะทำการทดสอบพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.05, 0.1, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

### 3.2.3 การเตรียมสารตัวอย่างเลือด

นำสารละลายเลือดตัวอย่างหนูเอ บี และโอ 5 เปอร์เซ็นต์ อย่างละ 1 มิลลิลิตร ผสมกับพีบีเอสบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร ผ่านการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้น ตั้งตะกอน (เซลล์เม็ดเลือดแดง) ที่เกิดขึ้นจากการปั่นเหวี่ยง ไปเจือจางในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ตามความเข้มข้นที่ต้องการ

## 3.3 การเคลือบพื้นผิวพลาสติกด้วยพอลิเมอร์ไวแสง (coating polymer) และการตรึงแอนติบอดีลงบนพื้นผิว

### 3.3.1 การทำความสะอาดแผ่นพลาสติก

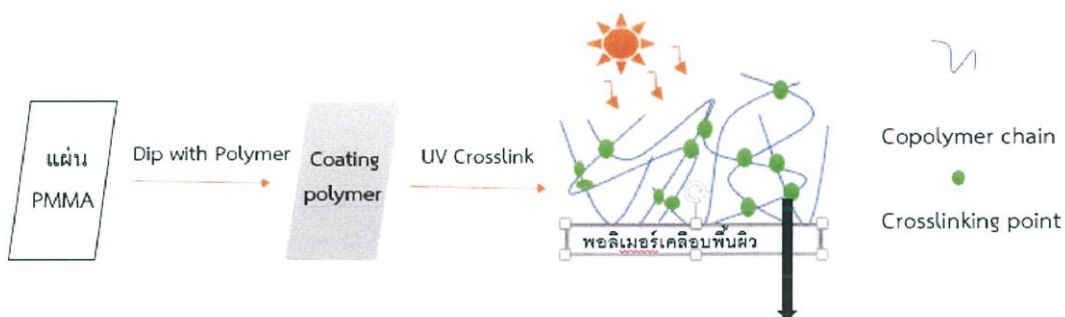
ชิ้นงานทำจากแผ่นพลาสติก PMMA ซึ่งถูกตัดให้มีขนาดตามที่ต้องการ จากนั้นนำไปล้างทำความสะอาดคราบมันและสิ่งสกปรกด้วยน้ำเปล่า และตามด้วยสารละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล โดยการนำเข้าเครื่องสั่นความถี่สูง (Ultrasonic cleaner) หรือ เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำไปเป่าแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน และทำการจัดเก็บในบริเวณที่ไม่โดนฝุ่น ที่อุณหภูมิห้อง

### 3.3.2 การเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer)

เมื่อได้ชิ้นงานพลาสติก PMMA ที่ผ่านการทำความสะอาดมาแล้ว ขั้นตอนต่อไปทำการเคลือบชิ้นงานด้วย coating polymer ด้วยวิธีการ Dip coat โดยใช้ความเข้มข้น Polymer ตามที่ต้องการ ทดสอบ โดยทำการต่อแผ่นพลาสติก PMMA เข้ากับตัวยึดจากนั้นทำการเคลือบแผ่นด้วยเครื่องตีฟ

### 3.3.3 การกระตุ้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวี

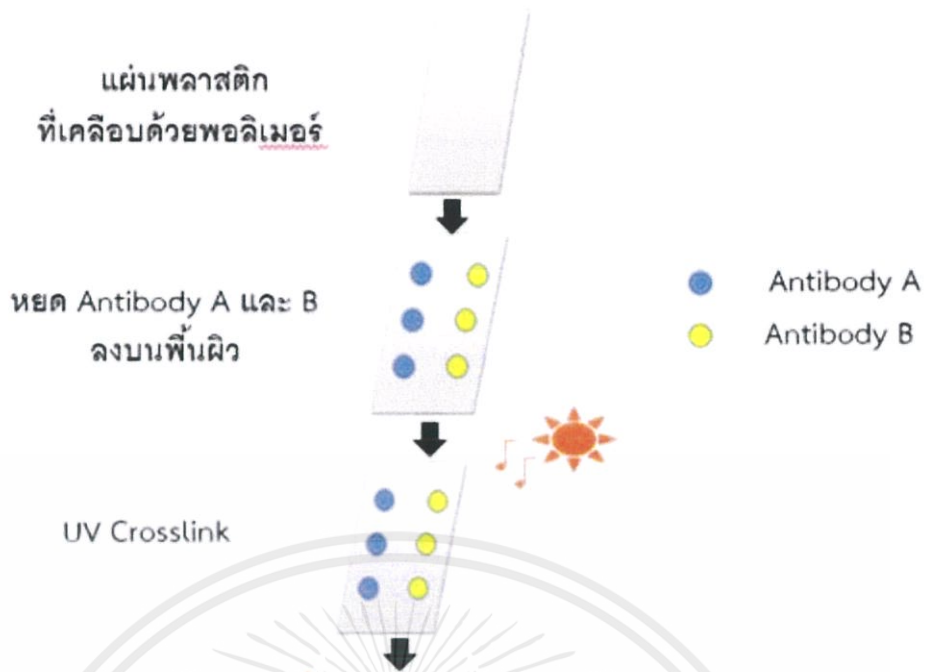
ชิ้นงานพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer แล้ว จะทำการกระตุ้นให้เกิดการเชื่อมขวาง (cross link) โดยการฉายแสงยูวีด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker โดยการให้พลังงานตามค่าพลังงานที่ต้องการศึกษา โดยในงานวิจัยนี้ทำการทดสอบค่าพลังงานที่ 2000, 3000, 5000, 7000 และ 10000 ไมโครจูล โดยรูปแสดงการเกิดการเชื่อมขวางของ coating polymer บนพื้นผิว PMMA แสดงดังแสดงในรูป 3.3



รูปที่ 3.3 แผนภาพแสดงขั้นตอนการตรึง Polymer ลงบนพื้นผิวพลาสติก [34]

### 3.3.4 การตรึงแอนติบอดีลงบนชิ้นงาน

การตรึงโปรตีนแอนติบอดีลงบนพื้นผิว ทำโดยการหยดแอนติบอดีปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนพื้นแผ่นพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer แล้ว จากนั้นรอจนแห้งและนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อทำให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิว ด้วยหลักการเดียวกันกับการกระตุ้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวี โดยทำการทดสอบการให้ค่าพลังงานแสงยูวีที่ 5000, 7500, 10000, 12500, 15000 และ 17500 ไมโครจูล ดังแสดงในรูป 3.4

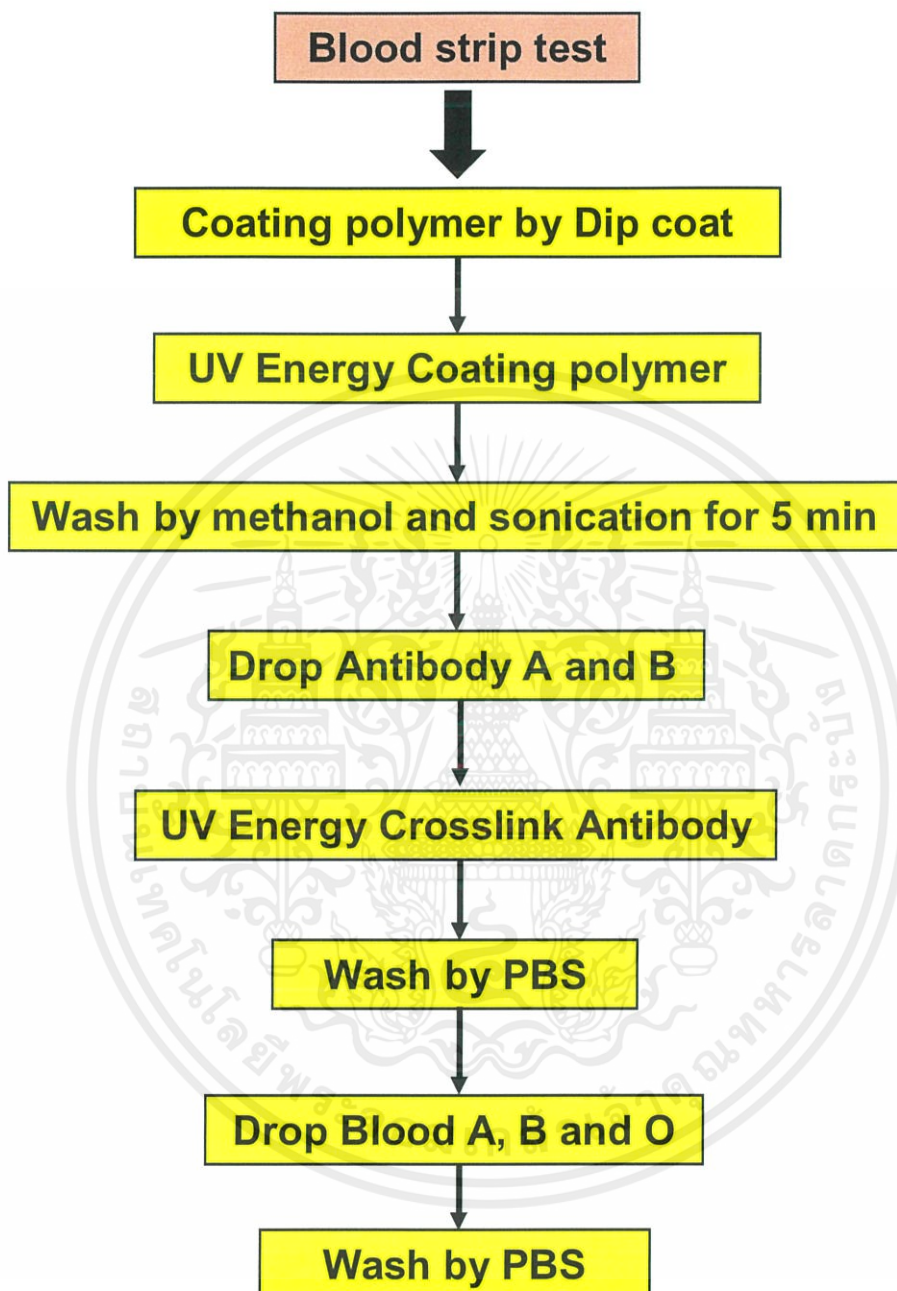


รูปที่ 3.4 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมแอนติบอดีลงบนชิ้นงาน [35]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 การทดสอบตรวจวัดหมู่เลือด

การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือดมีขั้นตอนการดำเนินงานดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นงานและทดสอบเลือด

### 3.4.1 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของพอลิเมอร์ไวแสงที่เคลือบบนพื้นผิวที่

#### เหมาะสม

การเลือกความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่เหมาะสมนั้น จะทำการทดสอบเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) โดยงานวิจัยนี้ทำการทดสอบค่าความเข้มข้น 0.05, 0.1, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร โดยการกระตุ้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวี 3000 ไมโครจูล หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิเครทเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นหยดแอนติบอดีความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ลงบนพื้นผิวปริมาตร 5 ไมโครลิตร แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวี 10000 ไมโครจูล

หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเอและบีไว้แล้ว นำไปป้อนในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ และรอนนแท็ง จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยพีบีเอสบัฟเฟอร์ สังเกตและบันทึกผลการทดสอบ

### 3.4.2 การตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว

#### 3.4.2.1 การเลือกพลังงาน UV ที่เหมาะสมสำหรับการสร้างพันธะเชื่อมขวางของ Coating Polymer

จากการเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของ coating polymer ในหัวข้อที่ 3.4.1.1 ทำให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด ในการนำไปใช้งานในการศึกษาค่าพลังงานในการเชื่อมขวางพอลิเมอร์ในหัวข้อนี้

การเลือกพลังงานยูวีที่เหมาะสม โดยการให้พลังงานตามค่าพลังงานที่ต้องการศึกษา โดยในงานวิจัยนี้ทำการทดสอบค่าพลังงานที่ 2000, 3000, 5000, 7000 และ 10000 ไมโครจูล หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิเครทเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นหยดแอนติบอดีความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนพื้นผิว แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวี 10000 ไมโครจูล

หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเอและบีไว้แล้ว นำไปป้อนในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ และรอนนแท็ง จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยพีบีเอสบัฟเฟอร์ สังเกตและบันทึกผลการทดสอบ

### 3.4.2.2 การเลือกพลังงาน UV ที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี

จากการศึกษา ในหัวข้อที่ 3.4.1.1 และหัวข้อที่ 3.4.2.1 ทำให้ได้ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่เหมาะสม และค่าพลังงานในการเชื่อมขวางพอลิเมอร์ จึงนำไปใช้งานในการศึกษาการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิวในหัวข้อนี้

การเลือกพลังงาน UV ที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี โดยการให้พลังงานตามค่าพลังงานที่ต้องการศึกษา โดยในงานวิจัยนี้ทำการทดสอบค่าพลังงานที่ 5000, 7500, 10000, 12500, 15000 และ 17500 ไมโครจูล เมื่อทำการเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ที่เหมาะสมแล้ว ทำการกระตุ้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวี นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิเครทเป็นเวลา 5 นาที และหยดแอนติบอดีที่ความเข้มข้น 100 เอร์เซ็นปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนพื้นผิว จากนั้นรอนแห้ง และนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิว ด้วยพลังงานยูวี 5000, 7500, 10000, 12500, 15000 และ 17500 ไมโครจูล

หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเอและบีไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายพีบีเอส บัฟเฟอร์ และรอนแห้ง จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยพีบีเอสบัฟเฟอร์ สังเกตและบันทึกผลการทดสอบ

### 3.4.2.3 การเลือกความเข้มข้นแอนติบอดีที่เหมาะสม

จากการศึกษา ในหัวข้อที่ 3.4.1.1 หัวข้อที่ 3.4.2.1 และหัวข้อที่ 3.4.2.2 ทำให้ได้ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่เหมาะสม ค่าพลังงานในการเชื่อมขวางพอลิเมอร์ และค่าพลังงานที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี จึงนำไปใช้งานในการศึกษาความเข้มข้นของแอนติบอดีในหัวข้อนี้

การเลือกความเข้มข้นของแอนติบอดี ที่เหมาะสมนั้น จะทำการทดสอบเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการกระตุ้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวี 5000 ไมโครจูล หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิเครทเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นหยดแอนติบอดีปริมาตร 5 ไมโครลิตร โดยงานวิจัยนี้ทำการทดสอบค่าความเข้มข้นของแอนติบอดี 30, 60, 80 และ 100 เอร์เซ็นโดยทำละลายในพีบีเอสบัฟเฟอร์และทำการหยดลงบนพื้นผิว แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวี 12500 ไมโครจูล

หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเอและบีไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายพีบีเอส บัฟเฟอร์ และรอนแห้ง จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 %

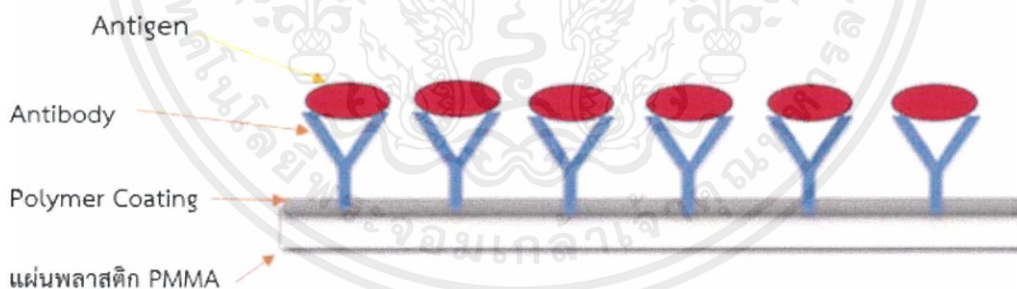
v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยฟิโซสัฟเฟอร์ สังเกตและบันทึกผลการทดสอบ

### 3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของการติดเลือด

#### 3.4.3.1 การทดสอบหาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดและแอนติบอดีบนพื้นผิว

โดยงานวิจัยนี้ทำการทดสอบระยะเวลาในการติดของเลือดที่ 5, 10, 20 และ 30 นาที โดยทำการเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ที่ได้จากหัวข้อ 3.4.1.1 จากนั้นกระตุ้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวี ที่ได้จากหัวข้อ 3.4.2.1 หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิกเรทเป็นเวลา 5 นาที หลังจากหยุดแอนติบอดีที่ได้จากหัวข้อ 3.4.2.3 ลงบนพื้นผิว แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่องเพื่อทำให้แอนติบอดีติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวีที่ได้จากหัวข้อ 3.4.2.2

หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีและบีไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายฟิโซสัฟเฟอร์ และรอกจนแห้ง จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้โดยทำการจับเวลาที่ 5, 10, 20 และ 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยฟิโซสัฟเฟอร์ สังเกตและบันทึกผลการทดสอบ จึงได้ภาพจำลองการติดของเซลล์เม็ดเลือดแดงบนพื้นผิวดังแสดงในรูป 3.6



รูปที่ 3.6 แผนภาพจำลองการติดของเซลล์เม็ดเลือดแดงบนชิ้นงาน

### 3.4.3.2 การทดสอบการเก็บรักษาชิ้นงาน

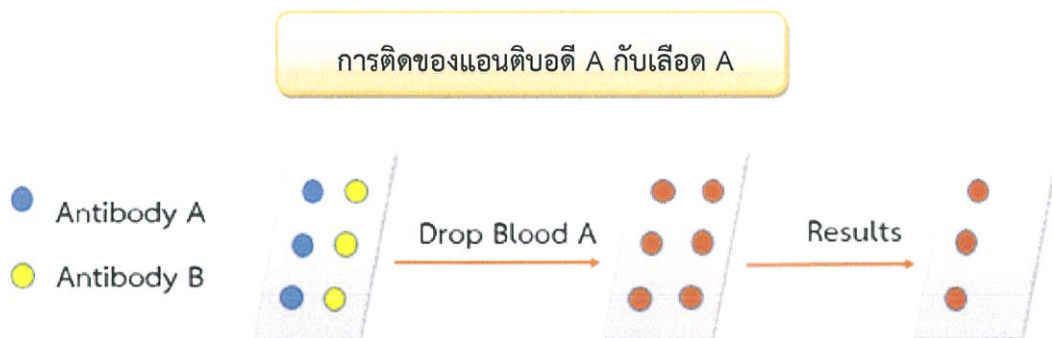
จากการศึกษา ในหัวข้อที่ 3.4.1.1 หัวข้อที่ 3.4.2.1 หัวข้อที่ 3.4.2.2 และหัวข้อ 3.4.2.3 ทำให้ได้ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่เหมาะสม ค่าพลังงานในการเชื่อมขวางพอลิเมอร์ ค่าพลังงานที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี และความเข้มข้นของแอนติบอดีที่เหมาะสม จึงนำไปใช้งานในการทดสอบการเก็บรักษาชิ้นงานในหัวข้อนี้

โดยงานวิจัยนี้ทำการทดสอบการเก็บรักษาชิ้นงานเป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน โดยทำการเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ที่ได้จากหัวข้อ 3.4.1.1 จากนั้นกระตุ้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวี ที่ได้จากหัวข้อ 3.4.2.1 หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิเครทเป็นเวลา 5 นาที หลังจากหยุดแอนติบอดีที่ได้จากหัวข้อ 3.4.2.3 ลงบนพื้นผิว แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่องเพื่อทำให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวีที่ได้จากหัวข้อ 3.4.2.2

หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเรียบร้อยแล้ว นำไปจุ่มในสารละลายฟิปีเอสบัฟเฟอร์ และรอจนแห้ง จากนั้นทำการหยุดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้โดยใช้ระยะเวลาการติดเลือดที่ได้ในหัวข้อที่ 3.4.3.1 เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยฟิปีเอสบัฟเฟอร์ ล้างและบันทึกผลการทดสอบ

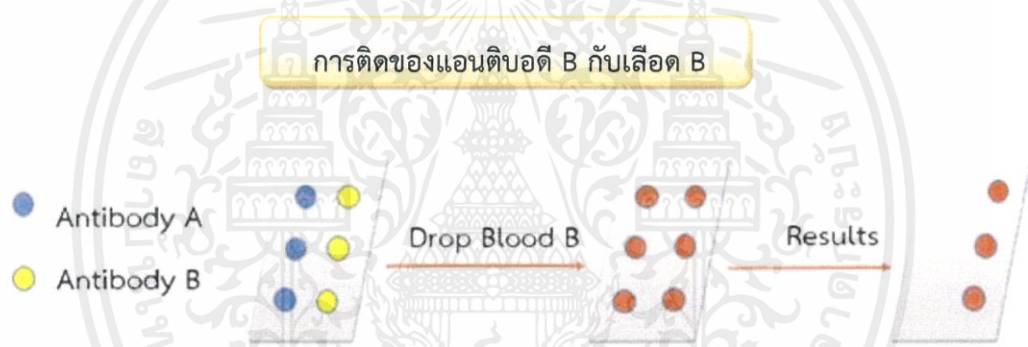
### 3.4.3.3 การทดสอบการติดของเลือดแบบจำเพาะและไม่จำเพาะ

