

ชีวไฟฟ้าทองคำเปลวที่ตกแต่งด้วยวัสดุเชิงประกอบนาโนทองแพลทินัม-รูทีเนียม/
รีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ ชนิดใช้แล้วทิ้งและราคาถูก สำหรับแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้า
เคมีที่มีความไวสูงในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน B1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

DISPOSABLE AND LOW-COST GOLDLEAF ELECTRODE-DECORATED
AuPt-Ru/RGO NANOCOMPOSITE FOR ULTRASENSITIVE
ELECTROCHEMICAL APTASENSOR QUANTIFICATION OF
AFLATOXIN B1 IN AGRICULTURAL PRODUCTS

อัครรัฐ ชัตติยะ

AKRARATH KHATTIYA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2568

KMITL-2025-SC-M-012-002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DISPOSABLE AND LOW-COST GOLDLEAF ELECTRODE-DECORATED
AuPt-Ru/RGO NANOCOMPOSITE FOR ULTRASENSITIVE
ELECTROCHEMICAL APTASENSOR QUANTIFICATION OF
AFLATOXIN B1 IN AGRICULTURAL PRODUCTS



A THESIS SUBMITTED IN FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN APPLIED CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2025

KMITL-2025-SC-M-012-002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2025

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ขี้ไฟฟ้าทองคำเปลวที่ตกแต่งด้วยวัสดุเชิงประกอบนาโนทองแพลทินัม-รูทีเนียม/รีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ ชนิดใช้แล้วทิ้งและราคาถูกสำหรับแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่มีความไวสูงในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน B1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร
ชื่อนักศึกษา	อัครรัฐ ชัตติยะ
รหัสประจำตัว	65056097
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมีประยุกต์)
ภาควิชา	เคมี
พ.ศ.	2568
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ เดชศรี

บทคัดย่อ

ด้วยจำนวนผู้ป่วยโรคตับแข็งและมะเร็งตับที่เพิ่มขึ้นอย่างมาก จากการบริโภคผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน บี1 (AFB1) การพัฒนาเทคนิคการตรวจคัดกรอง AFB1 ที่รวดเร็วจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง งานวิจัยนี้ได้เสนอแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีรูปแบบใหม่ ซึ่งใช้อิเล็กโทรดที่ผลิตจากแผ่นทองคำเปลว (GLE) ซึ่งตกแต่งด้วยวัสดุเชิงประกอบนาโนทองแพลทินัม-รูทีเนียม/รีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ (AuPt-Ru/RGO) แบบใช้แล้วทิ้งและยังมีต้นทุนต่ำ วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru นั้นถูกสังเคราะห์ขึ้นด้วยวิธีการเคมีรีดักชันทางเคมีร่วมกับการใช้คลื่นความถี่อัลตราโซนิก พบว่าอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีรูปร่างคล้ายผลหยางเหมย โดยมีแกนกลางเป็นทอง แพลทินัมเป็นชั้นล้อมรอบและรูทีเนียมกระจายอยู่รอบอนุภาค มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 57.35 ± 8.24 นาโนเมตร ทั้งนี้วัสดุเชิงประกอบนาโนทองแพลทินัม-รูทีเนียมได้ถูกวางลงบนแผ่นรีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.5 – 1.6 ไมโครเมตรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายโอนอิเล็กตรอน และเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการตรึงแอปตาเมอร์ (Apt) ซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการตรวจวัด AFB1 ได้อย่างแม่นยำ ด้วยปริมาณตำแหน่งกัมมันต์ที่มีขนาดใหญ่ และค่าความต้านทานในวงจรไฟฟ้ากระแสลับที่ต่ำแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี GLE_{AuPt-Ru/RGO} ที่สร้างขึ้นแสดงความไวสูงในการตรวจวิเคราะห์ AFB1 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโวลแทมเมตรีพัลส์เชิงอนุพันธ์ (DPV) ได้แสดงค่าความเป็นเส้นตรงสำหรับการตรวจวัด AFB1 ในช่วงความเข้มข้น 0.3 – 30.0 พิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคกรัมต่อมิลลิลิตร ($R^2 = 0.9972$) โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD, $S/N = 3$) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ, $S/N = 10$) อยู่ที่ 0.009 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตรและ 0.031 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ให้ผลลัพธ์การวิเคราะห์ AFB1 ที่ดีในตัวอย่างจริง โดยมีร้อยละค่าคืนกลับของสัญญาณอยู่ในช่วง 94.6% ถึง 107.9% ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น พริกแดงแห้ง กระเทียม ถั่วลิสง พริกไทย และข้าวหอมมะลิไทย ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่สร้างขึ้นมีความเฉพาะเจาะจงต่อ AFB1 สูง และยังคงแสดงพฤติกรรมทางไฟฟ้าเคมีได้อย่างยอดเยี่ยมซึ่งคล้ายกับขั้วไฟฟ้าในเชิงพาณิชย์อื่น ๆ โดยมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรอย่างยิ่ง

คำสำคัญ: แอปตาเซ็นเซอร์เชิงไฟฟ้าเคมี, ขั้วไฟฟ้าทองคำเปลว, อนุภาคนาโน AuPt-Ru โครงสร้างแบบเฮเทอโร, รีดิซแกรฟีนออกไซด์, อะฟลาท็อกซิน บี 1

Thesis Title	Disposable and low-cost goldleaf electrode-decorated AuPt-Ru/RGO nanocomposite for ultrasensitive electrochemical aptasensor quantification of aflatoxin B1 in agricultural products
Student Name	Akrarath Khattiya
Student ID	65056097
Degree	Master of Science (Applied Chemistry)
Department	Chemistry
Year	2025
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Ekarat Detsri

Abstract

With the urgent need for rapid screening of Aflatoxin B1 (AFB1) due to its association with increased liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma cases from contaminated agricultural foods, we propose a novel electrochemical aptasensor. This aptasensor is based on trimetallic nanoparticles AuPt-Ru supported by reduced graphene oxide (AuPt-Ru/RGO) modified on a low-cost and disposable goldleaf electrode ($GLE_{AuPt-Ru/RGO}$) for detection of AFB1. The trimetallic nanoparticle AuPt-Ru was synthesized using an ultrasonic-driven chemical reduction method. The synthesized AuPt-Ru exhibited a waxberry-like appearance, with AuPt core-shell structure and ruthenium dispersed over the particles. The average particle size was 57.35 ± 8.24 nm. The AuPt-Ru was integrated into RGO sheets (inner diameter of 0.5 to 1.6 μm) in order to enhance electron transfer efficiency and increase the specific immobilizing surface area of the thiol-5'-terminated modified aptamer (Apt) to target AFB1. With a large electrochemical surface area and low electrochemical impedance, $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ displays ultra-high sensitivity for AFB1 detection. Differential pulse voltammetry (DPV) measurements revealed a linear range for AFB1 detection range from 0.3 to 30.0 pg mL^{-1} ($R^2 = 0.9972$), with a limit of detection (LOD, $S/N = 3$) and a limit of quantification (LOQ, $S/N = 10$) of 0.009 pg mL^{-1} and 0.031 pg mL^{-1} , respectively. The developed aptasensor also demonstrated excellent accuracy in

real agricultural products, including dried red chili, garlic, peanut, pepper, and Thai jasmine rice, achieving recovery rates between 94.6 and 107.9%. The fabricated aptamer-based $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ performance is comparable to that of a modified commercial electrode, which has great potential application prospects for detecting AFB1 in agricultural products.

Keywords: Electrochemical aptasensor; Low-cost goldleaf electrode; AuPt-Ru heterostructured nanoparticles; Reduced graphene oxide; Aflatoxin B1



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี เนื่องจากได้รับความกรุณาและความอนุเคราะห์จากรองศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ เดชศรี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉรงค์ เมธาวิสรเสริญ ผมขอขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างยิ่งที่ได้ให้ความรู้ ให้คำปรึกษา และดูแลอย่างใกล้ชิด ตลอดจนเอื้ออำนวยสถานที่และอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทำงานวิจัยและขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คงภิสสิทธิ์ ทองพูนสมจิตต์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้ข้อคิด และคำแนะนำทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ หน่วยวิจัยเคมีประยุกต์เชิงบูรณาการ หน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ เอื้อเพื่อสถานที่และอุปกรณ์วิทยาศาสตร์รวมถึงสารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย รวมถึงขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมี ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ นักศึกษาระดับปริญญาโทและปริญญาเอกที่คอยรับฟัง ให้กำลังใจเสมอมา โดยเฉพาะนางสาวรัชชก การะเกต และนางสาวอัมพิกา พ่วงศิริ ที่คอยให้คำปรึกษา และอยู่ข้าง ๆ เสมอ

สุดท้ายขอขอบคุณครอบครัวของผมทุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจให้ผมสามารถดำเนินงานวิจัยและจัดทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนสำเร็จ

นายอัครรัฐ ชัดติยะ

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญรูปภาพ	ฐ
บทที่ 1	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2	5
2.1 อะฟลาท็อกซิน (Aflatoxins; AFs)	5
2.1.2 ข้อกำหนดขีดจำกัดของ AFB1	7
2.1.3 การปนเปื้อนของ AFB1 ในอาหาร	8
2.2 การตรวจวัด AFB1	10
2.2.1 การวิเคราะห์ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC	11
2.2.2 การตรวจวัดเชิงไฟฟ้าเคมีสำหรับ AFB1	12
2.2.3 การตรวจวัดด้วย ELIZA	19
2.3 วัสดุนาโน (Nanomaterials)	24
2.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะ	25
2.3.2 อนุภาคนาโนโลหะ (Metal nanoparticles)	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะ	29
2.3.2.3 สมบัติทางไฟฟ้าของอนุภาคนาโนโลหะ (Electrical properties)	36
2.3.3 รีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ (Reduced graphene oxide, RGO)	37
2.3.3.1 การสังเคราะห์ RGO	37
2.3.3.2 สมบัติทางไฟฟ้าของ RGO (Electrical properties)	43
2.4 การสร้างขั้วไฟฟ้า (Working electrode)	44
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	50
2.5.1 การวิเคราะห์เชิงปริมาณของ AFB1	50
2.5.2 การปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้าด้วยอนุภาคนาโนโลหะในการตรวจหาปริมาณ AFB1	50
2.5.3 การปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้าด้วยรีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ในการตรวจหาปริมาณ AFB1	56
2.5.4 การปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้าด้วยนาโนคอมโพสิตในการตรวจหาปริมาณ AFB1	58
บทที่ 3	61
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	61
3.2 สารเคมี	62
3.3 การสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru	64
3.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน Au@Pt	64
3.3.1.1 ศึกษาความเข้มข้นของ PVP ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารรักษาเสถียรภาพ	64
3.3.1.2 ศึกษาความเข้มข้นของ AA ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารรีดิวซ์	65
3.3.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน AuPt-Ru	65
3.3.2.1 ศึกษาความเข้มข้น RuCl_2 ที่ใช้ในการสังเคราะห์ AuPt-Ru	65
3.3.2.2 ศึกษา %Amplification power ที่ใช้ในการสังเคราะห์ AuPt-Ru	66
3.3.2.3 ศึกษาเวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์ AuPt-Ru	66
3.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุภาคนาโน AuPt-Ru แบบแกนและเปลือก	67
3.4 การสังเคราะห์ RGO	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1 ความเข้มข้นของไฮดราซีนที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารรีดิวซ์ในการสังเคราะห์ RGO	67
3.4.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ RGO	67
3.5 การสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$	68
3.5.1 การสร้าง GLE	68
3.5.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ RGO ในการปรับปรุงพื้นผิว GLE	68
3.5.3 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ AuPt-Ru สำหรับสารประกอบ AuPt-Ru/RGO ในการปรับปรุงพื้นผิว GLE	69
3.5.4 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Apt	69
3.5.5 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BSA	69
3.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด AFB1 ด้วย $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$	70
3.6.1 ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่าง AFB1 และ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$	70
3.6.2 pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS	70
3.6.3 PBS concentration	71
3.7 การประเมินประสิทธิภาพของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$	71
3.7.1 การศึกษาคูณลักษณะของการวิเคราะห์ AFB1	71
3.7.2 ศึกษาอัตราการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร	73
3.7.3 ตรวจสอบความน่าเชื่อถือของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่สร้างขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC-FLD	73
3.8 การออกแบบชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1	74
บทที่ 4	77
4.1 การสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru	79
4.1.1 กลไกการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru	79
4.1.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru	80
4.1.2.1 ศึกษาความเข้มข้นของ PVP	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2.2	ศึกษาความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก (AA)	82
4.1.2.3	ศึกษาความเข้มข้น RuCl ₂	83
4.1.2.4	ศึกษาระยะเวลาการสังเคราะห์	85
4.1.3	การพิสูจน์เอกลักษณ์ของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru	87
4.2	การสังเคราะห์ RGO	91
4.2.1	ความเข้มข้นของไฮดราซีนที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารรีดิวซ์ในการสังเคราะห์ RGO	91
4.2.2	การพิสูจน์เอกลักษณ์ RGO	92
4.3	การสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี GLE _{AuPt-Ru/RGO}	93
4.3.1	การสร้าง Goldleaf electrode (GLE)	93
4.3.2	ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ RGO ในการปรับปรุงพื้นผิว GLE	94
4.3.3	ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ AuPt-Ru สำหรับสร้างเป็นอนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO ที่ใช้ในการปรับปรุงพื้นผิว GLE	95
4.3.4	ความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอปตาเมอร์	96
4.3.5	ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BSA	97
4.3.6	การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี GLE _{AuPt-Ru/RGO}	98
4.4	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด AFB1	103
4.4.1	ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยากับ AFB1	103
4.4.2	pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS	103
4.4.3	ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS	104
4.5	การประเมินประสิทธิภาพของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี GLE _{AuPt-Ru/RGO}	105
4.5.1	การศึกษาคุณลักษณะของวิธีในการวิเคราะห์ AFB1	105
4.5.2	ศึกษาร้อยละการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร	108
4.5.3	ตรวจสอบความน่าเชื่อถือของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่สร้างขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC-FLD	111

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.4 การออกแบบชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1	113
บทที่ 5	118
เอกสารอ้างอิง	120
ภาคผนวก ก	130
ภาคผนวก ข	135
ประวัติผู้เขียน	147



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ปริมาณซีตจำกัดของ AFB1 ตามกฎหมายของแต่ละประเทศ	8
ตารางที่ 2.2 วิธีการตรวจวัด AFB1 ด้วยเทคนิคต่างๆ	22
ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	62
ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นต่างๆ ของ PVP ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนผสม Au@Pt	64
ตารางที่ 3.3 ความเข้มข้นต่างๆ ของ AA ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน Au@Pt แบบแกนและเปลือก	65
ตารางที่ 3.4 ความเข้มข้นต่างๆ ของ PVP ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน AuPt-Ru	66
ตารางที่ 3.5 เวลาต่างๆที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน AuPt-Ru	66
ตารางที่ 3.6 เครื่องมือที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ AuPt-Ru แบบแกนและเปลือก	67
ตารางที่ 3.7 เครื่องมือที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ RGO	68
ตารางที่ 3.8 เครื่องมือที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์แอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$	70
ตารางที่ 3.9 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีการวิเคราะห์	72
ตารางที่ 3.10 สภาวะของ HPLC-FLD	74
ตารางที่ 3.11 ข้อมูลทั่วไปของชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1	76
ตารางที่ 4.1 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย Au@Pt ที่สังเคราะห์ภายใต้การใช้ PVP ที่ความเข้มข้นต่างๆ	82
ตารางที่ 4.2 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย Au@Pt ที่สังเคราะห์ภายใต้การใช้ AA ที่ความเข้มข้นต่างๆ	83
ตารางที่ 4.3 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย AuPt-Ru ที่สังเคราะห์ภายใต้ปริมาณต่างๆ ของ Ru	84
ตารางที่ 4.4 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ AuPt-Ru ที่ระยะเวลาการสังเคราะห์ต่างๆ	86
ตารางที่ 4.5 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ AuPt-Ru ที่ใช้ความแรงคลื่นอัลตราโซนิกต่างๆ ในการสังเคราะห์	87
ตารางที่ 4.6 พลังงานพันธะของ C 1s และ O 1s และ Δ (eV) ของ AuPt-Ru	90
ตารางที่ 4.7 สภาวะที่เหมาะสมในการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$	103
ตารางที่ 4.8 สภาวะที่เหมาะสมที่ส่งผลต่อการตรวจวัด AFB1 ด้วย $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$	105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการตรวจวัด AFB1	106
ตารางที่ 4.10 การตรวจวิเคราะห์ AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร	109
ตารางที่ 4.11 การตรวจวิเคราะห์ AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (ต่อ)	110
ตารางที่ 4.12 t-Test: Paired Two Sample for Means	111
ตารางที่ 4.13 แสดงการเปรียบเทียบการพัฒนาอิเล็กทรอนิกส์ในการตรวจวัด AFB1 ที่สร้างขึ้นกับงานวิจัยต่างๆ	112
ตารางที่ 4.14 แสดงการเปรียบเทียบราคาของอิเล็กทรอนิกส์ประเภทต่างๆ	113
ตารางที่ 4.15 ข้อมูลทั่วไปของชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1	116



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของ AFs ชนิดต่างๆ	6
รูปที่ 2.2 กลไกการก่อกัมเร่งของ AFB1 ในเซลล์ตับ	7
รูปที่ 2.3 แผนภาพแหล่งที่มาของการได้รับ AFB1 ของสัตว์และมนุษย์	10
รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี	13
รูปที่ 2.5 (A) CV และ (B) EIS ของขั้นตอนการปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้า ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร KCl โดย (a) bare AuE, (b) AEPS/AuE, (c) AFB1-BSA/AEPS/AuE, (d) BSA/AFB1-BSA/AEPS/AuE, (e) AuNP-SPA-mAb/BSA/AFB1-BSA/AEPS/AuE, และ (f) IgG-HRP/AuN	15
รูปที่ 2.6 (A) การตอบสนอง DPV ของไบโอเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่พัฒนาขึ้นต่อความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB1 ในช่วง 10 ถึง 8000 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร (B) ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างกระแสไฟและค่าล็อกความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB1	16
รูปที่ 2.7 ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์เชิงไฟฟ้าเคมีสำหรับการตรวจวัด AFB1	16
รูปที่ 2.8 (A) CV และ (B) EIS ที่ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ต่างๆ	17
รูปที่ 2.9 (A) EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของไบโอเซ็นเซอร์ $NH_2-Mo-MOF/Ti_3C_2/SPCE$ ต่อ AFB1 ที่ความเข้มข้น ในช่วง 0.06 ถึง 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ (B) สมการเส้นตรงที่ใช้การวิเคราะห์รีเกรสชันแบบสี่พารามิเตอร์ระหว่างค่า R_{ct} และความเข้มข้นของ AFB1	18
รูปที่ 2.10 ขั้นตอนการเตรียม TSA-ELISA สำหรับ AFB1	20
รูปที่ 2.11 กราฟมาตรฐานเปรียบเทียบการตรวจวัด AFB1 ด้วยเทคนิค TSA-ELISA และ ELISA	21
รูปที่ 2.12 โครงสร้างทั่วไปสำหรับการจำแนกประเภทแต่ละมิติ	25
รูปที่ 2.13 ภาพรวมของวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแบบใหญ่ไปเล็กและเล็กไปใหญ่	26
รูปที่ 2.14 รูปแบบ XRD ของผลึกอนุภาคนาโนแม่เหล็ก Fe_3O_4 (a) ก่อนและหลังทำการบด (b) 6 (c) 9 และ (d) 12 ชั่วโมง และเอกลักษณ์ผลึกมาตรฐานของ magnetite (ASTM card #11-614) และ goethite (ASTM card #3-249)	27
รูปที่ 2.15 รูปภาพ SEM ของอนุภาคนาโนแม่เหล็ก Fe_3O_4 ที่ทำการบดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง	28
รูปที่ 2.16 (A-B) รูป FE-SEM และ (C-D) รูป TEM ของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPtRu (E) ค่าศักย์ซีตาของ AuNPs, PtNPs, AuPt NPs และ AuPtRu NPs (F) ความสัมพันธ์กระแส-เวลา (i-t Curve) ของ (a) AuPt (b) AuRu (c) RuPt และ (d) AuPtRu	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- รูปที่ 2.17** สัณฐานวิทยาของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม Au_{oct}@PdPt NPs (a) SEM, (b) TEM, และ (c) HRTEM (d) รูปขยาย HRTEM ในบริเวณกรอบสี่เหลี่ยมใน (c), (e) รูป HAADF-STEM และ (f) HAADF-STEM-DES element mapping 32
- รูปที่ 2.18** CV การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 0.5 โมลต่อลิตร เมทานอลใน 0.1 โมลต่อลิตร HClO₄ ของตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดต่างๆ ที่อัตราการสแกน 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที 33
- รูปที่ 2.19** รูปภาพ TEM (a) แบบสนามสว่าง (b) แบบสนามมืดของ Au@Pd@Pt รูปภาพการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุ (c) Au (d) Pd และ (e) Pt และ (f) แสดงการกระจายตัวของธาตุในอนุภาคนาโนที่ถูกเลือกตามกรอบในภาพ b ซึ่งแสดงให้เห็นรายละเอียดของธาตุที่มีอยู่ในอนุภาคเดียว 34
- รูปที่ 2.20** (A1) HR-TEM ของ AuPdPt (A2) ภาพขยายบริเวณช่องสี่เหลี่ยมรูป A1 (B) XRD และ (C) CV ของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPdPt (เส้นสีแดง) AuPt (เส้นสีเขียว) และ Pt (เส้นสีน้ำเงิน) ภายใต้ 1 โมลต่อลิตร เมทานอล ใน 0.5 โมลต่อลิตร กรดซัลฟิวริก 35
- รูปที่ 2.21** สถานะอิเล็กทรอนิกส์ของโลหะในขนาดต่างๆ 36
- รูปที่ 2.22** โครงสร้างของ graphite, GO และ RGO 37
- รูปที่ 2.23** XPS สเปกตรัม a) และ b) C1s สเปกตรัมของ raw graphite, GO, RGO ที่ 2, 4 และ 10 ชั่วโมง และ c) ปริมาณออกซิเจนฟังก์ชันนอลภายในโครงสร้างที่เวลาการรีดักชันต่างๆ 39
- รูปที่ 2.24** SSNMR สเปกตรัมของ a) GO และ b) RGO 40
- รูปที่ 2.25** กลไกการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ GO โดยใช้ Hydrazine เป็นสารรีดิวซ์ 41
- รูปที่ 2.26** XRD สเปกตรัมของ GO และ RGO ที่ได้จากการใช้สารสกัดของขิงและกระเทียมที่ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ 42
- รูปที่ 2.27** สเปกตรัม FTIR ของ GO และ RGO ที่ใช้ไมโครเวฟช่วยในการรีดักชันเป็นเวลา 100 นาที 43
- รูปที่ 2.28** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแถบพลังงานที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างคาร์บอนแบบไฮบริดไนต์สตรูกรัฟีน 44
- รูปที่ 2.29** (a) ขั้นตอนการสร้าง GLE (b) ขนาดและรูปร่างของ GLE (c) รูปภาพชิ้นงานทองคำเปลวก่อนและ (d) หลังทำการตัดด้วยเลเซอร์ และภาพพื้นผิว GLE (e) แบบสองมิติและ (e) แบบสามมิติ 45
- รูปที่ 2.30** เวกลักษณะทางไฟฟ้าของ GLE ที่สร้างขึ้น (a) CV ภายใต้ 0.5 โมลต่อลิตร กรดซัลฟิวริก ที่อัตราการสแกน 0.5 โวลต์ต่อวินาที (b) CV ภายใต้ 10 มิลลิโมลต่อลิตร K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS สแกนจำนวน 25 รอบ (c) EIS ของ GLE จำนวน 5 ชั้น ภายใต้ 10 มิลลิโมลต่อลิตร K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- รูปที่ 2.31** (A) แผนภาพแสดงกระบวนการผลิตขั้วไฟฟ้าแบบ planar-disc (ด้านขวา) และขั้วไฟฟ้าแบบแถบนาโน (ด้านซ้าย) (B) ภาพมุมมองด้านหน้าของขั้วไฟฟ้าทองคำเปลวแบบ planar-disc และ (C) ภาพมุมมองด้านข้างของขั้วไฟฟ้าทองคำเปลวขณะถูกทำให้งอ 47
- รูปที่ 2.32** (A) CV ของ 3 มิลลิเมตร planar-disc GLE ภายใต้ 1 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ที่อัตราการสแกน (a) 10, (b) 20, (c) 50, (d) 100, และ (e) 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ภายในรูปแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสไฟกับรากที่สองของอัตราการสแกน, (B) CV ของ 6 มิลลิเมตร planar-disc GLE ภายใต้ 1 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที หลังจากทำให้เกิดการเสีรูปร่างเชิงกล 15 ครั้ง, (C) ชิ้นงานก่อนและหลังทำให้เกิดการเสีรูปร่างเชิงกล, (D) CV ของ nanoband GLE ภายใต้เพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของ $K_3[Fe(CN)_6]$ (ตั้งแต่ (a) 0.5 ถึง (g) 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร) ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที, และ (E) CV ของ GLE ที่ทำการตัดส่วนปลาย: (a: ครั้งที่หนึ่ง b: ครั้งที่สอง c: ครั้งที่สาม d: ครั้งที่สี่และ e: ครั้งที่ห้า) ภายใต้ 2 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที 49
- รูปที่ 2.33** ขั้นตอนการสร้างไบโอเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด AFB1 51
- รูปที่ 2.34** (A) CV และ (B) EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของการสร้างไบโอเซนเซอร์ในแต่ละขั้นตอน (i) PdNP-BN/CF, (ii) L-Cys/PdNP-BN/CF, (iii) anti-AFB1/L-Cys/PdNP-BN/CF, and (iv) BSA/ anti-AFB1/L-Cys/PdNP-BN/CF ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS และ 0.1 โมลต่อลิตร KCl ที่ pH 7.5 อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที 52
- รูปที่ 2.35** (A) LSV curves ของไบโอเซนเซอร์ BSA/anti-AFB1/L-Cys/PdNP-BN/CF ที่ความเข้มข้น AFB1 ต่างๆ ในช่วง 1.0 ถึง 10.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ (B) กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัด AFB1 53
- รูปที่ 2.36** แสดงขั้นตอนการสร้างออปตาเซนเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี 54
- รูปที่ 2.37** (A) EIS และ (B) CV การตอบสนองทางไฟฟ้าที่แตกต่างกันในแต่ละขั้นตอนการปรับปรุงพื้นผิวของอิเล็กโทรด ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร KCl: (a,a') bare GCE, (b,b') AuNPs/GCE, (c,c') cDNA/AuNPs/GCE, (d,d') Apt/cDNA/AuNPs/GCE, (e,e') AFB₁/Apt/cDNA/AuNPs/GCE, (f,f) AFB₁ (Exo I)/Apt/cDNA/AuNPs/GCE. 55
- รูปที่ 2.38** (A) DPV การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของออปตาเซนเซอร์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB1 (ในช่วง 1×10^{-3} ถึง 200 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) (B) กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัด AFB1 56