จากการศึกษาเงื่อนไขข้างต้น ทำให้ได้เงื่อนไขในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด เนื่องจากได้ค่าความเข้มข้นของพอลิเมอร์, ค่าพลังงาน UV ที่เหมาะสมที่ใช้ในการเคลือบพื้นผิว PMMA, ค่าความเข้มข้นของแอนติบอดี, ค่าพลังงาน UV ที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี, และในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดและแอนติบอดีบนพื้นผิว เมื่อได้เงื่อนไขที่ดีที่สุด จึงนำมาสร้างเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด จากนั้นจึงทำการทดสอบการติดของเลือดแบบจำเพาะ (Specificity) โดยการติดเลือดแบบจำเพาะนี้ คือการติดกันของแอนติบอดี กับแอนติเจนที่จำเพาะกับตัวแอนติบอดีเอง ดังแสดงได้ดังรูปที่ 3.7 และรูปที่ 3.8 และระยะเวลาการเก็บรักษาชิ้นงานที่เหมาะสม



รูปที่ 3.7 ภาพแสดงการจับกันแบบจำเพาะของแอนติบอดีเอกับหมู่เลือดเอ

การติดแบบจำเพาะของแอนติบอดี A กับเลือด A เมื่อทำการหยดแอนติบอดีเอ และปีลงบนพื้นผิว จากนั้นหยดเลือด A ลงบนพื้นผิวและรอเลือดแห้ง สังเกตผลจะได้ว่าบริเวณตำแหน่งของแอนติบอดีเอ มีการติดของเลือดเกิดขึ้น ทำให้ทราบว่าเกิดการจับแบบจำเพาะเจาะจงกันของแอนติบอดีและแอนติเจน



รูปที่ 3.8 ภาพแสดงการจับกันแบบจำเพาะของแอนติบอดีบีกับหมู่เลือดบี

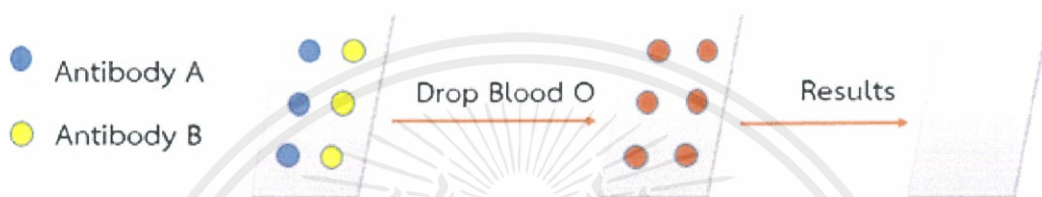
การติดแบบจำเพาะของแอนติบอดี B กับเลือด B เมื่อทำการหยดแอนติบอดีเอ และปีลงบนพื้นผิว จากนั้นหยดเลือด B ลงบนพื้นผิวและรอเลือดแห้ง สังเกตผลจะได้ว่าบริเวณตำแหน่งของแอนติบอดีบี มีการติดของเลือดเกิดขึ้น ทำให้ทราบว่าเกิดการจับแบบจำเพาะเจาะจงกันของแอนติบอดีและแอนติเจน

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลด้วยภาพทำให้เห็นลักษณะการจับกันแบบจำเพาะของแอนติบอดีและแอนติเจนบนเซลล์เม็ดเลือด แต่ผลดังกล่าวสามารถพิจารณาได้ด้วยตาเปล่า จึงทำการอ่านค่า

สัญญาณการติดของหมู่เลือดเพื่อทำให้เป็นค่าที่มาตรฐานจึงนำไปวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม Image J ตามวิธีในหัวข้อ 3.3.3.4

ส่วนการติดของเลือดแบบไม่จำเพาะ (Unspecificity) โดยการติดเลือดแบบไม่จำเพาะนี้ คือ การไม่จับกันของแอนติบอดีเอ กับเลือด B และ O การไม่จับกันของแอนติบอดีบี กับเลือด A และ O ดังแสดงได้ดังรูปที่ 3.9

#### การติดของเลือดแบบไม่จำเพาะของแอนติบอดี A และ B กับแอนติเจน O



รูปที่ 3.9 ภาพแสดงการจับแบบไม่จำเพาะของแอนติบอดี A, B กับหมู่เลือด O

การติดแบบไม่จำเพาะของแอนติบอดี A และ B กับเลือด O เมื่อทำการหยดแอนติบอดีเอ และบีลงบนพื้นผิว จากนั้นหยดเลือด O ลงบนพื้นผิวและรอเลือดแห้ง สังเกตผลจะได้ว่าบริเวณ ตำแหน่งของแอนติบอดีบี ไม่มีการติดของเลือดเกิดขึ้น ทำให้ทราบว่าเกิดการจับแบบไม่จำเพาะ เจาะจงกันของแอนติบอดีและแอนติเจน

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลด้วยภาพทำให้เห็นลักษณะการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดและ แอนติบอดีบนพื้นผิว แต่ผลดังกล่าวสามารถพิจารณาได้ด้วยตาเปล่า จึงทำการอ่านค่าสัญญาณการติด ของหมู่เลือดเพื่อทำให้เป็นค่าที่มาตรฐานจึงนำไปวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม Image J ตามวิธีในหัวข้อ 3.4.3.4

#### 3.4.3.4 การวิเคราะห์สัญญาณการติดของหมู่เลือดด้วยโปรแกรม Image J

การอ่านค่าสัญญาณการติดของหมู่เลือด สามารถทำได้โดยใช้ โปรแกรม Image J ในการ วิเคราะห์ผล เพื่อหาค่า % Intensity หรือ % การติดของเลือด โดยขั้นตอนในการอ่านค่าดังนี้

##### การใช้งานโปรแกรม

1. เปิดโปรแกรม Image J
2. เปิดไฟล์รูปชิ้นงานที่ต้องการจะศึกษา ลงในโปรแกรม Image J

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ทำการเลือกค่า Mean Control โดยเลือกบริเวณที่สว่างที่สุดของชิ้นงาน โดยทำการเลือกเครื่องมือบนแถบเครื่องมือชื่อว่า Oval เป็นลักษณะกลมๆเส้นปะ
4. ทำการวางรอบบริเวณที่จะเลือกเป็น Mean Control จากนั้นกด Analyze และเลือก Measure จะมีค่า Mean Control บริเวณนั้นขึ้นมา
5. จากนั้น ทำการเลือกบริเวณที่มีการติดของเลือด โดยทำการเลือกเครื่องมือบนแถบเครื่องมือชื่อว่า Oval เป็นลักษณะกลมๆเส้นปะ
6. ทำการวางรอบบริเวณที่จะเลือกเป็น Mean Intensity จากนั้นกด Analyze และเลือก Measure จะมีค่า Mean Intensity บริเวณนั้นขึ้นมา
7. ทำแบบเดียวกันจำนวน 3 จุดของการติดสัญญาณเลือด และทำการอ่านค่าตามข้อที่ 6
8. จากนั้นทำการหา % Intensity โดยพิจารณาจากค่า Mean Control และ Mean Intensity โดยมีสูตรในการคำนวณหา % Intensity ดังนี้

$$\% \text{ การติดของเลือด} = \frac{100 \% - (\text{Mean Intensity}) * 100 \%}{(\text{Mean Control})}$$

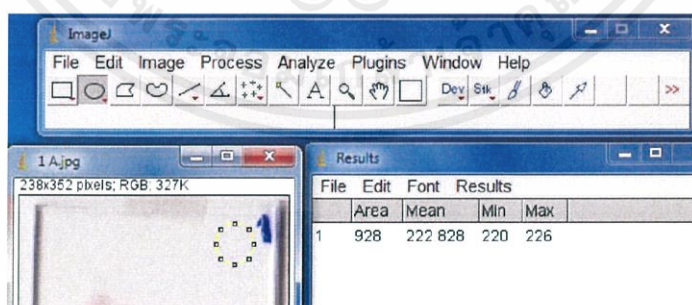
Mean Intensity = ค่าการติดของเลือดที่จุดใดๆ

Mean Control = ค่าอ้างอิงมาตรฐานของพื้นผิวชิ้นงาน

9. ทำการเฉลี่ยค่า % Intensity เพื่อนำไปใช้งาน

#### การอ่านค่าวิเคราะห์ผล

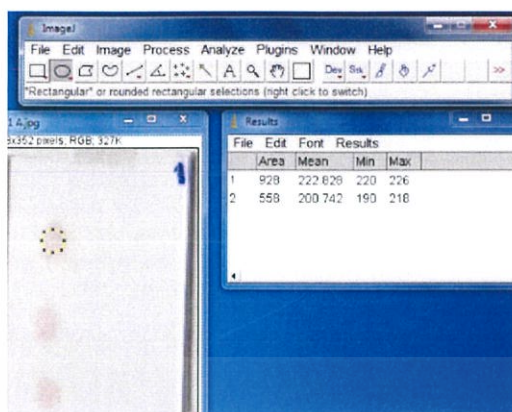
1. เลือกค่า Mean Control



รูปที่ 3.10 การอ่านค่า Mean Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. เลือกค่า Mean Intensity จากบริเวณการติดของเซลล์เม็ดเลือดแดง



รูปที่ 3.11 การอ่านค่า Mean Intensity

3. เมื่อใช้สูตรในการคำนวณหา % Intensity ได้จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยทั้ง 3 จุดของการติดเลือด เพื่อนำค่าเฉลี่ยของทั้ง 3 จุดมาวิเคราะห์ผล
4. โดยค่า % Intensity ที่อ่านได้ ค่ามาก หมายถึงการติดของเลือดที่ดี  
ค่า % Intensity ที่อ่านได้ ค่าน้อย หมายถึงการติดของเลือดที่ไม่ดี
5. ทดสอบเลือด A การแสดงผลข้อมูลแอนติบอดีเอ จะมีค่าสัญญาณที่มาก  
ทดสอบเลือด B การแสดงผลข้อมูลแอนติบอดีบี จะมีค่าสัญญาณที่มาก  
ทดสอบเลือด O การแสดงผลข้อมูลแอนติบอดีเอ และแอนติบี จะมีค่าสัญญาณน้อยมาก หรือค่าสัญญาณใกล้เคียง 0

## 3.5 การวิเคราะห์ทดสอบพื้นผิวพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer

### 3.5.1 การวัดมุมสัมผัสของน้ำ (contact angle)

ในการหาความเข้มข้นของ Polymer ที่เหมาะสมเพื่อจะนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป จะทำการทดสอบพื้นผิวของชิ้นงานว่าในความเข้มข้นที่ต่างกัน มุมสัมผัสของชิ้นงานจะมีลักษณะอย่างไร โดยทำการวัดมุมสัมผัสของน้ำในเงื่อนไขที่ 3.4.1

ทำการวัดมุมสัมผัสของชิ้นงานหลังการ เคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ด้วยค่าความเข้มข้น 0.05, 0.1, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เครื่องมือในการวัดมุมสัมผัส โดยหยดน้ำลงบนพื้นผิวของชิ้นงาน ในแต่ละความเข้มข้นของพอลิเมอร์

โดยทำการวัดซ้ำจำนวน 3 ครั้ง จากนั้นเข้าโปรแกรมวิเคราะห์ผล โดยดูลักษณะความขบ่น้ำ หรือไม่ขบ่น้ำ ของชิ้นงานเมื่อความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่แตกต่างกัน และลักษณะการทำมุกกันของน้ำกับพื้นผิวชิ้นงานว่าในกรณีที่มีความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่ต่างกันส่งผลให้ค่ามุมสัมผัสต่อชิ้นงานมีค่าที่แตกต่างกันอย่างไร เพื่อนำไปใช้ในการพิจารณาเลือกความเข้มข้นของ Polymer ที่เหมาะสมที่สุด

### 3.5.2 การวัดค่าการส่องผ่านของแสง (%Transmission; %T)

ในการหาความเข้มข้นของ Polymer ที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป จะทำการทดสอบพื้นผิวของชิ้นงานว่าในความเข้มข้นที่ต่างกัน ด้วยการวัดค่าการส่องผ่านของแสง ในเงื่อนไขที่

#### 3.4.1

การตรวจสอบว่าการเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ด้วยค่าความเข้มข้นที่ต่างกันั้น ทำให้ชิ้นงาน PMMA มีความทึบแสงแตกต่างไปจากเดิม ซึ่งขั้นในการเคลือบพอลิเมอร์จะส่งผลต่อการส่องผ่านของแสง ในการเตรียมชิ้นงาน หรือเมื่อทำการล้างด้วยเมทานอลแล้วชิ้นงานใสขึ้น และถ้าหากใสขึ้นอาจจะมีการหลุดออกของชั้นพอลิเมอร์ที่ติดไม่ดี ทำให้พื้นผิวชิ้นงานที่ผ่านการล้างนั้นมีความพร้อมต่อการใช้งานต่อไป และอาจส่งผลให้เลือดติดได้ดีขึ้น สะอาด ไม่เลอะออกนอกบริเวณ

ในการทดลองจะทำการวัดค่าการส่องผ่านแสงของชิ้นงานพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ทำการศึกษา ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer เพื่อหาค่าการส่องผ่านแสง (%T) และอ่านค่าที่ได้จากกราฟ และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผล

### 3.5.3 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

ในการหาความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป จะทำการทดสอบพื้นผิวของชิ้นงานว่าในความเข้มข้นที่ต่างกัน ด้วยการศึกษากลุ่มฟังก์ชันของโมเลกุล ในเงื่อนไขที่

#### 3.4.1

การตรวจสอบว่าการเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ด้วยค่าความเข้มข้นที่ต่างกันั้น ทำให้ชิ้นงาน PMMA มีหมู่ฟังก์ชันบนชิ้นงานที่แตกต่างไปจากเดิม ซึ่งขั้นในการเคลือบพอลิเมอร์จะส่งผลต่อการหมู่ฟังก์ชันที่เกิดขึ้นบนพื้นผิว ในการเตรียมชิ้นงาน หรือเมื่อทำการล้างด้วยเมทานอลแล้วชิ้นงานใสขึ้น และถ้าหากใสขึ้นอาจจะมีการหลุดออกของชั้นพอลิเมอร์ที่ติดไม่ดี ทำให้พื้นผิวชิ้นงานที่ผ่านการล้างนั้นมีความพร้อมต่อการใช้งานต่อไป และอาจส่งผลให้เลือดติดได้ดีขึ้น สะอาด ไม่เลอะออกนอกบริเวณ

ในการทดลองจะทำการวัดศึกษาหมู่ฟังก์ชันของโมเลกุล ของชิ้นงานพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ทำการศึกษา ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR) เพื่อหาหมู่ฟังก์ชันที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการอ่านค่าที่ได้จากกราฟ และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผล



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

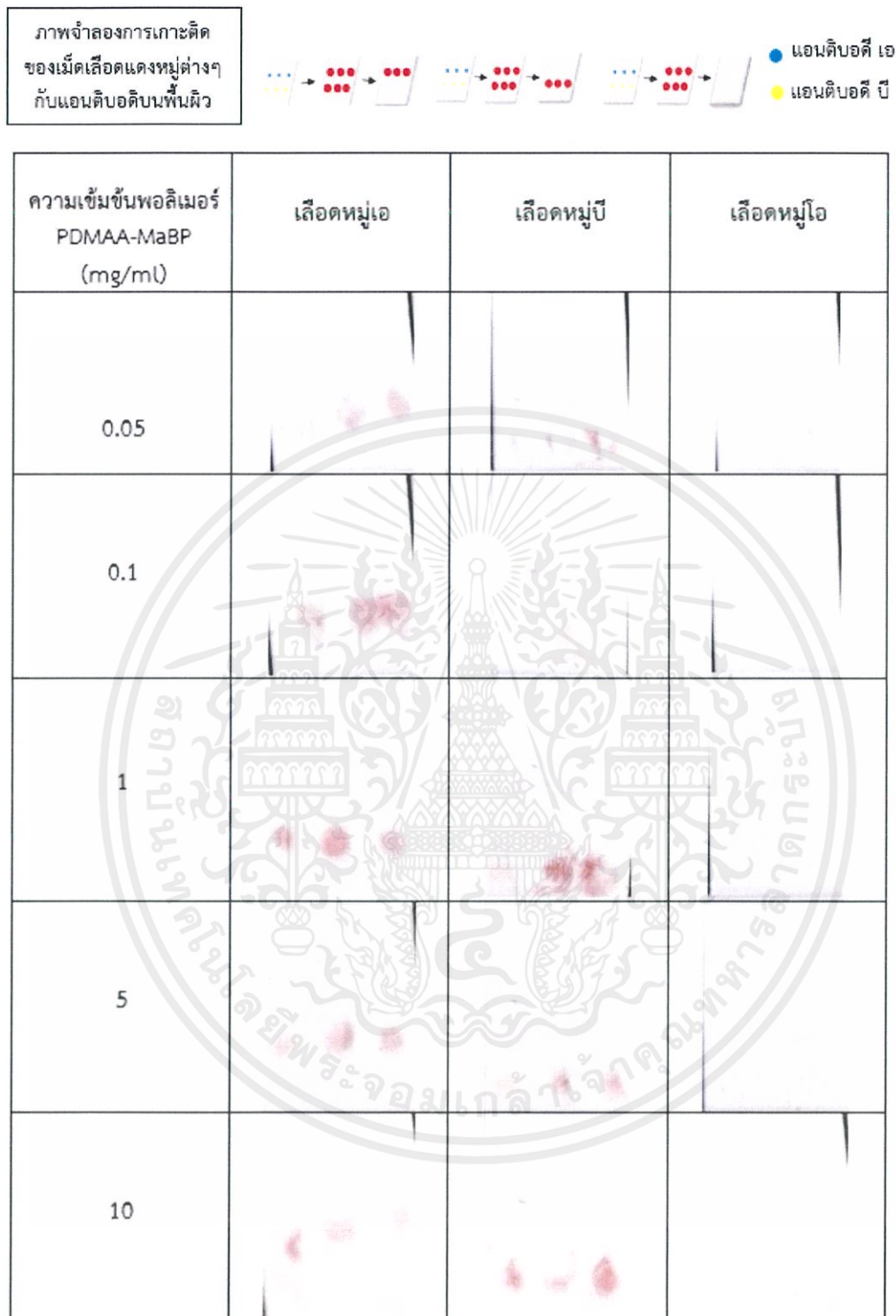
## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของพอลิเมอร์ไวแสงสำหรับเคลือบบนพื้นผิว

การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด เราจำเป็นต้องทดลองหาค่าที่เหมาะสมของตัวแปรต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด โดยเริ่มจากค่าความเข้มข้นพอลิเมอร์สำหรับเคลือบผิวชิ้นงาน เพื่อให้แอนติบอดีสามารถเกิดการเกาะติดแบบเชื่อมขวางบนพื้นผิวและทำให้เกิดการจับกับแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงได้ จากการทดลองได้ทำการทดสอบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการกระตุ้นพอลิเมอร์ ให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยแสงยูวีที่พลังงาน 3000 ไมโครจูล หลังจากนั้นนำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอล พร้อมกับสั่นด้วยความถี่สูง (ultra sonication) เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นหยดแอนติบอดีความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ลงบนพื้นผิวปริมาตร 5 ไมโครลิตร แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวี 10,000 ไมโครจูล

หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีและปีไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ และรอจนแห้ง ที่เวลาประมาณ 20 นาที จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมู่เอ บี และ โอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยพีบีเอสบัฟเฟอร์ ซึ่งได้ผลการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ภาพแสดงการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงกับแอนติบอดี บนพื้นผิวที่ถูกเคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.05, 0.1, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

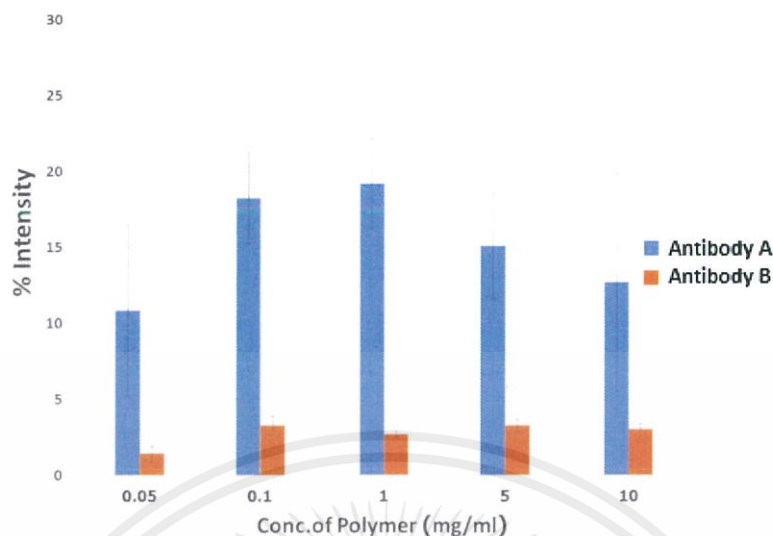
โดยเมื่อทำการทดสอบหาความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่เคลือบบนพื้นผิวที่ความเข้มข้นต่างกัน เมื่อดูด้วยตาเปล่าจะเห็นลักษณะชั้นงานโดย 1 ชั้นงานจะทำการหยอดแอนติบอดีแอมวอน และหยอดแอนติบอดีบีแถวล่าง และทำการหยดเลือดแต่ละชนิดเพื่อดูการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงกับแอนติบอดี แสดงผลดังรูปที่ 4.1 ซึ่งจากการทดลอง เมื่อหยดเลือดหมูเอ จะเห็นการติดของเลือดที่บริเวณ แอนติบอดีเอ เนื่องจากมีความจำเพาะเจาะจงระหว่างแอนติเจนเอ กับ แอนติบอดีเอ ส่วนบริเวณ แอนติบอดีบีไม่เห็นการติดของเลือดเอ เนื่องจากเกิดความไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติเจนเอ กับ แอนติบอดีบี