รูปที่ 2.39	ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัด AFB1	57
รูปที่ 2.40	(A) CV และ (B) EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของขั้นตอนการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัด AFB1: (a) Bare GCE, (b) GCE/THI-rGO, (c) GCE/THI-rGO/CS, (d) GCE/THI-rGO/CS/Fc-apt, and (e) GCE/THI-rGO/CS/Fc-apt/AFB1 (C) ACV การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีต่อความเข้มข้นต่างๆของ AFB1 ในช่วง 0.01 ถึง 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 0.1 โมลต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS (D) กราฟมาตรฐานระหว่างค่าอัตราส่วนกระแสไฟ I_{THI}/I_{Fc} กับค่าล็อกกาลิทึมความเข้มข้น AFB1	58
รูปที่ 2.41	ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัด AFB1	59
รูปที่ 2.42	EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของการไบโอเซ็นเซอร์แต่ละขั้นตอน A: (a) Bare GCE; (b) PABA-r-GO/GCE; (c) Anti-PABA-r-GO/GCE; (d) BSA-Anti-PABA-r-GO/GCE; (e) AFB1-BSA-AntiPABA-r-GO/GCE. B: (a) Au-PPABA-r-GO/GCE; (b) Anti-Au-PPABA-r-GO/G CE; (c) BSA-Anti-Au-PPABA-r-GO/GCE; (d) AFB1-BSA-Anti-Au-PPABA-r-GO/GCE ภายใต้ 10 มิลลิโมลต่อลิตร $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร KCl ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 10^5 Hz	60
รูปที่ 2.43	(A) EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของไบโอเซ็นเซอร์ Au-PPABA-r-GO/GCE ต่อความเข้มข้นต่างๆของ AFB1 ในช่วง 0.01 ถึง 25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ (B) กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัด AFB1	60
รูปที่ 4.1	(A) การสังเคราะห์อนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO (B) ขั้นตอนการออกแบบและสร้าง GLE และ (C) ขั้นตอนการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ในการตรวจวัด AFB1	78
รูปที่ 4.2	(A) ภาพ TEM ของ Au@Pt ที่ใช้ PVP เข้มข้น (A1) 1, (A2) 3, (A3) 12 และ (A4) 18 มิลลิโมลต่อลิตร และ (B) ผล CV ของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย Au@Pt ที่ใช้ PVP เข้มข้น (a) 1, (b) 3, (c) 12 และ, (d) 18 มิลลิโมลต่อลิตร ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที	81
รูปที่ 4.3	(A) ภาพ TEM ของ Au@Pt เมื่อใช้ AA เข้มข้น (A1) 10, (A2) 20, (A3) 40 และ (A4) 80 มิลลิโมลต่อลิตร และ (B) ผล CV ของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย Au@Pt ที่ใช้ AA เข้มข้น (a) 10, (b) 20, (c) 40 และ, (d) 80 มิลลิโมลต่อลิตร ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที	83
รูปที่ 4.4	(A) ภาพ TEM ของ AuPt-Ru เมื่อใช้ Ru (A1) 0.10, (A2) 0.50, (A3) 1.00 และ (A4) 1.25 โมล และ (B) ผล CV ของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย AuPt-Ru เมื่อใช้ Ru ปริมาณ 0,	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 0.10, 0.50, 1.00 และ 1.25 โมล ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที 84
- รูปที่ 4.5** สมบัติทางไฟฟ้า (A) CV และ (B) กราฟแสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย AuPt-Ru ที่ระยะเวลาการสังเคราะห์ 5, 10, 20, 30, และ 40 นาที ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที 85
- รูปที่ 4.6** สมบัติทางไฟฟ้า (A) CV และ (B) กราฟแสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย AuPt-Ru ที่ใช้ความแรงคลื่นอัลตราโซนิคในการสังเคราะห์ 20, 25, 30, 35, และ 40% แอมป์ ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที 86
- รูปที่ 4.7** (A) FT-IR ของ AA, PVP และ AuPt-Ru, (B) XRD: B1) AuPt-Ru, B2) Au@Pt, และ B3) AuNPs, (C1) XPS survey และสเปกตรัมความละเอียดสูง XPS ของ (C2) Au 4f (C3) Pt 4f และ (C4) Ru 3d 89
- รูปที่ 4.8** (A) ภาพ TEM และฮิสโทแกรมการกระจายตัวของขนาดอนุภาค, (B) HR-TTEM, (C1) ภาพการทำแผนที่องค์ประกอบธาตุ, (C2) Au, (C3) Pt, และ (C4) Ru และ (D) สเปกตรัม EDX 91
- รูปที่ 4.9** (A) สเปกตรัมการดูดกลืนแสง UV-vis และ (B) ค่าศักย์ซีตาของ GO และ RGO ที่ได้จากการใช้ไฮดราซีนเป็นสารรีดิวซ์ที่ความเข้มข้น 0.1%, 0.3%, และ 0.5% โดยปริมาตร 92
- รูปที่ 4.10** (A) สเปกตรัม FT-IR ของ Graphite, GO และ RGO, (B) XRD ของ RGO, และ รูปภาพ TEM (C1) GO, และ (C2) RGO 93
- รูปที่ 4.11** ขั้นตอนการสร้าง Goldleaf electrode (GLE) 93
- รูปที่ 4.12** Cyclic voltammogram ของ GLE ในสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ที่อัตราการสแกน 0.1 โวลต์ต่อวินาที ทั้งหมด 25 รอบ 94
- รูปที่ 4.13** (A) CV และ (B) ค่าการนำไฟฟ้าสูงสุดของ GLE ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย RGO ที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS (pH 7.4) ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที 95

รูปที่ 4.14 (A) CV และ (B) ค่าการนำไฟฟ้าสูงสุดของ GLE ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย AuPt-Ru/ORGO ที่ความเข้มข้น AuPt-Ru 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS (pH 7.4) ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที	96
รูปที่ 4.15 ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆของ (A) Apt 0, 1, 10, 25, 50, และ 75 นาโนโมลต่อลิตร และ (B) BSA 0.00, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 %โดยมวลต่อปริมาตร	97
รูปที่ 4.16 (A1) TEM, (A2) HR-TEM, (A3) SAED, (A4) EDX ของ AuPt-Ru/RGO (B) XRD ของ (B1) AuPt-Ru/RGO, (B2) AuPt-Ru และ (B3) RGO และ (C) FT-IR ของ (C1) AuPt-Ru/RGO, (C2) AuPt-Ru และ (C3) RGO	99
รูปที่ 4.17 (A) AFM ของ GLE (A1) ก่อนทำความสะอาดพื้นผิวด้วยกรด, (A2) หลังทำความสะอาดพื้นผิวด้วยกรด, และ (A3) GLE ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย AuPt-Ru/RGO และ (B) SEM ของ (B1) GLE, (B2) GLE_{RGO} , (B3) $GLE_{AuPt-Ru}$ และ (B4) $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$	100
รูปที่ 4.18 (A) กราฟ CV แสดงผลลัพธ์ของขั้วไฟฟ้า — GLE, — GLE_{RGO} , — $GLE_{AuPt-Ru}$ และ — $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ (B) CV ของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ แสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดเป็นฟังก์ชันของ (B1) รากที่สองของอัตราการสแกนและ (B2) อัตราการสแกนในช่วง 2.5 ถึง 40 มิลลิโวลต์ต่อวินาที, (C) กราฟ Nyquist และ (D) การวิเคราะห์ DPV ที่แสดงขั้นตอนการพัฒนาของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีสำหรับ a) GLE, b) GLE_{RGO} , c) $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$, d) $GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt}$, e) $GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt/BSA}$ และ f) $GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt/BSA/AFB1}$ การวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมีดำเนินการในสารละลาย PBS 10 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 7.4) ที่มี 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$	102
รูปที่ 4.19 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการตรวจวัด AFB1: (A) เวลาปฏิกิริยา, (B) ค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS, และ (C) ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS ตรวจวัดด้วยเทคนิค DPV ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS	104
รูปที่ 4.20 การตอบสนองทางไฟฟ้า DPV และกราฟเส้นตรงพล็อตระหว่างความเข้มข้นของ AFB1 และค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดในช่วงการตรวจวัด AFB1 ความเข้มข้น 0.3 - 30.0 พีโคกรัมต่อมิลลิลิตร	106

รูปที่ 4.21 การเลือกจำเพาะของแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ สำหรับการตรวจวัด AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารรบกวนที่ 3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (สูงกว่าความเข้มข้นของ AFB1 100 เท่า) 108

รูปที่ 4.22 ชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1 117



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

อะฟลาทอกซิน (AFs) เป็นสารพิษที่ผลิตโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* (A. flavus) และ *Aspergillus parasiticus* (A. parasiticus) โดยมาก AFs จะพบจากการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่เก็บในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นและอุณหภูมิสูง เช่น พริกแห้ง กระเทียม ถั่วลิสง พริกไทย และข้าวสาร เป็นต้น AFs ในธรรมชาติสามารถพบได้หลายชนิด ได้แก่ AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 และในรูปแบบเมตาบอไลต์คือ AFM1 และ AFM2 โดยเฉพาะ AFB1 เป็นที่รู้จักว่าเป็นสารก่อมะเร็งที่มีความร้ายแรงมากที่สุดและได้รับการจัดเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่ม 1 โดยองค์การวิจัยมะเร็งนานาชาติ (The international cancer research: IARC) เนื่องจากมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดมะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma: HCC) ส่งผลให้การบริโภคอาหารที่ปนเปื้อน AFB1 มีผลกระทบต่อสุขภาพต่อทั้งมนุษย์และสัตว์ทั่วโลก [1,2] ในหลายประเทศได้ตั้งข้อกำหนดมาตรฐานปริมาณ AFB1 ในอาหารไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (64.05 นาโนโมลต่อลิตร) [3] เพื่อควบคุมความปลอดภัยด้านอาหารและลดความเสี่ยงจากสารก่อมะเร็งนี้

ดังนั้น การพัฒนาวิธีการตรวจวัดที่มีความไว และความจำเพาะสูงในการตรวจหา AFB1 ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการควบคุมคุณภาพอาหาร เทคนิคการตรวจวัดทางชีวภาพด้วยไบโอเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี (Electrochemical biosensing) ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีข้อดีหลายประการ เช่น ตรวจวัดได้อย่างรวดเร็ว ความจำเพาะสูง ความไวสูง ใช้งานง่ายและมีต้นทุนการผลิตต่ำ งานวิจัยหลายฉบับได้รายงานเกี่ยวกับการพัฒนาไบโอเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่มีการใช้ร่วมกับสารชีวภาพ เช่น แอนติบอดี [4-5], เอนไซม์ [6], แอปตาเมอร์ [7-8], และ DNA [9] ที่ใช้ในการตรวจ AFB1 โดยสารชีวภาพเหล่านี้จะถูกตรึงไว้กับ วัสดุนาโน (Nanomaterials) ที่มีพื้นที่ผิวจำเพาะสูงและสมบัติการนำไฟฟ้าที่ดีเยี่ยม เช่น อนุภาคนาโนทอง (AuNPs) ได้ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการสร้างวัสดุตรวจวัดที่ให้สัญญาณเชิงไฟฟ้าเคมี เนื่องจากมีเสถียรภาพทางเคมีสูงและความเข้ากันได้ทางชีวภาพ [10] อีกทั้งอนุภาคนาโนแพลทินัม (PtNPs) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันมาอย่างยาวนานว่ามีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาที่ดีเยี่ยม [11] และรูทีเนียม (RuNPs) ยังมีความสามารถในการเพิ่มเสถียรภาพและสมรรถนะในการเร่งปฏิกิริยาของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม [12] ปัจจุบันมีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะผสมหลากหลายชนิดมากขึ้น เช่น FePtCu [13] และ PtPdTe [14] ซึ่งมีคุณสมบัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางการเร่งปฏิกิริยาที่ดีกว่าอนุภาคนาโนโลหะเดี่ยวและอนุภาคนาโนโลหะคู่ ด้วยเหตุนี้ การรวมข้อดีของ AuNPs, PtNPs และ RuNPs เข้าด้วยกัน แสดงให้เห็นถึงเสถียรภาพ สมรรถนะในการเร่งปฏิกิริยา และความสามารถในการตรึงโมเลกุลชีวภาพได้อย่างยอดเยี่ยม นอกจากนี้ วัสดุกราฟีนออกไซด์ (RGO) เป็นอีกหนึ่งวัสดุนาโนที่ได้รับความสนใจในการใช้เป็นวัสดุตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมี ซึ่ง RGO นั้นเป็นคาร์บอนนาโนที่เกิดจากการจัดเรียงชั้นของกราฟีนในโครงสร้าง ซึ่งสามารถปรับแต่งขนาดและรูปร่างได้ และมีคุณสมบัติที่น่าสนใจหลายประการ เช่น พื้นที่ผิวสูง (มากกว่า $600 \text{ m}^2/\text{g}$) [15] ความทนทานเชิงกลที่ดีเยี่ยม (200-500 MPa) [16] การนำความร้อน ($30\text{-}2600 \text{ W/m}\cdot\text{K}$) และสมบัตินำไฟฟ้าสูง (มากกว่า 667 S/m) รวมถึงพฤติกรรมทางไฟฟ้าเคมีที่ดีเยี่ยม [17] ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวของวัสดุนาโน ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์และคุณสมบัติทางไฟฟ้าของสารประกอบนาโนโลหะสาม AuPt-Ru ที่ยึดติดบนพื้นผิว RGO (AuPt-Ru/RGO) พบว่า AuPt-Ru/RGO ที่สังเคราะห์ขึ้นมีสมบัตินำไฟฟ้าสูง ช่วยเร่งการถ่ายโอนอิเล็กตรอน ทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้นและแสดงสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ดี อีกทั้งยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อ AFB1 มากยิ่งขึ้นด้วยการจับกับแอนติบอดีที่มีการดัดแปลงด้วยหมู่ไทออล (Thiol-terminated modified aptamer: 5'-thiol- GTT GGG CAC GTG TTG TCT CTC TGT GTC TCG TGC CCT TCG CTA GGC CCA CA -3'; Apt) [18-19] ผ่านพันธะไทออลระหว่างแอนติบอดีและวัสดุเชิงประกอบ AuPt-Ru/RGO

ในงานวิจัยนี้ยังมีการใช้ทองคำเปลว 24 กะรัต มาสร้างเป็นขั้วไฟฟ้าแบบใช้แล้วทิ้ง (Goldleaf electrode: GLE) เพื่อทดแทนขั้วไฟฟ้าที่มีการจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เช่น แท่งทองคำหรือแพลทินัมที่มีราคาสูง ทองคำเปลวที่นำมาใช้นั้นมีความบางและเกิดการฉีกขาดได้ง่าย แต่ด้วยข้อดีของทองคำเปลวที่มีสมบัติการนำไฟฟ้าได้ดีและทนทานต่อสารเคมี [20] การใช้เทปพอลิอิมิดมาเป็นฐานรองในการผลิต GLE ช่วยเสริมความแข็งแรงและความทนทานต่อการฉีกขาด รวมถึงมีการใช้งานแผ่นทองคำเปลวเพื่อช่วยเพิ่มชุดสัมผัสทางไฟฟ้าให้กับ GLE โดยขั้วไฟฟ้า GLE ที่สร้างขึ้นมีขนาดอยู่ที่ 1.0×2.5 มิลลิเมตร และบริเวณจุดทำปฏิกิริยา (Planar-disc) มีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 0.5 มิลลิเมตร และทำการปรับปรุงพื้นผิวด้วย AuPt-Ru/RGO สำหรับการตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมีของ AFB1 ($\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$) สามารถตรวจวัดตัวอย่างได้ที่ปริมาตรเพียง 15 ไมโครลิตร อีกทั้งการใช้แผ่นทองคำเปลวเป็นขั้วไฟฟ้าที่มีราคาถูกยังเน้นให้เห็นถึงศักยภาพในการสร้างเซ็นเซอร์ที่มีต้นทุนต่ำ ใช้ปริมาณสารตรวจวัดในปริมาณที่น้อย จึงเหมาะสำหรับการใช้งานแบบใช้แล้วทิ้งได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อสร้างและพัฒนาขั้วไฟฟ้าทองคำเปลวในการตรวจวัดสารก่อมะเร็ง AFB1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เพื่อสังเคราะห์ วิเคราะห์และศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้วัสดุนาโนโลหะร่วมกับรีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ร่วมกับแอปตาเมอร์เพื่อเพิ่มความเฉพาะเจาะจง ปรับปรุงพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้นจากทองคำเปลว ในการตรวจวัดสารก่อมะเร็งอะฟลาท็อกซิน ปี 1
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพ และประเมินความสามารถในการตรวจวัดอะฟลาท็อกซิน ปี 1 จาก $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น พริกแห้ง กระเทียม ถั่วลิสง พริกไทย และข้าวหอมมะลิไทย
4. เพื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจวัดมาตรฐานอื่นๆ เช่น HPLC-FLD

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนคอมโพสิต $AuPt-Ru/RGO$ และตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี
 - 1.1 วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม $AuPt-Ru$ ภายใต้การใช้ Polyvinylpyrrolidone (PVP) เป็นสารรักษาเสถียรภาพและ Ascorbic acid (AA) เป็นสารรีดิวซ์ สังเคราะห์ผ่านวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่อัลตราโซนิกซ์ในการช่วยทำปฏิกิริยา
 - 1.2 รีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ (RGO) ที่ได้จากการรีดักชันทางเคมีของกราฟีนออกไซด์ (GO) ด้วยไฮดราซีน
 - 1.3 อนุภาคนาโนคอมโพสิต $AuPt-Ru/RGO$ ผ่านวิธีการให้คลื่นความถี่สูงอัลตราโซนิก
2. ศึกษาวิธีการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ สำหรับการตรวจวัด AFB1 และตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางไฟฟ้า
 - 2.1 การสร้างขั้วไฟฟ้าจากทองคำเปลว (GLE) โดยวิธี Planar lamination ภายใต้การใช้เทปแคปทอนและเทปทองแดงนำไฟฟ้าเป็นพื้นผิวเสริมความแข็งแรง
 - 2.2 การปรับปรุงพื้นผิว GLE ด้วยวัสดุผสมนาโนคอมโพสิต $AuPt-Ru/RGO$ ให้มีความจำเพาะเจาะจงด้วยการใช้แอปตาเมอร์
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ AFB1 เช่น เวลาการตรวจวัด pH และ ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์
4. ประเมินประสิทธิภาพแอปตาเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้นในการตรวจวัด AFB1 ทั้งจากตัวอย่างที่จำลองขึ้นในห้องปฏิบัติการ และตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร
5. เปรียบเทียบประสิทธิภาพแอปตาเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้นในการวิเคราะห์หาความเข้มข้น AFB1 กับเครื่องมือมาตรฐานอื่น เช่น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography, HPLC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ต้นแบบผลิตภัณฑ์ (Prototype) ระดับภาคสนาม แอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ สำหรับการตรวจวัด AFB1
2. สามารถนำต้นแบบประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หา AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น พริกแห้ง กระเทียม ถั่วลิสง พริกไทย และข้าวหอมมะลิไทย



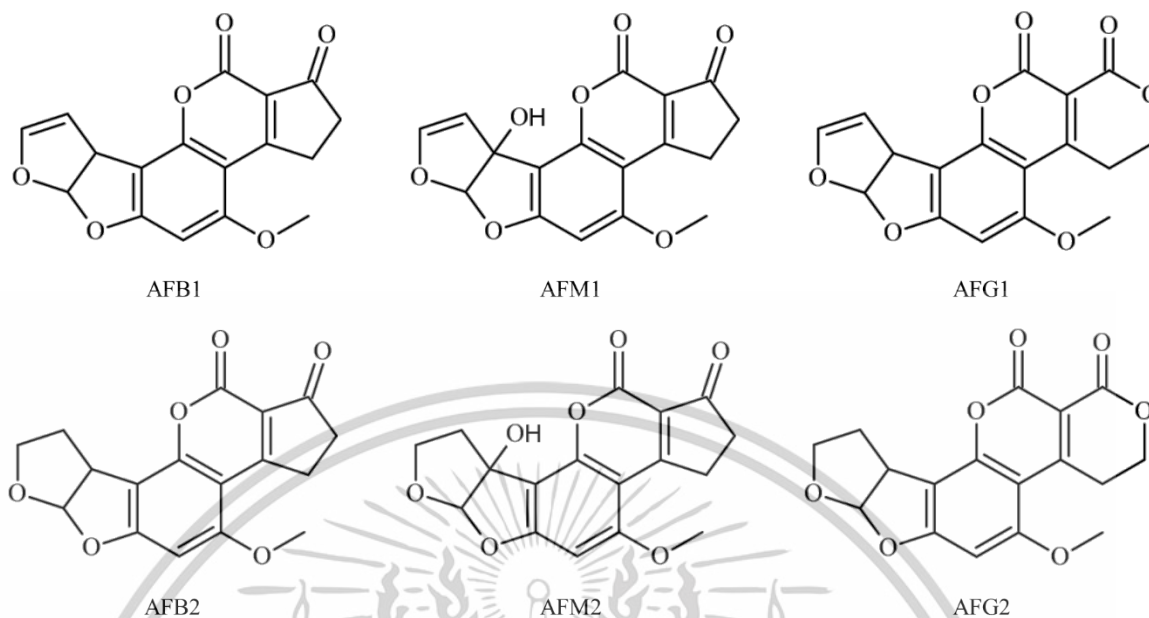
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อะฟลาท็อกซิน (Aflatoxins; AFs)

ในช่วงทศวรรษที่ 1960 ในประเทศอังกฤษได้เกิดเหตุการณ์การเสียชีวิตของไก่วงจำนวนมาก การเสียชีวิตดังกล่าวเกิดจากโรคปริศนาที่เรียกว่า "X disease" จากการตรวจสอบและศึกษาถึงสาเหตุพบว่า ไก่วงที่เสียชีวิตเกิดจากการบริโภคอาหารปนจากถั่วราซิลที่ปนเปื้อนเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยสารที่พบในถั่วราซิลปนเปื้อนเชื้อราคือสารประกอบอะฟลาท็อกซิน (Aflatoxins; AFs) AFs นั้นเป็นสารพิษที่ส่งผลกระทบต่อการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ในธรรมชาติ AFs สามารถแบ่งเป็นหลายชนิดที่สำคัญ (โครงสร้างของ AFs ดังแสดงรูปที่ 2.1) ได้แก่ AFB1, AFB2, AFG1, และ AFG2 ซึ่งที่มาของชื่อแต่ละชนิดนั้นแบ่งตามคุณสมบัติการเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ต่างกัน โดยสารในกลุ่ม AFBs (AFB1 และ AFB2) แสดงถึงความสามารถในการเรืองแสงสีฟ้า (Blue) และในกลุ่ม AFGs (AFG1 และ AFG2) สามารถเรืองแสงสีเขียว (Green) อีกทั้งยังสามารถพบสารก่อมะเร็งในกลุ่ม AFMs (AFM1 และ AFM2) ที่รู้จักกันในชื่อ Milk-AFs ที่เกิดจากการเผาผลาญ AFB1 และ AFB2 ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ได้รับอาหารที่มีการปนเปื้อน ดังนั้น จึงมักพบ AFM1 และ AFM2 ในน้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์ที่มาจากนม เช่น นมผง นมข้นหวาน เนย ชีส และโยเกิร์ต เป็นต้น [21, 22] โดยสารเหล่านี้มีความเป็นพิษสูง รวมถึงสามารถมีฤทธิ์ก่อให้เกิดมะเร็ง ก่อการกลายพันธุ์และเกิดการกดภูมิคุ้มกันอีกด้วย ซึ่งหากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรมีการปนเปื้อน AFs ย่อมส่งผลเสียต่อมนุษย์ในหลายด้าน อาทิ ทางสุขภาพ ทางสังคม เศรษฐกิจ และการเมือง [23] ตามรายงานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) พบว่ามีการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา (*Aspergillus flavus*) ในอาหารสูงถึง 25% ทั่วโลก [24] ซึ่งอาหารที่มักปนเปื้อนได้ง่าย ได้แก่ ถั่วพีช ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวเจ้า ถั่วลิสง และเครื่องเทศต่าง ๆ



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของ AFs ชนิดต่างๆ

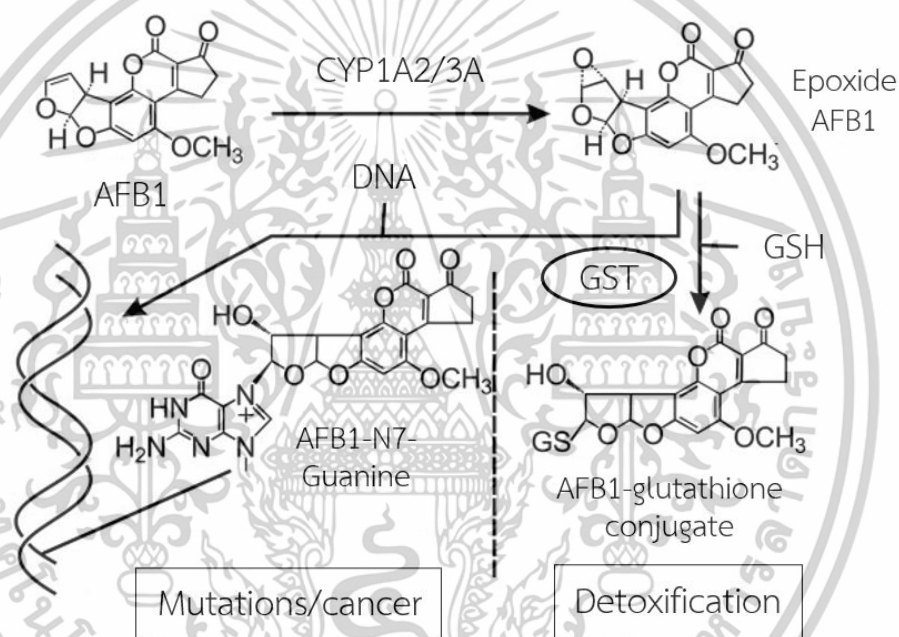
2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของ AFB1

AFB1 มีลักษณะเฉพาะทางโครงสร้างโมเลกุล ซึ่งเกิดจากการเชื่อมต่อของวงแหวนไซโคลเพนโทน เข้ากับวงแหวนแลคโตนในโครงสร้างคูมารินและยังสามารถเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร ทำให้สามารถตรวจสอบได้ด้วยเทคนิคการติดตามการเรืองแสงของสาร โดย AFB1 มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อย แต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว นอกจากนี้ ยังมีความคงตัวต่อความร้อนสูง แม้ในอุณหภูมิที่มากกว่า 100°C จึงไม่สามารถถูกทำลายด้วยความร้อนในกระบวนการผลิตอาหาร คุณสมบัติทางเคมีอื่นๆ ของ AFB1 ได้แก่ เกิดการสลายตัวได้ง่ายภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตหรือในสภาวะ pH ที่รุนแรง (ต่ำกว่า 3 หรือสูงกว่า 10) และมีความไวในการเกิดปฏิกิริยากับแอมโมเนียหรือไฮโปคลอไรต์ [25]

AFB1 ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสารก่อมะเร็งประเภท 1 เนื่องจากมีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดมะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma: HCC) โดยเป็นที่รู้จักว่า AFB1 มีพิษต่อตับ ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์ตับและนำไปสู่การเกิดเนื้อร้าย รวมถึงการเพิ่มการอักเสบของเซลล์ตับในสัตว์หลายชนิด [26] กลไกการก่อมะเร็งของ AFB1 แสดงดังรูปที่ 2.2 เริ่มแรกเมื่อได้รับ AFB1 เข้าสู่ร่างกาย สารดังกล่าวจะผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมระยะที่ 1 ผ่านเอนไซม์ตระกูลไซโตโครม CYP1A2/3A ซึ่งจะเปลี่ยน AFB1 เป็นสารเมแทบอลิซึมที่มีความเป็นพิษสูงคือ AFB1-exo-8,9-epoxide หรือ Epoxide AFB1 โดยสารนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถทำปฏิกิริยากับ DNA ได้ โดยเฉพาะที่ตำแหน่ง guanine และก่อให้เกิดการขัดขวางการสร้างสาย DNA ในรูปแบบ AFB1-N7-guanine ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ในเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่นำไปสู่การเกิดมะเร็ง ในส่วนของการขจัดพิษ ร่างกายมีกลไกการทำลายพิษของ AFB1-exo-8,9-epoxide ผ่านเอนไซม์ในกระบวนการเมแทบอลิซึมระยะที่ 2 ซึ่งเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (GST) จะทำหน้าที่จับกับสารเมแทบอลิซึมของ AFB1 ด้วยกลูตาไธโอน (GSH) เพื่อให้สารนี้เสถียรและสามารถขับออกจากร่างกายได้ กระบวนการนี้เป็นวิธีหลักในการป้องกันความเป็นพิษของ AFB1 อย่างไรก็ตาม การเกิดกลไกเมแทบอลิซึมที่ไม่สมบูรณ์อาจนำไปสู่การสะสมของ AFB1-exo-8,9-epoxide ทำให้ AFB1 เป็นสารพิษที่อันตรายที่สุดในบรรดาสารพิษ AFs อื่นๆ [27]