เมื่อหยดเลือดหมูบี เห็นการติดของเลือดที่บริเวณ แอนติบอดีบี เนื่องจากมีความจำเพาะเจาะจงระหว่างแอนติเจนบี กับ แอนติบอดีบี บริเวณแอนติบอดีเอไม่เห็นการติดของเม็ดเลือดบี เนื่องจากเกิดความไม่จำเพาะเจาะจงกันของแอนติเจนบี กับ แอนติบอดีเอ

เมื่อหยดเลือดหมูโอ จะไม่เห็นการติดของเลือดที่บริเวณแอนติบอดีเอ และ แอนติบอดีบี เนื่องจากไม่มีความจำเพาะเจาะจงระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจน เพราะเลือดหมูโอจะไม่มีแอนติเจนเอและแอนติเจนบีบนพื้นผิว

แต่การแสดงผลเบื้องต้นเป็นภาพที่มองได้ด้วยสายตา ซึ่งผู้สังเกตจะมองได้แตกต่างกันออกไป จึงยังไม่เกิดความแม่นยำ จึงนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าความเข้ม (% Intensity) ของการติดของหมูเลือด โดยใช้ โปรแกรม Image J

ในการวิเคราะห์ผล เพื่อหาค่า % Intensity หรือความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมูเอบนพื้นผิวที่ตรึงด้วยแอนติบอดีทั้งสองชนิด โดยเปรียบเทียบพื้นผิวที่ถูกเคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน แสดงดังรูปที่ 4.2



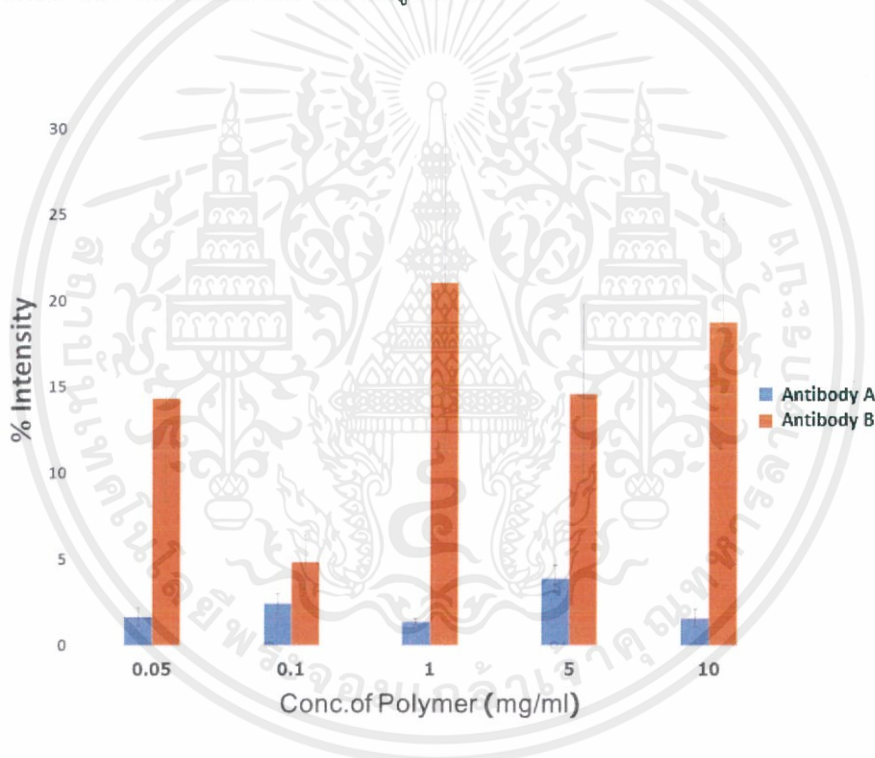
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหนูเอบนพื้นผิว เปรียบเทียบบนพื้นผิวที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน

จากรูปที่ 4.2 เป็นผลการอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหนูเอบ โดยใช้โปรแกรม Image J ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองทำซ้ำอย่างละ 3 การทดลอง พบว่าความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่ต่างกัน ให้ค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงที่ต่างกัน เมื่อพิจารณาสัญญาณที่แอนติบอดีเอบ เนื่องจากเกิดการจับกันแบบจำเพาะของแอนติเจนเอบนผิวเม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีเอบนพื้นผิว โดยพื้นผิวที่พอลิเมอร์ความเข้มข้น 0.05 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าความเข้มต่ำอยู่ที่ประมาณ  $10.83\% \pm 5.64$  และ  $12.67\% \pm 7.19$  ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีค่า SD ค่อนข้างกว้าง จึงไม่เลือกค่าความเข้มข้นที่ 0.05 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ในการทดลอง เมื่อพิจารณาที่ค่าความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าความเข้มบนแอนติบอดีเอบมากขึ้นอยู่ที่  $15.08\% \pm 3.48$  ซึ่งพบว่ามีค่า SD ค่อนข้างกว้างเช่นกันจึงไม่เลือกค่าความเข้มข้นที่ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาใช้ในการทดลอง และเมื่อพิจารณาที่ค่าความเข้มข้นที่ 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าความเข้มตรงแอนติบอดีเอบที่ใกล้เคียงกันอยู่ที่  $18.25\% \pm 3.03$  และ  $19.18\% \pm 0.19$  ตามลำดับ แต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าความเข้มหรือมีการติดของเม็ดเลือดแดงมากที่สุด และ จึงเลือกความเข้มข้นที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เมื่อทำการพิจารณาสัญญาณที่แอนติบอดีบี เนื่องจากไม่เกิดการจับกันของเม็ดเลือดแดงหนูเอบนแอนติบอดี เนื่องจากไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติเจนเอบกับแอนติบอดีบี แต่เมื่อ

พิจารณารูปที่ 4.2 เห็นสัญญาณเกิดขึ้นที่บริเวณตำแหน่งแอนติบอดีบี ซึ่งให้ค่าความเข้มของสัญญาณที่พอลิเมอร์ความเข้มข้น 0.05 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าความเข้มต่ำอยู่ที่ประมาณ  $1.42\% \pm 0.51$  และ  $2.70\% \pm 0.19$  ตามลำดับ ที่ความเข้ม 0.1, 5 และ 10 ให้ค่าความเข้มที่สูงขึ้นอยู่ที่ประมาณ  $3.27\% \pm 0.64$ ,  $3.3\% \pm 0.41$  และ  $3.01\% \pm 0.41$  ตามลำดับ สัญญาณการติดของเม็ดเลือดแดงเอบนพื้นผิวแอนติบอดีบีที่เกิดขึ้น อาจเนื่องมาจากการที่เม็ดเลือดแดงเกิดการติดบนพื้นผิวแบบการดูดซับทางกายภาพ (physical adsorption) และเมื่อพิจารณาค่าสัญญาณความเข้มที่อ่านได้บริเวณแอนติบอดีบีมีค่าความเข้มไม่เกิน 4 %

การวิเคราะห์ผล เพื่อหาค่า % Intensity หรือความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่บีบนพื้นผิวที่ตรึงด้วยแอนติบอดีทั้งสองชนิด โดยเปรียบเทียบพื้นผิวที่ถูกเคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน แสดงดังรูปที่ 4.3



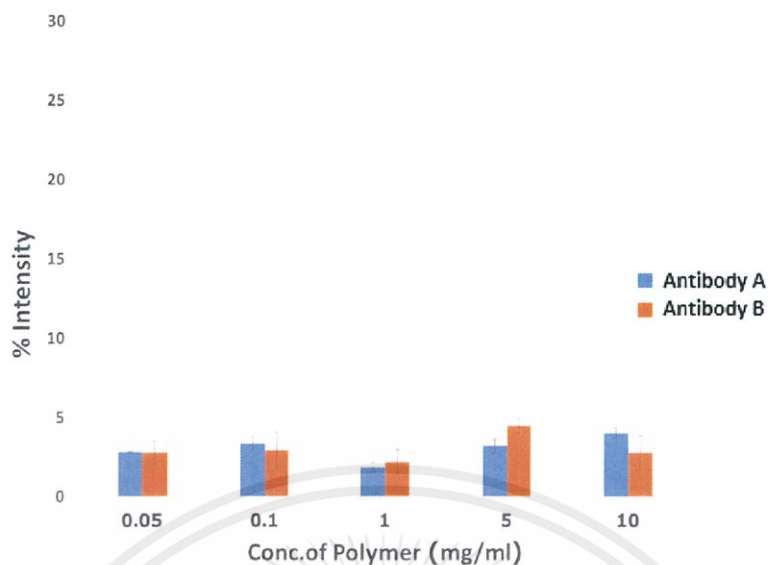
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่บีบนพื้นผิว เปรียบเทียบบนพื้นผิวที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน

จากรูปเป็นผลการอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่บี โดยใช้โปรแกรม Image J ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองทำซ้ำอย่างละ 3 การทดลอง พบว่าความเข้มข้นของพอลิเมอร์ต่างกัน ให้ค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงที่ต่างกัน เมื่อพิจารณาสัญญาณที่

แอนติบอดีบี เนื่องจากเกิดการจับกันแบบจำเพาะของแอนติเจนบีบนผิวเม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิว โดยพื้นผิวที่พอลิเมอร์ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าความเข้มข้นที่ประมาณ  $4.832\% \pm 1.56$  ซึ่งพบว่ามีความเข้มข้นที่ต่ำ จึงไม่เลือกค่าความเข้มข้นที่ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ในการทดลอง เมื่อพิจารณาที่ค่าความเข้มข้น 0.05 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าความเข้มข้นแอนติบอดีบีที่มากขึ้น ให้ค่าความเข้มข้นที่ประมาณ  $14.33\% \pm 6.02$  และ  $14.6\% \pm 5.2$  ซึ่งพบว่ามีความ SD ค่อนข้างกว้างเนื่องมาจากการทำการทดลอง 3 ครั้งแต่ละครั้งที่ทำการติดของเม็ดเลือดแดงและไม่ติดเม็ดเลือดแดง หรืออาจเกิดจากพอลิเมอร์ส่วนเกินที่ล้างทำความสะอาดได้ไม่ดี เมื่อทำการอ่านค่าสัญญาณจึงทำให้ค่า SD ค่อนข้างกว้าง จึงไม่เลือกค่าความเข้มข้นที่ 0.05 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาใช้ในการทดลอง และเมื่อพิจารณาที่ค่าความเข้มข้นที่ 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าความเข้มข้นแอนติบอดีบีที่ใกล้เคียงกันอยู่ที่  $21.03\% \pm 9.08$  และ  $18.3\% \pm 5.6$  ตามลำดับ แต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าความเข้มข้นหรือมีการติดของเม็ดเลือดแดงมากที่สุด และ จึงเลือกความเข้มข้นที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เมื่อทำการพิจารณาสัญญาณที่แอนติบอดีเอ เนื่องจากไม่เกิดการจับกันของเม็ดเลือดแดงบนแอนติบอดี เนื่องจากไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติเจนบีกับแอนติบอดีเอ แต่เมื่อพิจารณารูปที่ 4.3 เห็นสัญญาณเกิดขึ้นที่บริเวณตำแหน่งแอนติบอดีบี ให้ค่าความเข้มข้นของสัญญาณ ที่ความเข้มข้นพอลิเมอร์ 0.05, 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าความเข้มข้นที่ประมาณ  $1.67\% \pm 0.52$ ,  $1.37\% \pm 0.19$  และ  $1.60\% \pm 0.53$  ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 5 ให้ค่าความเข้มข้นที่สูงขึ้นอยู่ที่ประมาณ  $2.43\% \pm 0.59$  และ  $3.87\% \pm 0.77$  ตามลำดับ ซึ่งสัญญาณการติดของเม็ดเลือดแดงเกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากเม็ดเลือดแดงสามารถติดบนพื้นผิวแบบการดูดซับทางกายภาพ ซึ่งเรียกได้ว่าเป็นสัญญาณที่จะเกิดขึ้นได้เมื่อเม็ดเลือดแดงโดนพื้นผิวนี้นี้ และเมื่อพิจารณาค่าสัญญาณความเข้มข้นที่อ่านได้บริเวณแอนติบอดีเอมีค่าความเข้มข้นไม่เกิน 4 % ซึ่งค่าสัญญาณจะใกล้เคียงกับที่พบเจอบนพื้นผิวแอนติบอดีบีกับเม็ดเลือดแดงหมู่เอ

การวิเคราะห์ผล เพื่อหาค่า % Intensity หรือความเข้มข้นของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่โอบนพื้นผิวที่ตรึงด้วยแอนติบอดีทั้งสองชนิด โดยเปรียบเทียบพื้นผิวที่ถูกเคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน แสดงดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมูโอบนพื้นผิว เปรียบเทียบบนพื้นผิวที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นต่างกัน

จากการทดสอบกับเลือดหมูโอบ เมื่อมองด้วยตาเปล่าแทบไม่พบสีแดงของการเกาะติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวหลังจากการล้างด้วยฟิสิกส์แล้ว แต่เมื่อนำภาพไปวิเคราะห์ค่าความเข้มด้วยโปรแกรม Image J ดังแสดงในรูปที่ 4.4 พบว่าค่าสัญญาณที่ได้มีค่าใกล้เคียงกันในทุกๆ พื้นผิว ซึ่งมีค่าประมาณ  $1.9 \pm 0.05$  ถึง  $4.47 \pm 1.18$  % โดยเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวในทุกเงื่อนไข เนื่องจากเลือดหมูโอบ ไม่มีแอนติเจนเอ และ แอนติเจนบี บนพื้นผิวของเม็ดเลือด จึงไม่เกิดการเกาะติดกับแอนติบอดีทั้งสองชนิดที่ถูกตรึงอยู่บนพื้นผิว ซึ่งสัญญาณที่เกิดขึ้นจากเลือดหมูโอบตรงนี้ อาจบอกได้ว่าเป็นสัญญาณแบบไม่จำเพาะเจาะจงที่จะเกิดขึ้นอยู่แล้วกับชิ้นงานตรวจวัดหมูโอบเลือดที่ทำขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลการเกาะติดแบบ physical adsorption เมื่อพิจารณาสัญญาณแบบไม่จำเพาะที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวแอนติบอดีกับเลือดหมูโอบ (รูปที่ 4.2) หรือ บนพื้นผิวแอนติบอดีบีกับเลือดหมูโอบ (รูปที่ 4.3) จะพบว่าสัญญาณนั้นมีค่าอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับที่เกิดบนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบีที่ทดสอบกับเลือดหมูโอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติพื้นผิวพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer

ในการหาความเข้มข้นของพอลิเมอร์ ที่เหมาะสมเพื่อจะนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป การวิเคราะห์ทดสอบพื้นผิวชิ้นงานที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างกันเพื่อทดสอบว่าพื้นผิวชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer มีความแตกต่างจากพื้นผิวปกติอย่างไร เมื่อทำการเคลือบ coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างกันแล้ว และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่างๆ จะทำให้เห็นความแตกต่างของพื้นผิว โดยการวิเคราะห์คุณสมบัติพื้นผิวชิ้นงานด้วยกัน 3 เทคนิค ดังนี้

### 4.2.1 การวัดมุมสัมผัสของน้ำ (contact angle)

ทำการทดสอบเพื่อดูคุณสมบัติความชอบน้ำของพื้นผิวชิ้นงาน หลังจากทำการเคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ความเข้มข้นต่างกันที่ 0.05, 0.1, 1, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.5

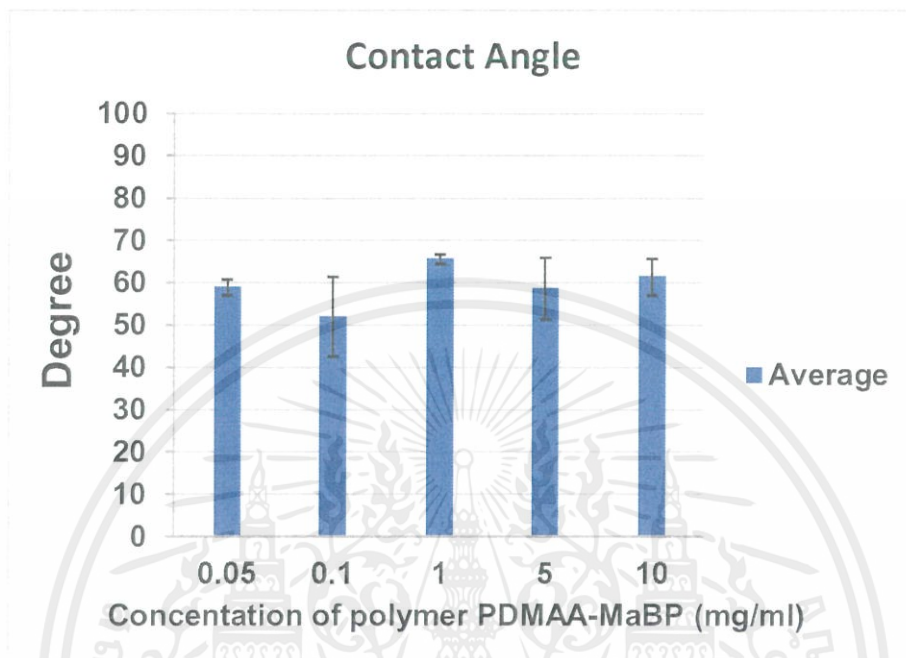
จำนวนครั้ง ความเข้มข้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (mg/ml)	1	2	3	ค่าเฉลี่ยมุม (องศา)
0				50.45±3.68
0.05				58.88±1.96
0.1				51.98±1.96
1				65.57±4.17
5				58.67±7.36
10				51.37±4.30

รูปที่ 4.5 ภาพแสดงการวัดมุมสัมผัสของน้ำบนพื้นผิว PMMA หลังเคลือบด้วยพอลิเมอร์

เมื่อทำการวัดมุมสัมผัสของพื้นผิว PMMA ก่อนเคลือบและหลังเคลือบด้วยความเข้มข้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ต่างกัน จากรูปจะเห็นได้ว่าเมื่อเทียบแผ่น PMMA ก่อนเคลือบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ให้ค่ามุมสัมผัส 50.45±3.68 องศา และลักษณะมุมสัมผัสมีการกระจายตัวของหยดน้ำซึ่งค่ามุมสัมผัสนี้บ่งบอกถึงสภาพความชอบน้ำ และเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP อื่นๆ ทำให้เห็นความแตกต่างของมุมเมื่อทำการเคลือบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP เมื่อทำการเปรียบเทียบกับความเข้มข้นพอลิเมอร์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่เหมาะสมที่สุด ที่นำมาเคลือบพื้นผิว จะเห็นได้ว่าค่ามุมสัมผัสของน้ำบนพื้นผิว มีความเพิ่มมากขึ้น เมื่อเทียบกับแผ่น PMMA ก่อนเคลือบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP เพราะฉะนั้นแล้วที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจึงเหมาะสม ที่จะนำไปใช้งานต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำการวัดมุมสัมผัสของน้ำหลังเคลือบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำข้อมูลการเฉลี่ยทั้ง 3 ครั้งที่ได้มาวิเคราะห์ผล และแสดงออกมาเป็นกราฟดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงค่ามุมสัมผัสของน้ำบนพื้นผิว PMMA หลังการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากกราฟเป็นกราฟเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง เพื่อดูความแตกต่างของความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่ทำการเคลือบบนพื้นผิวโดยการวัดค่ามุมสัมผัสน้ำ เมื่อพิจารณาจากกราฟ จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้ค่ามุมสัมผัสที่มากที่สุด มีค่าเฉลี่ยประมาณ  $65.57 \pm 4.17$  องศา โดยมุมสัมผัสนี้จะบอกแนวโน้มที่หยดน้ำจะกระจายตัวในพื้นที่ผิวเรียบของของแข็ง โดยมุมสัมผัสจะแปรผกผันกับความสามารถในการกระจายตัวของน้ำ จากกราฟที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่ามุมสัมผัสมากที่สุด มีความเป็น hydrophobic หรือมีความไม่ชอบน้ำมากที่สุด และยังมีค่า SD ในช่วงแคบที่สุด แสดงให้เห็นว่าแต่ละครั้งของการทำการทดลองให้ค่าที่ใกล้เคียงกัน แต่ที่ความเข้มข้นอื่นๆ ที่มีค่า SD ที่กว้างขึ้น อาจเกิดจากการขณะทำการทดลองแต่ละครั้งของการวัดมุมสัมผัสมีการวัดที่ไม่สม่ำเสมอ หรือเกิดข้อผิดพลาดของผู้ทำการทดลอง จึงทำให้ค่า SD กว้างขึ้นได้ ที่ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำไปทดสอบการเกาะติดเลือดเทียบกับความเข้มข้นพอลิเมอร์ค่าอื่นทำให้เห็นสัญญาณการเกาะติดเลือดบนพื้นผิวดีกว่าที่ความเข้มข้นค่าอื่น และการที่พื้นผิวมีความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