รูปที่ 2.2 กลไกการก่อมะเร็งของ AFB1 ในเซลล์ตับ [27]

2.1.2 ข้อกำหนดขีดจำกัดของ AFB1

ประเทศไทยมีกฎหมายควบคุมปริมาณ AFB1 ในอาหาร โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ได้กำหนดให้ปริมาณ AFB1 ที่พบในอาหารมีได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับอาหารประเภท ธัญพืช ถั่ว และอาหารแปรรูป เมื่อเปรียบเทียบกับกฎหมายในต่างประเทศ สหภาพยุโรปมีมาตรฐานที่เข้มงวดที่สุด โดยกำหนดให้ปริมาณ AFB1 มีได้ไม่เกิน 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมในอาหารสำหรับการบริโภคของมนุษย์ และกำหนดปริมาณ AFs รวมไม่เกิน 4 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ขณะที่สหรัฐอเมริกา กำหนดขีดจำกัด AFB1 ไว้ที่ 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสอดคล้องกับมาตรฐานของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศไทย ข้อกำหนดเหล่านี้สะท้อนให้เห็นถึงความพยายามระดับสากลในการลดความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อน AFB1 ในหลายประเทศทั่วโลก ได้มีกฎระเบียบควบคุมเกี่ยวกับปริมาณ AFB1 ในอาหาร ซึ่งรวมถึงระดับสูงสุดที่อนุญาตสำหรับอาหารบางประเภท โดยขีดจำกัดความปลอดภัยอยู่ในช่วง 4–35 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ดังตาราง 2.1 แสดงข้อจำกัดของ AFs ในบางประเทศทั่วโลก

ตารางที่ 2.1 ปริมาณขีดจำกัดของ AFB1 ตามกฎหมายของแต่ละประเทศ

Country	Type of AFs	Maximum limit ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Type of foods	Ref.
USA	Total	20	Corn, peanuts, cottonseed, etc.	[28]
Europe	B1, Total	2, 4	Cereals, dried fruits, nuts, milk, etc.	[29]
China	B1	20	Maize, peanut, etc.	[30]
Hong Kong	Total	20	Peanut, etc.	[30]
India	Total	30	Cereals, nuts, dairy products, etc.	[30]
Indonesia	B1, total	20, 35	Cereals, nuts, milk, etc.	[30]
Japan	Total	10	Grains, nuts, milk, etc.	[30]
South Korea	B1	10	Grains, cereals, dried fruits, etc.	[30]
Malaysia	Total	35	Grains, nuts, spices, etc.	[30]
Philippine	Total	20	Grains, nuts, etc.	[30]
Singapore	Total	5	Cereals, nuts, etc.	[30]
Sri Lanka	Total	30	Grains, nuts, dairy products, etc.	[30]
Taiwan	Total	10-15	Cereals, nuts, spices, etc.	[30]
Thailand	Total	20	Grains, nuts, and milk, etc.	[30]
Vietnam	Total	10	Cereals, nuts, and milk, etc.	[30]

หมายเหตุ: Total = AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1 และ AFM2

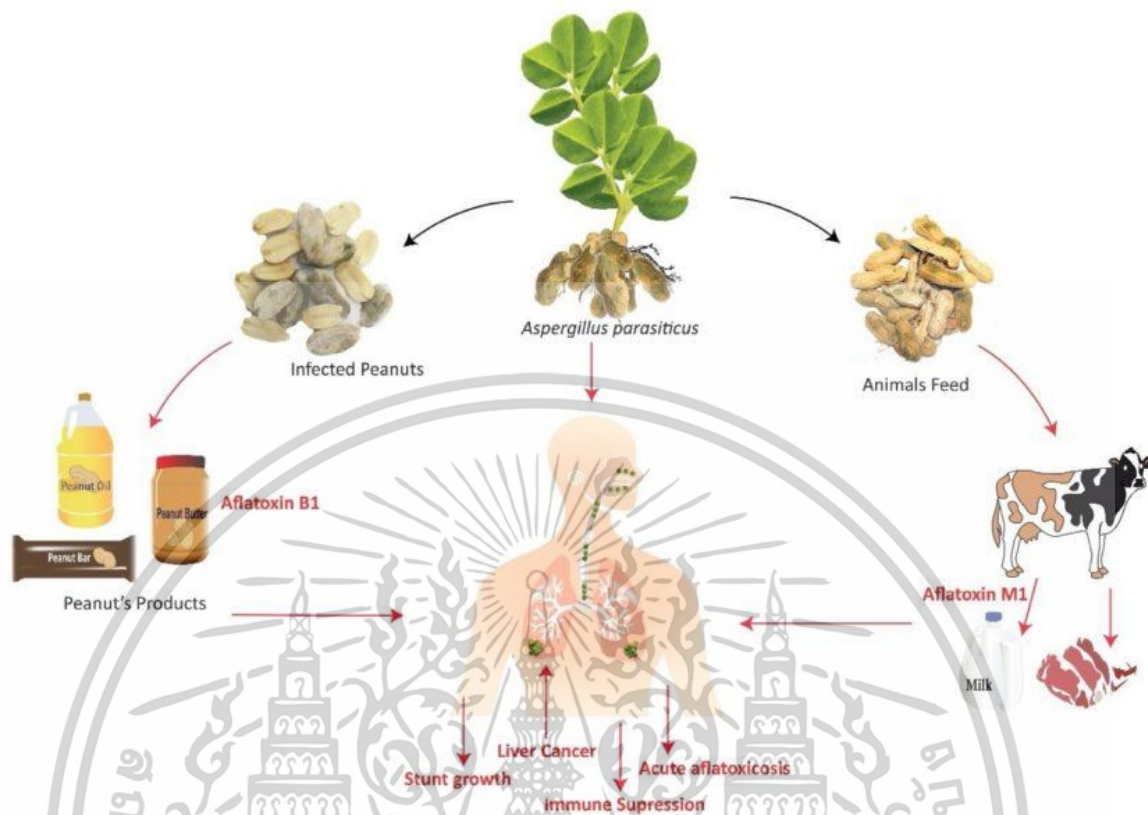
2.1.3 การปนเปื้อนของ AFB1 ในอาหาร

ปัจจัยทางกายภาพที่ส่งผลต่อการเกิดเชื้อราและการปนเปื้อน AFs ในอาหาร ประกอบด้วย pH แสง ความชื้น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และแก๊สในบรรยากาศ โดยค่า pH 3–7 เป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการผลิต AFs ของเชื้อรา โดยในช่วง pH 5 จะส่งเสริมการผลิตอะฟลาท็อกซินกลุ่มบี (AFBs) ในขณะที่ค่า pH สูงขึ้น (pH 7) จะส่งเสริมการผลิตอะฟลาท็อกซินกลุ่มจี (AFGs) การเจริญเติบโตของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ราและการผลิต AFs ยังได้รับอิทธิพลจากแสง โดย AFs จะถูกผลิตได้ดีในที่มืดและลดลงในสถานะที่มีแสงแดด นอกจากนี้ สถานะที่มีความชื้นสูงจะส่งเสริมการปนเปื้อนของ AFs เพราะสถานะที่ชื้นนั้นเอื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 85% เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิต AFs และที่ความชื้นสัมพัทธ์ 95% จะมีการผลิตสารก่อมะเร็งที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เชื้อรา *Aspergillus flavus* สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง ตั้งแต่ 12°C ถึง 48°C ส่วนการผลิต AFs อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดอยู่ระหว่าง 25-35°C โดยปกติที่อุณหภูมิสูง อัตราส่วนการผลิต AFBs จะมากกว่า AFGs แต่ที่อุณหภูมิต่ำ การผลิต AFBs และ AFGs จะมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ ระดับของแก๊สออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศยังมีผลต่อการผลิตสารก่อมะเร็งดังกล่าว โดยการผลิต AFs และการเจริญเติบโตของเชื้อราจะถูกยับยั้งเมื่ออยู่ในสถานะที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สูงและออกซิเจนต่ำ [31]

กลไกการสร้าง AFs โดยเชื้อรา *A. flavus* และ *A. parasiticus* เป็นกระบวนการซับซ้อนที่เกี่ยวข้องกับการเมแทบอลิซึมระดับทุติยภูมิ ซึ่งถูกควบคุมโดยยีนหลายกลุ่ม โดยเฉพาะ aflR และ aflS ที่ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ AFs ซึ่งเริ่มต้นจากการสังเคราะห์ polyketide ผ่านการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการ Polyketide synthase (PKS) ที่เป็นจุดเริ่มต้นของการสร้างสารตั้งต้นที่นำไปสู่การสร้าง AFB1, AFB2, AFG1 และ AFG2 กระบวนการเหล่านี้ประกอบด้วยการออกซิเดชัน การรีดักชันและการเพิ่มหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เพื่อปรับเปลี่ยนโครงสร้างให้ได้สาร AFs ที่มีความเป็นพิษสูง [32-33] ต่อมาเมื่อวัฏหรือสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ได้บริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน AFB1 สารนี้จะถูกเผาผลาญผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึม เป็น AFM1 โดยการเพิ่มหมู่ไฮดรอกซิลเข้าไปในโครงสร้างโมเลกุล การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และจะถูกขับออกมาทางน้ำนม [34] โดยวงจรการปนเปื้อนของ AFB1 และการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนแสดงดังรูปที่ 2.3 แผนภาพแหล่งที่มาของการได้รับ AFB1 ในสัตว์และมนุษย์ ซึ่งมนุษย์สามารถได้รับ AFs ได้ทั้งทางตรงและทางอ้อมจากทั้งการกินผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีการปนเปื้อนโดยตรงหรือแม้กระทั่งการได้รับสารปนเปื้อนจากอาหารที่มีการแปรรูปแล้วนั่นเอง



รูปที่ 2.3 แผนภาพแหล่งที่มาของการได้รับ AFB1 ของสัตว์และมนุษย์ [34]

2.2 การตรวจวัด AFB1

ในปัจจุบัน วิธีการตรวจวิเคราะห์สารก่อมะเร็ง AFB1 ส่วนใหญ่นิยมใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์, การแยกของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับการตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ (HPLC-FLD) และการแยกของเหลวร่วมกับแมสสเปกโตรเมทรี (LC-MS/MS) แม้ว่าวิธีเหล่านี้จะให้ความไวและความจำเพาะสูง แต่ก็ยังมีข้อเสียที่สำคัญ คือ มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน, ใช้เวลานาน, มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูง และต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจวัดที่มีความจำเพาะมากยิ่งขึ้น เช่น การวิเคราะห์เอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนต์ (ELISA) โดยพัฒนาเป็นชุดทดสอบเชิงพาณิชย์สำหรับการวิเคราะห์ AFB1 โดยมีการนำสารชีวโมเลกุล เช่น แอนติบอดีมาเพิ่มความเฉพาะเจาะจงกับสารที่ต้องการตรวจวัด แต่ ELISA นั้นก็ยังคงมีข้อเสียในเรื่องของขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างหรือการตรวจวัดที่มีความซับซ้อนซึ่งส่งผลต่อผลการตรวจวัดได้เช่นเดียวกัน ดังนั้นการพัฒนาวิธีการหรืออุปกรณ์การตรวจวัดที่ช่วยแก้ไขข้อบกพร่องดังกล่าว จึงเป็นเรื่องสำคัญอย่างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 การวิเคราะห์ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC

M. Namjoo และคณะ [35] ใช้เทคนิค HPLC ในการตรวจวัดปริมาณ AFs ในข้าวสาลีในจังหวัดโกเลสถาน ทางตอนเหนือของประเทศอิหร่าน ในการเตรียมตัวอย่าง เริ่มจากการสกัด AFs จากข้าวสาลีบด 50 กรัม โดยใช้สารละลายเมทานอล 80% และเขย่าเป็นเวลา 30 นาทีที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที จากนั้นกรองสารละลายผ่านกระดาษกรอง จึงนำสารละลาย 20 มิลลิลิตรที่กรองแล้วมาเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (PBS) pH 7.4 ปริมาตร 80 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงที่ 3400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีและกรองด้วยเมมเบรนไนลอนขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร ต่อมาทำให้สารบริสุทธิ์ โดย AFs จะถูกแยกออกจากสารสกัดด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี (Aflaclean, LCTech, Germany) เริ่มจากเทสารสกัด 50 มิลลิลิตรผ่านคอลัมน์ Aflaclean ในอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที AFs จะถูกดูดซับไว้ในคอลัมน์ สารที่ไม่ต้องการจะถูกล้างออกด้วยน้ำกลั่น จากนั้นชะ AFs ในคอลัมน์ด้วยเมทานอล 2 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้นี้ใช้สำหรับตรวจวัด AFs ด้วยเครื่อง HPLC-FLD โดยสภาวะการตรวจวัดใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลาย น้ำ: เมทานอล: อะซิโตนไนโตรล (60: 30: 15 โดยปริมาตร) ตั้งค่าความยาวคลื่นกระตุ้นที่ 360 นาโนเมตร และติดตามการเรืองแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที จากสภาวะนี้ให้ผล R_f อยู่ที่ 8–9 นาที สำหรับ AFG2, 10.5–11.5 นาที สำหรับ AFG1, 13–14 นาทีสำหรับ AFB2 และ 16–17 นาทีสำหรับ AFB1 โดยระยะเวลาการวิเคราะห์ทั้งหมดคือ 25 นาทีต่อ 1 ตัวอย่าง จากผลการตรวจวัดตัวอย่างจำนวน 34 ตัวอย่าง พบว่า 10 ตัวอย่าง (คิดเป็น 29.4%) มีการปนเปื้อน AFs โดยอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ตามกฎหมายประเทศอิหร่าน (AFs ไม่เกิน 15 นาโนกรัมต่อกรัม) แต่ใน 1 ตัวอย่าง (คิดเป็น 2.9%) ตรวจพบ AFB1 มีปริมาณ 7.08 นาโนกรัมต่อกรัมซึ่งเกินกว่าที่กฎหมายกำหนดไว้ที่ 4 นาโนกรัมต่อกรัม โดยแบ่งเป็นปริมาณ AFB1 ที่ 6.91 นาโนกรัมต่อกรัม AFB2 ที่ 0.29 นาโนกรัมต่อกรัม AFG1 ที่ 1.37 นาโนกรัมต่อกรัม และ AFG2 ที่ 0.23 นาโนกรัมต่อกรัม

T.D. Nguyen และคณะ [36] ได้ตรวจวัด AFB1 ด้วย HPLC-FLD และทำการติดฉลากอนุพันธ์เพื่อให้ได้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ละเอียดมากขึ้น การเตรียมตัวอย่างเริ่มจากการสกัดตัวอย่างจำนวน 5,000 กรัม โดยถั่วลิสงจะสกัดด้วยอะซิโตนไนโตรล 60% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และตัวอย่างลูกเกดจะสกัดด้วยเมทานอล 80% ภายใต้การให้คลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองขนาด 110 มิลลิเมตร จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างถั่วลิสง และสารละลายบัฟเฟอร์ PBS 20 มิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างลูกเกด จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง Vortex เป็นเวลา 1 นาที และนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที หลังจากทำการแยกสารเสร็จสิ้น นำสารละลายที่ได้จำนวน 20 มิลลิลิตร มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ IAC

(Immunoaffinity Column) เพื่อกำจัดสิ่งเจือปนออก จากนั้นชะ AFB1 ออกจากคอลัมน์ด้วยเมทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และทำให้แห้งภายใต้แก๊สไนโตรเจน ต่อมาขั้นตอนการติดอนุพันธ์ AFB1 จะถูก ออกซิไดซ์ด้วยสารละลายผสมอะซิโตนไนโตรล 60% กับ กรดฟอร์มิก 0.2% ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากันด้วย vortex และกรองสารละลายผ่านแผ่นกรอง PTFE ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ก่อนนำตัวอย่างเข้าสู่ระบบ HPLC-FLD เพื่อทำการวิเคราะห์ โดยสภาวะการตรวจวัดใช้ เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายอะซิโตนไนโตรล: เมทานอล: น้ำกลั่น อัตราส่วนปริมาตร 46: 38: 16 อัตราการ ไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง และปริมาตรการฉีด 20 มิลลิลิตร ตั้งค่าความยาวคลื่นกระตุ้นที่ 360 นาโนเมตร และติดตามการเรืองแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร ทำการตรวจวัดตัวอย่างที่ความ เข้มข้นในช่วง 0.2 – 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยให้ค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 0.9999 และให้ค่า R_f อยู่ ที่ 7.41 นาที ผลการตรวจวัดขีดจำกัดต่ำสุดของ AFB1 (LODs) อยู่ที่ 0.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ถึงแม้ว่า เทคนิคนี้จะมีความไวในการวิเคราะห์สูง แต่วิธีการเตรียมตัวอย่างมีความซับซ้อนและใช้เวลานาน ใน ปัจจุบันมีการพัฒนาการตรวจวัดที่มีความละเอียดมากขึ้นและยังช่วยลดระยะเวลา รวมถึงลดต้นทุน สำหรับการตรวจวัด AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

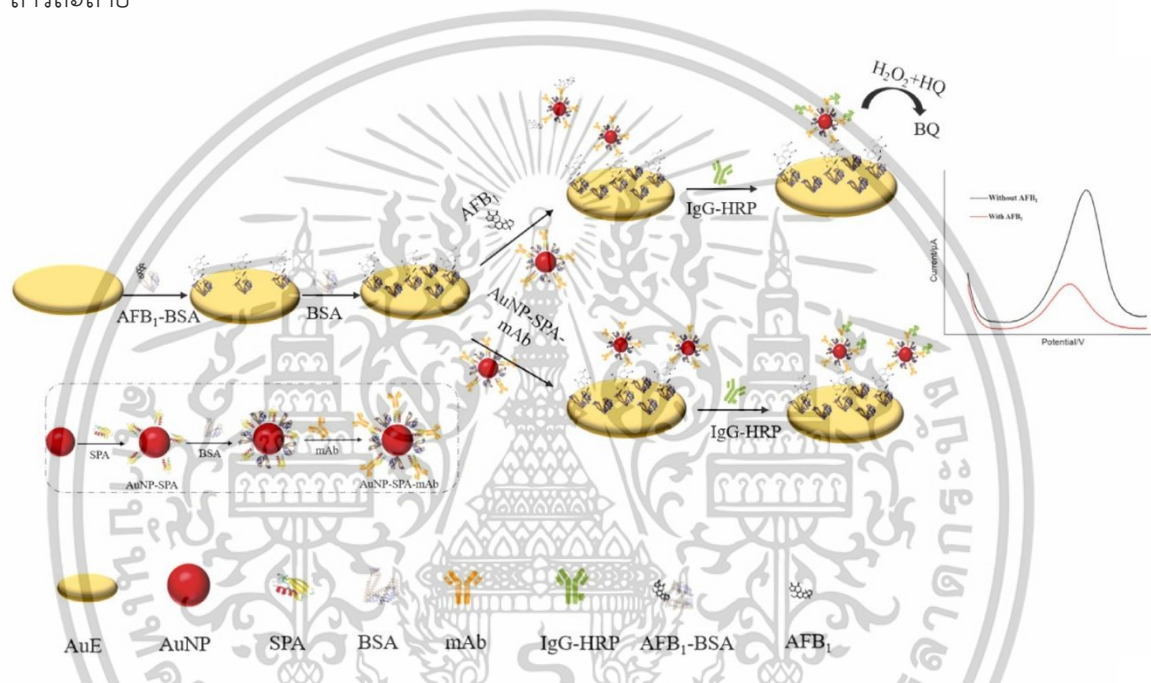
2.2.2 การตรวจวัดเชิงไฟฟ้าเคมีสำหรับ AFB1

เซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี (Electrochemical sensors) ทำงานโดยอาศัยเอนไซม์หรือวัสดุที่กระตุ้น ปฏิกิริยาเคมีซึ่งมีการจ่ายหรือรับอิเล็กตรอน โครงสร้างของเซ็นเซอร์ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าสามขั้ว ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ขั้วไฟฟ้าใช้งาน และขั้วไฟฟ้าช่วย โดยสารที่ต้องการวิเคราะห์จะมีส่วนร่วมในการ เกิดปฏิกิริยาบนผิวของขั้วไฟฟ้าที่ใช้งาน และไอออนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยานี้จะสร้างศักย์ไฟฟ้าในขั้วไฟฟ้า ทำให้เกิดสัญญาณไฟฟ้าที่สามารถวัดได้ การตรวจวัดด้วยเทคนิคไฟฟ้าเคมีมีข้อดี คือ ราคาถูก สัญญาณ รบกวนต่ำ ให้การตรวจวัดที่ละเอียดและรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อจำกัดเกี่ยวกับสมบัติการนำ ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า ดังนั้นจึงมีการพัฒนานำวัสดุนาโนคอมโพสิตมาใช้งานเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิว สมบัติการนำ ไฟฟ้าภายในโครงสร้าง รวมถึงสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งสมบัติดังกล่าวสามารถใช้เพิ่มสัญญาณการ ตรวจวัดให้มีความชัดเจน ถูกต้องมากยิ่งขึ้นได้ และยังสามารถใช้ร่วมกับสารชีวโมเลกุลที่ช่วยให้การตรวจวัดมี ความจำเพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น

L. Xu และคณะ [37] ได้สร้างไบโอเซ็นเซอร์สำหรับการวิเคราะห์ AFB1 ในน้ำมันรำข้าว โดย อาศัยการเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนด้วยอนุภาคนาโน AuNPs ที่มีการปรับแต่ง พื้นผิวด้วย Streptococcal protein A และ Antibody AFB1/IgG-HRP (AuNPs-SPA-mAb/IgG-HRP) ในสถานะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังรูปที่ 2.4 แสดงขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี เริ่มจาก การปรับปรุงพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าทอง (AuE) ด้วย AFB1-BSA ที่ทำหน้าที่เป็นแอนติเจนบนพื้นผิว (AFB1-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BSA/AuE) และทำการป้องกันผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการเคลือบ BSA (BSA/AFB₁-BSA/AuE) ในบริเวณที่พื้นผิวยังว่างเปล่า ต่อมาในการตรวจวัด AFB₁ โพรบ AuNPs-SPA-mAb ถูกผสมกับสารละลายที่มี AFB₁ และหยดลงบนหน้าขั้วไฟฟ้า ในกระบวนการนี้ AFB₁ จะจับกับโพรบที่ติดแอนติบอดี ส่งผลให้โพรบไม่สามารถยึดเกาะกับแอนติเจนที่เคลือบอยู่บนผิวขั้วไฟฟ้าได้ จะมีเพียงโพรบที่ไม่ได้ยึดติดกับ AFB₁ เท่านั้นที่จะเกาะติดบนขั้วไฟฟ้า ส่งผลให้สามารถจับกับเอนไซม์ IgG-HRP ได้น้อยลง และทำให้การออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนเกิดขึ้นน้อยลง สุดท้ายสัญญาณไฟฟ้าที่วัดได้จะลดลงเมื่อเทียบกับกรณีที่ไม่มี AFB₁ ในสารละลาย



รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี [37]

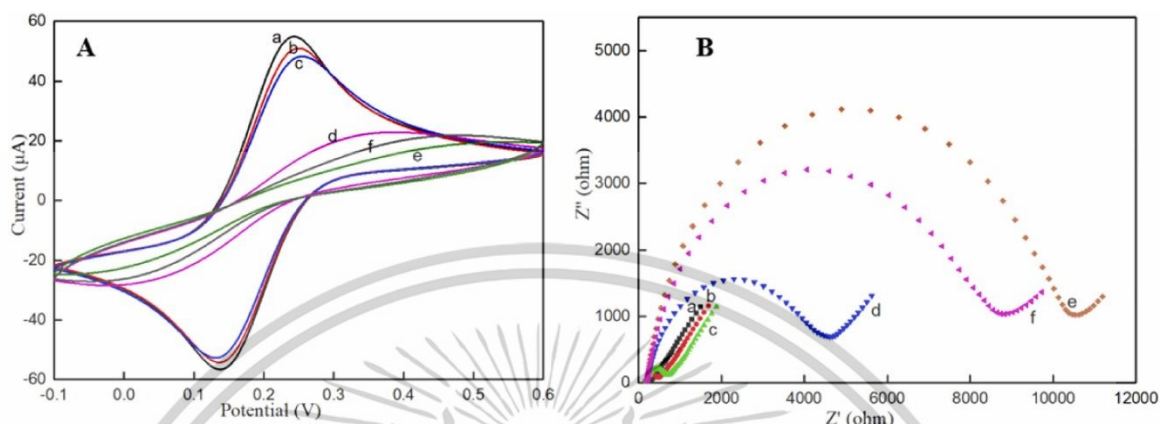
ในการตรวจเอกลักษณ์ทางไฟฟ้าเคมีของไบโอเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้น โดยใช้เทคนิค Cyclic voltammetry (CV) และ Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร K₃[Fe(CN)₆] ใน 0.1 โมลต่อลิตร KCl โดยเทคนิค CV เป็นเทคนิคทางไฟฟ้าเคมีที่ใช้ในการศึกษาปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารประกอบทางเคมี โดยเป็นวิธีที่ใช้การเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าแบบวนซ้ำไปมาระหว่างขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) และขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode) ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ในกระบวนการวิเคราะห์ CV จะมีการสแกนศักย์ไฟฟ้าจากค่าต่ำไปสูง จากนั้นจึงสแกนกลับมายังค่าต่ำอีกครั้งในลักษณะเป็นวงรอบ (Cyclic) กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจะถูกบันทึกเพื่อตรวจสอบการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างสารละลายรีดอกซ์กับขั้วไฟฟ้าในระบบนั้น ข้อมูลที่ได้จาก CV สามารถบ่งบอกถึงสมบัติของปฏิกิริยารีดอกซ์ของสาร รวมถึงอัตราการเกิดปฏิกิริยาและความคงตัวของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบที่ศึกษา ดังนั้นเมื่ออิเล็กโทรดมีการปรับปรุงพื้นผิวพหุติกรรมทางไฟฟ้าจึงเปลี่ยนไปและสามารถศึกษาได้ดังแสดงในรูปที่ 2.5A กราฟ a แสดงพหุติกรรมของ AuE ที่ยังไม่ถูกปรับปรุงพื้นผิว พบกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ค่ากระแสไฟฟ้ากับค่าศักย์ไฟฟ้า โดยพบค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่เป็นบวก (Anodic peak) ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อมีการออกซิเดชันของสารในสารละลายและค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่เป็นลบ (Cathodic peak) เกิดขึ้นเมื่อสารที่ถูกออกซิไดซ์ถูกรีดิวซ์กลับมาเป็นสภาพเดิมและยังพบอีกว่าพีคแอโนดิกและแคโทดิกมีความสมมาตรกัน บ่งบอกถึงปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นภายในระบบเป็นปฏิกิริยาที่สามารถย้อนกลับได้ (Reversible reaction) แต่หลังจากทำการปรับปรุงพื้นผิว AuE ด้วย Azido-PEG4-NHS Ester (AEPS) สร้างตัวกลางที่ทำหน้าที่เชื่อมแอนติเจน AFB1-BSA เข้ากับ AuE พบว่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดลดลงทั้งพีคแอโนดิกและแคโทดิก (กราฟ b) เนื่องจาก AEPS ที่ปรับแต่งบนพื้นผิว AuE ชัดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอน ต่อมาเมื่อเคลือบด้วย AFB1-BSA ค่ากระแสไฟฟ้าเกิดการลดลง (กราฟ c) เนื่องจาก AFB1-BSA มีโมเลกุลขนาดใหญ่ซึ่งเป็นฉนวนไฟฟ้าชัดเจนขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนมากยิ่งขึ้น จากนั้นกระแสไฟลดลงอย่างชัดเจนเนื่องจาก BSA เข้าจับกับพื้นผิวที่ไม่ได้ทำการปรับแต่ง ทำให้เกิดการปิดกั้นจุดที่สามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่เหลืออยู่ (กราฟ d) และหลังจากที่ AuNP-SPA-mAb ถูกหยดลงบนพื้นผิวของไบโอเซ็นเซอร์ กระแสไฟฟ้าทั้งสองพีคลดลงอย่างต่อเนื่อง (กราฟ e) ซึ่งบ่งบอกว่า AuNP-SPA-mAb จับกับ AFB1-BSA สำเร็จ สุดท้าย เมื่อ IgG-HRP ถูกเติมลงบนพื้นผิวของ AuE กระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นเนื่องจากผลการเร่งปฏิกิริยาการออกซิเดชันไฮโดรควิโนนของเอนไซม์ (กราฟ f) ในส่วนของ EIS เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์กระบวนการถ่ายโอนประจุและการเคลื่อนที่ของไอออนในระบบไฟฟ้าเคมี ซึ่งทำงานโดยการประยุกต์กระแสหรือศักย์เข้ากับความถี่ในช่วงต่างๆ และวัดการตอบสนองของกระแสไฟฟ้าหรือศักย์ไฟฟ้า ซึ่งการตอบสนองนี้จะถูกนำมาแปลงให้อยู่ในรูปของอิมพีแดนซ์ (Impedance) ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างกระแสและศักย์ไฟฟ้า การวิเคราะห์ค่าที่ได้จาก EIS สามารถบอกถึงกระบวนการต่างๆ เช่น การถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่พื้นผิวขั้วไฟฟ้า ความต้านทานไฟฟ้าของวัสดุและความสามารถในการแพร่กระจายของไอออนในสารละลายหรือชั้นฟิล์มของวัสดุที่เคลือบขั้วไฟฟ้าเพื่อปรับปรุงพื้นผิว ข้อมูลที่ได้จาก EIS ดังรูปที่ 2.5B แสดงกราฟ Nyquist จะเป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอิมพีแดนซ์ส่วนจริง (Real Impedance หรือ Z') กับอิมพีแดนซ์เชิงจินตภาพ (Imaginary Impedance หรือ Z'') โดยทั่วไป Nyquist plot จะมีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม ซึ่งบ่งบอกถึงกระบวนการถ่ายโอนประจุที่พื้นผิวขั้วไฟฟ้า (Charge transfer resistance, R_{ct}) และเส้นตรงที่ต่อจากครึ่งวงกลมเป็นส่วนของการแพร่กระจาย (Diffusion) ซึ่งบ่งบอกถึงการเคลื่อนที่ของไอออนในสารละลายหรือวัสดุ พบว่า AuE ที่ถูกปรับแต่งด้วย AEPS, AFB1-BSA, BSA และ AuNP-SPA-mAb มีขนาดของครึ่งวงกลมที่ค่อนข้างกว้าง สู่ถึงค่าความต้านทานการถ่ายโอนประจุ (R_{ct}) ที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามลำดับ และ R_{ct} ลดลงเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