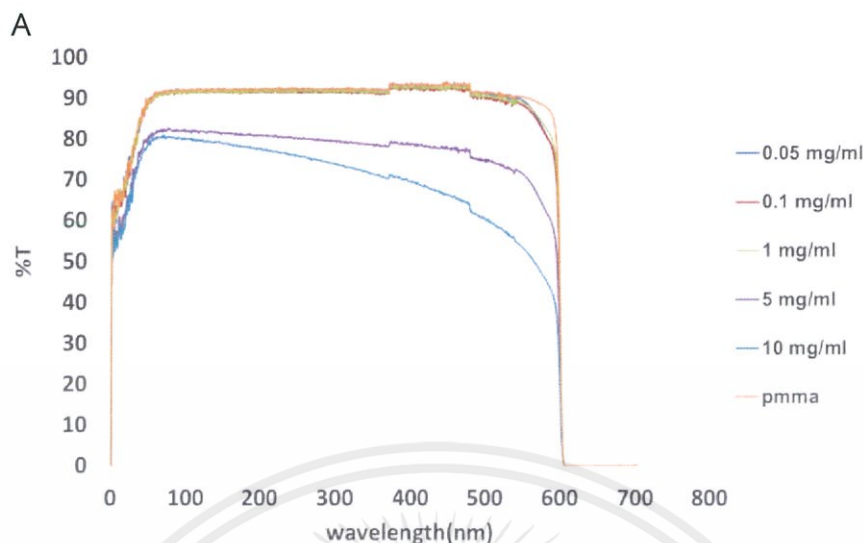
ไม่ชอบน้ำส่งผลให้ เมื่อทำการหยดแอนติบอดีลงบนพื้นผิวทำให้แอนติบอดีไม่กระจายตัว แต่เกาะกลุ่มกันบนพื้นผิว ทำให้โปรตีนในแอนติบอดีสามารถเกาะบนพื้นผิวได้ดี และเมื่อนำไปทดสอบด้วยเลือดจึงทำให้เลือดเกาะติดบนพื้นผิวได้ดีกว่าความเข้มข้นค่าอื่น

เมื่อทำการเคลือบแผ่นชิ้นงาน PMMA ด้วย coating polymer ทำการเปรียบเทียบพื้นผิวที่เคลือบพอลิเมอร์กับแผ่น PMMA เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวพิจารณาพื้นผิว PMMA เปรียบเทียบพื้นผิวมีความชอบน้ำ เมื่อลองหยดแอนติบอดีลงบนพื้นผิวจะเห็นได้ชัดเจนว่าเกิดการกระจายตัวของแอนติบอดีและลักษณะวงแอนติบอดีที่ทำการหยดลงบนพื้นผิว PMMA ไม่ค่อยสวยงาม แต่เมื่อพิจารณาพื้นผิวที่เคลือบด้วย coating polymer ลักษณะพื้นผิวมีความไม่ชอบน้ำเพิ่มมากขึ้น เมื่อทำการหยดแอนติบอดีลง ลักษณะแอนติบอดีเป็นกลมๆ สวยงาม ไม่เกิดการกระจายตัวของแอนติบอดี

และจากการทดลองวัดมุมสัมผัสน้ำจึงทำให้ทราบว่าความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด ในการเคลือบบนพื้นผิวชิ้นงานและเคลือบติดบนพื้นผิว PMMA ซึ่งทราบได้จากค่ามุมสัมผัสที่เพิ่มมากขึ้นโดยมีค่ามุมสัมผัส  $65.57 \pm 4.17$  องศา เมื่อเทียบกับแผ่น PMMA เปรียบเทียบค่ามุมสัมผัส  $50.45 \pm 3.68$  องศา

#### 4.2.2 การวัดค่าการส่องผ่านของแสง (Transmission; %T)

การตรวจสอบว่าการเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ด้วยค่าความเข้มข้นที่ต่างกันนั้น ทำให้ชิ้นงาน PMMA มีความทึบแสงแตกต่างไปจากเดิมหรือไม่ ซึ่งในการเคลือบพอลิเมอร์จะส่งผลต่อการส่องผ่านของแสงและความขุ่นที่เกิดขึ้นบนชิ้นงาน ในการทดลองจะทำการวัดค่าการส่องผ่านแสง (%T) ของชิ้นงานพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrometer โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ทำให้ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.7



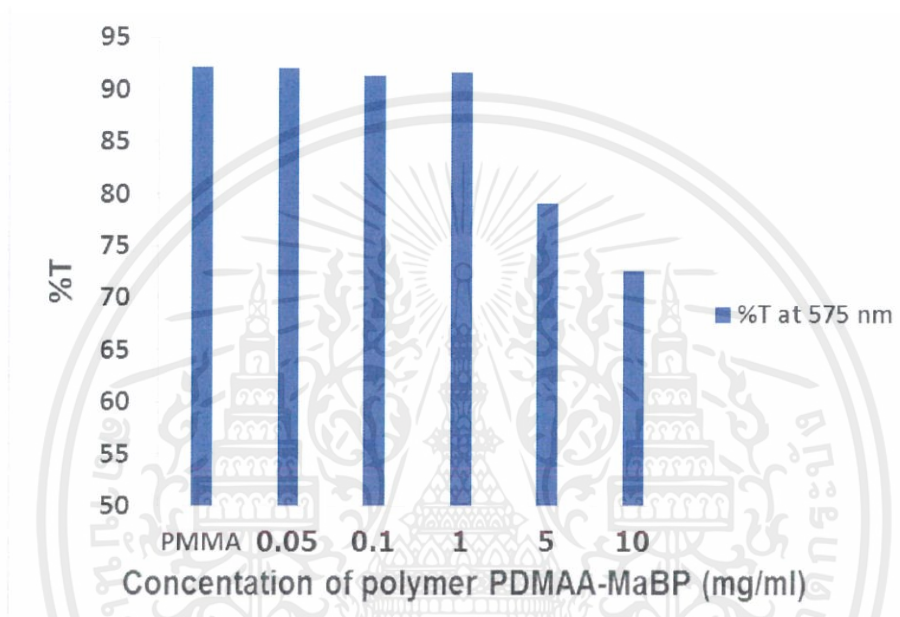
รูปที่ 4.7 แสดงค่าการส่องผ่านของแสง (%Transmission) บนพื้นผิว PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ A.การวัดค่าการส่องผ่านของแสง ที่ความเข้มข้นต่างกัน

จากภาพจะเห็นได้ว่าการวัดค่าการส่องผ่านแสง (%T) เมื่อพิจารณาจากกราฟที่ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่ต่างกันจะให้ค่าการส่องผ่านแสง (%T) ที่แตกต่างกันด้วยเช่นกัน ถ้าหากความเข้มข้นพอลิเมอร์มากขึ้นส่งผลให้ค่าการส่องผ่านแสง (%T) มีค่าลดลง จากผลทดสอบนี้สามารถยืนยันได้ว่าการเคลือบติดของพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP บนพื้นผิวของชิ้นงาน เมื่อทำการพิจารณาความยาวคลื่นในช่วง 400-650 นาโนเมตรเพื่อดูค่าการส่องผ่านแสง (%T) ที่ชัดเจนขึ้น เนื่องจากในช่วงนี้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการส่องผ่านแสง (%T) ของแต่ละความเข้มข้นก่อนกราฟจะคงที่ดังแสดงในรูปที่ 4.7

จากภาพจะเห็นได้ว่า เมื่อทำการพิจารณาการวัดค่าการส่องผ่านแสง (%T) ในช่วง 400-650 นาโนเมตร ทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของค่าการส่องผ่านแสง (%T) ชัดเจนมากขึ้น โดยที่ coating polymer ความเข้มข้นต่ำในช่วง 0.05 ถึง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีค่า %T ใกล้เคียงกับแผ่น PMMA เปล่า เมื่อความเข้มข้นพอลิเมอร์เพิ่มมากขึ้นเป็น 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า %T มีค่าลดลง เมื่อพิจารณาความยาวคลื่นที่ 575 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงชัดเจน เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่เหมาะสมที่สุดคือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วงความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร มีค่าการส่องผ่านแสง (%T) เท่ากับ 91.6 % แสดงว่ามีการทะลุผ่านของแสงมาก และถูกดูดกลืนแสงไว้น้อยจึงทำให้ชั้นฟิล์มที่เคลือบบนพื้นผิวมีความบาง เมื่อเปรียบเทียบกับความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นพอลิเมอร์ 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พิจารณาที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร มีค่าการส่องผ่านแสง (%T) เท่ากับ 79.0 % และ 72.5 % ตามลำดับ แสดงว่ามีการทะลุผ่านของแสงน้อย และถูกดูดกลืนแสงไว้มาก จึงทำให้ชั้นฟิล์มที่เคลือบบนพื้นผิวมีความหนาเกินไป จึงสอดคล้องกับหัวข้อ 4.2.1 ถ้าพื้นผิวมีพอลิเมอร์ที่ถูกนำไปเคลือบหนาจนเกินไป จะส่งผลต่อการนำไปใช้งาน เพราะฉะนั้นแล้วความเข้มข้นพอลิเมอร์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจึงเหมาะสมที่สุดแสดงดังรูปที่ 4.8

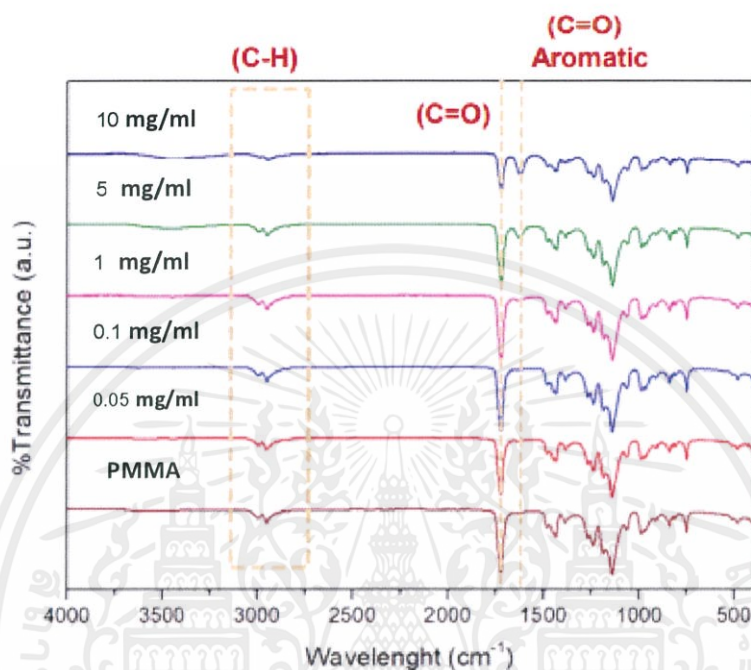


รูปที่ 4.8 แสดงค่าการส่องผ่านของแสง (%Transmission) บนพื้นผิว PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆในช่วงความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร

#### 4.2.3 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

การตรวจสอบว่าการเคลือบแผ่น PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ด้วยค่าความเข้มข้นที่ต่างกันนั้นมีการติดบนพื้นผิว PMMA หรือไม่ สามารถใช้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR เพื่อดูหมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบของพอลิเมอร์ ว่ามีการติดบนพื้นผิวชิ้นงาน PMMA หรือไม่

ในการทดลองจะทำวัดหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของชิ้นงานพลาสติก PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR) โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ทำให้ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงหมู่ฟังก์ชันของโมเลกุลบนพื้นผิว PMMA ที่ผ่านการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer ที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากภาพจะเห็นได้ว่าแผ่น PMMA ก่อนเคลือบและหลังเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer ให้กราฟที่แตกต่างกัน ซึ่งพิกัดเหล่านี้บ่งบอกว่ามีหมู่ฟังก์ชันใดบนพื้นผิว และทำให้ทราบว่าชิ้นงานที่นำมาทดสอบ มีการเกาะติดของ PDMAA-MaBP coating polymer บนแผ่น PMMA หรือไม่ จากกราฟเมื่อพิจารณากราฟที่แผ่น PMMA เปล่า พบพิกัดที่ความยาวคลื่น  $2954-2995\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน C-H Stretching ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ PMMA ที่ประกอบไปด้วยหมู่ C-H มากมาย และยังพบพิกัดที่ความยาวคลื่น  $1790\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน C=O ซึ่งสอดคล้องกับในโครงสร้างของ PMMA ที่มีหมู่ C=O เช่นกัน เมื่อเคลือบพื้นผิว PMMA ด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น พบว่าพิกัดที่ตำแหน่ง  $2954-2995\text{ cm}^{-1}$  ที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน C-H Stretching และ พิกัดตำแหน่ง  $1790\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน C=O มีค่าลดลง เมื่อเทียบกับแผ่น PMMA เปล่า ในขณะที่เดียวกับพบว่าพิกัดที่ตำแหน่งที่ความยาวคลื่น  $1627$  แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันของ C=O aromatic ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญในโครงสร้างพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP coating polymer ที่นำมาใช้เคลือบพื้นผิว PMMA เมื่อพิจารณาจากกราฟจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่มาก จะพบพิกัดบริเวณความยาวคลื่นดังกล่าวปรากฏมากขึ้นแต่เมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์ลดลง และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทียบกับแผ่น PMMA จะไม่พบพีคบริเวณดังกล่าวไม่ปรากฏ เพราะฉะนั้นบริเวณนี้จึงเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญในการพิจารณาผลการทดลองว่าเมื่อทำการเคลือบด้วย PDMAA-MaBP coating polymer แล้วมีการติดบนพื้นผิวพลาสติก PMMA

จากผลกราฟพบว่าจะเริ่มเห็นการเกาะติดของพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP บนพื้นผิว PMMA ตั้งแต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นต้นไป เนื่องจากเริ่มพบพีคที่ตำแหน่งของ C=O aromatic เกิดขึ้น ณ ความเข้มข้นนี้








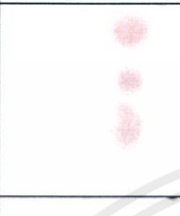










### 4.3 การตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว

#### 4.3.1 การหาค่าพลังงาน UV ที่เหมาะสมในการสร้างพันธะเชื่อมขวางของ Coating

##### Polymer

หลังจากทำการเคลือบพื้นผิว PMMA ด้วย coating polymer ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วจะนำชิ้นงานไปฉายด้วยแสงยูวี โดยทำการทดสอบหาค่าพลังงานยูวีที่ 2000, 3000, 5000, 7000 และ 10,000 ไมโครจูล หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและสั่นด้วยความถี่สูง (ultra sonication) เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นหยดแอนติบอดีความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนพื้นผิว แล้วนำไปฉายด้วยแสงยูวีอีกครั้ง ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวโดยกำหนดพลังงานยูวีที่ 10,000 ไมโครจูล

หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเอและบีแล้ว นำไปจุ่มในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ และรอนแห้ง จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จุดละ 5 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยพีบีเอสบัฟเฟอร์ โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งของการทดสอบแต่ละหมู่เลือด ซึ่งผลการทดสอบแสดงดังรูปที่ 4.10

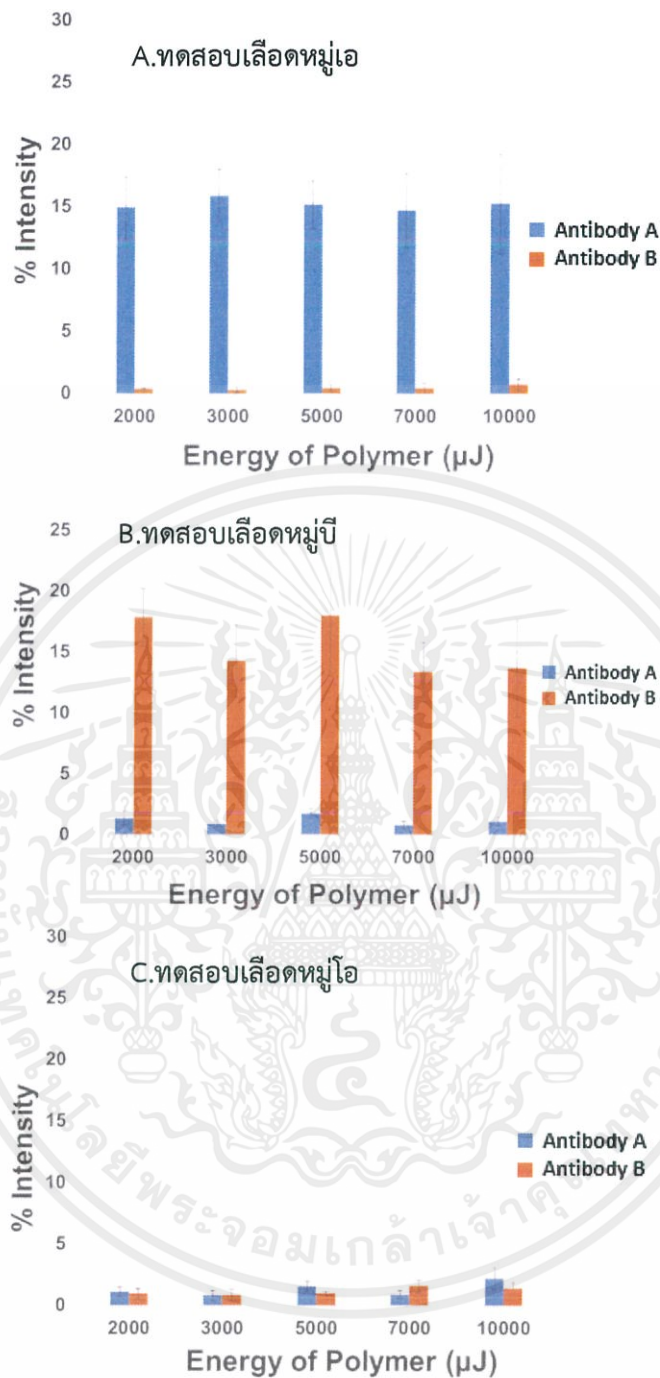
ค่าพลังงาน หมู่เลือด	2000 ไมโครจูล	3000 ไมโครจูล	5000 ไมโครจูล	7000 ไมโครจูล	10000 ไมโครจูล
เลือดเอ  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี					
เลือดบี  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี					
เลือดโอ  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี					

รูปที่ 4.10 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บีและโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวีแตกต่างกันที่ 2000 3000 5000 7000 และ 10,000 ไมโครจูล และตรึงด้วยแอนติบอดีเอและบี

ผลการทดสอบชิ้นงานด้วยสารตัวอย่างเลือดหมู่เอ จากภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่าพบว่าเห็นการติดของเลือดที่บริเวณ แอนติบอดีเอ แต่ไม่พบการเกาะติดบนแอนติบอดีบี เนื่องจากเลือดหมู่เอมีแอนติเจนเอที่มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติบอดีเอ จึงเกิดการเกาะติดเฉพาะบริเวณพื้นผิวแอนติบอดีเอเท่านั้น ผลการทดสอบชิ้นงานด้วยสารตัวอย่างเลือดหมู่บี จากภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่าพบว่าเห็นการติดของเลือดที่บริเวณ แอนติบอดีบี แต่ไม่พบการเกาะติดบนแอนติบอดีเอ เนื่องจากเลือดหมู่บีมีแอนติเจนบีที่มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติบอดีบี จึงเกิดการเกาะติดเฉพาะบริเวณพื้นผิวแอนติบอดีบีเท่านั้น ผลการทดสอบชิ้นงานด้วยสารตัวอย่างเลือดหมู่โอ จากภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่าพบว่าไม่เห็นการติดของเลือดที่บริเวณ แอนติบอดีเอและบี เนื่องจากเลือดหมู่โอไม่มีแอนติเจนเอและบี จึงไม่จำเพาะเจาะจงกัน จึงไม่เกิดการเกาะติดบริเวณพื้นผิวแอนติบอดีเอและบี

แต่อย่างไรก็ตาม ภาพที่ได้เมื่อมองด้วยตายังคงแยกความแตกต่างไม่ชัดเจนเมื่อเทียบระหว่างชิ้นงานที่ทำการเคลือบพอลิเมอร์โดยใช้พลังงานยูวีที่แตกต่างกัน จึงนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์หาความเข้มโดยใช้ โปรแกรม Image J ซึ่งจะได้ค่า % Intensity โดยสัญญาณที่ทำการอ่านค่าได้เป็นสัญญาณการติดของเลือดหมู่เอ บี และโอ ดังแสดงในรูปที่ 4.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 ค่า % Intensity ที่วัดได้จากการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมูเอ บี และโอ บนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบีจากชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย coating polymer โดยใช้พลังงานยูวีที่แตกต่างกัน โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบด้วยเลือดเอ บี และโอจำนวน 3 ชิ้นงาน A.ทดสอบเลือดหมูเอ B.ทดสอบเลือดหมูบี C.ทดสอบเลือดหมูโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.11 เป็นผลการอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ โดยใช้โปรแกรม Image J ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองทำซ้ำอย่างละ 3 การทดลอง พบว่าความค่าพลังงานยูวีที่ต่างกัน ส่งผลให้ค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงบริเวณแอนติบอดีเอและบีที่ต่างกัน

เมื่อพิจารณากราฟ A ทำการทดสอบด้วยเลือดหมู่เอ จากกราฟจะเห็นว่าสัญญาณความเข้มแสดงที่บริเวณแอนติบอดีเอ เนื่องจากบริเวณตำแหน่งแอนติบอดีเอ เมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมู่เอ ที่มีแอนติเจนเอ เกิดการจับกันแบบจำเพาะของแอนติเจนเอบนผิวเม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีเอบนพื้นผิวชิ้นงาน โดยจากรูป ที่ 4.6 สัญญาณการเกาะติดของเลือดมีค่าความเข้มที่แอนติบอดีเอ เมื่อพิจารณาที่พลังงาน 2000 และ 7000 โมโครจูล ให้ค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $14.92\% \pm 2.46$  และ  $14.72\% \pm 2.94$  ตามลำดับ ซึ่งมีค่าความเข้มของสัญญาณใกล้เคียงกันและค่าสัญญาณที่ต่ำ จึงไม่เลือกค่าพลังงาน 2000 และ 7000 โมโครจูล มาใช้ในการทดลอง เมื่อพิจารณาค่าพลังงาน 3000 ,5000 และ 10000 โมโครจูล ให้ค่าความเข้มสัญญาณที่ใกล้เคียงกัน โดยมีค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $15.88\% \pm 2.14$  ,  $15.16\% \pm 1.91$  และ  $15.24\% \pm 4.00$  ตามลำดับ เมื่อทำการพิจารณาค่าพลังงาน 3 ค่านี้นี้เห็นได้ว่าที่พลังงานยูวี 10000 โมโครจูล พบว่ามีค่า SD ค่อนข้างกว้าง จึงไม่เลือกค่าพลังงานยูวีในการเคลือบพอลิเมอร์ที่ 10000 โมโครจูล เมื่อพิจารณาที่ค่าพลังงานยูวีที่ 3000 และ 5000 โมโครจูล จะเห็นได้ว่าที่ค่าพลังงาน 3000 โมโครจูล มีค่าความเข้มสัญญาณสูงกว่าไม่มาก แต่พบว่ามีค่า SD กว้างกว่าที่พลังงาน 5000 โมโครจูล จึงไม่เลือกค่าพลังงานยูวีที่ 3000 โมโครจูล มาใช้ในการทดลอง เพราะฉะนั้นที่ค่าพลังงานยูวีใช้เคลือบพอลิเมอร์ 5000 โมโครจูลให้ค่าความเข้มหรือมีการติดของเม็ดเลือดแดงมากที่สุด จึงเลือกพลังงานยูวีที่ใช้ในการเคลือบพอลิเมอร์ 5000 โมโครจูล เพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป แต่ในกราฟเดียวกันจะเห็นสัญญาณความเข้มที่เกิดขึ้นที่บริเวณแอนติบอดีบี ซึ่งหมู่เลือดเอกับแอนติบอดีบี จะไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงระหว่างแอนติเจนเอและแอนติบอดีบี แต่เมื่อทำการพิจารณาที่รูป 4.6 เห็นสัญญาณเกิดขึ้นที่บริเวณตำแหน่งแอนติบอดีบีให้ค่าความเข้มของสัญญาณ ที่พลังงานยูวี 2000, 3000, 5000, และ 7000 โมโครจูล ให้ค่าความเข้มในการติดเลือดประมาณ  $0.27-0.40 \pm 0.23$  มีค่าสัญญาณความเข้มที่น้อยมาก และที่ค่าพลังงานยูวี 10000 โมโครจูล ให้ค่าความเข้มสัญญาณในการติดเลือดประมาณ  $0.69 \pm 0.50$  ซึ่งให้ค่า SD ที่สูงกว่าค่าพลังงานยูวีค่าอื่น โดยค่าความเข้มของสัญญาณการติดเลือดไม่เกิน 1 % และการที่บริเวณแอนติบอดีบี ที่มีความไม่จำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนเอนั้น อาจเกิดได้จากขณะทำการทดลองหรือขั้นตอนการล้างชิ้นงาน ทำการล้างที่ไม่สะอาดทำให้พอลิเมอร์ส่วนเกินยังติดบนพื้นผิว หรือขณะทำการทดสอบด้วยเลือดแล้วทำการล้างชิ้นงานอาจทำการล้างชิ้นงานไม่สะอาดจึงทำให้เกิดค่าสัญญาณความเข้มเลือดเกิดขึ้น

เมื่อพิจารณากราฟ B ทำการทดสอบด้วยเลือดหมู่บี จากกราฟจะเห็นว่าค่าความเข้มสัญญาณแสดงที่บริเวณแอนติบอดีบี เนื่องจากบริเวณแอนติบอดีบีจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนบี โดยจากรูป

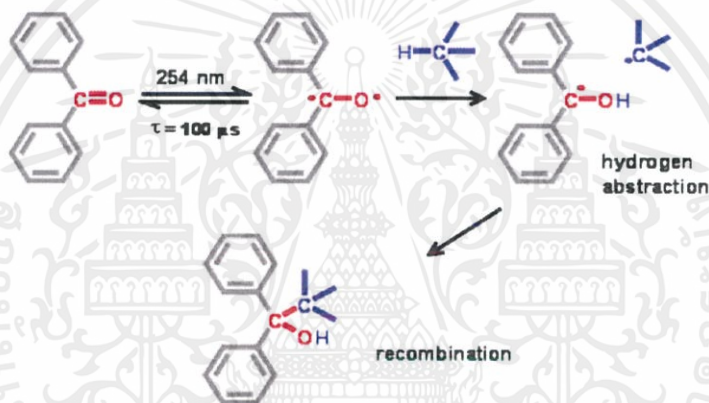
4.6 กราฟ B เมื่อพิจารณาค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการเคลือบแอนติบอดี ที่พลังงาน 3000, 7000 และ 10000 ไมโครจูล ให้ค่าความเข้มต่ำอยู่ที่ประมาณ  $14.30\% \pm 2.99$ ,  $13.36\% \pm 2.43$  และ  $13.67\% \pm 3.96$  ตามลำดับ ซึ่งมีค่า SD ในช่วงประมาณ 2.00-4.00 จึงไม่เลือกค่าพลังงานยูวี 3000 และ 7000 ไมโครจูล มาใช้ในการทดลอง ที่ค่าพลังงาน 2000 และ 5000 ไมโครจูล มีค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดที่ใกล้เคียงกัน มีค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $17.85\% \pm 2.3.4$  และ  $17.99\% \pm 4.96$  ตามลำดับ เมื่อทำการพิจารณาค่าพลังงาน 2 ค่านี้มีค่าใกล้เคียงกัน แต่ที่ค่าพลังงาน 5000 ไมโครจูลให้ค่าความเข้มของสัญญาณการติดเลือดที่สูงกว่า ถึงแม้ค่า SD จะมีค่าสูงแต่ยังอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับค่า SD ของพลังงานอื่น ซึ่งพบว่าค่า SD ที่มีค่าค่อนข้างกว้างขึ้นนั้น เกิดจากการทำการทดลองขั้นตอนการล้างพอลิเมอร์ส่วนเกินไม่หมดหรือแต่ละครั้งในการทำการทดลองสภาพแวดล้อมหรือปัจจัยอื่นต่างกันในแต่ละครั้ง เพราะฉะนั้นจึงเลือกพลังงานยูวีที่ใช้ในการเคลือบพอลิเมอร์ที่พลังงาน 5000 ไมโครจูล จากในกราฟ B จะเห็นว่าที่บริเวณแอนติบอดีเกิดค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดเกิดขึ้น ทั้งที่ดูด้วยตาเปล่าบริเวณแอนติบอดีจะไม่เห็นการเกาะติดของเม็ดเลือด เนื่องจากว่าเกิดการไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนบี แต่เมื่อนำสัญญาณที่ได้มาอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดเลือด จะมีค่าความเข้มเกิดขึ้น โดยที่ค่าพลังงานยูวี 2000 และ 3000 ไมโครจูล มีค่าความเข้มต่ำอยู่ที่ประมาณช่วง  $0.87-1.35\% \pm 2.53$  ค่าพลังงานยูวี 7000 และ 10000 ไมโครจูล ค่าความเข้มต่ำเช่นกันอยู่ที่ประมาณช่วง  $0.78-1.11\% \pm 2.76$  ยังถือว่าเป็นค่าความเข้มที่ไม่ถูกอ่านค่าว่าเกิดการจับกับเม็ดเลือดแดง และที่ค่าพลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล มีค่าความเข้มอยู่ที่  $1.76\% \pm 0.43$  ซึ่งค่าความเข้มที่เกิดขึ้นเหล่านี้ เนื่องมาจากการทำการทดลอง เกิดการล้างทำความสะอาดชิ้นงานที่ไม่ได้ดีหรือการทดลองซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละครั้งที่ทำการทดลองอาจเกิดการติดของเม็ดเลือดแดงที่ไม่สม่ำเสมอ จึงทำให้ค่าความเข้มเกิดขึ้น โดยจะมีค่าความเข้มไม่เกิน 1.5 % จึงถือได้ว่าไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง

เมื่อพิจารณาที่กราฟ C ทำการทดสอบด้วยเลือดหมูโอ จะเห็นว่าค่าความเข้มของการติดเลือดมีค่าต่ำ เนื่องมาจากหมูเลือดโอไม่มีแอนติเจนเอและบี เมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมูโอ บริเวณแอนติบอดีเอและบี จึงไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง พิจารณาที่บริเวณแอนติบอดีเอ ค่าความเข้มของสัญญาณการติดเลือดอยู่ในช่วงประมาณ  $0.80-2.19\% \pm 0.48$  ซึ่งเป็นค่าความเข้มที่ต่ำ ถือได้ว่าเป็นค่าความเข้มที่ไม่เกิดการจับกับเม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกันพิจารณาที่บริเวณแอนติบอดีบี ได้ค่าความเข้มที่ต่ำเช่นกัน โดยมีค่าความเข้มอยู่ในช่วงประมาณ  $0.81-1.56\% \pm 0.42$  ซึ่งค่าความเข้มไม่เกิน 2 % จึงเป็นค่าความเข้มที่บอกได้ว่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดแดงบนพื้นผิว เพราะฉะนั้นแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาหาพลังงานยูวีที่ใช้ในการเคลือบพอลิเมอร์ที่ทำให้เกิดค่าความเข้มสัญญาณในการติดเล็ดที่ดี ทั้งบริเวณแอนติบอดีและบี จะได้ค่าพลังงานที่เหมาะสมคือ 5000 ไมโครจูล

โดยที่หลักการของพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP coating polymer สามารถเคลือบติดบนพื้นผิวชิ้นงาน PMMA ได้นั้นอาศัยหลักการของการเชื่อมขวางของพอลิเมอร์ด้วยแสง (photo cross-link polymer) ของสารเบนโซฟีโนน (benzophenone) เมื่อทำการกระตุ้นด้วยแสงยูวี สารเบนโซฟีโนน (benzophenone) จะเกิดการแตกตัวตรงตำแหน่ง C=O และมีอนุมูลอิสระ (free radical) เกิดขึ้น และสามารถที่จะจับกันเองระหว่างอนุมูลอิสระ หรือไปกระตุ้นคาร์บอนอะตอมข้างเคียงและเกิดพันธะจับกันเกิดขึ้น โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นขณะทำการฉายพลังงานยูวีบนพื้นผิว PMMA ที่ทำการเคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP แสดงดังภาพที่ 4.12



รูปที่ 4.12 ปฏิกิริยาการแตกตัวของเบนโซฟีโนนเมื่อทำการกระตุ้นด้วยแสงยูวี [33]

ซึ่งจากภาพแสดงปฏิกิริยาการแตกตัวของสารเบนโซฟีโนน (benzophenone) เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง เช่นเดียวกับกับการตรึงแอนติบอดีลงบนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP แล้ว เนื่องจากบนพื้นผิวยังมีพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP ที่ยังไม่ถูกกระตุ้นเหลืออยู่ ดังนั้นจึงมีส่วนเบนโซฟีโนนที่ยังมีหมู่คาร์บอนิล (C=O) ที่สามารถถูกกระตุ้นด้วยแสงยูวี ทำให้หมู่คาร์บอนิลเกิดการแตกพันธะ กลายเป็นอนุมูลอิสระซึ่งสามารถเข้าจับกับอะตอมของคาร์บอนที่มีอยู่ในโครงสร้างของโปรตีนหรือแอนติบอดีได้ ทำให้สามารถตรึงแอนติบอดีไว้บนพื้นผิวพลาสติก PMMA ได้ โดยลักษณะการปฏิกริยาระหว่างพื้นผิว PMMA กับ พอลิเมอร์ PDMAA-MaBP และ ปฏิกริยาระหว่างพื้นผิว PDMAA-MaBP กับแอนติบอดี ได้กล่าวถึงแล้วในบทที่ 3

#### 4.3.2 การเลือกพลังงาน UV ที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองนี้ต้องการหาค่าพลังงานยูวีที่เหมาะสมที่ใช้การตรึงแอนติบอดี ทำให้แอนติบอดีเกิดการเชื่อมพันธะกับพื้นผิวที่มี coating polymer โดยค่าพลังงานที่ต้องการศึกษา คือ 5000, 7500, 10,000, 12,500, 15,000 และ 17,500 ไมโครจูล โดยขั้นตอนการทำงานเริ่มจากการเคลือบพอลิเมอร์บนพื้นผิวด้วยความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้พลังงานยูวีสำหรับการเชื่อมขวางพอลิเมอร์กับพื้นผิว PMMA ที่ 5000 ไมโครจูล ซึ่งได้เลือกมาจากการทดลองที่ 4.3.1

หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและทำการสั่นด้วยความถี่สูง (ultra sonication) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นหยุดแอนติบอดีความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนพื้นผิว แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อทำให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิว ด้วยพลังงานยูวีที่ค่าต่างๆ ตามที่กล่าวด้านบน หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีและปิ้งไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ และรอกจนแห้ง

จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงานทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยพีบีเอสบัฟเฟอร์ และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ของการทดสอบแต่ละหมู่เลือด ซึ่งการทดสอบแสดงผลดังรูป 4.13

ค่าพลังงาน						
หมู่เลือด	5000 ไมโครจูล	7500 ไมโครจูล	10000 ไมโครจูล	12500 ไมโครจูล	15000 ไมโครจูล	17500 ไมโครจูล
เลือดเอ  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี						
เลือดบี  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี						
เลือดโอ  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี						

รูปที่ 4.13 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล และตรึงด้วยแอนติบอดีเอและบีที่พลังงานยูวีแตกต่างกันที่ 5000 7500 10,000 12,500 15,000 และ 17,500 ไมโครจูล

จากรูปเป็นชิ้นงานที่ทดสอบการเกาะติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวโดยทำการสร้างชิ้นงานที่เคลือบพอลิเมอร์ด้วยค่าพลังงานยูวี 5000 ไมโครจูลจากนั้นทำการหยดแอนติบอดีเอ สีฟ้าและแอนติบอดีบี สีเหลืองจากนั้นให้ค่าพลังงานในการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิวที่ต่างกัน จากนั้นทำการทดสอบด้วยหมู่เลือดต่างๆ จากรูปที่ 4.12 เป็นผลการทดสอบชิ้นงานของเลือดเอ บี และโอ โดยพิจารณาชิ้นงานที่ทำการทดสอบด้วยสารตัวอย่างเลือดหมู่เอ จะเห็นภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่าที่บริเวณแอนติบอดีเอ เกิดการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิว เนื่องจากแอนติบอดีเอกับแอนติเจนเกิดความจำเพาะเจาะจงกัน จึงเห็นว่ามีเม็ดเลือดเกาะติดของเม็ดเลือดแดง แต่บริเวณแอนติบอดีบี มองด้วยตาเปล่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิว เนื่องจากเกิดความไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีบีและแอนติเจนเอ การทดสอบชิ้นงานด้วยสารตัวอย่างเลือดหมู่บี จากภาพจะเห็นว่าบริเวณแอนติบอดีบีเกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง แต่ไม่พบการติดของเม็ดเลือดที่บริเวณแอนติบอดีเอ เมื่อพิจารณาจากภาพ การที่แอนติบอดีบีติดเลือดเมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมู่บี เนื่องจากเกิดการจำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีบีและแอนติเจนบี จึงเกิดการติดบริเวณแอนติบอดีบีเท่านั้น การทดสอบชิ้นงานด้วยเลือดหมู่โอ จากภาพจะเห็นได้ชัดเจนว่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวทั้ง

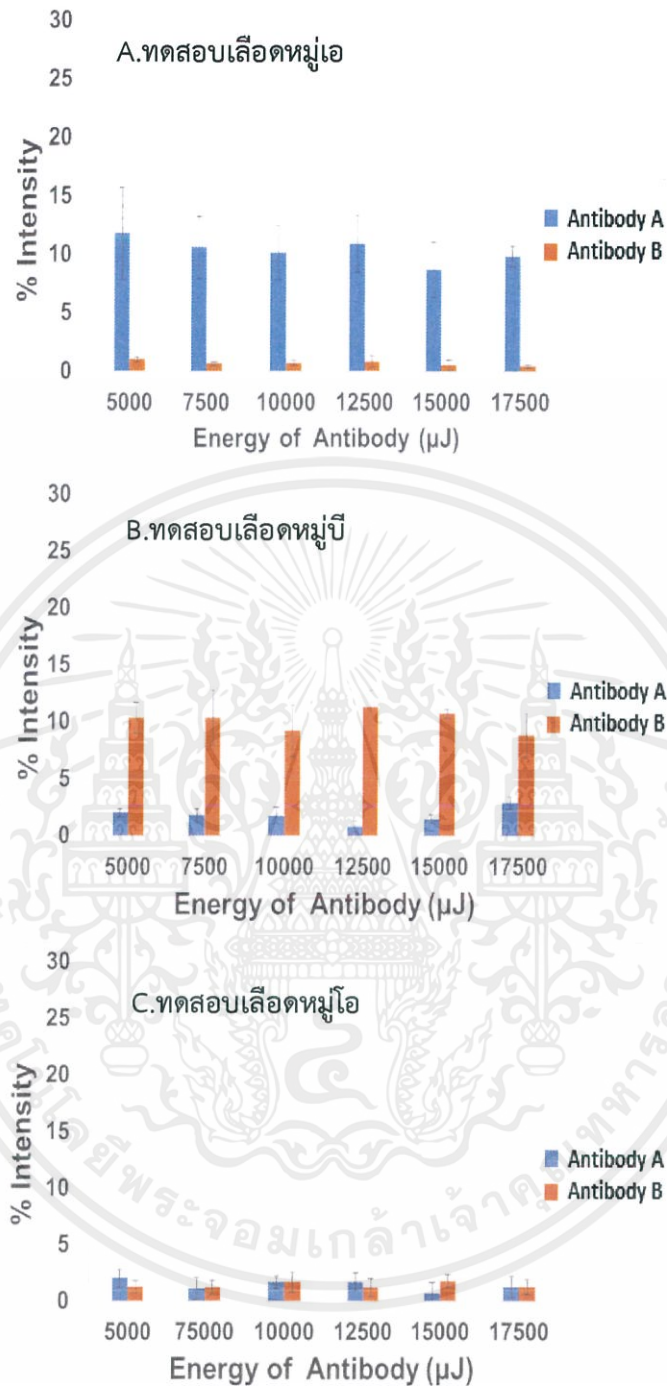
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริเวณแอนติบอดีเอและบี เนื่องมาจากหมู่เลือดโอไม่มีแอนติเจนเอและบี จึงไม่จำเพาะเจาะจงกับแอนติบอดี จึงไม่เกิดการติดของเม็ดเลือดแดง

แต่อย่างไรก็ตาม ภาพที่ได้เมื่อมองด้วยตายังคงแยกความแตกต่างไม่ชัดเจนเมื่อเทียบระหว่างชิ้นงานที่ทำหดยแอนติบอดีโดยใช้พลังงานยูวีที่แตกต่างกัน จึงนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์หาความเข้มโดยใช้ โปรแกรม Image J ซึ่งจะได้ค่า % Intensity โดยสัญญาณที่ทำการอ่านค่าได้เป็นสัญญาณการติดของเลือดหมู่เอบนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบี แสดงดังรูปที่ 4.14