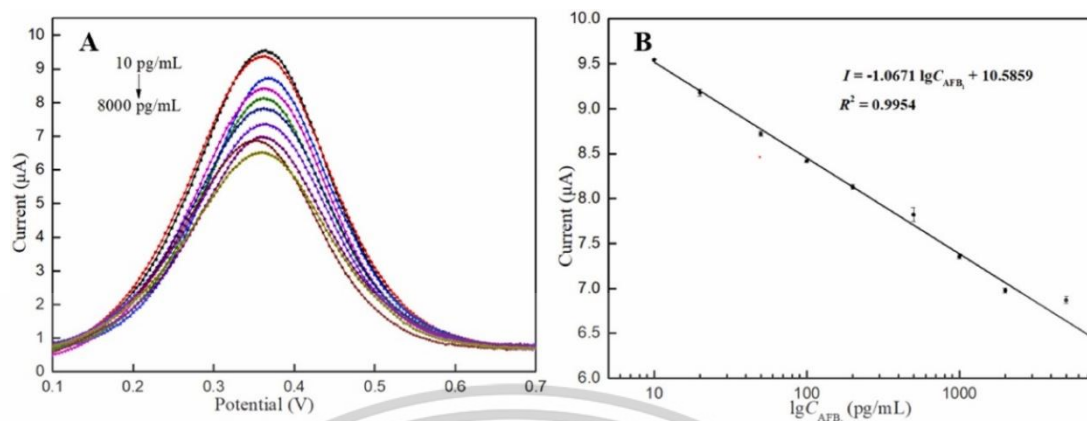
หลักจากการเติม IgG-HRP ซึ่งผลที่ได้จากทั้งสองวิธีนี้สอดคล้องกัน ทำให้ยืนยันได้ว่าประสบความสำเร็จในการผลิตไบโอเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี



รูปที่ 2.5 (A) CV และ (B) EIS ของขั้นตอนการปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้า ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร KCl โดย (a) bare AuE, (b) AEPs/AuE, (c) AFB1-BSA/AEPs/AuE, (d) BSA/AFB1-BSA/AEPs/AuE, (e) AuNP-SPA-mAb/BSA/AFB1-BSA/AEPs/AuE, และ (f) IgG-HRP/AuN [37]

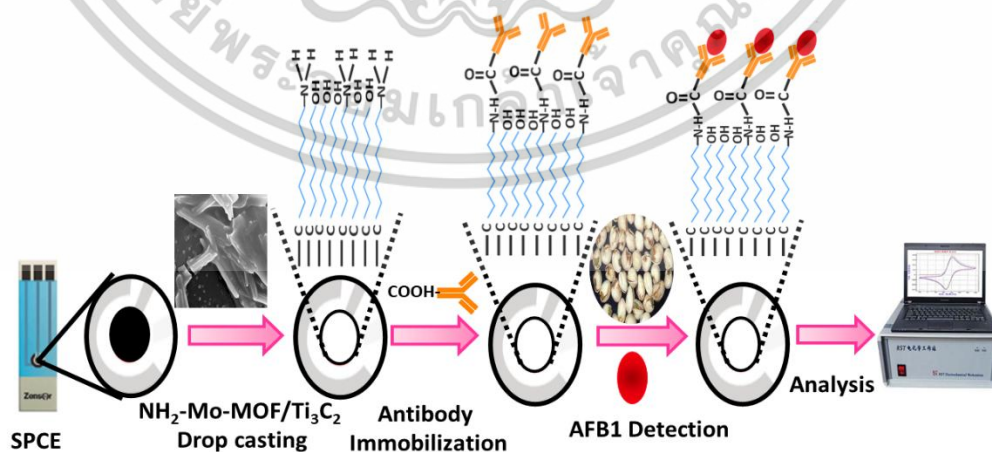
ในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิค Differential Pulse Voltammetry (DPV) ในการตรวจวัด AFB1 ซึ่งเป็นเทคนิคที่พัฒนาจาก CV กระแสที่เกิดขึ้นในขณะที่ศักย์ไฟฟ้าถูกเปลี่ยนแปลงเป็นขั้นๆ (pulse) โดยในแต่ละช่วงจะมีการเพิ่มศักย์ไฟฟ้าขึ้นทีละน้อยและวัดกระแสที่เปลี่ยนแปลงระหว่างจุดเริ่มต้นพัลส์และจุดสิ้นสุด ทำให้สามารถตรวจวัดความต่างของกระแสที่เกิดขึ้นได้ละเอียดและแม่นยำกว่า CV ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด AFB1 ให้ผลดังรูปที่ 2.6A กราฟ DPV แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแส (I) กับศักย์ไฟฟ้า (V) ซึ่งแสดงพีคที่สัมพันธ์กับศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของสาร ทำการตรวจวัด AFB1 ในช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 8000 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าค่ากระแสไฟฟ้าลดลงอย่างต่อเนื่องตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ AFB1 เนื่องมาจากการขัดขวางไม่ให้ IgG-HRP เข้าจับกับโพรบที่ขั้วไฟฟ้าและยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนส่งผลให้เกิดการลดลงของสัญญาณไฟฟ้าเคมี เมื่อนำค่ากระแสไฟฟ้ามาพล็อตกับค่าลอการิทึมของความเข้มข้น AFB1 ในช่วง 10 ถึง 8000 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสมการรีเกรสชันเชิงเส้นคือ $I = -1.0671 \lg C_{AFB1} + 10.5859$ และมีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (R^2) อยู่ที่ 0.9954 และขีดจำกัดต่ำสุดการตรวจวัดอยู่ 2.2 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 2.6B) เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์หีในน้ำมันรำข้าวพบว่า ให้ค่าร้อยละการคืนกลับของสัญญาณอยู่ในช่วง 88.0 ถึง 105.4% ซึ่งบ่งบอกถึงความประสบความสำเร็จในการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมีสำหรับการตรวจวัด AFB1 ในตัวอย่างจริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 (A) DPV ของไบโอเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่พัฒนาขึ้นต่อความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB1 ในช่วง 10 ถึง 8000 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร (B) ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างกระแสไฟและค่าล็อกความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB1 [37]

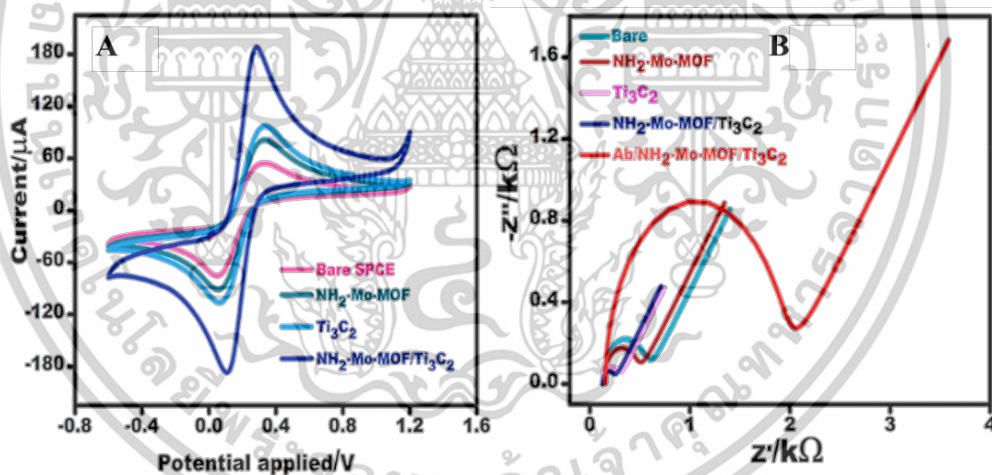
G. Kaur และคณะ [4] ได้ใช้วัสดุนาโนสองมิติผสมโมลิบดีนัม-MOF ($\text{NH}_2\text{-Mo-MOF}$) ร่วมกับ Ti_3C_2 ซึ่งเป็นวัสดุนาโนสองมิติที่มีความแข็งแรง ยืดหยุ่นและพื้นที่ผิวสูง โครงสร้างสองมิติทั้งสองชนิดนี้ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการพัฒนาแพลตฟอร์มการตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมีที่มีความเสถียรและความไวสูงมากขึ้น เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีพื้นที่ผิวสูง นำไฟฟ้าได้ดีและเพิ่มความแข็งแรงในการขึ้นฟิล์ม จากรูปที่ 2.7 แสดงขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี วัสดุผสม $\text{NH}_2\text{-Mo-MOF/Ti}_3\text{C}_2$ ถูกนำมาปรับปรุงพื้นผิวบนอิเล็กโทรดพิมพ์สกรีน (Screen-printed electrode: SPE) โดยการหยดลงบนพื้นผิวอิเล็กโทรดและปล่อยให้แห้งข้ามคืน จากนั้นตรึงแอนติบอดี AFB1 บนผิวอิเล็กโทรดผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสระหว่างหมู่อะมิโนบนวัสดุผสมและหมู่คาร์บอกซิลิกของแอนติบอดี และทำการบล็อกพื้นที่ว่างที่เหลือของอิเล็กโทรดด้วยสารละลาย BSA จากนั้นปริมาณของ AFB1 ในตัวอย่างสามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิค EIS



รูปที่ 2.7 ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์เชิงไฟฟ้าเคมีสำหรับการตรวจวัด AFB1 [4]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการตรวจสอบการปรับปรุงพื้นผิวของอิเล็กโทรด ได้ใช้ CV และ EIS ในการตรวจวัด ภายใต้ 10 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS (pH 7.4) การตรวจวัดด้วย CV ดังรูปที่ 2.8A แสดงให้เห็นว่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของอิเล็กโทรดเปล่าและอิเล็กโทรดที่ถูกรับปรุงด้วย NH_2 -Mo-MOF Ti_3C_2 และ NH_2 -Mo-MOF/ Ti_3C_2 มีค่า 53.9, 81.3, 98.5, และ 126 ไมโครแอมป์ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการปรับปรุงประสิทธิภาพของอิเล็กโทรดที่สามารถช่วยเพิ่มการถ่ายโอนอิเล็กตรอนบนพื้นผิวได้ นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค EIS (รูปที่ 2.8B) พบว่า R_{ct} (ความต้านทานการถ่ายโอนประจุ) ของอิเล็กโทรดเปล่าเท่ากับ 418 โอห์ม และเมื่อปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กโทรดด้วย NH_2 -Mo-MOF/ Ti_3C_2 ค่า R_{ct} ลดลงเหลือ 110 โอห์ม แสดงถึงอิเล็กโทรดที่ได้รับการปรับปรุงพื้นผิวนั้นมีค่าการต้านทานไฟฟ้าที่ลดลงและยังสามารถบ่งชี้ได้ว่าการเพิ่มขึ้นของการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในการแพร่ของคู่สารละลายรีดอกซ์ $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ อีกทั้งเมื่อมีการตรึงแอนติบอดีค่า R_{ct} เพิ่มขึ้นสูงถึง 1.75 กิโลโอห์ม เป็นผลมาจากการการบดบังการถ่ายโอนอิเล็กตรอนของโครงสร้างโปรตีนขนาดใหญ่และการผลกกันของประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลิกในโครงสร้างแอนติบอดีกับประจุลบของคูรีดอกซ์ $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ซึ่งแสดงถึงการเกิดอิมมูโนคอมเพล็กซ์ระหว่างพื้นผิวอิเล็กโทรดกับแอนติบอดี จากผล CV และ EIS บ่งชี้ถึงความสำเร็จในการสร้างไบโอเซ็นเซอร์เชิงไฟฟ้าเคมี Ab/ NH_2 -Mo-MOF/ Ti_3C_2 /SPCE

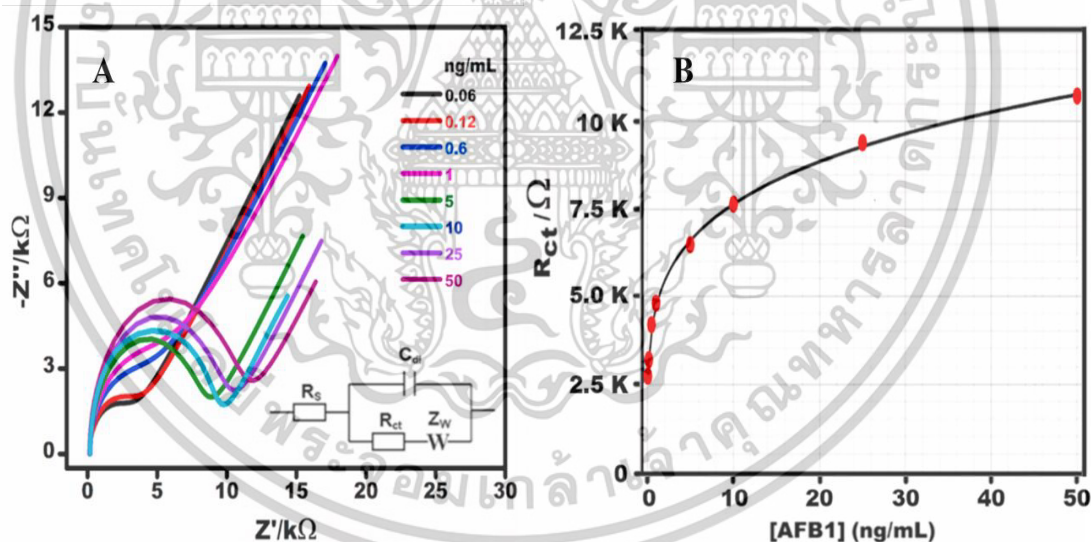


รูปที่ 2.8 (A) CV และ (B) EIS ที่ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ต่างๆ [4]

จากการวิเคราะห์ EIS (รูปที่ 2.9A) พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงกึ่งวงกลมเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ AFB1 ที่เพิ่มขึ้น พฤติกรรมนี้บ่งบอกถึงการขัดขวางกระบวนการถ่ายโอนประจุ เนื่องจากการกีดขวางของอิมมูโนคอมเพล็กซ์ระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีบนพื้นผิวของเซนเซอร์ วงจรสมมูลแบบแรนเดิลส์เป็นหนึ่งในแบบจำลองที่ใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุดในการคำนวณพารามิเตอร์ที่สำคัญจากข้อมูล EIS ซึ่ง Randles model อธิบายกลไกการถ่ายโอนอิเล็กตรอนและการเคลื่อนที่ของไอออนในสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือที่พื้นผิวขั้วไฟฟ้าได้อย่างละเอียด โดยมีองค์ประกอบหลักๆ คือ ความต้านทานของอิเล็กโทรไลต์หรือ R_s ตัวเก็บประจุไฟฟ้าสองชั้นหรือ C_{dl} เกิดขึ้นที่รอยต่อระหว่างผิวอิเล็กโทรดและเมมเบรนแลกเปลี่ยนโปรตอนชั้นประจุเชิงคู่ (Double layer) ซึ่งชั้นประจุเชิงคู่นี้จะเปรียบเสมือนที่เก็บประจุ ความต้านทานการถ่ายโอนประจุหรือ R_{ct} เกิดขึ้นที่พื้นผิวของขั้วอิเล็กโทรดและอิมพีแดนซ์แบบวาทเบิร์กหรือ W เป็นอิมพีแดนซ์ที่เกิดขึ้นที่ความถี่ต่ำแสดงถึงชั้นการแพร่ที่ไม่จำกัดขอบเขต ภายในรูปที่ 2.9A แสดงวงจรสมมูลแบบเร็นเดลล์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้โดยที่ C_{dl} ถูกเชื่อมต่อแบบขนานกับ R_{ct} เพื่อแสดงถึงองค์ประกอบของไบโอเซ็นเซอร์ เช่น โมเลกุลตัวเชื่อม, แอนติบอดี และแอนติเจน C_{dl} เกิดขึ้นที่อินเทอร์เฟซระหว่างอิเล็กโทรดและอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนประจุระหว่างโมเลกุลของแอนติบอดีและสารอิเล็กโทรไลต์ หลังจากการพิตกราฟเข้าที่วงจรนี้เพื่อคำนวณค่า R_{ct} ที่ได้จาก AFB1 ที่ความเข้มข้นต่างๆ สมการเส้นตรงที่ใช้การวิเคราะห์รีเกรสชันแบบสี่พารามิเตอร์ (Four-Parameter Logistic หรือ 4 PL) ดังแสดงในรูปที่ 2.9B พบว่าผลการทดลองมีความสอดคล้องกันดี ($R^2 = 0.9993$) ระหว่างค่า R_{ct} และความเข้มข้นของ AFB1 ในช่วง 0.06–50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) อยู่ที่ 8 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร และตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างถั่วพิสตาชิโอ พบว่ามีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 97.2-111.0 จึงสรุปได้ว่าไบโอเซ็นเซอร์เชิงไฟฟ้าเคมี $NH_2-Mo-MOF/Ti_3C_2/SPCE$ สามารถใช้งานได้จริง



รูปที่ 2.9 (A) EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของไบโอเซ็นเซอร์ $NH_2-Mo-MOF/Ti_3C_2/SPCE$ ต่อ AFB1 ที่ความเข้มข้น ในช่วง 0.06 ถึง 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ (B) สมการเส้นตรงที่ใช้การวิเคราะห์รีเกรสชันแบบสี่พารามิเตอร์ระหว่างค่า R_{ct} และความเข้มข้นของ AFB1 [4]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 การตรวจวัดด้วย ELISA

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) คือเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดสารชีวโมเลกุลต่างๆ โดยใช้แอนติบอดีและเอนไซม์เพื่อสร้างสัญญาณที่สามารถวัดได้ ซึ่งมักใช้ในการตรวจจับโปรตีน แอนติเจน หรือแอนติบอดีในตัวอย่างชีวภาพ เช่น เลือด ซีรัม หรือน้ำลาย

M. Eslami และคณะ [38] ทำการตรวจวัด AFB1 ในตัวอย่างโดยใช้วิธีการแข่งขันทางอิมมูโนเอนไซม์ (competitive enzyme immunoassay) โดยใช้ชุดทดสอบ RIDASCREEN Aflatoxin B1 30/15 (รหัสสินค้า: R1211, R-Biopharm, Darmstadt, Germany) ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ข้าว 5 กรัม ผสมกับสารละลายเมทานอล : น้ำ (70:30 โดยปริมาตร) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเขย่าเป็นเวลา 3 นาที และกรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรอง และเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 สุดท้ายปิเปตสารละลายปริมาตร 50 ไมโครลิตรใส่ในแต่ละหลุมของไมโครไทเทอร์เพลต

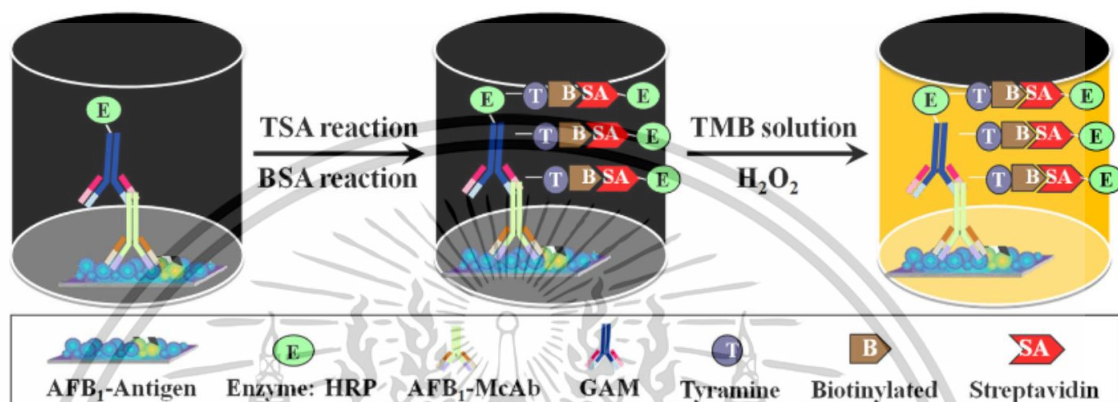
สำหรับขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วย ELISA ทำการเติมสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุมของไมโครไทเทอร์เพลต จากนั้นเติมสารเอนไซม์คอนจูเกต 50 ไมโครลิตร และสารละลายแอนติบอดี AFB1 50 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม ทำการผสมด้วยการเขย่าเบาๆและทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง (20-25°C) หลังจากนั้น ทำการล้างหลุมด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 250 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นเติมสารละลายซับสเตรท/โครโมเจน 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม ผสมและทิ้งไว้ในที่มีเป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง สุดท้ายเติมสารละลายหยุดปฏิกิริยา (1 นอร์มอล H₂SO₄) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรด้วยเครื่องอ่าน ELISA โดยทำการวิเคราะห์ทั้งหมดสองซ้ำ

จากผลการวิเคราะห์ พบว่า AFB1 มีการปนเปื้อนอยู่ตัวอย่างข้าวทั้งหมด โดยมีความเข้มข้นในช่วง 0.29 ถึง 2.92 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อย่างไรก็ตาม มี 25 ตัวอย่างจาก 40 ตัวอย่างที่มีปริมาณ AFB1 เกินค่ามาตรฐานสูงสุดที่กำหนดโดยสหภาพยุโรป คือ 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และไม่มีตัวอย่างใดที่มีปริมาณ AFB1 สูงถึง 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งเป็นขีดจำกัดสูงสุดตามข้อกำหนดของสถาบันมาตรฐานและอุตสาหกรรมแห่งอิหร่าน (ISIRI) สำหรับ AFB1

Y. Zhang และคณะ [39] ได้ใช้เทคนิค Tyramine Signal Amplification (TSA) เพื่อเพิ่มความไวในการตรวจจับ AFB1 ในตัวอย่างน้ำมันประกอบอาหารด้วยวิธี ELISA จากรูปที่ 2.10 แสดงขั้นตอนการเตรียม TSA-ELISA โดยเริ่มจากการเคลือบแอนติเจน AFB1 บนไมโครเพลต (100 ไมโครลิตร/หลุม ในสารละลายบัฟเฟอร์คาร์บอนเนต) ทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นล้างไมโครเพลตด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตที่มี Tween-20 0.05% จำนวน 5 ครั้ง แล้วทำการบล็อกหลุมด้วยโอะวาลบูมิน 1% ใน PBS (200 ไมโครลิตร/หลุม) ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นเติมตัวอย่างหรือสารมาตรฐานของ AFB1 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมพร้อมกับแอนติบอดี (McAb) (50 ไมโครลิตร/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลุม) แล้วทำการบ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ 37°C จากนั้นล้างหลุมและเติมเอนไซม์ GAM-IgG-HRP (100 ไมโครลิตร/หลุม) ลงไปและบ่มอีก 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°C หลังจากนั้น ทำการล้างอีกครั้งและเติมสาร tyramine (T-B solution) (100 ไมโครลิตร/หลุม) ลงไปเพื่อขยายสัญญาณการตรวจวัดและบ่มต่ออีกเป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 37°C และวัดค่าการดูดกลืนแสง

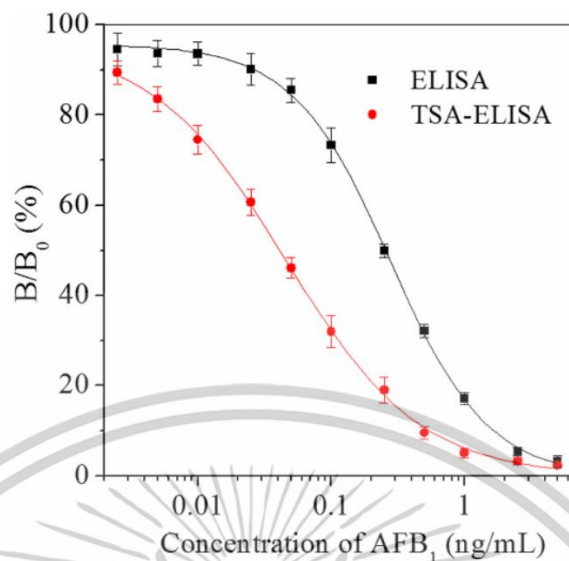


รูปที่ 2.10 ขั้นตอนการเตรียม TSA-ELISA สำหรับ AFB1 [39]

สำหรับการเตรียมตัวอย่างน้ำมันที่ใช้ทดสอบ โดยใช้ไขมัน 5 กรัมทำการเติม AFB1 ที่ความเข้มข้น 1, 2, 5, และ 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลายผสมเมทานอล: PBS 20 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 3: 2 โดยปริมาตร) และเฮกเซน 20 มิลลิลิตร และเขย่าด้วยเครื่องวอร์เท็กซ์เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที หลังจากนั้นทำการกรองสารละลายและเจือจางก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TSA-ELISA

กราฟมาตรฐานของ AFB1 (รูปที่ 2.11) ถูกสร้างขึ้นภายใต้สภาวะการตรวจวัดที่เหมาะสม โดยกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การจับ (%B/B0) และลอการิทึมของความเข้มข้น AFB1 วิธี ELISA แบบปกติสำหรับการตรวจจับ AFB1 แสดงค่า IC50 ที่ 0.245 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร, LOD ที่ 0.044 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และช่วงความเป็นเส้นตรง (IC10-IC90) ที่ 0.044–1.35 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ TSA-ELISA ให้ความละเอียดสูงกว่า โดยมีค่า LOD, IC50 และช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 0.004, 0.039, และ 0.004–0.414 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การทดสอบการคืนกลับในตัวอย่างน้ำมันที่มีการเติม AFB1 ให้ค่าการคืนกลับอยู่ในช่วง 81.4% ถึง 118.8% โดยมีค่า RSD อยู่ระหว่าง 3.8% ถึง 9.0%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 กราฟมาตรฐานเปรียบเทียบการตรวจวัด AFB₁ ด้วยเทคนิค TSA-ELISA และ ELISA [39]

การเปรียบเทียบวิธีการต่างๆในการตรวจวัด AFB₁ เช่น HPLC-FLD, การตรวจวัดเชิงสี, การตรวจวัดการเรืองแสง, ELISA และการตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมี ดังแสดงในตารางที่ 2.2 ซึ่งในตารางดังกล่าวได้รวบรวมวิธีต่างๆ มาเปรียบเทียบในกันในเรื่องของการพัฒนาเทคนิคการตรวจวัด ตัวอย่างที่ศึกษา ช่วงความเข้มข้นของ AFB₁ ในการตรวจวัด ค่าขีดจำกัดต่ำสุดและค่าร้อยละการคืนกลับ จากการรวบรวมพบว่าเทคนิคทางไฟฟ้าเคมีมีความละเอียดในการตรวจวัดสูงที่สุด โดยมีขีดจำกัดการตรวจวัดในระดับพิโคกรัมต่อมิลลิลิตร และให้ค่าร้อยละการคืนกลับที่ดี ดังนั้นเทคนิคการตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมีสำหรับ AFB₁ จึงเป็นที่น่าสนใจในการพัฒนาต่อไป

ตารางที่ 2.2 วิธีการตรวจวัด AFB1 ด้วยเทคนิคต่างๆ

Method	Modification	Sample	Linear range (ng/mL)	LODs (ng/mL)	Recovery (%)	Ref
HPLC-FLD	Sample preparation: matrix solid-phase dispersion (MSPD)	Chili powder, sesame and bean	0.5–10	0.250	88.0–95.0	[40]
Colorimetric	Based on AuNPs	Ten different kinds of miscellaneous beans	0.2–8.0	0.08	87.2–110.2	[41]
Fluorescent	based on AuNPs assisted CuNCs	Cereals and peanuts	0.02–20	0.69	93.4–106.2	[42]
ELIZA	-	Corn, peanuts, pistachio, and soybeans	4.2–99.9	4.20	70.8–121.8	[43]
ELIZA	-	Rice	0.1–10	0.62	94.0–113.0	[44]
Electrochemistry	AuNPs/ZIF-8 modified GCE	Corn oil and peanut oil	1.0×10^{-2} – 1.0×10^2	1.80×10^{-3}	93.5–106.9	[45]
Electrochemistry	Molybdenum disulfide-Au nanobipyramids (MoS ₂ -AuNBPs) modified GCE	Rice and wheat	1.0×10^{-3} – 80.0	5.00×10^{-4}	94.4–106.5	[46]

แม้ ELISA จะเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจวัดสารก่อมะเร็งแต่ก็มีข้อเสียที่ควรพิจารณา ดังนี้

1. ใช้เวลานาน: ELISA มักใช้เวลาหลายชั่วโมง เนื่องจากมีขั้นตอนหลายขั้นตอน เช่น ระยะเวลาการบ่มแอนติเจน, แอนติบอดีหรือสารอื่นๆที่เกี่ยวข้อง จำเป็นต้องการล้างหลายรอบเพื่อลดการปนเปื้อน ทำให้ไม่เหมาะสำหรับการตรวจวัดที่ต้องการผลลัพธ์ในทันที
2. ความซับซ้อนในการเตรียมสารตัวอย่าง: การเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อนและต้องการการควบคุมอย่างเข้มงวดในเรื่องของสภาวะต่างๆ เช่น ค่า pH หรือความเข้มข้นของสารละลาย อาจส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนหากไม่มีการปฏิบัติตามขั้นตอนอย่างถูกต้อง
3. ค่าใช้จ่ายสูง: แม้ว่า ELISA จะเป็นวิธีที่มีความแม่นยำ แต่ค่าใช้จ่ายในการใช้งานก็สูง เนื่องจากต้องใช้แอนติบอดีเฉพาะ แผ่นไมโครเพลต และเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาแพง
4. การรบกวนจากปัจจัยภายนอก: สัญญาณที่เกิดจาก ELISA อาจถูกรบกวนจากปัจจัยภายนอก เช่น สารปนเปื้อนในตัวอย่าง, ค่าแสงที่ไม่เสถียร หรือปฏิกิริยาข้าม (cross-reactivity) ระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีที่คล้ายกัน

ในขณะที่เดียวกันแอปตาเมอร์ (Aptamer, Apt) กลับเป็นที่สนใจมากขึ้นในหลายปีที่ผ่านมา แอปตาเมอร์เป็นสายเดี่ยวของกรดนิวคลีอิก (DNA หรือ RNA) ที่มีจำนวนเบสอยู่ในช่วง 20-90 ลำดับนิวคลีโอไทด์ และมีโครงสร้างสามมิติที่จำเพาะเจาะจง ทำให้สามารถจับกับโมเลกุลเป้าหมายได้ด้วยความแม่นยำสูง จึงถูกนำมาสร้างเป็นแอปตาเซ็นเซอร์ที่มีความสามารถคล้ายกับอิมมูโนเซ็นเซอร์ที่ใช้แอนติบอดี แอปตาเมอร์ได้ถูกใช้มากขึ้นเนื่องมาจากข้อได้เปรียบหลายประการ เช่น

1. ไม่จำเป็นต้องสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์ เนื่องจาก Apt สามารถสังเคราะห์ได้
2. มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่า
3. มีเสถียรภาพทางเคมีและความร้อนที่ดีกว่า
4. มีความสามารถในการผลิตซ้ำได้สูงกว่า
5. ขนาดเล็กลง ทำให้มีความสามารถในการแทรกซึมเนื้อเยื่อและยึดเกาะกับโมเลกุลเป้าหมายได้ดี
6. สามารถปรับโครงสร้างได้
7. มีความเป็นพิษต่ำและก่อให้เกิดการตอบสนองภูมิคุ้มกันน้อย
8. ไม่ไวต่อการเสื่อมสภาพในสภาวะที่มีตัวทำละลายที่ใช้บ่อยในการสกัดสารก่อมะเร็ง

ถึงแม้ว่าจะมีข้อดีมากมาย แต่จำนวน Apt ที่ถูกค้นพบเพื่อใช้ตรวจวัด AFs ยังมีอยู่อย่างจำกัด ในปัจจุบัน มี Apt ที่พัฒนามาสำหรับการตรวจจับ AFB1 ได้แก่

5'- GTT GGG CAC GTG TTG TCT CTC TGT GTC TCG TGC CCT TCG CTA GGC CCA CA -3'

5'- TGG GGT TTT GGT GGC GGG TGG TGT ACG GGC GAG GG -3'

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5'- GAT CGG GTC TGG GTG GCG TAA AGG GAG CAT CGG ACA -3'

5'- GCA CGT GTT GTC TCT CTG TGT CTC GTG C -3' [1]

งานวิจัยในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้พัฒนาเซ็นเซอร์เพื่อการตรวจจับ AFB1 โดยใช้ลำดับ Apt ตามที่กล่าวมาข้างต้น และในหลายงานวิจัยได้ใช้ร่วมกับวัสดุนาโน (เช่น อนุภาคนาโนโลหะ GO RGO หรือ อนุภาคนาโนคอมโพสิต) ในการปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กทรอนิกส์เพื่อเพิ่มความสามารถในการตรวจจับสาร ตัวอย่างที่มีความเฉพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น

2.3 วัสดุนาโน (Nanomaterials)

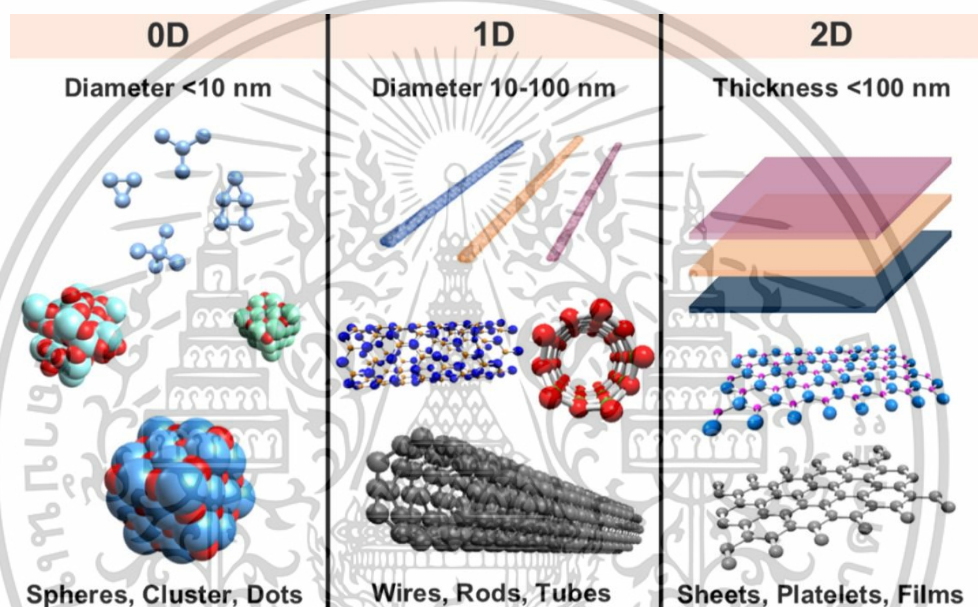
นาโนเทคโนโลยี เป็นการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับอนุภาคนาโนตั้งแต่ 1 ถึง 100 นาโนเมตร เมื่อพิจารณาถึงสมบัติของสารที่ถูกย่อขนาดลงไปจนถึงระดับหนึ่ง จะพบว่าสมบัติของสารนั้นเริ่มเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะเมื่อขนาดของสารอยู่ในระดับนาโนเมตร (น้อยกว่า 100 นาโนเมตร) สมบัติของสารจะไม่เหมือนเดิมอีกต่อไป ตัวอย่างเช่น เมื่อสารถูกลดขนาดจาก $1 \times 1 \times 1$ ลูกบาศก์เมตร เป็น $1 \times 1 \times 1$ ลูกบาศก์มิลลิเมตร สมบัติของสารอาจยังคงไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่เมื่อถูกย่อขนาดลงไปถึง $1 \times 1 \times 1$ ลูกบาศก์นาโนเมตร ซึ่งเป็นระดับนาโน สมบัติของสารจะเปลี่ยนไปอย่างชัดเจน เหตุการณ์นี้เกิดขึ้นเนื่องจากผลกระทบทางควอนตัม (quantum effects) ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของสถานะของสาร รวมถึงการเพิ่มอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรอย่างมหาศาล ซึ่งส่งผลต่อสมบัติของสารในหลายๆ ด้าน เช่น การนำไฟฟ้า จุดหลอมเหลว และสมบัติทางแม่เหล็ก ปัจจุบันอนุภาคนาโนได้รับความสนใจในการใช้งานในสาขาต่างๆ เช่น ชีววิทยาระดับโมเลกุล ฟิสิกส์ เคมีอินทรีย์และอนินทรีย์ การแพทย์ และวิทยาศาสตร์วัสดุ เป็นต้น [47] โดยอนุภาคนาโนถูกจัดอยู่ในระบบมิติต่ำ (Low-dimensional system: LDSs) ที่มีการแบ่งออกเป็น ศูนย์มิติ หนึ่งมิติและสองมิติ

- 1) วัสดุนาโนศูนย์มิติ (Zero dimension: 0D) คือวัสดุที่มีขนาดต่ำกว่า 100 นาโนเมตรทั้ง 3 มิติ เป็นวัสดุที่มีโครงสร้างเป็นทรงกลม เช่น อนุภาคนาโนโลหะ อย่างทองคำและเงิน อนุภาคกึ่งตัวนำ เช่น ควอนตัมดอท และอนุภาคออกไซด์ เช่น ไททาเนียมไดออกไซด์
- 2) วัสดุนาโนหนึ่งมิติ (One dimension: 1D) คือวัสดุที่มีหนึ่งมิติที่มีขนาดมากกว่า 100 นาโนเมตร ตัวอย่างได้แก่ nanowires, nanotubes และ nanorods เช่น ท่อนาโนคาร์บอน (carbon nanotubes), เส้นลวดนาโนซิลิคอน (silicon nanowires) และเส้นใยนาโนซิงก์ออกไซด์ (zinc oxide nanorods)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3) วัสดุนาโนสองมิติ (Two dimension: 2D) คือวัสดุที่มีสองมิติที่มีขนาดมากกว่า 100 นาโนเมตร เช่น แผ่นฟิล์มบาง (Thin films), แผ่นกราฟีน (Graphene) และโมลิบดีนัมไดซัลไฟด์ (MoS₂)

นอกจากนี้ วัสดุนาโนยังสามารถแบ่งตามสมบัติทางไฟฟ้า เช่น เป็นฉนวนไฟฟ้า กึ่งตัวนำ และโลหะนำไฟฟ้า วัสดุนาโนฉนวนไฟฟ้า เช่น ไททาเนียมไดออกไซด์ ซิงก์ออกไซด์ และอะลูมิเนียมออกไซด์ ไม่สามารถนำไฟฟ้าได้เนื่องจากมีช่องว่างพลังงาน (band gap) ที่กว้าง วัสดุเหล่านี้จึงถูกนำไปใช้ในงานหลากหลาย เช่น ตัวเร่งปฏิกิริยา การเก็บพลังงาน และการบำบัดสิ่งแวดล้อม



รูปที่ 2.12 โครงสร้างทั่วไปสำหรับการจำแนกประเภทแต่ละมิติ [47]

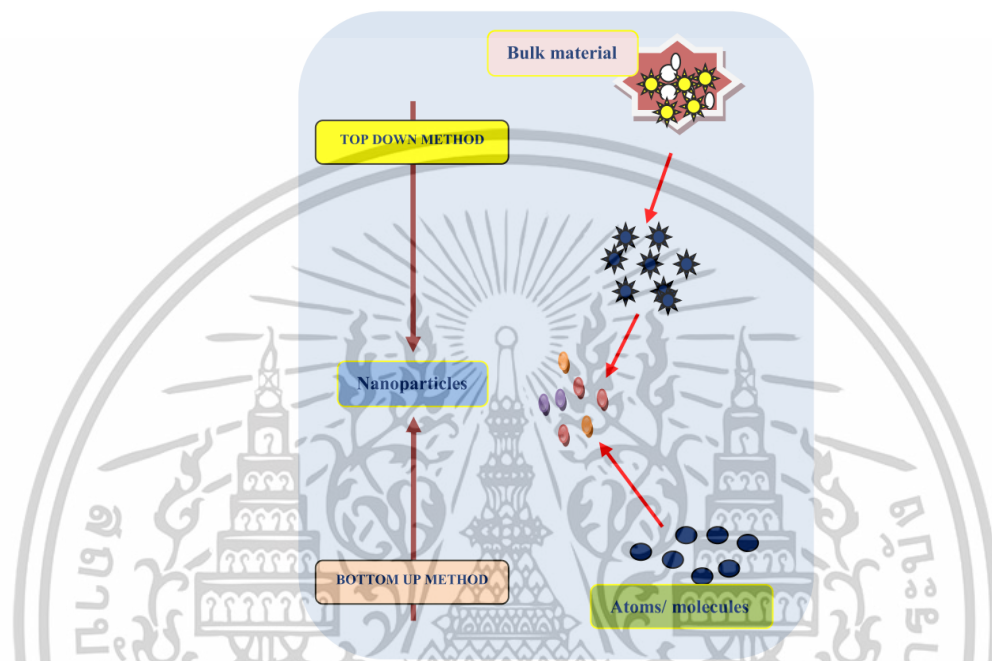
การลดขนาดของอนุภาคจนถึงระดับนาโนส่งผลให้อนุภาคมีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุชนิดเดียวกันที่มีขนาดใหญ่กว่า ทำให้มีจำนวนอะตอมที่อยู่บริเวณผิวหน้าสูงส่งผลให้มีคุณสมบัติที่โดดเด่น เช่น การเร่งการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีบนพื้นผิว ความสามารถในการนำไฟฟ้า ความต้านทานการกัดกร่อน รวมถึงเอกลักษณ์ทางแสง ตัวอย่างโลหะที่นิยมนำมาใช้ในรูปของอนุภาคนาโน ได้แก่ ทองคำ (Au), แพลทินัม (Pt), เงิน (Ag) และโลหะผสมอื่นๆ

2.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะ

มีวิธีที่หลากหลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ วิธีการสังเคราะห์จากใหญ่ไปเล็ก (Top-down) และวิธีจากเล็กไปใหญ่ (Bottom-up) ดังแสดงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.13 ความแตกต่างระหว่างทั้งสองวิธีคือวัสดุเริ่มต้นในการเตรียมอนุภาคระดับนาโน วัสดุขนาดใหญ่ใช้เป็นวัสดุเริ่มต้นในวิธีการจากใหญ่ไปเล็ก ขนาดของอนุภาคจะถูกทำให้เล็กลงจนถึงระดับนาโนโดยกระบวนการทางกายภาพและเคมี ในขณะที่วิธีการจากเล็กไปใหญ่จะใช้อะตอมหรือโมเลกุลเป็นวัสดุเริ่มต้นทำให้เกิดการรวมตัวกันเป็นคลัสเตอร์และอนุภาคระดับนาโน [48]



รูปที่ 2.13 ภาพรวมของวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแบบใหญ่ไปเล็กและเล็กไปใหญ่ [49]

1. การสังเคราะห์จากใหญ่ไปเล็ก (Top-down)

วิธีนี้เป็นการทำให้วัสดุขนาดใหญ่เปลี่ยนแปลงเป็นอนุภาคนาโน โดยกระบวนการตัด แบ่ง แยก กัดกร่อนหรือย่อยลงไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งได้โครงสร้างที่อยู่ในระดับนาโน ซึ่งการเตรียมอนุภาคนาโนนั้นขึ้นอยู่กับขนาดของวัสดุเริ่มต้นและกระบวนการทางกายภาพหรือเคมีที่ต่างกัน [50] ยกตัวอย่างเช่น การแกะสลักหรือการบดย่อยวัสดุต่างๆ จากที่มีขนาดใหญ่ให้เล็กลงซึ่งเป็นวิธีที่สามารถพบเห็นได้ในชีวิตประจำวัน หรือการใช้ปฏิกิริยาเคมีเชิงกล วิธีการสังเคราะห์ทางเคมีเชิงกลนั้นเกี่ยวข้องกับการให้แรงเชิงกลซ้ำๆ ส่งผลให้อนุภาคเกิดการเสียรูป การแตกของส่วนผสมและการเชื่อมกันของสารตั้งต้น [51]

T. Iwasaki และคณะ [52] ได้นำวิธีการใช้ปฏิกิริยาเคมีเชิงกลร่วมกับการตกตะกอนร่วมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนแม่เหล็ก Fe_3O_4 โดยการสังเคราะห์เริ่มจากละลาย 1.5 มิลลิโมลของเฟอร์รัสซัลเฟตและ 3.0 มิลลิโมลของเพอริกคลอไรต์ในการกลั่น 60 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 มิลลิลิตร อัตราการเติมอยู่ที่ 3.0 มิลลิลิตรต่อนาที สารละลายดังกล่าวถูกปั่นกวนด้วยเครื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปั่นกวนแม่เหล็กภายใต้แก๊สอาร์กอนเพื่อให้เกิดการตกตะกอนอย่างสม่ำเสมอ ระหว่างการเตรียมสารแขวนลอย อุณหภูมิถูกควบคุมให้ต่ำกว่า 5°C เพื่อป้องกันการเกิดเฟอร์รัสไฮดรอกไซด์และเกอไทต์ (α -FeOOH) สารแขวนลอยที่เตรียมได้ถูกเทลงในภาชนะสแตนเลสที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ความจุ 500 มิลลิลิตร โดยมีลูกบอลสแตนเลสขนาด 3.2 มิลลิเมตร ใช้สำหรับการบด ภาชนะถูกปิดผนึกและหมุนด้วยความเร็ว 35 รอบต่อนาที ภายใต้อุณหภูมิภายในที่ 2°C หลังจากการบด ตะกอนถูกล้างด้วยน้ำกลั่นและปั่นแยกด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที กระบวนการล้างถูกทำซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นทำให้แห้งในสุญญากาศที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตะกอนที่ได้นำไปตรวจเอกลักษณ์ด้วย XRD ดังรูปที่ 2.14 เปรียบเทียบเอกลักษณ์ทางผลึกของอนุภาคของก่อนและหลังการบด พบว่าหลังจากการเพิ่มเวลาบด α -FeOOH ค่อยๆหายไป และเกิดเฟสของ Fe_3O_4 เพิ่มขึ้น และผลการวิเคราะห์ EDS ยังแสดงให้เห็นว่าสัดส่วนอะตอมของเหล็กและออกซิเจนในตัวอย่างใกล้เคียงกับค่าทางทฤษฎีของ Fe_3O_4

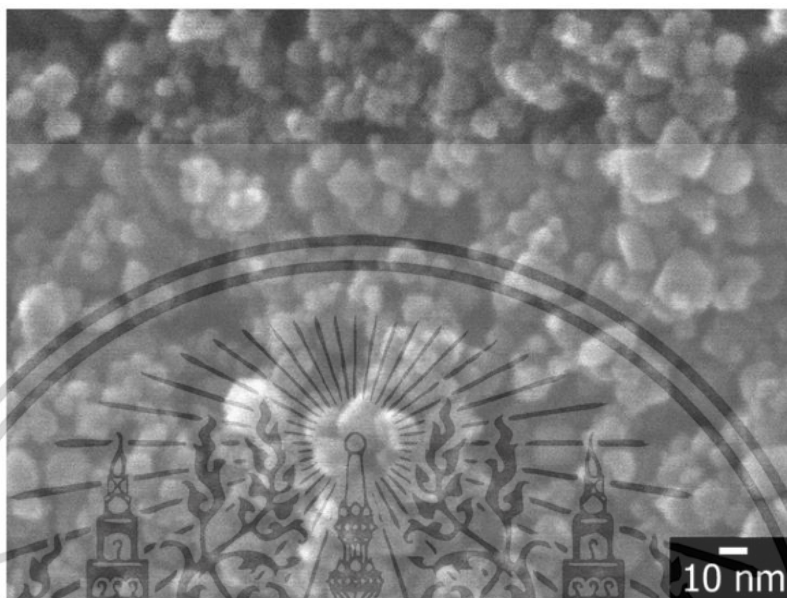


รูปที่ 2.14 รูปแบบ XRD ของผลึกอนุภาคนาโนแม่เหล็ก Fe_3O_4 (a) ก่อนและหลังทำการบด (b) 6 และ (c) 9 ชั่วโมง และเอกลักษณ์ผลึกมาตรฐานของ magnetite (ASTM card #11-614) และ goethite (ASTM card #3-249) [52]

นอกจากนี้ การวิเคราะห์ SEM แสดงดังรูปที่ 2.15 ให้เห็นว่าอนุภาคมีขนาดประมาณ 10 นาโนเมตร ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณได้จากสูตรของ Scherrer ที่ 10.2 นาโนเมตร สิ่งนี้แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโน Fe_3O_4 ที่มีความเป็นผลึกสูงสามารถสังเคราะห์ได้โดยไม่ต้องใช้ความร้อน ถึงแม้ว่าจะเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการที่ง่ายในการสังเคราะห์อนุภาคระดับนาโน แต่ควรคำนึงในเรื่องของการปนเปื้อนที่มาจากกระบวนการบดรวมถึงระยะเวลาที่ยาวนานหากต้องการขนาดอนุภาคที่เล็กกว่า 20 นาโนเมตร [53]

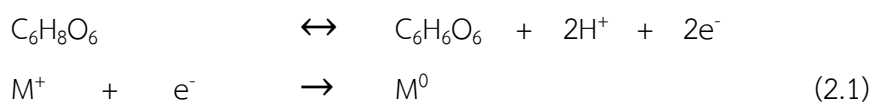


รูปที่ 2.15 รูปภาพ SEM ของอนุภาคนาโนแม่เหล็ก Fe_3O_4 ที่ทำการบดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง [52]

2. การสังเคราะห์จากเล็กไปใหญ่ (Bottom-up)

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนโดยใช้วิธีจากเล็กไปใหญ่นั้นเกี่ยวกับการรวมตัวของอะตอม โมเลกุล หรืออนุภาคขนาดเล็ก ในวิธีนี้ส่วนประกอบที่เป็นโครงสร้างนาโนของอนุภาคนาโนจะก่อตัวขึ้นก่อนแล้วจึงประกอบเข้าด้วยกันและเป็นอนุภาคนาโนขั้นสุดท้าย โดยวิธีที่นิยมคือการใช้กระบวนการรีดักชันทางเคมี ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาหลัก 2 ขั้นตอนคือ

1) การใช้สารรีดิวซ์ เช่น โบโรไฮไดรด์ กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก ออกซาลิก โพลีออล ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และซัลไฟต์ เป็นต้น สารเหล่านี้สามารถให้อิเล็กตรอนเพื่อรีดิวซ์ไอออนของโลหะ ให้กลายเป็นโลหะที่มีเลขออกซิเดชันเป็นศูนย์ ดังแสดงในสมการที่ (2.1) การกลไกเกิดรีดักชันของโลหะ ด้วยกรดแอสคอร์บิก โดยเริ่มจากกรดแอสคอร์บิก ($C_6H_8O_6$) เกิดการออกซิเดชันไปอยู่ในรูปของกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก ($C_6H_6O_6$) ซึ่งมีการหลุดออกของโปรตรอนและอิเล็กตรอน ต่อมาเมื่อในระบบมีไอออนโลหะ (M^+) ไอออนดังกล่าวจะเกิดการรับอิเล็กตรอนหรือถูกรีดิวซ์ไปเป็นโลหะประจุศูนย์ (M^0) [54]



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) การใช้สารรักเสถียรภาพ เช่น ไตรโซเดียมซิติเรตไดไฮเดรต ลิแกนด์ซัลเฟอร์ ลิแกนด์ ฟอสฟอรัส โพลีเมอร์ สารลดแรงตึงผิว (เช่น เซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ CTAB) เป็นต้น [55] ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยให้อนุภาคนาโนเพิ่มแรงผลักระหว่างอนุภาค เช่นเพิ่มประจุบนพื้นผิวหรือผลของความเกะกะส่งผลอนุภาคนาโนโลหะมีเสถียรภาพมากขึ้น มีการกระจายตัวในตัวกลางที่ดีขึ้นและลดการรวมตัวกันจนตกตะกอน [56]

2.3.2 อนุภาคนาโนโลหะ (Metal nanoparticles)

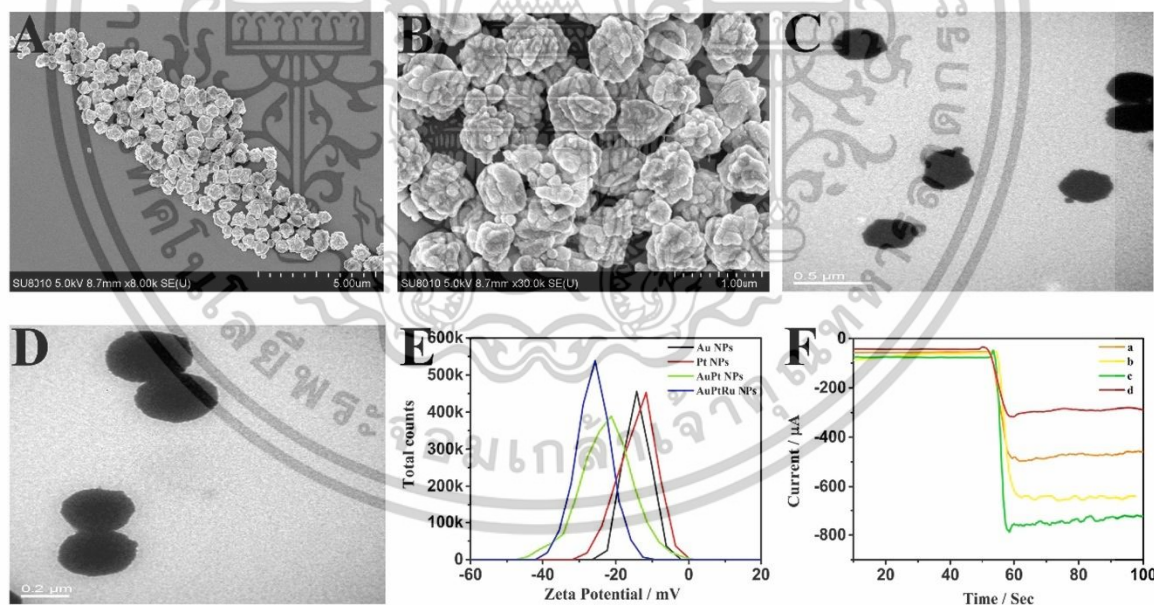
โลหะมีตระกูล เช่น ทองคำ เงินและแพลทินัม นิยมนำมาสังเคราะห์เป็นอนุภาคนาโนเนื่องจากอนุภาคนาโนดังกล่าวไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ และยังมีคุณสมบัติที่โดดเด่นซึ่งมีประโยชน์ในการเร่งปฏิกิริยาการใช้งานในรูปแบบคอมโพสิตและใช้งานในรูปแบบเซ็นเซอร์ การเลือกวิธีการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะมีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากในกระบวนการภายในการสังเคราะห์ต่างๆ เช่น จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาระหว่างไอออนของโลหะกับสารรีดิวซ์ กระบวนการดูดซับของสารรักษาเสถียรภาพกับอนุภาคนาโนโลหะ และเทคนิคการสังเคราะห์ต่างๆ ล้วนส่งผลอย่างมากต่อสัณฐานวิทยา (โครงสร้างและขนาด) ความเสถียร และคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ วิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนคือวิธีการรีดักชันทางเคมีหนึ่งในการสังเคราะห์แบบ Bottom-up ซึ่งเป็นการใช้สารรีดิวซ์เพื่อเปลี่ยนสถานะของไอออนโลหะเป็นโลหะวาเลนซ์ศูนย์ วิธีนี้นิยมใช้เนื่องจากสามารถควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนได้ง่าย [57]