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 ค่า % Intensity ที่วัดได้จากการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมูเอ บี และโอบนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบี จากชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย coating polymer โดยใช้พลังงานยูวีในการตรึงแอนติบอดีที่แตกต่างกันโดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบด้วยเลือดเอ บี และโอ จำนวน 3 ชิ้นงาน A.ทดสอบหมูเลือดเอ B.ทดสอบหมูเลือดบี C.ทดสอบหมูเลือดโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.14 เป็นผลการอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ โดยใช้โปรแกรม Image J ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองทำซ้ำอย่างละ 3 การทดลอง เมื่อพิจารณาที่กราฟ A ทดสอบด้วยสารตัวอย่างหมู่เอ จากกราฟจะเห็นว่าค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดมีความเข้มที่สูงในบริเวณแอนติบอดีเอ เนื่องมาจากเมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดเอ บริเวณแอนติบอดีเอมีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนเอ โดยจากรูปที่ 4.8 สัญญาณการเกาะติดของเลือดมีความเข้มที่แอนติบอดีเอ เมื่อพิจารณาที่พลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีที่ 15000 ไมโครจูล ให้ค่าความเข้มที่ต่ำที่สุดอยู่ที่ประมาณ  $8.70\% \pm 2.37$  จึงไม่เลือกค่าพลังงานยูวี 15000 ไมโครจูล มาใช้ในการทดลองที่ค่าพลังงานยูวีในการตรึงแอนติบอดี ที่พลังงานยูวี 7500, 10000 และ 17500 ไมโครจูล ค่าความเข้มสัญญาณใกล้เคียงกันประมาณ  $10.61\% \pm 2.66$ ,  $10.15\% \pm 2.31$  และ  $9.87\% \pm 0.86$  ตามลำดับ ซึ่งค่าความเข้มต่ำ จึงไม่เลือกค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีที่ 7500, 10000 และ 17500 ไมโครจูล มาใช้ในการทดลอง และเมื่อพิจารณาค่าพลังงานยูวี 5000 และ 12500 ไมโครจูล ให้ค่าความเข้มที่ใกล้เคียงกัน และให้ค่าความเข้มสูงเมื่อเทียบกับค่าพลังงานอื่นๆ โดยค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $11.79\% \pm 3.79$  และ  $10.89\% \pm 2.39$  ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มของพลังงานทั้ง 2 ค่านี้ จะเห็นได้ว่าค่าพลังงานยูวี 5000 ไมโครจูลให้ค่าความเข้มที่สูงกว่า 12500 ไมโครจูล แต่ให้ค่า SD ที่มากกว่าเช่นกัน การที่ค่า SD มากเนื่องมาจากการทดลอง 3 ครั้งในแต่ละครั้งค่าความเข้มสัญญาณที่อ่านได้มีความไม่สม่ำเสมอ เมื่อนำมาสร้างเป็นกราฟเฉลี่ยจึงทำให้ค่า SD มีค่ามากขึ้น เพราะฉะนั้นจึงเลือกค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี 12500 ไมโครจูล แล้วจากกราฟที่บริเวณแอนติบอดีบี จะไม่เกิดการจับกันของแอนติบอดีบีกับแอนติเจนเอ เนื่องมาจากไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงกันของแอนติบอดีบีกับแอนติเจนเอ แต่ในกราฟมีค่าความเข้มสัญญาณในการติดเลือดเกิดขึ้น เพราะวาระหว่างการทำการทดลองขั้นตอนในการล้างเลือดที่ไม่สะอาด หรือมีพอลิเมอร์ส่วนเกินเหลืออยู่บนพื้นผิว เมื่อทำการอ่านค่าสัญญาณจึงทำให้มีความเข้มสัญญาณเกิดขึ้น โดยค่าความเข้มอยู่ระหว่าง  $0.52-0.99\% \pm 0.4$  ซึ่งเป็นค่าความเข้มสัญญาณที่อ่านได้ว่าไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง

เมื่อพิจารณาที่กราฟ B ทำการทดสอบด้วยสารตัวอย่างหมู่บี จากกราฟจะเห็นค่าความเข้มเกิดขึ้นที่บริเวณแอนติบอดีบี เมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมู่บี แล้วมีการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงในบริเวณแอนติบอดีบี เนื่องมาจากแอนติบอดีบีเกิดการจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนบี เมื่อพิจารณาที่พลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดี 10000 และ 17500 ไมโครจูล ให้ค่าความเข้มที่ต่ำอยู่ที่ประมาณ  $9.18\% \pm 2.26$  และ  $8.85\% \pm 1.89$  ตามลำดับ ค่าความเข้มสัญญาณต่ำ จึงไม่เลือกค่าพลังงานยูวี 10000 และ 17500 ไมโครจูล มาใช้ในการทดลอง เมื่อพิจารณาค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีที่ 5000, 7500 และ 15000 ไมโครจูล ให้ค่าความเข้มสัญญาณที่ใกล้เคียงกัน โดยค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $10.34\% \pm 1.30$ ,  $10.35\% \pm 2.41$  และ  $10.70\% \pm 0.40$  ตามลำดับ ซึ่งให้ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นสัญญาณที่ใกล้เคียงกัน แต่ให้ค่าความเข้มที่ต่ำ จึงไม่เลือกค่าพลังงานยูวี 5000, 7500 และ 15000 ไมโครจูล มาใช้ในการทดลอง และเมื่อพิจารณาที่ค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีที่ 12500 ไมโครจูล ให้ค่าความเข้มที่สูงอยู่ที่ประมาณ  $11.26\% \pm 1.51$  ซึ่งให้ค่าความเข้มที่ทำให้ติดของเม็ดเลือดแดงมากที่สุด เพราะฉะนั้นจึงเลือกค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีที่ 12500 ไมโครจูล มาใช้ในการทดลองต่อไป จากกราฟจะเห็นว่าที่บริเวณแอนติบอดีเอเกิดความเข้มข้นสัญญาณการติดเลือดเกิดขึ้น ทั้งที่จากรูปที่ 4.13 ไม่เห็นการติดของเม็ดเลือดแดงบริเวณแอนติบอดีเอ เนื่องจากว่าเกิดการไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีเอกับแอนติเจนบี แต่เมื่อนำสัญญาณที่ได้มาอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดเลือดจะมีค่าความเข้มเกิดขึ้น โดยที่ค่าความเข้มอยู่ในช่วงประมาณ  $0.78-2.89\% \pm 0.63$  ซึ่งค่าความเข้มที่อ่านได้ไม่ถือว่าเป็นการติดของเม็ดเลือดแดง การที่ค่าความเข้มเหล่านี้เกิดขึ้นเนื่องมาจากกระหว่างการทำการทดลอง เนื่องมาจากการทำการทดลอง เกิดการล้างทำความสะอาดชิ้นงานที่ไม่ได้ดี หรือการทดลองซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละครั้งที่ทำการทำลองอาจเกิดการติดของเม็ดเลือดแดงที่ไม่สม่ำเสมอ จึงทำให้ค่าความเข้มเกิดขึ้น โดยจะมีค่าความเข้มไม่เกิน 3 % จึงถือได้ว่าไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง






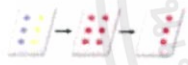









เมื่อพิจารณาที่กราฟ C ทำการทดสอบด้วยตัวอย่างเลือดหมูโอ โดยเลือดหมูโอไม่มีแอนติเจนเอและบี เมื่อทำการทดสอบจะไม่เกิดการติดเลือดบริเวณแอนติบอดีเอและบี เนื่องมาจากไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีเอและกับแอนติเจน ดังรูปที่ 4.7 แต่จากกราฟจะเห็นค่าความเข้มของการเกาะติดเม็ดเลือดมีค่าต่ำ เนื่องมาจากการทำการทดลองขั้นตอนการล้างเลือดทำการล้างไม่สะอาดหรือมีฟอสฟอรัสส่วนเกินที่ยังล้างไม่หมด เมื่อทำการอ่านค่าความเข้มสัญญาณจึงอ่านค่าความเข้มออกมาได้แดง พิจารณาที่บริเวณแอนติบอดีเอค่าความเข้มของสัญญาณการติดเลือดอยู่ในช่วงประมาณ  $0.80-2.19\% \pm 0.48$  ซึ่งเป็นค่าความเข้มที่ต่ำ ถือได้ว่าเป็นค่าความเข้มที่ไม่เกิดการจับกับเม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกันพิจารณาที่บริเวณแอนติบอดีบี ได้ค่าความเข้มที่ต่ำเช่นกัน โดยมีค่าความเข้มอยู่ในช่วงประมาณ  $1.18-1.78\% \pm 0.78$  ซึ่งค่าความเข้ม ไม่เกิน 2 % จึงเป็นค่าความเข้มที่บอกได้ว่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดแดงบนพื้นผิว เพราะฉะนั้นแล้วการศึกษาหาพลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีที่ทำให้เกิดค่าความเข้มสัญญาณในการติดเลือดที่สูงทั้งในบริเวณแอนติบอดีเอและบี จะได้ค่าพลังงานยูวีที่เหมาะสมคือ 12500 ไมโครจูล

#### 4.3.3 การเลือกความเข้มข้นแอนติบอดีที่เหมาะสม

จากการทดลองหาค่าความเข้มข้นของแอนติบอดี โดยทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นแอนติบอดี 30, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ทำการเคลือบพอร์ลิเมอร์บนพื้นผิวใช้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้พลังงานยูวีที่เหมาะสมที่ใช้การ Coating Polymer 5000 ไมโครจูล หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิครทเป็นเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 นาที หลังจากนั้นหยุดแอนติบอดีความเข้มข้น 30, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนพื้นผิว แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวีที่ค่า 12500 ไมโครจูล หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีและบีไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ และรอกแห้ง จากนั้นทำการหยุดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยพีบีเอสบัฟเฟอร์ และทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้งของการทดสอบแต่ละหมู่เลือด ซึ่งการทดสอบแสดงผลดังรูปที่ 4.15

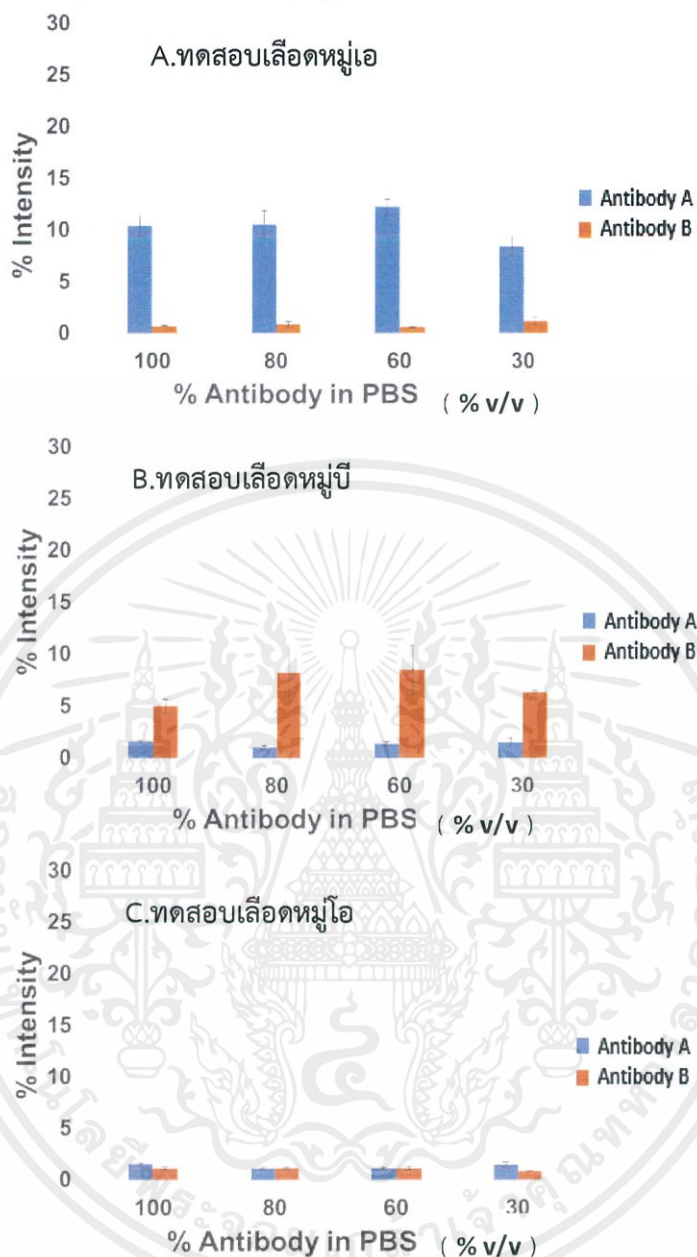
ความเข้มข้นแอนติบอดี	30 %	60 %	80 %	100 %
<b>หมู่เลือด เอ</b>  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี				
<b>หมู่เลือด บี</b>  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี				
<b>หมู่เลือด โอ</b>  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี				

รูปที่ 4.15 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการให้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ตรึงด้วยแอนติบอดีเอและบีที่พลังงานยูวี 12,500 ไมโครจูล และความเข้มข้นแอนติบอดีที่แตกต่างกัน 30 %, 60 %, 80% และ 100%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปเป็นชิ้นงานที่ทดสอบการเกาะติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวโดยทำการสร้างชิ้นงานที่เคลือบพอลิเมอร์ด้วยค่าพลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ใช้พลังงานยูวีในการตรึงแอนติบอดี 12500 ไมโครจูล จากนั้นทำการหยดแอนติบอดีเอ ซีฟ้าและแอนติบอดีบี สีเหลืองที่ความเข้มข้นต่างกัน จากนั้นทำการทดสอบด้วยหมู่เลือดต่างๆ จากรูปที่ 4.14 เป็นผลการทดสอบชิ้นงานของเลือดเอ บี และโอ โดยพิจารณาชิ้นงานที่ทำการทดสอบด้วยสารตัวอย่างเลือดหมู่เอ จะเห็นภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่าที่บริเวณแอนติบอดีเอ เกิดการติดของหมู่เลือดบนพื้นผิว เนื่องมาจากแอนติบอดีเอกับแอนติเจนเกิดความจำเพาะเจาะจงกัน จึงเห็นว่ามีเกาะติดของเม็ดเลือดแดง แต่บริเวณแอนติบอดีบี มองด้วยตาเปล่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิว เนื่องมาจากเกิดความไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีบีและแอนติเจนเอ การทดสอบชิ้นงานด้วยสารตัวอย่างเลือดหมู่บี จากภาพจะเห็นว่าบริเวณแอนติบอดีบีเกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง แต่ไม่พบการติดของเลือดที่บริเวณแอนติบอดีเอ เมื่อพิจารณาจากภาพ การที่แอนติบอดีบีติดเลือดเมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมู่บี เนื่องมาจากเกิดการจำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีบีและแอนติเจนบี จึงเกิดการติดบริเวณแอนติบอดีบีเท่านั้น การทดสอบชิ้นงานด้วยเลือดหมู่โอ จากภาพจะเห็นได้ชัดเจนว่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวทั้งบริเวณแอนติบอดีเอและบี เนื่องมาจากหมู่เลือดโอไม่มีแอนติเจนเอและบี จึงไม่จำเพาะเจาะจงกับแอนติบอดี จึงไม่เกิดการติดของเม็ดเลือดแดง

แต่อย่างไรก็ตาม ภาพที่ได้เมื่อมองด้วยต่ายังคงแยกความแตกต่างไม่ชัดเจนเมื่อเทียบระหว่างชิ้นงานที่ทำการเคลือบพอลิเมอร์โดยใช้ความเข้มข้นแอนติบอดีที่แตกต่างกัน จึงนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์หาความเข้มโดยใช้ โปรแกรม Image J ซึ่งจะได้ค่า % Intensity โดยสัญญาณที่ทำการอ่านค่าได้เป็นสัญญาณการติดของเลือดหมู่เอบนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบี แสดงดังรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 ค่า % Intensity ที่วัดได้จากการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมูเอ บี และโอบนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบี จากชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย coating polymer โดยใช้ความเข้มข้นแอนติบอดีที่แตกต่างกันโดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบด้วยเลือดเอ บี และโอ จำนวน 3 ชิ้นงาน A.ทดสอบเลือดเอ B.ทดสอบเลือดบี C.ทดสอบเลือดโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.16 เป็นผลการอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ โดยใช้โปรแกรม Image J ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองทำซ้ำอย่างละ 3 การทดลอง เมื่อพิจารณาที่กราฟ A ทดสอบด้วยสารตัวอย่างหมู่เอ จากกราฟจะเห็นว่าค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดมีความเข้มที่สูงในบริเวณแอนติบอดีเอ เนื่องมาจากเมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดเอ บริเวณแอนติบอดีเอมีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนเอ เมื่อพิจารณาที่ความเข้มชั้นแอนติบอดี 30 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความเข้มของสัญญาณต่ำที่สุดอยู่ที่ประมาณ  $8.37\% \pm 0.90$  จึงไม่เลือกค่าความเข้มชั้นแอนติบอดี 30 เปอร์เซ็นต์มาใช้ในการทดลอง ที่ค่าความเข้มชั้นแอนติบอดี 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความเข้มที่ใกล้เคียงกัน ค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $10.50\% \pm 1.40$  และ  $10.35\% \pm 1.00$  ให้ค่าความเข้มที่สูงขึ้น แต่ยังเป็นค่าที่น้อยกว่าความเข้มชั้น 60 เปอร์เซ็นต์ จึงไม่เลือกค่าความเข้มชั้นแอนติบอดี 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มาใช้ในการทดลองและที่ค่าความเข้มชั้นแอนติบอดี 60 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความเข้มที่สูงอยู่ที่ประมาณ  $12.20\% \pm 0.79$  และให้ค่า SD ที่ต่ำ จึงเหมาะแก่การนำไปใช้ในการทดลองต่อไป เพราะฉะนั้นจึงเลือกค่าความเข้มชั้นแอนติบอดีที่ 60 เปอร์เซ็นต์ ไปใช้ในการทดลองต่อไป แล้วจากกราฟที่บริเวณแอนติบอดีบี จะไม่เกิดการจับกันของแอนติบอดีบีกับแอนติเจนเอ เนื่องมาจากไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงกันของแอนติบอดีบีกับแอนติเจนเอ แต่ในกราฟมีค่าความเข้มสัญญาณในการติดเลือดเกิดขึ้น เพราะวาระหว่างการทำการทดลองขั้นตอนในการล้างเลือดที่ไม่สะอาด หรือมีพอลิเมอร์ส่วนเกินเหลืออยู่บนพื้นผิว เมื่อทำการอ่านค่าสัญญาณจึงทำให้มีความเข้มสัญญาณเกิดขึ้น โดยค่าความเข้มอยู่ระหว่าง  $0.56-1.19\% \pm 0.17$  ซึ่งเป็นค่าความเข้มสัญญาณที่อ่านได้ว่าไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง

เมื่อพิจารณาที่กราฟ B ทำการทดสอบด้วยสารตัวอย่างหมู่บี จากกราฟจะเห็นค่าความเข้มเกิดขึ้นที่บริเวณแอนติบอดีบี เมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมู่บี แล้วมีการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงในบริเวณแอนติบอดีบี เนื่องมาจากแอนติบอดีบีเกิดการจำเพาะเจาะจงกันกับแอนติเจนบี เมื่อพิจารณาที่ความเข้มชั้นแอนติบอดี 30 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความเข้มของสัญญาณต่ำที่สุดอยู่ที่ประมาณ  $6.30\% \pm 0.16$  และ  $4.99\% \pm 0.68$  ตามลำดับ จึงไม่เลือกค่าความเข้มชั้นแอนติบอดี 30 และ 100 เปอร์เซ็นต์มาใช้ในการทดลอง ที่ความเข้มชั้นแอนติบอดี 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเข้มที่สูงขึ้น และมีค่าความเข้มที่ใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าอยู่ประมาณ  $8.44\% \pm 2.37$  และ  $8.15\% \pm 2.24$  ตามลำดับ เมื่อพิจารณาที่ความเข้มชั้น 2 ค่านี้จะเห็นได้ว่ามีค่าใกล้เคียง แต่ที่ความเข้มชั้นแอนติบอดี 60 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความเข้มที่สูงกว่าเพราะฉะนั้นจึงเลือกค่าความเข้มชั้นแอนติบอดี 60 เปอร์เซ็นต์ มาใช้ในการทดลองต่อไป จากกราฟจะเห็นว่าที่บริเวณแอนติบอดีเอเกิดความเข้มสัญญาณการติดเลือดเกิดขึ้น ทั้งที่จากรูปที่ 4.15 ไม่เห็นการติดของเม็ดเลือดแดงบริเวณแอนติบอดีเอ เนื่องจากว่าเกิดการไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีเอกับแอนติเจนบี แต่เมื่อนำสัญญาณที่ได้มาอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดเลือดจะมีค่าความเข้มเกิดขึ้น โดยที่ค่าความเข้มอยู่ในช่วงประมาณ 0.98-

1.60%  $\pm$  0.27 ซึ่งค่าความเข้มข้นที่อ่านได้ไม่ถือว่าเป็นการติดของเม็ดเลือดแดง การที่ค่าความเข้มข้นเหล่านี้เกิดขึ้นเนื่องมาจากกระหว่างการทำการทดลอง เนื่องมาจากการทำการลอง เกิดการล้างทำความสะอาดชิ้นงานที่ไม่ได้ดี หรือการทดลองซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละครั้งที่ทำการทำการลองอาจเกิดการติดของเม็ดเลือดแดงที่ไม่สม่ำเสมอ จึงทำให้ค่าความเข้มข้นเกิดขึ้น โดยจะมีค่าความเข้มข้นไม่เกิน 2 % จึงถือได้ว่าไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง




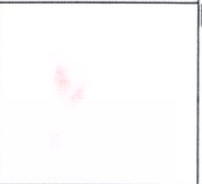





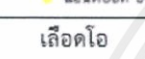




เมื่อพิจารณาที่กราฟ C ทำการทดสอบด้วยตัวอย่างเลือดหมูเอ โดยเลือดหมูเอไม่มีแอนติเจนเอและบี เมื่อทำการทดสอบจะไม่เกิดการติดเลือดบริเวณแอนติบอดีเอและบี เนื่องมาจากไม่เกิดการจำเพาะเจาะกันระหว่างแอนติบอดีเอและกับแอนติเจน ดังรูปที่ 4.9 แต่จากกราฟจะเห็นค่าความเข้มข้นของการเกาะติดเม็ดเลือดมีค่าต่ำ เนื่องมาจากการทำการทดลองขั้นตอนการล้างเลือดทำการล้างไม่สะอาดหรือมีพอลิเมอร์ส่วนเกินที่ยังล้างไม่หมด เมื่อทำการอ่านค่าความเข้มข้นสัญญาณจึงอ่านค่าความเข้มข้นออกมาได้แดง พิจารณาที่บริเวณแอนติบอดีเอค่าความเข้มข้นของสัญญาณการติดเลือดอยู่ในช่วงประมาณ 0.69-2.00%  $\pm$  0.76 ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่ต่ำ ถือได้ว่าเป็นค่าความเข้มข้นที่ไม่เกิดการจับกับเม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกันพิจารณาที่บริเวณแอนติบอดีบี ได้ค่าความเข้มข้นที่ต่ำเช่นกัน โดยมีค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วงประมาณ 0.84-1.53%  $\pm$  0.12 ซึ่งค่าความเข้มข้น ไม่เกิน 2 % จึงเป็นค่าความเข้มข้นที่บอกได้ว่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดแดงบนพื้นผิว

#### 4.4 การทดสอบประสิทธิภาพการติดเลือด

##### 4.4.1 การทดสอบหาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดและแอนติบอดีบนพื้นผิว

จากการทดลองหาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดและแอนติบอดีบนพื้นผิว โดยทำการทดสอบหาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดและแอนติบอดีบนพื้นผิว 5, 10, 20 และ 30 นาที ทำการเคลือบพอร์ลิเมอร์บนพื้นผิวใช้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้พลังงานยูวีที่เหมาะสมที่ใช้การ Coating Polymer 5000 ไมโครจูล หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิเครทเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นหยดแอนติบอดีความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนพื้นผิว แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวีที่ค่า 12500 ไมโครจูล หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเอและบีไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ และรอจนแห้ง จากนั้นทำการหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 5, 10, 20 และ 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยพีบีเอสบัฟเฟอร์ และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งของการทดสอบแต่ละหมู่เลือด ซึ่งการทดสอบแสดงผลดังรูปที่ 4.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลา การติดเลือด (นาที)	5	10	20	30
หมู่เลือด				
เลือดเอ  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี				
เลือดบี  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี				
เลือดโอ  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี				

รูปที่ 4.17 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ตรึงด้วยแอนติบอดีเอและบีที่พลังงานยูวี 12,500 ไมโครจูล ความเข้มข้นแอนติบอดีที่แตกต่างกัน 60 % และระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิว

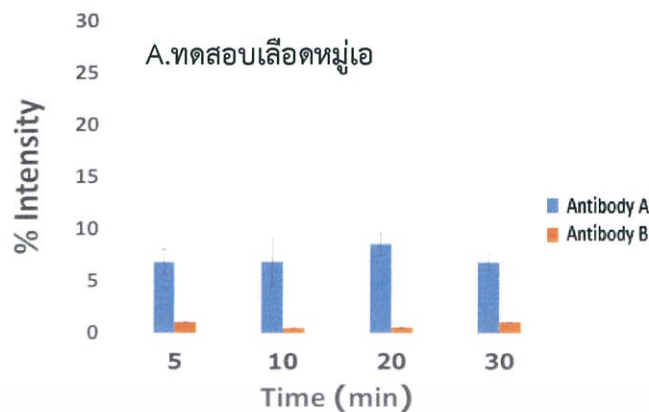
จากรูปเป็นชิ้นงานที่ทดสอบการเกาะติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวโดยทำการสร้างชิ้นงานที่เคลือบพอลิเมอร์ด้วยค่าพลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ใช้พลังงานยูวีในการตรึงแอนติบอดี 12500 ไมโครจูล จากนั้นทำการหยดแอนติบอดีเอ สีฟ้าและแอนติบอดีบี สีเหลืองที่ความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการทดสอบด้วยหมู่เลือดต่างๆ โดยที่ระยะเวลาการในการทดสอบการติดเลือดที่ต่างกัน จากรูปที่ 4.16 เป็นผลการทดสอบชิ้นงานของเลือดเอ บี และโอ โดยพิจารณาชิ้นงานที่ทำการทดสอบด้วยสารตัวอย่างเลือดหมู่เอ จะเห็นภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่าที่บริเวณแอนติบอดีเอ เกิดการติดของหมู่เลือดบนพื้นผิว เนื่องจากแอนติบอดีเอกับแอนติเจนเกิดความจำเพาะเจาะจงกัน จึงเห็นว่ามี การเกาะติดของเม็ดเลือดแดง แต่บริเวณแอนติบอดีบี มองด้วยตาเปล่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิว เนื่องจากเกิดความไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีบีและแอนติเจนเอ การทดสอบชิ้นงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยสารตัวอย่างเลือดหมูบี จากภาพจะเห็นว่าบริเวณแอนติบอดีบีเกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง แต่ไม่พบการติดของเลือดที่บริเวณแอนติบอดีเอ เมื่อพิจารณาจากภาพ การที่แอนติบอดีบีติดเลือดเมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมูบี เนื่องมาจากเกิดการจำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีบีและแอนติเจนบี จึงเกิดการติดบริเวณแอนติบอดีบีเท่านั้น การทดสอบชิ้นงานด้วยเลือดหมูโอ จากภาพจะเห็นได้ชัดเจนว่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวทั้งบริเวณแอนติบอดีเอและบี เนื่องมาจากหมู่เลือดโอไม่มีแอนติเจนเอและบี จึงไม่จำเพาะเจาะจงกับแอนติบอดี จึงไม่เกิดการติดของเม็ดเลือดแดง แต่อย่างไรก็ตาม ภาพที่ได้เมื่อมองด้วยตาอย่างคงแยกความแตกต่างไม่ชัดเจนเมื่อเทียบระหว่างชิ้นงานที่ทำการเคลือบพอลิเมอร์โดยใช้ระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวที่แตกต่างกัน จึงนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์หาความเข้มโดยใช้ โปรแกรม Image J ซึ่งจะได้ค่า % Intensity โดยสัญญาณที่ทำการอ่านค่าได้เป็นสัญญาณการติดของเลือดหมูเอบนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบี แสดงดังรูปที่ 4.18



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 ค่า % Intensity ที่วัดได้จากการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมูเอ บี และโอบนพื้นผิวแอนติบอดีเอและบี จากชิ้นงานที่ทำการเคลือบด้วย coating polymer โดยใช้ความระยະที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีที่แตกต่างกันโดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบด้วยเลือดเอ บี และโอ จำนวน 3 ชิ้นงาน A.ทดสอบเลือดเอ B.ทดสอบเลือดบี C.ทดสอบเลือดโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.18 เป็นผลการอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ โดยใช้โปรแกรม Image J ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองทำซ้ำอย่างละ 3 การทดลอง เมื่อพิจารณาที่กราฟ A ทดสอบด้วยสารตัวอย่างหมู่เอ จากกราฟจะเห็นว่าค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดมีความเข้มที่สูงในบริเวณแอนติบอดีเอ เนื่องมาจากเมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดเอ บริเวณแอนติบอดีเอมีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนเอ เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 5 นาที ให้ค่าความเข้มของสัญญาณต่ำที่สุดอยู่ที่ประมาณ  $6.79\% \pm 1.22$  จึงไม่เลือกระยะเวลาที่ 5 นาที มาใช้ในการทดลอง ที่ค่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 10 และ 30 นาที ให้ค่าความเข้มที่ใกล้เคียงกัน ค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $6.84\% \pm 2.31$  และ  $6.80\% \pm 0.74$  ให้ค่าความเข้มที่สูงขึ้น แต่ยังเป็นค่าที่น้อยกว่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 20 นาที จึงไม่เลือกระยะเวลาที่ 10 และ 30 นาที มาใช้ในการทดลองและที่ค่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 20 นาที ให้ค่าความเข้มที่สูงอยู่ที่ประมาณ  $8.54\% \pm 1.06$  และให้ค่า SD ที่ต่ำ จึงเหมาะแก่การนำไปใช้ในการทดลองต่อไป เพราะฉะนั้นจึงเลือกระยะเวลาที่ 20 นาที ไปใช้ในการทดลองต่อไป แล้วจากกราฟที่บริเวณแอนติบอดีบี จะไม่เกิดการจับกันของแอนติบอดีบีกับแอนติเจนเอ เนื่องมาจากไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงกันของแอนติบอดีบีกับแอนติเจนเอ แต่ในกราฟมีค่าความเข้มสัญญาณในการติดเลือดเกิดขึ้น เพราะวาระหว่างการทำการทดลองขั้นตอนในการล้างเลือดที่ไม่สะอาด หรือมีพอลิเมอร์ส่วนเกินเหลืออยู่บนพื้นผิว เมื่อทำการอ่านค่าสัญญาณจึงทำให้มีความเข้มสัญญาณเกิดขึ้น โดยค่าความเข้มอยู่ระหว่าง  $0.49-1.05\% \pm 0.06$  ซึ่งเป็นค่าความเข้มสัญญาณที่อ่านได้ว่าไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง

เมื่อพิจารณาที่กราฟ B ทำการทดสอบด้วยสารตัวอย่างหมู่บี จากกราฟจะเห็นค่าความเข้มเกิดขึ้นที่บริเวณแอนติบอดีบี เมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมู่บี แล้วมีการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงในบริเวณแอนติบอดีบี เนื่องมาจากแอนติบอดีบีเกิดการจำเพาะเจาะจงกันกับแอนติเจนบี เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 10 และ 30 นาที ให้ค่าความเข้มของสัญญาณต่ำที่สุดอยู่ที่ประมาณ  $6.14\% \pm 0.08$  และ  $4.26\% \pm 0.81$  ตามลำดับ จึงไม่เลือกระยะเวลาที่ 10 และ 30 นาที มาใช้ในการทดลอง ที่ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 5 นาที มีค่าความเข้มที่สูงขึ้น ซึ่งมีค่าอยู่ประมาณ  $8.77\% \pm 0.62$  แต่ยังไม่ดีกว่า 20 นาที มาใช้ในการทดลอง และเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 20 นาที ให้ค่าความเข้มที่สุดอยู่ที่ประมาณ  $10.68\% \pm 0.35$  และให้ค่า SD ที่ต่ำ เพราะฉะนั้นจึงเลือกระยะเวลาที่ 20 นาที มาใช้ในการทดลองต่อไป จากกราฟจะเห็นว่าที่บริเวณแอนติบอดีเอเกิดความเข้มสัญญาณ

การติดเลือดเกิดขึ้น ทั้งที่จากรูปที่ 4.17 ไม่เห็นการติดของเม็ดเลือดแดงบริเวณแอนติบอดีเอ เนื่องจากว่าเกิดการไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีเอกับแอนติเจนบี แต่เมื่อนำสัญญาณที่ได้มาอ่านค่าความเข้มของการเกาะติดเลือดจะมีค่าความเข้มเกิดขึ้น โดยที่ค่าความเข้มอยู่ในช่วงประมาณ  $0.14-1.91\% \pm 0.16$  ซึ่งค่าความเข้มที่อ่านได้ไม่ถือว่าเป็นการติดของเม็ดเลือดแดง การที่ค่าความเข้มเหล่านี้เกิดขึ้นเนื่องมาจากระหว่างการทำการทดลอง เนื่องมาจากจากการทำการทดลอง เกิดการล้างทำความสะอาดชิ้นงานที่ไม่ได้ดี หรือการทดลองซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละครั้งที่ทำการทดลองอาจเกิดการติดของเม็ดเลือดแดงที่ไม่สม่ำเสมอ จึงทำให้ค่าความเข้มเกิดขึ้น โดยจะมีค่าความเข้มไม่เกิน 2 % จึงถือว่าไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง



เมื่อพิจารณาที่กราฟ C ทำการทดสอบด้วยตัวอย่างเลือดหมูโอ โดยเลือดหมูโอไม่มีแอนติเจนเอและบี เมื่อทำการทดสอบจะไม่เกิดการติดเลือดบริเวณแอนติบอดีเอและบี เนื่องมาจากไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีเอและกับแอนติเจน ดังรูปที่ 4.16 แต่จากกราฟจะเห็นค่าความเข้มของการเกาะติดเม็ดเลือดมีค่าต่ำ เนื่องมาจากจากการทำการทดลองขั้นตอนการล้างเลือดทำการล้างไม่สะอาดหรือมีฟอสเฟอรัสส่วนเกินที่ยังล้างไม่หมด เมื่อทำการอ่านค่าความเข้มสัญญาณจึงอ่านค่าความเข้มออกมาได้แดง พิจารณาที่บริเวณแอนติบอดีเอค่าความเข้มของสัญญาณการติดเลือดอยู่ในช่วงประมาณ  $0.95-1.36\% \pm 0.21$  ซึ่งเป็นค่าความเข้มที่ต่ำ ถือได้ว่าเป็นค่าความเข้มที่ไม่เกิดการจับกับเม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกันพิจารณาที่บริเวณแอนติบอดีบี ได้ค่าความเข้มที่ต่ำเช่นกัน โดยมีค่าความเข้มอยู่ในช่วงประมาณ  $0.72-1.31\% \pm 0.11$  ซึ่งค่าความเข้ม ไม่เกิน 2 % จึงเป็นค่าความเข้มที่บอกได้ว่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดแดงบนพื้นผิว

#### 4.4.2 การทดสอบระยะเวลาการเก็บชิ้นงาน

จากการทดลองหาระยะเวลาการเก็บชิ้นงาน โดยทำการทดสอบหาระยะเวลาในเก็บชิ้นงาน 1, 3, 5 และ 7 นาที ทำการเคลือบพอร์ลิเมอร์บนพื้นผิวใช้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้พลังงานยูวีที่เหมาะสมที่ใช้การ Coating Polymer 5000 ไมโครจูล หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิเครทเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นหยุดแอนติบอดีความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงบนพื้นผิว แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวีที่ค่า 12500 ไมโครจูล หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเอและบีไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายฟิซีเอสบัฟเฟอร์ และรอจนแห้งจากนั้นทำการทดสอบการเก็บชิ้นงานด้วยสารคงสภาพ (Stabilization) ตามระยะเวลาวันที่กำหนดและเทียบกับชิ้นงานที่ไม่มีสารคงสภาพ (Stabilization) จากนั้นเมื่อครบวันเก็บชิ้นงานตามที่กำหนด จึงทำการทดสอบด้วยเลือดโดยหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยฟิโซซัลฟเฟออร์ และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งของการทดสอบแต่ละหมู่เลือดซึ่งการทดสอบแสดงผลดังรูปที่ 4.19

หมู่เลือด	Stabilize time (day)		1		3		5		7	
	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize
<b>เลือดเอ</b>  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize
<b>เลือดบี</b>  ● แอนติบอดี เอ ● แอนติบอดี บี	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize	Stabilize	No Stabilize

รูปที่ 4.19 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ตรึงด้วยแอนติบอดีเอ และบีที่พลังงานยูวี 12,500 ไมโครจูล ความเข้มข้นแอนติบอดีที่ 60 % ระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิว 20 นาที และใช้ระยะเวลาในการเก็บชิ้นงานโดยใช้สารคงสภาพ (Stabilization) ที่แตกต่างกัน

จากรูปเป็นชิ้นงานที่ทดสอบการเกาะติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวโดยทำการสร้างชิ้นงานที่เคลือบพอลิเมอร์ด้วยค่าพลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ใช้พลังงานยูวีในการตรึงแอนติบอดี 12500 ไมโครจูล จากนั้นทำการหยดแอนติบอดีเอ สีฟ้าและแอนติบอดีบี สีเหลืองที่ความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการทดสอบด้วยหมู่เลือดต่างๆ โดยทั้งระยะเวลาการในการทดสอบการติดเลือด 20 นาที และใช้ระยะเวลาในการเก็บชิ้นงานโดยใช้สารคงสภาพ (Stabilization) ที่แตกต่างกัน โดยทำการเทียบกับชิ้นงานที่ไม่มีสารคงสภาพ (Stabilization) บนชิ้นงาน เพื่อทำการเปรียบเทียบความต่างกันที่เกิดขึ้น จากรูปที่ 4.18 เมื่อทำการเปรียบเทียบชิ้นงานที่มีการลงสารคงสภาพ (Stabilization) และชิ้นงานที่ไม่มีสารคงสภาพ (Stabilization) โดยใช้ระยะเวลาในการเก็บชิ้นงานที่ต่างกัน ซึ่งได้ผลการทดสอบชิ้นงานของเลือดเอ บี และโอ ที่มีการลงสารคงสภาพ (Stabilization) โดยพิจารณา

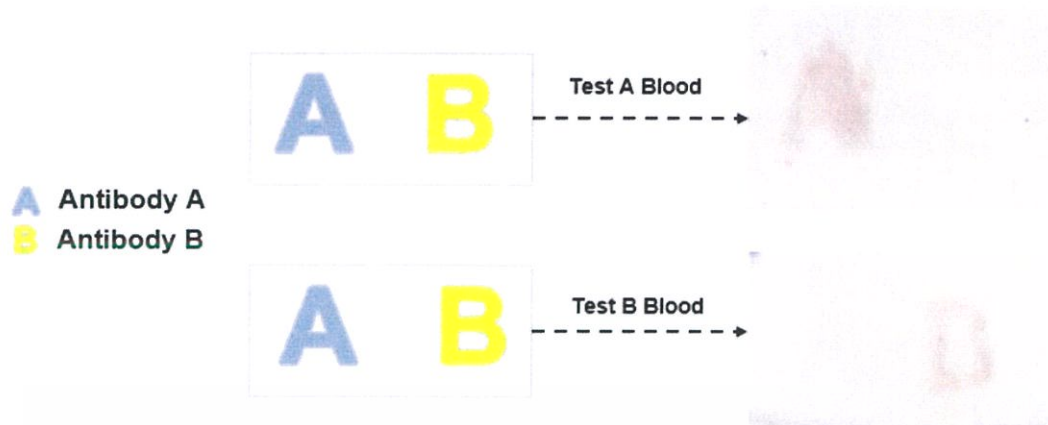
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นงานที่ทำการทดสอบด้วยสารตัวอย่างเลือดหมูเอ จะเห็นภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่าที่บริเวณ แอนติบอดีเอ เกิดการติดของหมูเลือดบนพื้นผิว เนื่องมาจากแอนติบอดีเอกับแอนติเจนเกิดความจำเพาะเจาะจงกัน จึงเห็นว่ามีเกาะติดของเม็ดเลือดแดง แต่บริเวณแอนติบอดีบี มองด้วยตาเปล่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิว เนื่องมาจากเกิดความไม่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีบีและแอนติเจนเอ การทดสอบชิ้นงานด้วยสารตัวอย่างเลือดหมูบี จากภาพจะเห็นว่าบริเวณแอนติบอดีบีเกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดง แต่ไม่พบการติดของเลือดที่บริเวณแอนติบอดีเอ เมื่อพิจารณาจากภาพ การที่แอนติบอดีบีติดเลือดเมื่อทำการทดสอบด้วยเลือดหมูบี เนื่องมาจากเกิดการจำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติบอดีบีและแอนติเจนบี จึงเกิดการติดบริเวณแอนติบอดีบีเท่านั้น การทดสอบชิ้นงานด้วยเลือดหมูโอ จากภาพจะเห็นได้ชัดเจนว่าไม่มีการติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวทั้งบริเวณแอนติบอดีเอและบี เนื่องมาจากหมูเลือดโอไม่มีแอนติเจนเอและบี จึงไม่จำเพาะเจาะจงกับแอนติบอดี จึงไม่เกิดการติดของเม็ดเลือดแดง และระยะเวลาการเก็บชิ้นงาน 1, 3, 5 และ 7 วัน มีการติดของเม็ดเลือดแดงบนพื้นผิวชิ้นงานทุกการทดลอง และเมื่อเทียบกับชิ้นงานที่ไม่ลงสารคงสภาพ (Stabilization) จากรูปที่ 4.18 จะเห็นได้ชัดเจนว่า ระยะเวลาการเก็บชิ้นงาน 1, 3, 5 และ 7 วัน ไม่มีการติดของหมูเลือดบนพื้นผิวชิ้นงาน เพราะฉะนั้นแล้วการที่เราศึกษาระยะเวลาของการเก็บชิ้นงานเพื่อต้องการดูว่าเมื่อทำการใส่สารที่คงสภาพ (Stabilization) ลงบนชิ้นงานสามารถทำให้ชิ้นงานเก็บไว้นานขึ้น เนื่องมาจากการที่เราสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหมูเลือดนั้น เราต้องทำการเก็บชิ้นงานเพื่อนำไปใช้ในกรณีที่ต้องการใช้อุปกรณ์ ดังนั้นแล้วการทดลองนี้จึงทำให้เราทราบว่าระยะเวลาของชิ้นงานสามารถเก็บไว้ได้นานกี่วัน เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบหมูเลือดที่ได้ประสิทธิภาพ