2.3.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนโลหะ

X. Fu และคณะ [58] ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPtRu ในการขยายสัญญาณการตรวจวัดเชิงไฟฟ้าเคมีของโปรตีนทรอมโบสปอนดิน-1 และเปรียบเทียบประสิทธิภาพวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมชนิดต่างๆ โดยการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPtRu เริ่มจากการผสม RuCl_3 (0.9 มิลลิลิตร, 20 มิลลิโมลต่อลิตร), HAuCl_4 5% (53.2 ไมโครลิตร), H_2PtCl_6 5% (88.4 ไมโครลิตร) ซึ่งอัตราส่วนโมลของโลหะเท่ากับ 1: 1: 1 และ Pluronic F127 (0.01 กรัม) ใส่ในปิกเกอร์ จากนั้นค่อยๆ เติมกรดแอสคอร์บิก (0.3 มิลลิลิตร, 0.4 โมลต่อลิตร) ลงไปในขณะที่ทำการปั่นกวนสารด้วยความเร็ว 800 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการล้างสารตกค้าง ด้วยการนำไปหมุนเหวี่ยงและล้างสามครั้ง จากนั้นตะกอนวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPtRu ที่ได้นำไปกระจายตัวในน้ำกลั่นปริมาตร 500 ไมโครลิตร วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt, AuRu, และ PtRu ถูกสังเคราะห์โดยใช้วิธีเดียวกัน โดยแทนที่ สารตั้งต้นโลหะชนิดต่างๆด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้าง รูปร่าง และขนาดของอนุภาคนาโน AuPtRu ถูกวิเคราะห์โดย FE-SEM (รูปที่ 2.16A-D) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPtRu มีโครงสร้างเป็นทรงกลมเรียงตัวกันเป็นลักษณะเส้นที่มีการกระจายตัวของขนาดอย่างสม่ำเสมอ ค่าศักย์ซีตาใช้เพื่อยืนยันการสังเคราะห์และความเสถียรของ AuPtRu NPs รูปที่ 2.16E แสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์ AuPtRu NPs ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับศักย์ไฟฟ้าของ AuNPs, PtNPs, และ AuPt NPs ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าสัมบูรณ์ของศักย์ไฟฟ้าสื่อถึงความเสถียรของวัสดุที่ดีขึ้น ค่าสัมบูรณ์ของ AuPt NPs สูงกว่าโลหะเดี่ยวที่สังเคราะห์ขึ้น และค่าสัมบูรณ์ของ AuPtRu สูงกว่า AuPt หลังจากการเติม Ru บ่งชี้ว่า Ru สามารถเพิ่มความเสถียรให้อนุภาคนาโนโลหะได้ หลังจากนั้น AuPtRu NPs ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมด้วยการเปรียบเทียบสมบัติการเร่งปฏิกิริยาของอนุภาค AuPtRu NPs กับอนุภาคโลหะผสมชนิดอื่นๆ (AuPt, AuRu, และ PtRu) จากกราฟความสัมพันธ์กระแส-เวลา (i-t curve) รูปที่ 2.16F แสดงให้เห็นว่าอนุภาค AuPtRu NPs มีสมบัติการเร่งปฏิกิริยาที่เหนือกว่าอนุภาคนาโนผสมชนิดอื่นๆ สามารถสรุปได้ว่า Ru มีความสามารถในการช่วยเพิ่มเสถียรภาพและยังมีส่วนช่วยในการเร่งปฏิกิริยาอีกด้วย จากข้อมูลดังกล่าวบ่งบอกถึงความประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์ AuPtRu NPs ที่มีสมบัติการเร่งปฏิกิริยาที่ดีเยี่ยมและเสถียรภาพสูง

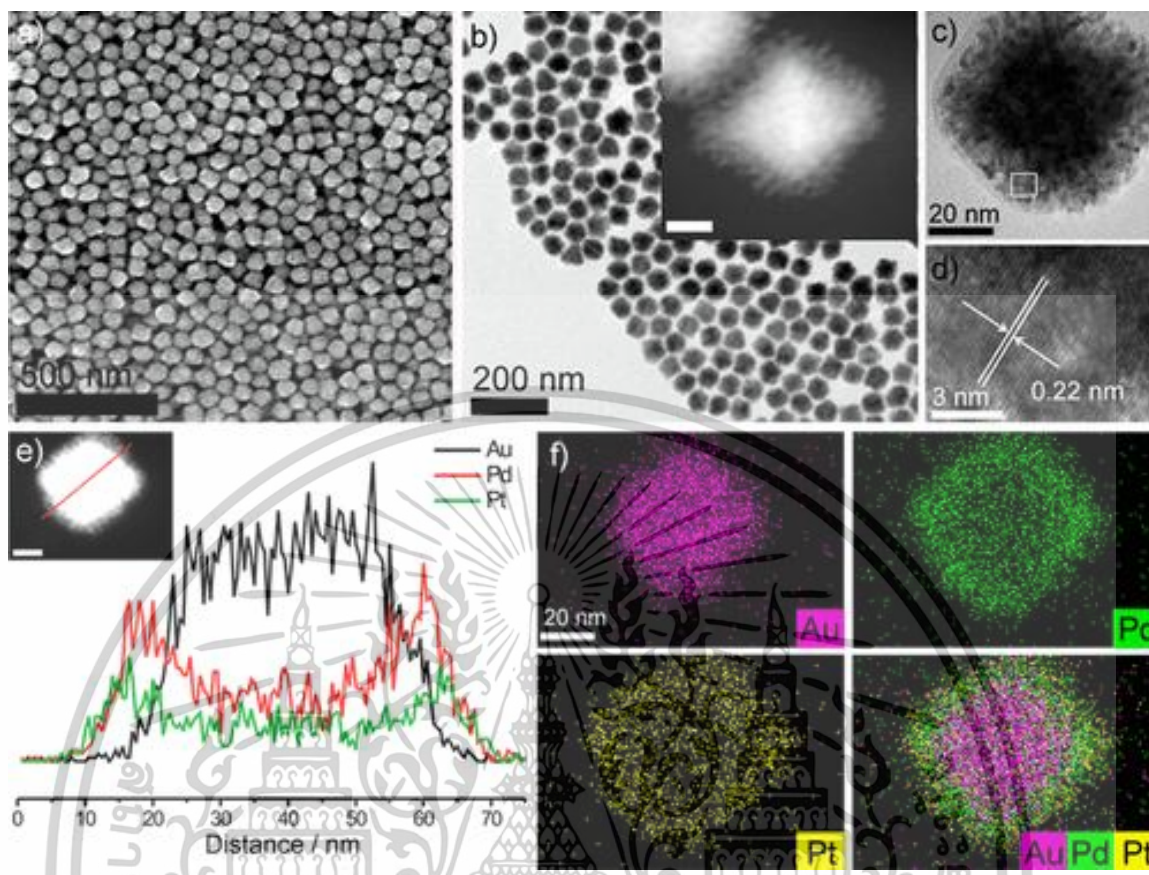


รูปที่ 2.16 (A-B) รูป FE-SEM และ (C-D) รูป TEM ของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPtRu (E) ค่าศักย์ซีตาของ AuNPs, PtNPs, AuPt NPs และ AuPtRu NPs (F) ความสัมพันธ์กระแส-เวลา (i-t Curve) ของ (a) AuPt (b) AuRu (c) RuPt และ (d) AuPtRu [58]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S.W. Kang และคณะ [59] ได้ศึกษาวิธีสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม Au@PdPt ชนิดแกนเปลือก ที่มีโครงสร้างแกนอนุภาคทองคำรูปทรงแปดหน้าและเปลือกเป็นโลหะผสม Pd-Pt แบบโครงสร้างขุ่น (Au_{oct}@PdPt NPs) ซึ่งอนุภาคนาโนที่ได้แสดงประสิทธิภาพทางไฟฟ้าเคมีที่ดีเยี่ยมในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมทานอล เมื่อเทียบกับตัวเร่งปฏิกิริยาอื่นๆ ในกระบวนการสังเคราะห์ Au_{oct}@PdPt NPs นั้น ทำได้โดยเติมสารละลาย 1 มิลลิลิตร ของ HAuCl₄, K₂PdCl₄, และ K₂PtCl₆ ที่มีอัตราส่วน 1:1:1 ลงในสารละลาย 5 มิลลิลิตร ของ CTAC (cetyltrimethylammonium chloride) จากนั้นทำการเติมสารละลายกรดแอสคอร์บิก 100 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และทำการเขย่าเบาๆ หลังจากนั้นจึงเติมสารละลายไฮดราซีน 50 ไมโครลิตร เพื่อให้โลหะถูกรีดิวซ์มากขึ้น และนำสารละลายที่ได้ไปให้ความร้อนในเตาอบที่อุณหภูมิ 95°C นาน 150 นาที สารละลายที่ได้จะนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที สามครั้ง เพื่อล้างสารตกค้างออก สำหรับการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมที่มีลักษณะทรงกลม (Au_{sph}@PdPt NPs) มีวิธีที่ใกล้เคียงกับวิธีก่อนหน้าแต่จะทำการรีดิวซ์สารละลาย HAuCl₄/K₂PdCl₄/K₂PtCl₆ ร่วมกับ CTAC เพียงอย่างเดียวโดยไม่ใช้สารรีดิวซ์เพิ่มเติม เช่น แอสคอร์บิกและไฮดราซีนและให้ความร้อนในเตาอบที่ 95°C นาน 48 ชั่วโมง ซึ่งใช้เวลาสังเคราะห์ที่มากกว่า

จากรูปที่ 2.17a และ b แสดงภาพ SEM และ TEM ของ Au_{oct}@PdPt NPs ที่แสดงให้เห็นว่าวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมมีขนาดที่ใกล้เคียงกัน โดยความยาวเฉลี่ยของขอบอนุภาคที่วัดได้จากภาพ TEM คือ 61.0 ± 1.3 นาโนเมตร ขณะที่ความยาวเฉลี่ยของแกนอยู่ที่ 38.3 ± 3.8 นาโนเมตร และความหนาของเปลือกอยู่ที่ 13.6 ± 1.6 นาโนเมตร ส่วนในภาพขยาย ดังรูปที่ 2.17b และ c ยืนยันว่าอนุภาคมีลักษณะแกนเป็นรูปทรงแปดหน้าและเปลือกที่มีลักษณะเป็นขน ภาพ HRTEM ขยายให้เห็นถึงความสัมพันธ์เดี่ยวของเปลือก Pd-Pt ซึ่งมีระยะ d-spacing 0.22 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับระนาบ (111) ของโครงสร้าง face-centered cubic (fcc) ของโลหะผสม Pd-Pt (รูปที่ 2.17d) การวัดสเปกโตรสโคปีรังสีเอกซ์แบบกระจายพลังงาน (EDS) ของ HAADF-STEM ใช้เพื่อให้เข้าใจการกระจายตัวของแต่ละองค์ประกอบในวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมได้ดียิ่งขึ้น ดังแสดงรูปที่ 2.17e อีกทั้งรูป EDS mapping (รูปที่ 2.17f) ยังช่วยยืนยันโครงสร้างการเรียงตัวของแต่ละอนุภาคโลหะแบบแกน-เปลือก

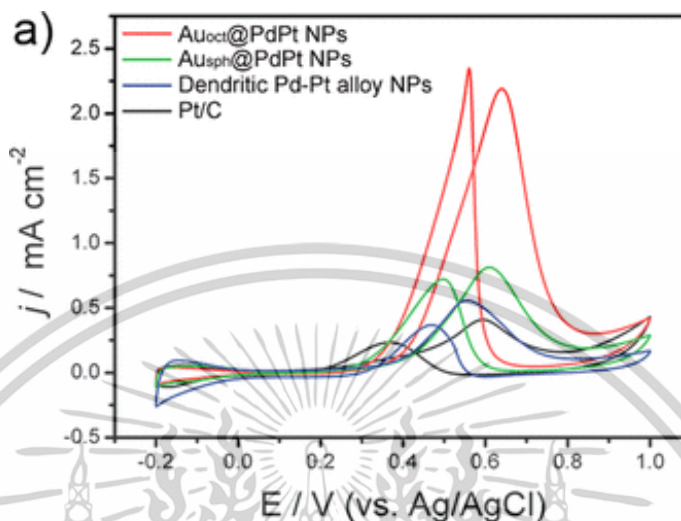


รูปที่ 2.17 สัณฐานวิทยาของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม $\text{Au}_{\text{oct}}@PdPt$ NPs (a) SEM, (b) TEM, และ (c) HRTEM (d) รูปขยาย HRTEM ในบริเวณกรอบสี่เหลี่ยมใน (c) (e) รูป HAADF-STEM และ (f) HAADF-STEM-DES element mapping [59]

จากการทดสอบพฤติกรรมทางไฟฟ้าเคมีในปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมทานอลของ $\text{Au}_{\text{oct}}@PdPt$ เพื่อเปรียบเทียบกับตัวเร่งปฏิกิริยาอื่นๆ เช่น $\text{Au}_{\text{sph}}@PdPt$ NPs, dendritic Pd-Pt alloy NPs, and a commercial Pt/C จากรูปที่ 2.18 แสดงผล CV การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมทานอลที่ได้จากตัวเร่งปฏิกิริยาต่างๆ แสดงให้เห็นลักษณะเฉพาะของปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมทานอลทั้งในช่วงการสแกนไปข้างหน้าและย้อนกลับ ผลการตรวจวัดถูกทำให้เป็นมาตรฐานโดยอ้างอิงกับพื้นที่ผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาที่สามารถเกิดปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมีได้ (ECSA) ซึ่งคำนวณจากการวัดประจุคลุมบ่งที่เกิดจากกระบวนการ การแยกตัวของไฮโดรเจน ภายใต้การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาในสารละลาย HClO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร การพบว่า $\text{Au}_{\text{oct}}@PdPt$ NPs มีประสิทธิภาพการเร่งสูงกว่าอนุภาคนาโนชนิดอื่นอย่างชัดเจน โดยความหนาแน่นของกระแสที่เกิดขึ้นสูงกว่าวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมทรงกลม $\text{Au}@PdPt$, อนุภาคโลหะผสม Pd-Pt แบบชนและ Pt/C ถึง 2.7, 3.9, และ 5.2 เท่าตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็นว่าอนุภาคนาโนที่มีโลหะผสม 3 ชนิดและรูปร่างของอนุภาคมีผลอย่างมากต่อประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยา



รูปที่ 2.18 CV การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 0.5 โมลต่อลิตร เมทานอลใน 0.1 โมลต่อลิตร HClO_4 ของตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดต่างๆ ที่อัตราการสแกน 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที [59]

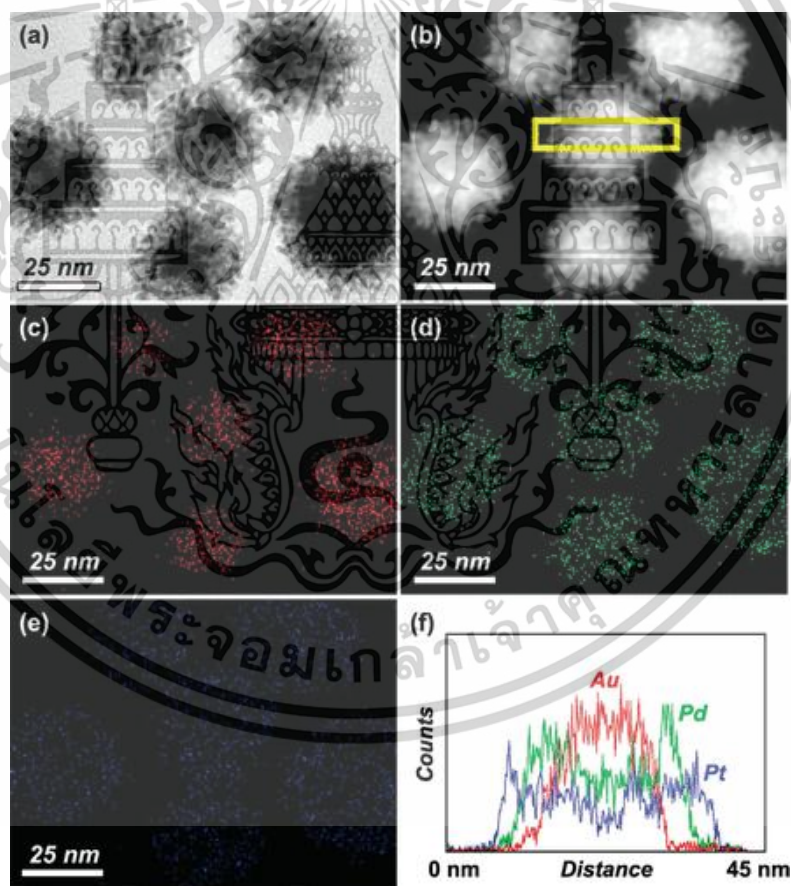
2.3.2.2 การสังเคราะห์ด้วยวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่สูงในการช่วยทำปฏิกิริยา (Ultrasonic-driven chemical reduction method)

ในกระบวนการที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ส่งผลให้เกิด acoustic cavitation ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของวิธีนี้ หมายถึงการเกิดฟองอากาศ, การขยายตัว, และการยุบตัวอย่างรุนแรงของฟองอากาศในของเหลวเนื่องจากคลื่นเสียงที่มีความเข้มสูง การกระทบของคลื่นเสียงความถี่สูงในของเหลวทำให้เกิดคลื่นขยายตัวและอัดตัวเป็นลำดับ ซึ่งทำให้เกิดฟองอากาศและทำให้ฟองอากาศเหล่านั้นสั่นและมีการสร้างความดันและความร้อนสูง รวมถึงอนุภาคอนุมูลอิสระ เช่น e_{aq}^- , H^\cdot , HO^\cdot , HO_2^\cdot , OH^- , H_3O^+ , H_2 , และ H_2O_2 [60]

L. Wang และคณะ [61] ได้พัฒนาวิธีการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPdPt โดยใช้พอลิไวนิลไพร์โรลิโดน (PVP) เป็นสารรักษาเสถียรภาพและใช้เทคนิคการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่สูงในการช่วยทำปฏิกิริยา การสังเคราะห์เริ่มจากการเตรียมสารละลายตั้งต้น 9.0 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย 20 มิลลิโมลต่อลิตร HAuCl_4 (2.5 มิลลิลิตร), 20 มิลลิโมลต่อลิตร Na_2PdCl_4 (2.5 มิลลิลิตร), 20 มิลลิโมลต่อลิตร K_2PtCl_4 (2.5 มิลลิลิตร) และ PVP (0.1 กรัม) จากนั้นเติมสารละลายกรดแอสคอร์บิก 0.4 โมลต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็วภายใต้การให้คลื่นเสียงความถี่สูง ทำให้ปริมาณสารตั้งต้นสุดท้ายของ HAuCl_4 , Na_2PdCl_4 และ K_2PtCl_4 อยู่ที่ 0.05 มิลลิโมลเท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

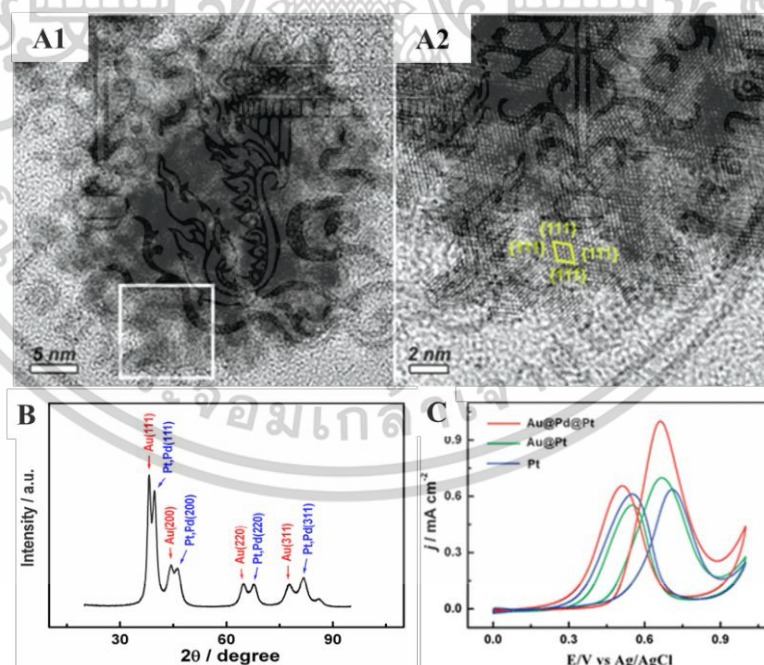
หลังจากผ่านการให้คลื่นเสียงความถี่สูงเป็นเวลา 5 นาที ส่วนผสมถูกวางทิ้งไว้ 6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลาผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างสาร PVP ที่ตกค้างออกด้วยการล้างและปั่นเหวี่ยงซ้ำอีก 2 ครั้ง ตะกอนที่ได้นำไปกระจายตัวอีกครั้งในน้ำกลั่นและทำการศึกษาเอกลักษณ์เฉพาะรูปภาพจาก TEM (รูปที่ 2.19a และ b) แสดงภาพของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ขึ้นซึ่งกระจายตัวได้ดีเป็นอนุภาคทรงกลมที่มีลักษณะโครงสร้างนาโนแบบขนสามมิติ การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุและการกระจายตัวของธาตุในโครงสร้างนาโน ถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม ทั้งสองการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนที่ได้เป็นโครงสร้างสามชั้นประกอบด้วยแกนทองคำ ชั้นในของไซเตียม และชั้นเปลือกนอกของแพลทินัมลักษณะขน (รูปที่ 2.19c-f) นอกจากนี้ การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุแสดงให้เห็นว่าสัดส่วนธาตุ Au/Pd/Pt อยู่ที่ 1:1:1 ซึ่งตรงกับองค์ประกอบในสารละลายตั้งต้น แสดงให้เห็นว่าสารประกอบโลหะทั้งหมดถูกรีดิวซ์อย่างสมบูรณ์ด้วยสารละลายกรดแอสคอร์บิก



รูปที่ 2.19 รูปภาพ TEM (a) แบบสนามสว่าง (b) แบบสนามมืดของ Au@Pd@Pt รูปภาพการวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุ (c) Au (d) Pd และ (e) Pt และ (f) แสดงการกระจายตัวของธาตุในอนุภาคนาโนที่ถูกเลือกตามกรอบในภาพ b ซึ่งแสดงให้เห็นรายละเอียดของธาตุที่มีอยู่ในอนุภาคเดียว [61]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพ TEM ความละเอียดสูง (รูปที่ 2.20A1-2) แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนมีโครงสร้าง
 ขนที่เชื่อมโยงกันในทิศทางต่างๆ ขณะที่ d-spacing ของเส้นขอบที่อยู่ติดกันในชั้นเปลือกของ Pt มีค่า
 เท่ากับ 0.23 นาโนเมตร ซึ่งตรงกับระนาบ (111) ของโครงสร้าง Pt fcc แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโน
 AuPdPt ถูกสังเคราะห์ได้สำเร็จด้วยวิธีการสังเคราะห์แบบชั้นตอนเดียวในสารละลาย PVP ที่อุณหภูมิห้อง
 การวิเคราะห์ XRD พบว่าวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPdPt มีโครงสร้างผลึกแบบ face-
 centered cubic (fcc) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงจุดพิกที่สัมพันธ์กับเฟส (111), (200), (220), และ (311)
 เนื่องจากความไม่ตรงกันของแลตทิซ (lattice mismatch) ที่ 0.77% สำหรับ Pt-Pd และ 4.08%
 สำหรับ Pt-Au ทำให้การแยกจุดพิกของ Pt และ Pd ทำได้ยากในรูปแบบ XRD แต่จุดพิกของ Au และ
 Pt-Pd สามารถแยกแยะได้ชัดเจน (รูปที่ 2.20B) สำหรับการทดสอบพฤติกรรมทางไฟฟ้าของวัสดุเชิง
 ประกอบนาโนโลหะผสม AuPdPt และการเปรียบเทียบกับอนุภาคนาโน AuPt และ Pt โดยทำการเคลือบ
 GCE ด้วยอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ในปริมาณ 6.0 ไมโครกรัม แล้วปล่อยให้แห้ง จากนั้นเคลือบด้วย
 Nafion ก่อนที่จะทำการทดลองทางไฟฟ้า ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า Au@Pd@Pt มีค่ากระแสไฟฟ้า
 ในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมทานอล อยู่ที่ 1.02 มิลลิแอมป์ต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งสูงกว่า AuPt
 และ Pt อยู่ 1.5 และ 1.6 เท่าตามลำดับ บ่งชี้ว่าวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPdPt แสดง
 พฤติกรรมทางไฟฟ้าเร่งปฏิกิริยาที่สูงกว่าอนุภาคนาโน AuPt และ Pt

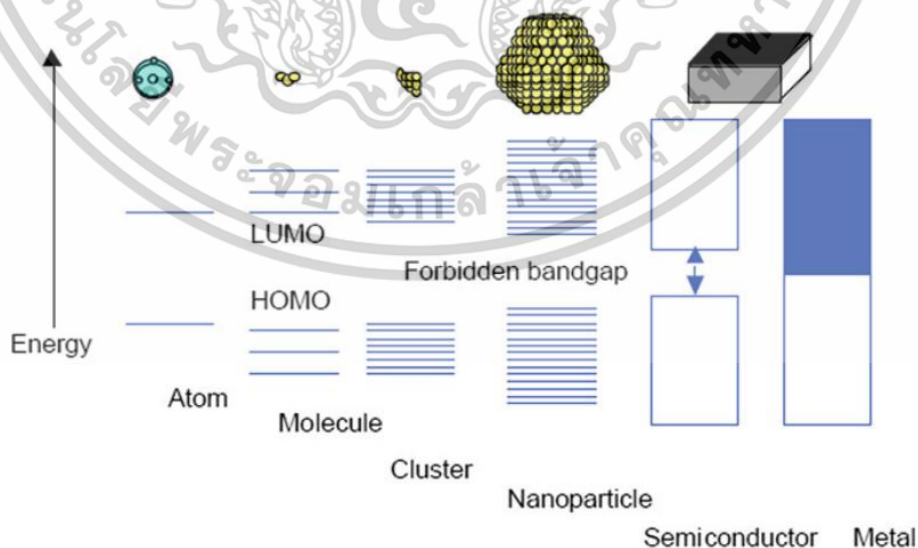


รูปที่ 2.20 (A1) HR-TEM ของ AuPdPt (A2) ภาพขยายบริเวณช่องสี่เหลี่ยมรูป A1 (B) XRD และ (C) CV
 ของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPdPt (เส้นสีแดง) AuPt (เส้นสีเขียว) และ Pt (เส้นสีน้ำเงิน) ภายใต้
 1 โมลต่อลิตร เมทานอล ใน 0.5 โมลต่อลิตร กรดซัลฟิวริก [61]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.3 สมบัติทางไฟฟ้าของอนุภาคนาโนโลหะ (Electrical properties)