#### 4.4.3 การทดสอบการติดของเลือดแบบจำเพาะและไม่จำเพาะเพื่อสร้างเป็นตัวอักษร

จากการทดลองหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหมูเลือด โดยทำการเคลือบพอร์ลิเมอร์บนพื้นผิวใช้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้พลังงานยูวีที่เหมาะสมที่ใช้การ Coating Polymer 5000 ไมโครจูล หลังจากกระตุ้นด้วยพลังงานยูวีแล้ว นำชิ้นงานไปล้างด้วยเมทานอลและเข้าเครื่องโซนิเครทเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นสร้างรูปแบบการลงแอนติบอดีเป็นแบบตัวอักษรเอ และตัวอักษรบีบนพื้นผิวชิ้นงาน ด้วยความเข้มข้นแอนติบอดี 60 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปให้พลังงานแสงยูวี ด้วยเครื่อง Stratalinker 1800 UV crosslinker เพื่อให้แอนติบอดียึดติดบนพื้นผิวด้วยพลังงานยูวีที่ค่า 12500 ไมโครจูล หลังจากได้ชิ้นงานที่มีการตรึงแอนติบอดีเอและบีไว้แล้ว นำไปจุ่มในสารละลายฟิซีเอสบัฟเฟอร์ และรอจนแห้ง จึงทำการทดสอบด้วยเลือดโดยหยดสารตัวอย่างเลือดหมูเอ บี และโอ ที่ความเข้มข้น 5 % v/v ลงบนชิ้นงาน จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยฟิซีเอสบัฟเฟอร์ ซึ่งการทดสอบแสดงผลดังรูปที่ 4.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 ภาพแสดงผลการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงหมู่เอ บี และโอ บนพื้นผิว PMMA ที่เคลือบด้วย polymer coating ด้วยการใช้พลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ตรึงด้วยแอนติบอดีเอ และบีที่พลังงานยูวี 12,500 ไมโครจูล สร้างเป็นรูปแบบตัวอักษรด้วยความเข้มข้นแอนติบอดี 60 % ระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิวชิ้นงาน 20 นาที

จากรูปเป็นชิ้นงานที่ทดสอบการเกาะติดของเม็ดเลือดบนพื้นผิวโดยทำการสร้างชิ้นงานที่เคลือบพอลิเมอร์ด้วยค่าพลังงานยูวี 5000 ไมโครจูล ใช้พลังงานยูวีในการตรึงแอนติบอดี 12500 ไมโครจูล จากนั้นทำการสร้างรูปแบบตัวอักษรเอที่แอนติบอดีเอ สีฟ้า และตัวอักษรบีแอนติบอดีบี สีเหลืองที่ความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการทดสอบด้วยหมู่เลือดต่างๆ โดยทั้งระยะเวลาการในการทดสอบการติดเลือดที่ 20 นาที จากรูปที่ 4.19 จะเห็นได้ว่าเมื่อทำการทดสอบด้วยหมู่เลือดตัวอย่างหมู่เอ จะเห็นการติดของเม็ดเลือดแดงบนแอนติบอดีเอเป็นตัวอักษรเอ เนื่องจากบริเวณแอนติบอดีเอกับเลือดเอมีความจำเพาะเจาะจงกันจึงเกิดการติดเลือดบนพื้นผิวชิ้นงาน และบริเวณตำแหน่งบริเวณแอนติบอดีบี เมื่อทดสอบด้วยเลือดเอไม่เกิดการติดเลือด เนื่องจากแอนติบอดีบีกับเลือดเอไม่จำเพาะเจาะจงกัน และเมื่อทำการทดสอบด้วยหมู่เลือดบี จะเห็นการติดของเม็ดเลือดแดงบนแอนติบอดีบีเป็นตัวอักษรบี เนื่องจากบริเวณแอนติบอดีบีกับเลือดบีมีความจำเพาะเจาะจงกันจึงเกิดการติดเลือดบนพื้นผิวชิ้นงาน และบริเวณตำแหน่งบริเวณแอนติบอดีเอ เมื่อทดสอบด้วยเลือดบีไม่เกิดการติดของเลือด เนื่องจากแอนติบอดีเอกับเลือดบีไม่เกิดการจำเพาะเจาะจงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหุ้มเลือด เราจำเป็นต้องทดลองหาค่าที่เหมาะสมของตัวแปรต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหุ้มเลือดเพื่อพัฒนาเป็นอุปกรณ์ โดยปัจจัยต่างๆที่ต้องการศึกษาเริ่มจากการค่าความเข้มข้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) สำหรับเคลือบผิวชิ้นงาน เพื่อให้แอนติบอดีสามารถเกิดการเกาะติดแบบเชื่อมขวางบนพื้นผิวและทำให้เกิดการจับกับแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงได้ การศึกษาหาค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการเคลือบพอลิเมอร์ให้อยู่ติดอยู่บนชิ้นงาน PMMA การศึกษาหาค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการตรึงแอนติบอดีหลังจากทำการเคลือบพอลิเมอร์ลงบนพื้นผิว PMMA การศึกษาหาความเข้มข้นแอนติบอดีที่เหมาะสมในการสร้างชิ้นงาน รวมไปถึงการหาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเม็ดเลือดแดงบนพื้นผิว PMMA และการศึกษาหาการเก็บรักษาชิ้นงาน ซึ่งปัจจัยเหล่านี้เป็นสิ่งที่สำคัญในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดหุ้มเลือด

การตรึงโปรตีนอย่างง่ายโดยอาศัยหลักการของการเชื่อมขวางของพอลิเมอร์ด้วยแสง (photo cross-link polymer) ของสารเบนโซฟีโนน (benzophenone) โดยเป็นกระบวนการเกี่ยวกับพอลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization) เริ่มต้นด้วยหมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive specie) หมู่ว่องไวต่อปฏิกิริยาอาจเป็นอนุมูลอิสระ เรียกว่า (free radical) เข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลมอนอเมอร์ จะทำการแตกพันธะพาย ( $\pi$ -bond) ของมอนอเมอร์ให้เกิดการแตกออก กลไกเหล่านี้สามารถเกิดขึ้นได้โดยตัวเริ่มปฏิกิริยาที่แตกตัวโดยใช้แสง (photo initiator) จะใช้สารเบนโซฟีโนน (benzophenone) ทำการกระตุ้นด้วยแสงยูวี (ultraviolet light) ให้เกิดปฏิกิริยาการแยกสลายตัวของพันธะแล้วเกิดอิเล็กตรอนอิสระที่เป็นธาตุคาร์บอนจับกับอะตอมข้างเคียงในหลักการเดียวกันสามารถตรึงโปรตีนลงบนพื้นผิวโดยการหยดแอนติบอดีและแอนติบอดีบิลงบนพื้นผิว และนำไปฉายยูวีเพื่อให้แอนติบอดีติดบนพื้นผิวผ่านอะตอมของคาร์บอนบนแอนติบอดีและพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP และทำการทดสอบตรวจวัดหุ้มเลือด ทำโดยใช้หุ้มเลือดเอ บี และโอเพื่อพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหุ้มเลือด

การศึกษาความเข้มข้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) สำหรับเคลือบผิวชิ้นงานโดยใช้ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่ต่างกัน พิจารณาค่าความเข้มสัญญาณในการเกาะติดเลือด ซึ่งทำการทดลอง 3 ครั้งและหาค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรม Image J รายงานเป็นค่า %intensity หรือค่าความเข้มสัญญาณ โดยค่าความเข้มข้นพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) สำหรับเคลือบผิวชิ้นงานที่เหมาะสมที่สุดก็คือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่บริเวณแอนติบอดีเอซึ่งให้ค่าความ

ขึ้นอยู่กับประมาณ 19.18%  $\pm$ 0.19 และที่บริเวณแอนติบอดีบีซึ่งให้ค่าความขึ้นอยู่กับประมาณ 21.03%  $\pm$ 9.08

การวิเคราะห์พื้นผิวชิ้นงานเพื่อทดสอบการเคลือบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) บนพื้นผิวชิ้นงาน PMMA โดยใช้เทคนิคในการวิเคราะห์ 3 เทคนิคดังนี้ 1. การวัดมุมสัมผัสของน้ำ (contact angle) 2.การวัดค่าการส่องผ่านของแสง (Transmission; %T) และ 3.การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของโมเลกุล (FTIR) โดยการวัดมุมสัมผัสน้ำทำให้ทราบว่าที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีมุมสัมผัสน้ำมากที่สุดโดยมีค่ามุม 65.57 $\pm$ 4.17 องศา ซึ่งบ่งบอกได้ว่าเมื่อทำการเคลือบพอลิเมอร์ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรทำให้พื้นผิวชิ้นงานมีความไม่ชอบน้ำมากขึ้นเมื่อเทียบกับพื้นผิว PMMA เปล่าที่มีมุมสัมผัสน้ำ 50.45 $\pm$ 3.38องศา การวัดค่าการส่องผ่านของแสง (Transmission; %T) เมื่อพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP เคลือบติดบนชิ้นงานมีความเข้มเพิ่มมากขึ้น ค่าการทะลุผ่านแสงจะน้อยลง และค่าการดูดกลืนจะเพิ่มมากขึ้น ซึ่งที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วงความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร มีค่าการส่องผ่านแสง (%T) เท่ากับ 92.5 % ซึ่งใกล้เคียงกับแผ่น PMMA เปล่า ซึ่งบอกได้ว่าชั้นพอลิเมอร์ที่เคลือบมีความบางมาก แทบไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีหรือความขุ่นของชิ้นงาน และเทคนิคการศึกษาหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิว (FTIR) เป็นเทคนิคที่ใช้ในวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารที่ทำการเคลือบลงบนพื้นผิว เปรียบเทียบกับชิ้นงาน PMMA เปล่า ผลการวิเคราะห์พบว่าหมู่ฟังก์ชันของโมเลกุลพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ปรากฏเด่นชัดขึ้นที่ความยาวคลื่น 1627  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงหมู่ฟังก์ชัน C=O aromatic ในขณะที่พีคที่ตำแหน่ง 2954-2995  $\text{cm}^{-1}$  และ 1790  $\text{cm}^{-1}$  แสดงหมู่ฟังก์ชัน C-H Stretching และ C=O ที่บ่งบอกความเป็นพื้นผิว PMMA มีค่าลดลง

การศึกษาลำดับพลังงานยูวีที่ใช้ในการเคลือบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) บนพื้นผิว หลังจากได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้วโดยทำการทดลองปรับเปลี่ยนค่าพลังงานยูวีในช่วง 2000 – 10000 ไมโครจูล เมื่อทำการฉายพลังงานยูวีลงบนพื้นผิว PMMA ที่มีการเคลือบพอลิเมอร์ทำให้เกิดการเชื่อมขวางกันของพอลิเมอร์และพื้นผิวชิ้นงาน ค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในการเคลือบพอลิเมอร์ PDMAA-MaBP (coating polymer) ที่เหมาะสมที่สุดคือ 5000 ไมโครจูล ความเข้มสัญญาณที่บริเวณแอนติบอดีเอให้ค่าความขึ้นอยู่กับประมาณ 15.16%  $\pm$ 1.91 และที่บริเวณแอนติบอดีบีให้ค่าความขึ้นอยู่กับประมาณ 17.99%  $\pm$ 4.96

ค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในตรึงแอนติบอดีที่เหมาะสมที่สุดคือ 12500 ไมโครจูล ค่าความเข้มสัญญาณที่บริเวณแอนติบอดีเอซึ่งให้ค่าความขึ้นอยู่กับประมาณ 10.89%  $\pm$ 2.39 และเลือดหมู่บีที่ติดบริเวณแอนติบอดีบีให้ค่าความขึ้นอยู่กับประมาณ 11.26%  $\pm$ 1.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาหาความเข้มข้นแอนติบอดี เมื่อได้ค่าพลังงานยูวีที่ใช้ในตรึงแอนติบอดีที่เหมาะสมแล้ว จึงต้องหาความเข้มข้นแอนติบอดี ซึ่งใช้ความเข้มข้นในการศึกษาที่ต่างกัน เมื่อทำการฉายพลังงานยูวีลงบนพื้นผิว PMMA ที่ทำการหยดแอนติบอดีบนพื้นผิว PMMA แล้วทำให้เกิดพันธะเชื่อมขวางกันของแอนติบอดีและพื้นผิวชิ้นงาน ค่าความเข้มข้นแอนติบอดี ที่เหมาะสมที่สุดคือ 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดหมูเอบริเวณแอนติบอดีอยู่ที่ประมาณ  $12.20\% \pm 0.79$  และค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดหมูบีที่แอนติบอดีบีซึ่งให้ค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $8.44\% \pm 2.37$

ความเข้มข้นแอนติบอดี ที่เหมาะสมที่สุดคือ 60 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ซึ่งให้ค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดหมูเอบริเวณแอนติบอดีอยู่ที่ประมาณ  $12.20\% \pm 0.79$  และค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดหมูบีที่แอนติบอดีบีซึ่งให้ค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $8.44\% \pm 2.37$

การศึกษาหาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีบนพื้นผิว ที่เหมาะสมที่สุดคือ 20 นาที ซึ่งให้ค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดหมูเอบริเวณแอนติบอดีอยู่ที่ประมาณ  $8.54\% \pm 1.06$  และค่าความเข้มสัญญาณการติดเลือดหมูบีที่แอนติบอดีบีซึ่งให้ค่าความเข้มอยู่ที่ประมาณ  $10.68\% \pm 0.35$

การศึกษาระยะเวลาการเก็บชิ้นงานโดยใช้สารคงสภาพ (stabilization) เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน เมื่อทดสอบด้วยหมู่เลือดจะเห็นว่าการติดของเม็ดเลือดแดงบนพื้นผิวชิ้นงาน ถึงแม้ระยะเวลาในการเก็บรักษาจะมากขึ้น แต่เมื่อพิจารณาชิ้นงานที่ไม่มีสารคงสภาพบนชิ้นงาน ที่ระยะเวลาเดียวกัน จะไม่มีการติดของเม็ดเลือดแดงบนพื้นผิว อาจเนื่องมาจากเกิดการเสื่อมสภาพของแอนติบอดีบนพื้นผิว เพราะฉะนั้นการเก็บรักษาชิ้นงานควรมีการใช้สารคงสภาพเพื่อทำให้ชิ้นงานเก็บได้ในระยะเวลาที่นานขึ้น เพื่อพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดหมู่เลือด

การแสดงผลเป็นตัวอักษรบนพื้นผิวชิ้นงาน เพื่อให้การอ่านผลได้ง่ายขึ้น เมื่อเกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดแดงบริเวณตำแหน่งของแอนติบอดีที่จำเพาะ และไม่เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดในตำแหน่งแอนติบอดีไม่จำเพาะ ซึ่งผลดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาออกแบบชิ้นงานสำหรับตรวจวัดหมู่เลือดต่อไป

## บรรณานุกรม

- [1] Catherine Booth, Shubha Allard. 2017. Blood transfusion, 244-250
- [2] Watkins WM. The ABO blood group system: Historical background. Transfusion Medicine 2001;11:243-65.
- [3] Sererat S, Beatly JE, Schifano JV. Jau P. Standardization of ABO typing sera for the manual microplate technique. Lab. Med 1986; 17: 523-5.
- [4] Hosoi E. Biological and clinical aspects of ABO blood group system. J Med Invest 2008 55 174-182
- [5] Eggins, B.R., Chemical sensors and biosensors. Vol. 28. 2008: John Wiley & Son.
- [6] <http://fat.surin.rmuti.ac.th/>.(สืบค้นข้อมูลวันที่ 2 พฤศจิกายน 2561 ).
- [7] [BlogGang.com/](http://BlogGang.com/).(สืบค้นข้อมูลวันที่ 2 พฤศจิกายน 2561 ).
- [8] <http://www.mt.mahidol.ac.th/>.(สืบค้นข้อมูลวันที่ 2 พฤศจิกายน 2561 ).
- [9] [fat.surin.rmuti.ac.th/](http://fat.surin.rmuti.ac.th/).(สืบค้นข้อมูลวันที่ 2 พฤศจิกายน 2561 ).
- [10] Stevens and Lowe (2005)
- [11] [www.dreamstime.com/](http://www.dreamstime.com/).(สืบค้นข้อมูลวันที่ 3 พฤศจิกายน 2561 ).
- [12] <https://sites.google.com/site/kannikamatoy/blood-type-and-blood-transfusion>. (สืบค้นข้อมูลวันที่ 3 พฤศจิกายน 2561).
- [13] <http://research-hcu.hcu.ac.th/>(สืบค้นข้อมูลวันที่ 3 พฤศจิกายน 2561).
- [14] <http://research-hcu.hcu.ac.th/>(สืบค้นข้อมูลวันที่ 3 พฤศจิกายน 2561).
- [15] <https://sites.google.com/site/kmutnbbuddyblood/>(สืบค้นข้อมูลวันที่ 3 พฤศจิกายน 2561).
- [16] Tiselius, A. and Kabat, E.A. 1939. An electrophoretic study of immune sera and purified antibody preparations. J Exp Med. 69:119-131.
- [17] LeBien, T.W. and Tedder, T.F. 2008. B lymphocytes: How they develop and function. Blood. 112:1570-1580.
- [18] <https://sites.google.com/site/bodybalanceu/xaentibxdi-antibody/>(สืบค้นข้อมูล วันที่ 5 พฤศจิกายน 2561).
- [19] สักดิ์อนันต์ อนันตสุข. หนังสือเรียนวิชาชีววิทยา ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 . พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว
- [19] Brydson, Plastics Materials, Butterworths, 1989
- [20] ชัยวัฒน์ เอนวานิช , “เคมีพอลิเมอร์พื้นฐาน” , พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักพิมพ์โอเคียนสตอร์, กรุงเทพฯ, 2557

- [21] 137 McGrath, J. E.; Wilkes, G.L.; Ward, T., ACS Polymer Short Course Notes, 2001.
- [22] <http://pslc.ws/macrog/kidsmac/pmmda.htm/>(สืบค้นข้อมูลวันที่ 5 พฤศจิกายน 2561).
- [23] Billmeyer, F. W., Jr., Textbook of Polymer Science, John Wiley, Singapore, 3<sup>rd</sup> ed., (1984): 384-386.
- [24] Billmeyer, F. W., Jr., Textbook of Polymer Science, John Wiley, Singapore, 3<sup>rd</sup> ed., (1984): 384-386.
- [25] <http://pslc.ws/macrog/kidsmac/pmmda.htm/>(สืบค้นข้อมูลวันที่ 6 พฤศจิกายน 2561).
- [26] G. Odian (2004) Principle of Polymerization, 4th Eds., John Wiley, New Jersey, p. 200.
- [27] M.P. Stevens, Polymer Chemistry, Oxford University Press, New York,
- [28] Z. Czech et al. (2012) European Polymer Journal 48:1446-1454.
- [29] Toomey, R., Freidank, D. & R uhe, J. Swelling Behavior of Thin, Surface-Attached Polymer Networks. *Macromolecules* 37, 882–887 (2004).
- [30] Oswald Prucker, Christoph A. Naumann, Jurgen Ruhe, Wolfgang Knoll, and Curtis W. Frank. 1999. Photochemical Attachment of Polymer Films to Solid Surfaces via Monolayers of Benzophenone Derivatives
- [31] Martin Rendl, Andreas B onisch, Andreas Mader, Kerstin Schuh, Oswald Prucker, Thomas Brandstetter, and J urgen R uhe. 2011. Simple One-Step Process for Immobilization of Biomolecules on Polymer Substrates Based on Surface-Attached Polymer Networks
- [32] Esther K. Riga, Julia S. Saar, Roman Erath, Michelle Hechenbichler and Karen Lienkamp. 2017. On the Limits of Benzophenone as Cross-Linker for Surface-Attached Polymer Hydrogels
- [33] Martin Rendl, Andreas B onisch, Andreas Mader, Kerstin Schuh, Oswald Prucker, Thomas Brandstetter, and J urgen R uhe. 2011. Simple One-Step Process for Immobilization of Biomolecules on Polymer Substrates Based on Surface-Attached Polymer Networks
- [34] Martin Rendl, Andreas B onisch, Andreas Mader, Kerstin Schuh, Oswald Prucker, Thomas Brandstetter, and J urgen R uhe. 2011. Simple One-Step Process for Immobilization of Biomolecules on Polymer Substrates Based on Surface-Attached Polymer Networks
- [35] Martin Rendl, Andreas B onisch, Andreas Mader, Kerstin Schuh, Oswald Prucker, Thomas Brandstetter, and J urgen R uhe. 2011. Simple One-Step

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาวสิริลักษณ์ เพชรมาศ  
วัน เดือน ปีเกิด 13 กุมภาพันธ์ 2540  
ที่อยู่ 95 หมู่3 ตำบลบ้านนา อำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก 26110  
ประวัติการศึกษา ระดับมัธยมศึกษา

มัธยมศึกษาตอนต้น-ตอนปลาย สายวิทย์-คณิต

โรงเรียนนครนายกวิทยาคมเกรดเฉลี่ย 3.78

ระดับมหาวิทยาลัย

คณะวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สาขาวิศวกรรมวัสดุนาโน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร  
ลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้