เมื่อขนาดของวัตถุถูกย่อจนอยู่ในระดับนาโนเมตร จะทำให้สมบัติทางไฟฟ้าของวัสดุนั้นเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ตัวอย่างเช่น วงจรไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจำเป็นต้องเป็นไปตามกฎของโอห์ม (Ohm's law) ซึ่งกำหนดความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้า (I), แรงเคลื่อนไฟฟ้า (V) และความต้านทานไฟฟ้า (R) ในการนำไฟฟ้าระดับปกติ กระแสไฟฟ้าเคลื่อนที่ผ่านสื่อนำไฟฟ้าอย่างต่อเนื่อง แต่ในระดับนาโน อิเล็กตรอนจะไม่สามารถเคลื่อนที่อย่างอิสระได้อีกต่อไป เนื่องจากการจำกัดขนาดของโครงสร้างอย่างชัดเจน วัสดุระดับนาโนทุกประเภทจะมีอย่างน้อยหนึ่งมิติทางกายภาพที่ถูกจำกัด อิเล็กตรอนจะต้องเคลื่อนที่จากอะตอมหนึ่งไปยังอีกอะตอมหนึ่งในพื้นที่ที่ถูกจำกัด ซึ่งนำไปสู่ปรากฏการณ์ quantum confinement หรือการกักขังควอนตัม ส่งผลให้สมบัติทางไฟฟ้าของวัสดุเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมโดยสิ้นเชิง นอกจากการจำกัดขนาดที่เกิดขึ้นแล้ว อัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่สูงขึ้นในอนุภาคนาโนยังเป็นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งซึ่งส่งผลต่อสมบัติการนำไฟฟ้า เมื่ออนุภาคมีขนาดเล็กลง จำนวนอะตอมที่อยู่บนผิวของอนุภาคจะมีสัดส่วนสูงขึ้น ซึ่งส่งผลให้อิเล็กตรอนจำนวนมากอยู่บนพื้นผิว อิเล็กตรอนเหล่านี้สามารถมีปฏิสัมพันธ์กับอิเล็กตรอนที่อยู่ใกล้เคียงและเคลื่อนที่ได้ง่าย ส่งผลให้การถ่ายโอนประจุไฟฟ้าเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นในอนุภาคนาโนโลหะ [62] ในโลหะขนาดใหญ่ แถบการนำ (Conduction band) ของอิเล็กตรอนจะเกิดจากการรวมตัวของระดับพลังงานที่ต่อเนื่องกัน แต่เมื่อขนาดของโลหะลดลง ฟังก์ชันคลื่นของอิเล็กตรอนวงนอกจะถูกจำกัด ส่งผลให้ระดับชั้นพลังงานต่างๆ แยกออกจากกันอย่างชัดเจน คล้ายกับโครงสร้างพลังงานของอะตอมเดี่ยว ซึ่งทำให้สมบัติทางไฟฟ้าของโลหะนาโนมีความแตกต่างจากโลหะในระดับที่ใหญ่กว่าอย่างชัดเจน (รูปที่ 2.21) [63]

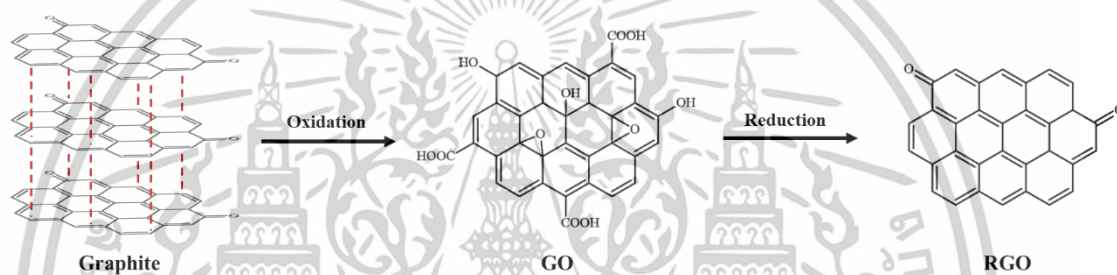


รูปที่ 2.21 สถานะอิเล็กทรอนิกส์ของโลหะในขนาดต่างๆ [63]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 รีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ (Reduced graphene oxide, RGO)

กราฟีน (Graphene) คือแผ่นคาร์บอนสองมิติที่ประกอบด้วยอะตอมคาร์บอนแบบ sp^2 ที่จัดเรียงตัวในโครงสร้างคริสตัลรูปหกเหลี่ยมเหมือนรังผึ้ง โดยแผ่นกราฟีนชั้นเดียวมีความหนาเพียง 0.335 นาโนเมตร กราฟีนสามารถอยู่ในรูปแบบชั้นเดียว (mono-layer), ชั้นคู่ (double-layer), หรือหลายชั้น (multi-layer) หนึ่งในรูปแบบของกราฟีนที่สำคัญคืออนุพันธ์ของกราฟีน ได้แก่ กราไฟท์ (Graphite), กราฟีนออกไซด์ (Graphene Oxide, GO) และรีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ (Reduced Graphene Oxide, RGO) โดยโครงสร้างของ graphite, GO และ RGO ถูกแสดงดังรูปที่ 2.22 จากรูปจะเห็นว่า Graphite จะมีโครงสร้างเป็นชั้นเรียงซ้อนกัน และเมื่อทำการออกซิเดชันแผ่นกราฟีนจะถูกแยกออกจากกันเป็นแผ่นบางๆ ต่อมาผ่านกระบวนการรีดิวซ์ด้วยเคมีในโครงสร้างจะมีการถูกเติมด้วยหมู่ฟังก์ชันต่างๆ



รูปที่ 2.22 โครงสร้างของ Graphite, GO และ RGO

สำหรับ RGO นั้นเป็นอนุพันธ์ของกราฟีนที่มีความสำคัญอย่างมากเนื่องจากมีคุณสมบัติพิเศษที่โดดเด่น ซึ่งเกิดจากโครงสร้างและรูปทรงเฉพาะตัว RGO มีอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงและสามารถเกิดปฏิกิริยาหลายรูปแบบกับโมเลกุลอื่นๆ เช่น ปฏิกิริยา π - π stacking, ปฏิกิริยาไฟฟ้าสถิต, และปฏิกิริยาไฮโดรโฟบิก ทำให้ RGO เป็นวัสดุที่มีศักยภาพสูงในการประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ เช่น ไบโอเซนเซอร์ [64], ตัวเร่งปฏิกิริยา [65], และอุปกรณ์เก็บพลังงาน [66] นอกจากนี้ RGO ยังมีบทบาทสำคัญในการปรับปรุงคุณสมบัติทางไฟฟ้า ทำให้มันเป็นที่นิยมในด้านการพัฒนาเทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และพลังงาน เนื่องจากสามารถนำไปใช้ในการเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการจับคู่มอเลกุลหรือเพิ่มการถ่ายโอนอิเล็กตรอนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.3.3.1 การสังเคราะห์ RGO

GO เป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการผลิต RGO โดย GO ได้มาจากการออกซิไดซ์กราฟไฟท์ ซึ่งวิธีการที่นิยมใช้มากที่สุดในการผลิต GO จากกราฟไฟท์คือวิธีของ Hummers [67,68] เนื่องจากมีความเรียบง่าย สามารถทำฟังก์ชันนอลได้ง่าย มีค่าใช้จ่ายที่ไม่สูงมาก และมีความเป็นไปได้ที่จะผลิตในปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาก ซึ่งกระบวนการออกซิเดชันนี้มีการปรับปรุงเพิ่มเติมให้เหมาะสมตามความต้องใช้งานได้หลากหลาย โดยพื้นฐานจะเกี่ยวข้องกับการใช้สารออกซิไดซ์ชนิดต่าง ๆ และมักใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูงในอุณหภูมิที่ค่อนข้างสูง ตามด้วยการใช้คลื่นความถี่สูงอัลตราโซนิกส์ในการออกซิเดชัน เพื่อเพิ่มกลุ่มออกซิเจนฟังก์ชัน นอลต่าง ๆ เข้าไปในโครงสร้างของ GO เช่น ไฮดรอกซิล (-OH), คาร์บอนิล (-C=O), คาร์บอกซิล (-COOH), และอีพอกไซด์ ซึ่งหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้จะช่วยขยายระยะห่างระหว่างชั้นกราฟีนและป้องกันการเรียงซ้อนของชั้นกราฟีนเนื่องจากปฏิกิริยา van der Waals

การรีดักชันของ GO สามารถเกิดผ่านหลายกระบวนการเช่น 1) ทางความร้อน (Thermal reduction) 2) ทางเคมี (Chemical reduction) 3) การสังเคราะห์แบบเคมีสะอาด (Green synthesis) และ 4) การใช้ไมโครเวฟช่วยในการรีดักชัน (Microwave-assisted reduction) ซึ่งจะทำให้เกิดการกำจัดกลุ่มออกซิเจนฟังก์ชันนอลในโครงสร้าง GO ออกไปบางส่วน และช่วยฟื้นคืนโครงสร้างคาร์บอน sp^2 เกิดการคอนจูเกตของอิเล็กตรอนภายในโครงสร้างได้มากขึ้น ซึ่งความแตกต่างที่สำคัญระหว่าง GO และ RGO มาจากการมีอยู่ของกลุ่มออกซิเจนฟังก์ชันนอลที่แตกต่างกันผลให้ RGO มีคุณสมบัติการนำไฟฟ้าและความร้อนที่ดีขึ้นและสามารถนำมาใช้ในอุปกรณ์ต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

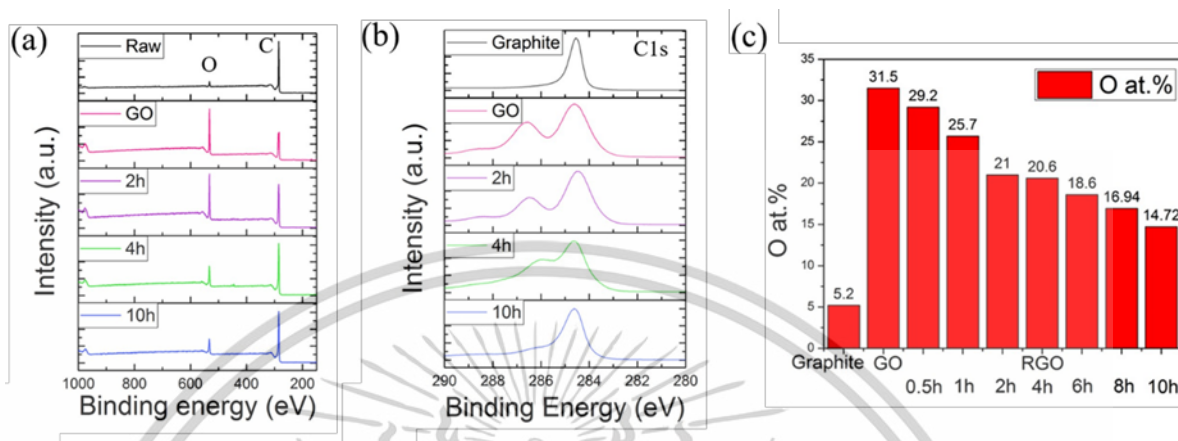
1) การรีดักชันทางความร้อน (Thermal reduction)

เป็นวิธีที่ใช้ความร้อนสูงในการทำลายกลุ่มฟังก์ชันออกซิเจนที่มีอยู่ในโครงสร้างของ GO เป็นวิธีพื้นฐานที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากสามารถควบคุมความร้อนที่ใช้ได้อย่างแม่นยำ กระบวนการผลิตมีความเสถียรและยังปราศจากการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายแต่ทั้งนี้ยังต้องพิจารณาในเรื่องของการใช้พลังงานที่สูงซึ่งอาจส่งผลต่อต้นทุนการผลิต อีกทั้งอาจต้องใช้ระยะเวลาที่ยาวนานกว่าเทคนิคอื่น ๆ

H.-H. Huang และคณะ [69] ศึกษาละเอียดเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของการรีดิวซ์ GO ด้วยวิธีทางความร้อน ณ เวลาต่างๆ โดย RGO ถูกเตรียมขึ้นจาก การให้ความร้อนด้วยเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ในเทพลอนออโตเคลฟ โดยศึกษาที่เวลา 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, และ 10 ชั่วโมง โดย RGO ที่ได้จะมีลักษณะเป็นผงตะกอนสีดำ แต่ในการทดลองดังกล่าวที่ 0.5 และ 1 ชั่วโมงพบว่าสารยังคงมีการกระจายตัวที่ดีในน้ำไม่มีการจับกลุ่มและตกตะกอน จากนั้นตะกอนสีดำที่ได้ถูกนำไปกรองสูญญากาศและทำให้แห้งเพื่อทำการตรวจเอกลักษณ์ต่อไปด้วย XPS ดังแสดงในรูปที่ 2.23 a-b พบว่าความเข้มของสัญญาณ C1s ค่อยๆ เพิ่มขึ้น ในขณะที่ความเข้มของสัญญาณ O1s ลดลงตามระยะเวลาการรีดักชันที่เพิ่มขึ้น และในรูปที่ 2.23 c พบว่าพันธะ C-C ยังคงเสถียรตลอดกระบวนการนี้ แต่พันธะ C ที่เชื่อมต่อกับกลุ่มฟังก์ชันที่มีออกซิเจนลดลง ซึ่งทำให้ปริมาณส่วนประกอบของ C-C (sp^2 และ sp^3) เพิ่มขึ้น เนื้อหาออกซิเจนลดลงเหลือต่ำสุดที่ 14.7% โดยน้ำหนัก ในตัวอย่าง RGO ที่รีดักชันนาน 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมง; ณ จุดนี้ เนื้อหาส่วนของ C-O/C-OH ก็ลดลงเหลือค่าต่ำสุดเช่นกัน ซึ่งบ่งบอกว่าพันธะ C-OH เป็นกลุ่มฟังก์ชันออกซิเจนที่เหลืออยู่เป็นหลัก ซึ่งถือเป็นตัวชี้วัดสำคัญในการกำหนดระดับของการรีดักชัน



รูปที่ 2.23 XPS สเปกตรัม a) และ b) C1s สเปกตรัมของ raw graphite, GO, RGO ที่ 2, 4 และ 10 ชั่วโมง และ c) ปริมาณออกซิเจนฟังก์ชันนอลภายในโครงสร้างที่เวลาการรีดักชันต่างๆ [69]

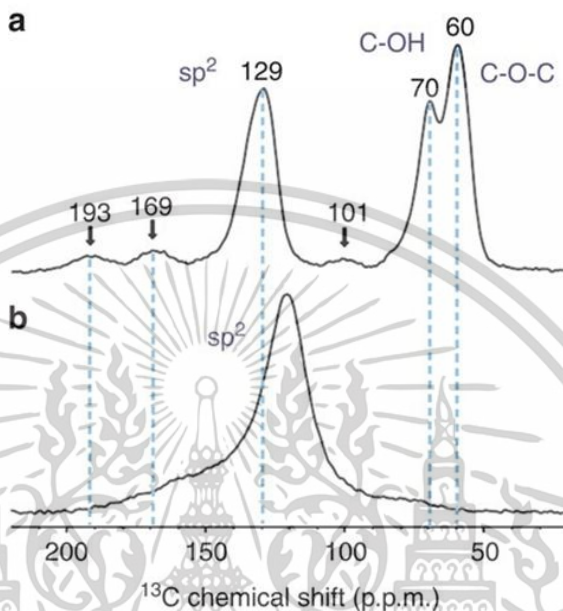
2) การรีดักชันทางเคมี (Chemical reduction)

เป็นกระบวนการทางเคมีที่ใช้สารเคมีในการลดหมู่ฟังก์ชันในโครงสร้าง GO เพื่อเปลี่ยนเป็น RGO โดยสารรีดักชันที่ใช้ในกระบวนการนี้มักเป็นสารเคมีที่สามารถเกิดการให้อิเล็กตรอนกับ GO ได้ ตัวอย่างเช่น Hydrazine [70,71], Sodium borohydride [72], Hydroquinone [73], และสารละลายต่างเข้มข้น [74] โดยวิธีการนี้มีความง่ายและรวดเร็วในการผลิตเมื่อเทียบกับวิธีอื่น และสามารถลดปริมาณออกซิเจนฟังก์ชันนอลออกจากโครงสร้างได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงสามารถควบคุมสภาวะการเกิดปฏิกิริยาได้ ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิหรือความเข้มข้นของสารเคมี ทำให้ได้ RGO ที่มีคุณภาพและสม่ำเสมอ แต่ในทางกลับกันควรคำนึงถึงสารเคมีที่เป็นอันตรายในการใช้งานเนื่องจากสารเคมีที่ใช้ในการรีดักชันเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูง อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ปฏิบัติได้หากไม่มีการจัดการอย่างเหมาะสม

S. Park และคณะ [75] ได้วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของ GO และ RGO โดยใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีสถานะแข็ง (Solid-State Nuclear Magnetic Resonance, SSNMR) RGO ถูกเตรียมได้จากการเติม Hydrazine monohydrate ที่ปริมาณ 1 ไมโครลิตรต่อ 3 มก.ของ GO และตั้งปฏิกิริยาที่ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน ซึ่งเมื่อนำสารดังกล่าวไปตรวจเอกลักษณ์ด้วย SSNMR พบว่า ในสเปกตรัมของ GO (รูปที่ 2.24a) พบพีคที่ตำแหน่ง 193 ppm ซึ่งเป็นพีคที่สัมพันธ์กับกลุ่มคีโต ที่อยู่บริเวณขอบของแผ่นกราฟีน แต่หลังจากทำการรีดิวซ์โดยใช้ Hydrazine ในรูปที่ 2.24b พบว่าพีคที่ 193

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

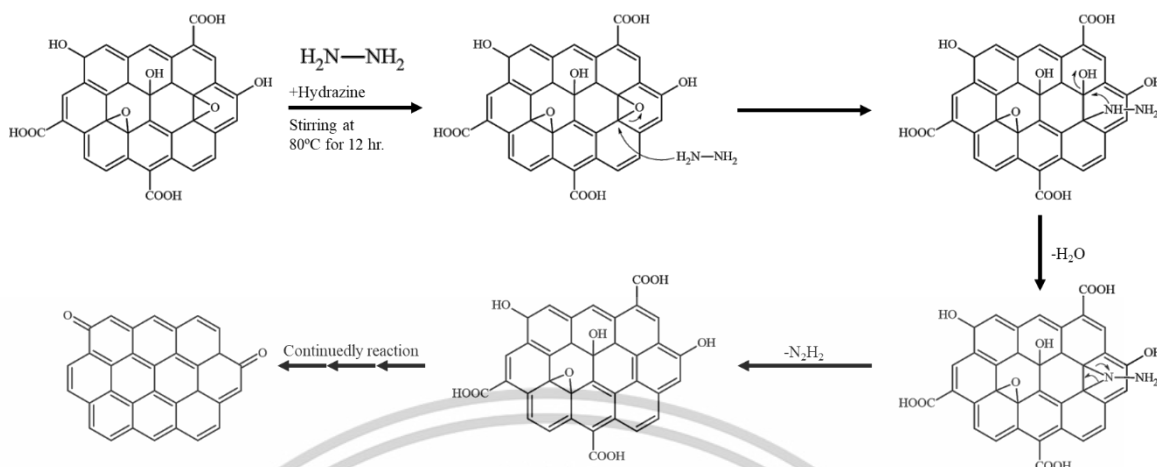
ppm หายไป ซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างทางเคมีที่ขอบของแผ่นกราฟีน การทดลองเพิ่มเติมที่ให้ GO อยู่ในน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยไม่ใช้สารรีดิวซ์พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างทางเคมีของ GO ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงที่พบจึงเป็นผลมาจากการใช้ไฮดราซีนในการรีดิวซ์ GO



รูปที่ 2.24 SSNMR สเปกตรัมของ a) GO และ b) RGO [75]

สำหรับกลไกการรีดักชันด้วยเคมีสามารถอธิบายได้ดังรูปที่ 2.25 กลไกการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ GO ภายใต้การใช้ Hydrazine เป็นสารรีดิวซ์ โดย hydrazine จะทำหน้าที่ในการเปิดวงของกลุ่ม epoxide ที่มีอยู่บนพื้นผิวของ GO ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ภายในโครงสร้างของ GO ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำหลุดออกจากโครงสร้าง และ hydrazine จะเปลี่ยนจาก N_2H_3 ไปเป็น N_2H_2 เป็นสารที่มีความไวในการเกิดปฏิกิริยามากขึ้น หลังจากนั้นจะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ในโครงสร้าง N_2H_2 จะถูกแทนที่ด้วยพันธะคู่คาร์บอน ($\text{C}=\text{C}$) ส่งผลให้โครงสร้างกลับมาเสถียรและเพิ่มคุณสมบัติทางไฟฟ้าได้มากขึ้น hydrazine ทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกับกลุ่มฟังก์ชันออกซิเจนอื่น ๆ บนพื้นผิวของ GO เช่น กลุ่มคาร์บอกซิลิก (Carboxylic), ไฮดรอกซิล (Hydroxyl), และ คาร์บอนิล (Carbonyl) ทำให้เกิดการรีดักชันต่อเนื่อง ส่งผลให้ปริมาณออกซิเจนในโครงสร้างของ GO ลดลง ซึ่งในที่สุดจะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็น RGO [76] ข้อดีของการเกิดปฏิกิริยาผ่านการใช้เคมี สามารถลดอุณหภูมิที่ใช้เมื่อเทียบกับการรีดักชันทางความร้อน อีกทั้งยังสามารถปรับขนาดปริมาณการผลิตได้ง่าย แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายสามารถมีผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมได้เช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



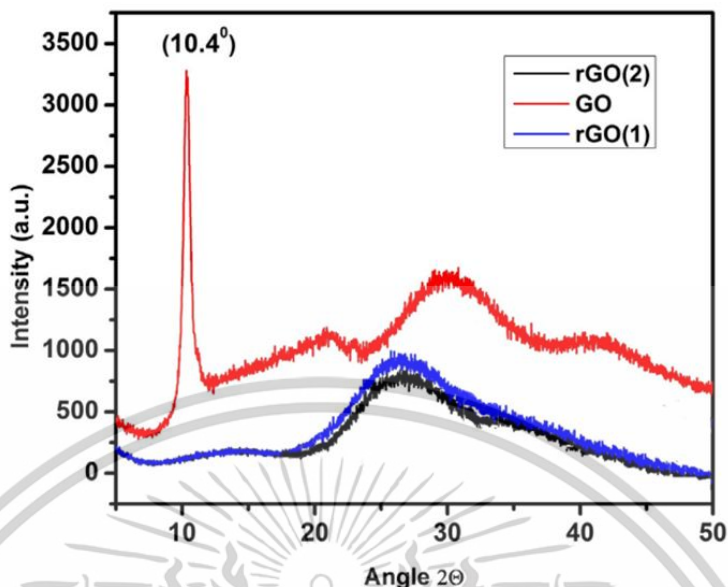
รูปที่ 2.25 กลไกการเกิดเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ GO โดยใช้ Hydrazine เป็นสารรีดิวซ์

3) การสังเคราะห์แบบเคมีสะอาด (Green synthesis)

เป็นวิธีการที่ใช้สารสกัดจากพืชหรือสารอินทรีย์อื่น ๆ เช่น สารสกัดจากชาเขียว [77], ว่านหางจระเข้ [78], ขิง [79], หรือสารจากชีวมวลอื่น ๆ [80] เป็นต้น ซึ่งจะถูกนำมาใช้เป็นตัวรีดักชันแทนสารเคมีที่เป็นพิษ สารเหล่านี้มักมีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่สามารถลดหมู่ฟังก์ชันออกซิเจนบน GO ให้กลายเป็น RGO

S. Rattan และคณะ [81] ได้ทำการศึกษาวิธีการใหม่ในการลดการใช้สารอันตรายในการรีดิวซ์ GO ให้อยู่ในรูปของ RGO โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ เช่นขิงและกระเทียม เป็นสารรีดิวซ์แทนการใช้ Hydrazine สารสกัดจากขิงและกระเทียมได้มาจากการให้คลื่นความถี่พลังงานสูงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาทีถึง 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารละลายเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์ สำหรับขั้นตอนในการรีดักชัน GO เติม 10 มล. ของสารสกัดแต่ละชนิดลงในสารละลาย GO ที่ปริมาตร 90 มล. และให้คลื่นความถี่พลังงานสูงเป็นเวลา 30 นาที สารละลายที่ได้นำมาตรวจเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD ดังแสดงรูปที่ 2.26 พบว่า GO เริ่มต้นมีค่าหักเหอยู่ที่ 10.4° ในระนาบที่ 001 และพบพีคที่มีลักษณะกว้างที่ 28° ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของ RGO โดยผลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากขิงและกระเทียมสามารถทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ได้เช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.26 XRD สเปกตรัมของ GO และ RGO ที่ได้จากการใช้สารสกัดของขิงและกระเทียมที่ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ [81]

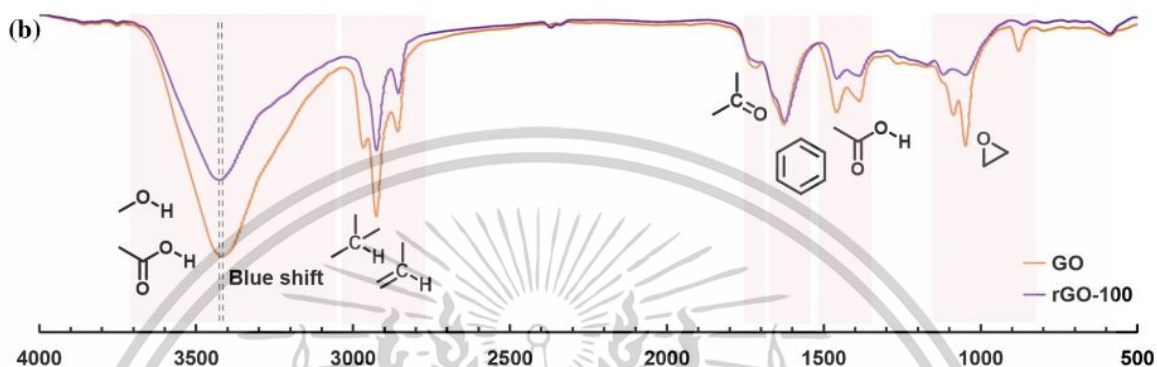
4) การใช้ไมโครเวฟช่วยในการรีดักชัน (Microwave-assisted reduction)

วิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงและสามารถลดเวลาในการรีดักชันได้อย่างมากเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ มักไม่ต้องใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายหรือใช้ในปริมาณน้อย ทำให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่า แต่ก็มีข้อเสียที่ต้องพิจารณาเช่นกัน เช่น การใช้ไมโครเวฟอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ไม่สมบูรณ์ เกิดความร้อนที่ไม่สม่ำเสมอในวัสดุ หรือปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเร็วเกินไป จนทำให้การควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ยากขึ้น และอาจทำให้โครงสร้างของ RGO ที่ได้มีความไม่สม่ำเสมอ ส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ไม่เหมือนกันทั่วทั้งแผ่น

Xu Xiang และคณะ [82] ได้ทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการสังเคราะห์ RGO ด้วยเครื่องไมโครเวฟ โดยทำการเตรียม GO ที่ความเข้มข้น 2.5 มก./มล. และให้คลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้ GO เกิดการกระจายได้ดีในน้ำ จากนั้นนำไปรีดิวซ์ด้วยเครื่องไมโครเวฟ ที่กำลัง 800 วัตต์ เป็นเวลา 100 นาที สารที่ได้หลังจากการรีดิวซ์นำไปตรวจวิเคราะห์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค FTIR เพื่อดูผลการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้าง แสดงดังรูปที่ 2.27 สเปกตรัม FTIR ของ GO เปรียบเทียบกับ RGO พบว่า ในตัวอย่างของ RGO ที่ได้จากการรีดักชันของ GO พบว่าความเข้มของพีคการดูดซับที่ 1050 cm^{-1} อ่อนลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ GO ซึ่งบ่งบอกว่าหมู่ไฮดรอกซิลใน RGO ลดลง สำหรับ GO นั้นยังมีหมู่คาร์บอกซิลิกซึ่งปรากฏอยู่ในพีคการดูดซับหลักที่ 1380 cm^{-1} (การสั่นแบบยืดของ C–O), 1450 cm^{-1} (การสั่นแบบงอของ O–H), 1700 cm^{-1} (การสั่นแบบยืดของ C=O), และ 3400 cm^{-1} (การสั่นแบบยืดของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

O-H) เมื่อเปรียบเทียบกับ RGO ความเข้มของพีคทั้งสาม ยกเว้นที่ 1700 cm^{-1} ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณของหมู่คาร์บอกซิลในโครงสร้างลดลงอย่างมาก จากผลดังกล่าวสรุปได้ว่าประสบความสำเร็จในการใช้ไมโครเวฟช่วยในการรีดักชันของ GO แต่ยังคงพบกลุ่มออกซิเจนฟังก์ชันนอลอยู่บ้างในโครงสร้างของ RGO เมื่อเทียบกับการรีดักชันด้วยวิธีทางเคมี

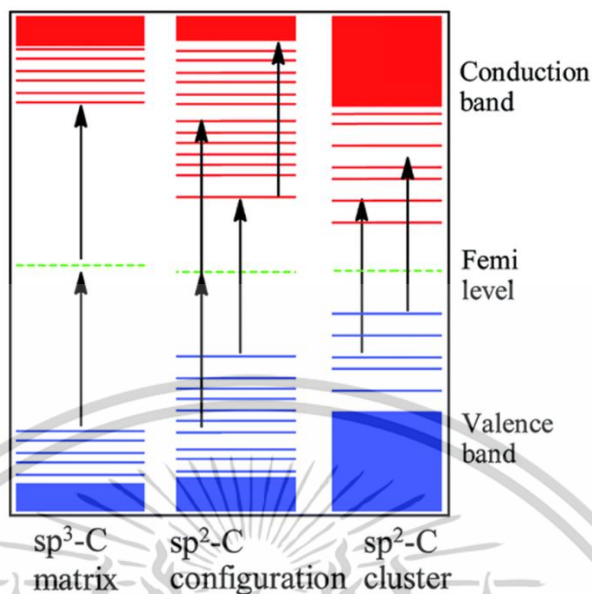


รูปที่ 2.27 สเปกตรัม FTIR ของ GO และ RGO ที่ใช้ไมโครเวฟช่วยในการรีดักชันเป็นเวลา 100 นาที [82]

2.3.3.2 สมบัติทางไฟฟ้าของ RGO (Electrical properties)

สมบัติทางไฟฟ้าของ RGO นั้นมีความเกี่ยวข้องอย่างมากกับโครงสร้างและการจัดเรียงตัวของอะตอมคาร์บอนในรูปแบบของตาข่ายสองมิติ โดยอะตอมของคาร์บอนแต่ละอะตอมจะสร้างพันธะกับอะตอมข้างเคียงสามอะตอมผ่านการจัดเรียงตัวของอิเล็กตรอนในอะตอม ^{12}C ซึ่งมีการจัดอิเล็กตรอนในออร์บิทัล $1s^2 2s^2 2p^2$ ในกระบวนการนี้ ออร์บิทัล $2s$ และออร์บิทัล $2p$ (ประกอบด้วย $2p_x$ และ $2p_y$) จะเกิดการผสมกัน (Hybridization) กลายเป็นไฮบริดออร์บิทัลชนิด sp^2 ซึ่งจะอยู่ในระนาบเดียวกัน ทำให้คาร์บอนแต่ละอะตอมมีพันธะซิกมา (σ bond) กับอะตอมคาร์บอนข้างเคียงภายในระนาบเดียวกัน นอกจากนี้ยังมีออร์บิทัลว่างหรือ $2p_z$ (Unhybridized p_z orbital) ที่ยื่นออกมาจากระนาบของตาข่าย ซึ่งทำให้อิเล็กตรอนพาย (π -electrons) สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระภายในโครงสร้าง ซึ่งส่งผลให้ RGO มีสมบัติการนำไฟฟ้าที่ดี เนื่องจากอิเล็กตรอนเหล่านี้ทำหน้าที่เป็นตัวพาไฟฟ้า (Charge carriers) ที่สามารถเคลื่อนที่ผ่านโครงสร้างได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ ความสามารถในการนำไฟฟ้าของ RGO ยังขึ้นอยู่กับสัดส่วนของคาร์บอน sp^2 และ sp^3 ในโครงสร้าง ดังรูปที่ 2.28 แสดงแถบพลังงานของคาร์บอนที่มีการจัดเรียงอิเล็กตรอนแบบต่างๆ การเปลี่ยนจาก sp^3 ไปยัง sp^2 ซึ่งเกิดจากการลดจำนวนของหมู่ฟังก์ชันที่มีออกซิเจนลงหลักจากการรีดิวซ์ GO ไปเป็น RGO ซึ่งส่งผลให้แถบพลังงานมีช่องว่างลดลงและการนำไฟฟ้าที่ดีขึ้น [83]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



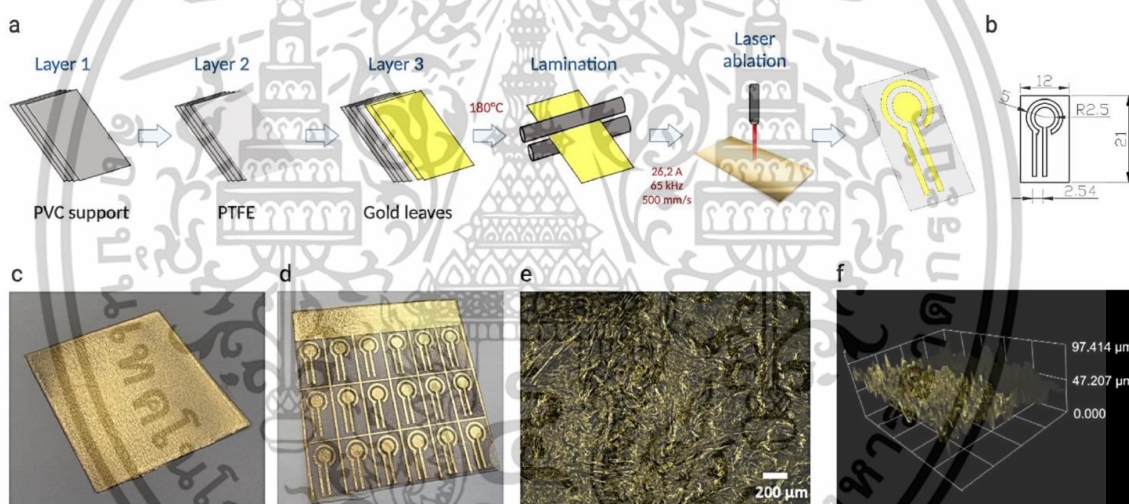
รูปที่ 2.28 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแถบพลังงานที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างคาร์บอนแบบไฮบริดในวัสดุกราฟีน [83]

2.4 การสร้างขั้วไฟฟ้า (Working electrode)

การใช้งานขั้วไฟฟ้าอิเล็กโทรดโดยทั่วไปที่หาซื้อได้ในเชิงพาณิชย์ เช่น gold electrode, platinum electrode, carbon electrode และ screen-printed electrode (SPE) มีข้อจำกัดหลายประการ ซึ่งสำคัญที่สุดคือราคาที่สูง เนื่องจากวัสดุที่ใช้ในการผลิตเป็นโลหะมีค่าหรือวัสดุพิเศษที่ต้องการการผลิตที่ซับซ้อนและไร้สิ่งปนเปื้อน อีกทั้งยังต้องใช้แรงงานด้วยความระมัดระวัง เพราะอิเล็กโทรดเหล่านี้มีโอกาสเสียหายง่ายและจำเป็นต้องผ่านกระบวนการทำความสะอาดที่ใช้เวลานานหลังจากการใช้งาน โดยเฉพาะในกรณีที่มีการปรับปรุงพื้นผิวเพื่อเอื้อต่อการใช้งานในรูปแบบต่างๆ จึงทำให้เกิดความยุ่งยากในการใช้งานสำหรับงานวิจัยที่ต้องการใช้อิเล็กโทรดหรือจำเป็นต้องใช้ในการตรวจวิเคราะห์จำนวนมาก ปัจจุบันเหล่านี้ได้นำไปสู่การค้นหาวิธีการใหม่ๆ หรือแหล่งวัสดุโลหะที่มีราคาถูกกว่า เพื่อใช้ในการพัฒนาอุปกรณ์ที่มีราคาประหยัดและสามารถใช้แล้วทิ้งได้ ทองคำเปลว 24 กะรัตจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจในการนำมาผลิตขั้วไฟฟ้าอิเล็กโทรดแบบใช้แล้วทิ้ง เนื่องจากทองคำเปลวมีความบริสุทธิ์สูงถึง 99% และมีราคาไม่สูงนัก ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือการผลิตที่ซับซ้อนหรือเทคโนโลยีขั้นสูงรวมทั้งไม่ต้องใช้ห้องปฏิบัติการที่ต้องการการควบคุมพิเศษ อีกทั้งยังสามารถสร้างขั้วไฟฟ้าในรูปแบบที่ซับซ้อนและปรับเปลี่ยนได้ตามความต้องการของผู้ใช้งาน ทำให้ทองคำเปลวจึงเป็นที่สนใจนำมาประยุกต์ใช้ในการสร้างขั้วไฟฟ้าอิเล็กโทรดทองคำเปลว (Goldleaf electrode หรือ GLE) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากทองคำเปลวเป็นวัสดุที่มีความบางและเปราะบางมาก จึงเป็นอีกความท้าทายหนึ่งในการพัฒนาวิธีการสร้าง GLE ดังกล่าว ในช่วงปีที่ผ่านมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีรายงานการพัฒนา GLE อยู่จำนวนหนึ่ง เช่น I. Podunavac และคณะ [84] ได้สร้าง GLE แบบใช้แล้วทิ้งขึ้นในห้องปฏิบัติการโดยใช้ทองคำบริสุทธิ์ 24 กระรัต โดยใช้เทคนิคการขึ้นรูปด้วยเลเซอร์ (laser ablation) รูปที่ 2.29a แสดงภาพการสร้างอิเล็กโทรด GLEs ทำโดยนำแผ่นทองคำ (ขนาด 80 มิลลิเมตร \times 80 มิลลิเมตร) มาวางบนแผ่นสติ๊กเกอร์เสริมแรง PVC/PTFE จากนั้นจึงนำแผ่นทองคำมาติดโดยใช้เครื่องเคลือบที่อุณหภูมิ 180 °C เพื่อยึดติดทองคำเปลวเข้ากับแผ่นสติ๊กเกอร์ ต่อมาใช้เครื่องเลเซอร์ในการตัดลวดลายตามรูปแบบของอิเล็กโทรดที่ได้ออกแบบไว้ ที่กระแสไฟ 26.2 แอมป์, ความถี่ 65 กิโลเฮิร์ตซ์, และอัตราเร็ว 500 มิลลิเมตรต่อวินาที ขนาดและรูปร่างของอิเล็กโทรดที่ผลิตได้แสดงดังรูปที่ 2.29b ซึ่ง GLE ที่ได้สามารถทำปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีได้ในปริมาณตัวอย่างเพียง 50 ไมโครลิตร รูปที่ 2.29c และ d แสดงภาพของชั้นแผ่นทองคำเปลวก่อนและหลังทำการตัดด้วยเลเซอร์โดยอิเล็กโทรดเหล่านี้สามารถสร้างขึ้นจากการผลิตครั้งเดียวได้ถึง 18 ชิ้น ภาพสองมิติและสามมิติของพื้นผิวอิเล็กโทรดแสดงดังรูปที่ 2.29e และ f ซึ่งมีลักษณะเป็นคลื่นระดับไมโครเมตร

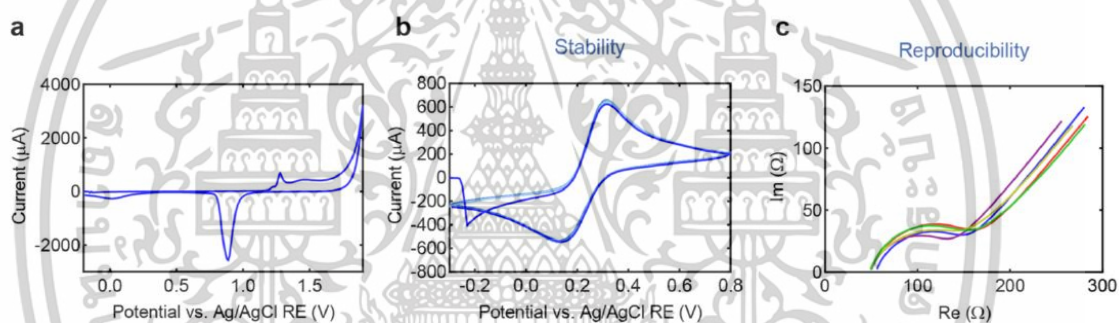


รูปที่ 2.29 (a) ขั้นตอนการสร้าง GLE (b) ขนาดและรูปร่างของ GLE (c) รูปภาพชั้นงานทองคำเปลวก่อนและ (d) หลังทำการตัดด้วยเลเซอร์ และภาพพื้นผิว GLE (e) แบบสองมิติและ (e) แบบสามมิติ [84]

GLE ที่สร้างขึ้นถูกนำไปทำความสะอาดผิวหน้าและตรวจสอบเอกลักษณ์ทางผลึกด้วยเทคนิค CV ภายใต้อัตราการสแกน 0.5 โวลต์ต่อวินาที กรดซัลฟิวริก จำนวน 10 รอบ ที่อัตราการสแกน 0.5 โวลต์ต่อวินาที จากผล CV ที่ได้ (รูปที่ 2.30a) แสดงผลการเกิดออกซิเดชันของทองคำที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าประมาณ +1.30 โวลต์ (เทียบกับขั้วอ้างอิง Ag/AgCl) และพีครีดักชันที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าประมาณ +0.80 โวลต์ ซึ่งบ่งบอกถึงการรีดักชันของชั้นทองออกไซด์ที่ผิวของอิเล็กโทรดที่เกิดขึ้นจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้รูปแบบของ CV ที่ได้ถือเป็นลักษณะเฉพาะของผลึกทองคำที่มีพื้นผิวเป็นเนื้อเดียวกันหมด ต่อมาทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจสอบความเสถียรของ GLE ที่สร้างขึ้นด้วยเทคนิค CV ภายใต้ 10 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS (รูปที่ 2.30b) แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยารีดอกซ์ Fe^{2+}/Fe^{3+} แสดงพีคของการออกซิเดชันและการรีดักชันที่ชัดเจน ค่ากระแสไฟฟ้าที่วัดได้จากปฏิกิริยาทั้งสองมีค่าคงที่หลังจากการสแกน 25 ครั้งติดต่อกัน ซึ่งบ่งชี้ว่า GLE มีความเสถียรที่ดีมาก นอกจากนี้การทดสอบ EIS ในสารละลาย $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ได้แสดงวงจรร Nyquist plot ที่มีค่าความต้านทานในการถ่ายโอนประจุ (R_{ct}) ต่ำ ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถในการนำไฟฟ้าที่ดีของอิเล็กโทรด และยังแสดงผลการทดสอบที่ชี้ให้เห็นถึงความสามารถในการผลิตซ้ำของขั้วไฟฟ้า GLE ซึ่ง GLE ทั้ง 5 ชั้นนี้ให้ค่า R_{ct} ที่มีค่าใกล้เคียงกันในช่วง 97.54 ถึง 117.66 โอห์ม (รูปที่ 2.30c) จากผลการตรวจสอบทั้งหมดนี้สามารถสรุปได้ว่ากระบวนการสร้าง GLE นี้ไม่ต้องการอุปกรณ์ขั้นสูง สามารถผลิตอิเล็กโทรดได้อย่างรวดเร็วและมีต้นทุนต่ำเพียงตกชั้นละประมาณ 4 บาท โดยยังสามารถผลิตอิเล็กโทรดได้ในเวลาเพียงไม่กี่นาทีต่อชั้น อีกทั้งยังสามารถสร้างอิเล็กโทรดได้หลายชั้นพร้อมกันในครั้งเดียว

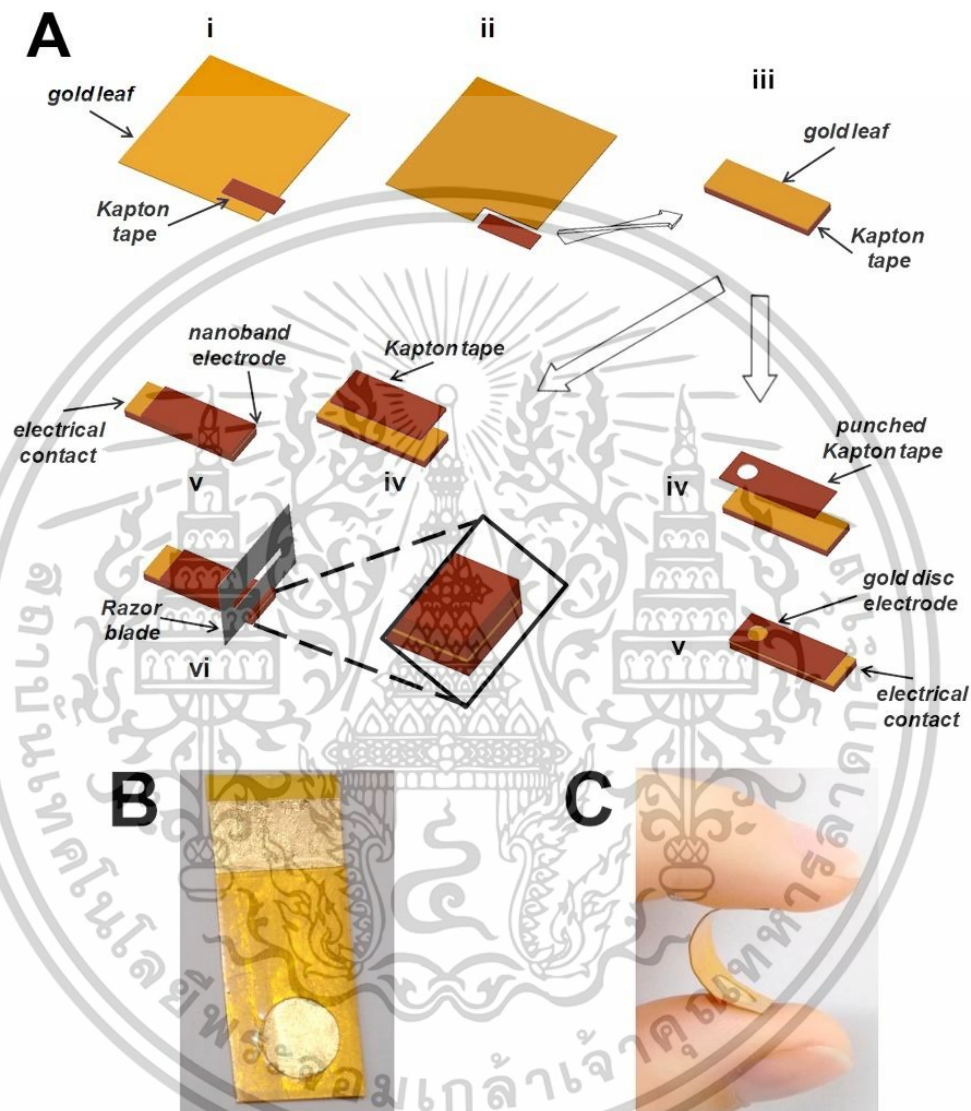


รูปที่ 2.30 เอกลักษณะทางไฟฟ้าของ GLE ที่สร้างขึ้น (a) CV ภายใต้ 0.5 โมลต่อลิตร กรดซัลฟิวริก ที่อัตราการสแกน 0.5 โวลต์ต่อวินาที (b) CV ภายใต้ 10 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS สแกนจำนวน 25 รอบ (c) EIS ของ GLE จำนวน 5 ชั้น ภายใต้ 10 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS [84]

M.S.F. Santos และคณะ [85] ได้พัฒนาวิธีการสร้าง GLE ที่ง่ายและสะดวกมากขึ้นด้วยการใช้เทปพอลิอิมิดเป็นวัสดุเสริมความแข็งแรง รูปแบบการสร้าง planar-disc GLE และ nanoband GLE แสดงดังรูปที่ 2.31A นำเทปพอลิอิมิดขนาด 10 มิลลิเมตร x 25 มิลลิเมตร มาติดบนทองคำเปลวและกดเบาๆ เพื่อให้วัสดุทั้งสองแนบติดกัน (ขั้นตอนที่ i ถึง iii) จากนั้นนำเทปพอลิอิมิดอีกชั้น (10 มิลลิเมตร x 20 มิลลิเมตร) ที่ถูกเจาะด้วยเครื่องเจาะกระดาษขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร มาติดลงบนแผ่นทองคำเพื่อกำหนดพื้นที่ผิวของอิเล็กโทรดในการทำปฏิกิริยา บริเวณที่ผิวเปลือยของแผ่นทองคำถูกเคลือบด้วยหมึกเงินนำไฟฟ้าที่ช่วยเสริมความแข็งแรงและใช้สำหรับเป็นจุดเชื่อมต่อทางไฟฟ้า ตามรายละเอียดใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอน iv และ v โดยพื้นที่ที่ถูกกำหนดเป็นบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาทางไฟฟ้า (planar-disc) สามารถปรับเปลี่ยนได้โดยการเลือกใช้ขนาดต่างๆ หรือรูปทรงที่ต้องการ ภาพมุมมองด้านหน้าของของชิ้นงานจริง GLE และมุมมองด้านข้างระหว่างการโค้งงอแสดงในรูปที่ 2.31B และ C ตามลำดับ

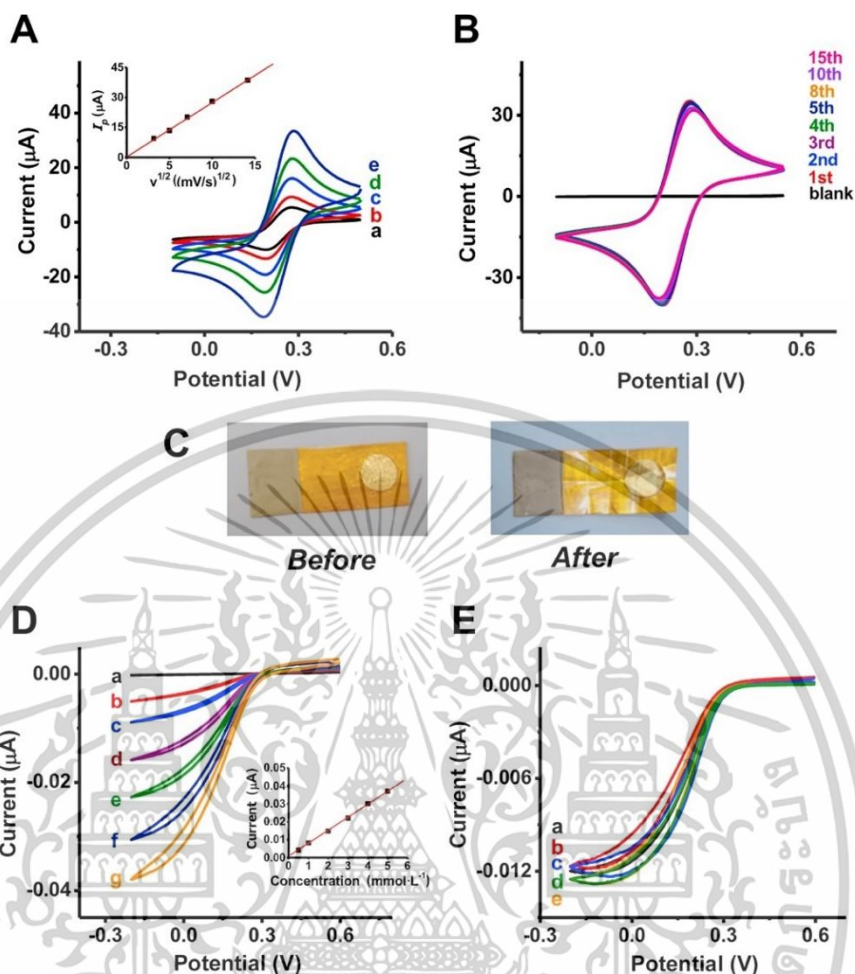


รูปที่ 2.31 (A) แผนภาพแสดงกระบวนการผลิตขั้วไฟฟ้าแบบ planar-disc (ด้านขวา) และขั้วไฟฟ้าแบบแถบนาโน (ด้านซ้าย) (B) ภาพมุมมองด้านหน้าของขั้วไฟฟ้าทองคำเปลวแบบ planar-disc และ (C) ภาพมุมมองด้านข้างของขั้วไฟฟ้าทองคำเปลวขณะถูกทำให้งอ [85]

ในการเปรียบเทียบพฤติกรรมทางไฟฟ้าเคมีของ GLE ที่สร้างขึ้นกับอิเล็กโทรดทองคำอื่นๆ ทำได้ การทดลองวัดด้วยเทคนิค CV ภายใต้อัตรา 0.2 โวลต์ต่อลิตร กรดซัลฟิวริก จากการทดลองพบว่าพฤติกรรมทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฟฟ้าเคมีของ GLE มีความคล้ายคลึงอิเล็กโทรดทองคำแบบอื่นๆที่มีจำหน่ายเชิงพาณิชย์ ซึ่งสอดคล้องกับ โพรไฟล์ CV ที่มีลักษณะเอกลักษณ์เฉพาะตามที่มีรายงานในงานวิจัยอื่นๆ โดยในการสแกนไปข้างหน้า หรือปฏิกิริยาออกซิเดชันพบพีคที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ 1.35 โวลต์ สัมพันธ์กับการเกิดออกไซด์ของทอง และระหว่างการสแกนย้อนกลับพบพีครีดักชันที่ประมาณ 0.90 โวลต์ สัมพันธ์กับการรีดักชันของทอง ออกไซด์ที่เกิดขึ้น ต่อมาเพื่อพฤติกรรมทางไฟฟ้าที่เป็นผลมาจากอัตราการสแกนที่แตกต่างกันในช่วง 10 ถึง 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ภายใต้ 1 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 แสดง ในรูปที่ 2.32A กราฟความสัมพันธ์ของกระแสไฟฟ้าสูงสุดกับรากที่สองของอัตราการสแกนแสดงความ เป็นเส้นตรง (ภายในรูปที่ 2.32A) ซึ่งบ่งบอกถึงกระบวนการไฟฟ้าเคมีที่เกิดขึ้นเป็นการเกิดแบบการแพร่ของ ประจุบนผิวอิเล็กโทรด นอกจากนี้ GLE ถูกทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปร่างอย่างรุนแรงจำนวน 15 ครั้ง หลังจากการเปลี่ยนรูปร่างแต่ละครั้ง (เช่น การโค้งงอและการพับอิเล็กโทรด) ได้มีการทดสอบด้วย CV ภายใต้ 1 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ดังที่แสดงในรูปที่ 2.32B พบว่าไม่ แสดงการสูญเสียการเชื่อมต่อทางไฟฟ้าหรือการเปลี่ยนแปลงของการตอบสนองของอิเล็กโทรด โดย ตัวอย่างชิ้นงานก่อนและหลังทำให้เกิดการเสียรูปร่างแสดงดังรูปที่ 2.32C และในประเมินประสิทธิภาพ ของอิเล็กโทรดชนิดแถบนาโน ด้วยเทคนิค CV ภายใต้ความเข้มข้นของ $K_3[Fe(CN)_6]$ ที่เพิ่มขึ้นใน สารละลาย KNO_3 ตามที่แสดงในรูปที่ 2.32D จากกราฟแสดงข้อมูลระหว่างค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดและ ความเข้มข้นสารรีดอกซ์ ภายในรูปที่ 2.32D พบว่าค่ากระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรงเมื่อความ เข้มข้นของ $K_3[Fe(CN)_6]$ เพิ่มจาก 0.5 ถึง 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์เส้นตรง (R^2) เท่ากับ 0.9998 เนื่องจากวัสดุที่ใช้เป็นแผ่นฐานรองในการผลิตอิเล็กโทรดมีความยืดหยุ่น การขัดพื้นผิวของทองคำ จึงเป็นงานที่ทำได้ยาก อย่างไรก็ตาม การปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กโทรดสามารถทำได้อย่างง่ายดายและรวดเร็ว เพียงแค่ใช้มีดโกนตัดส่วนปลายของอิเล็กโทรดออกเล็กน้อย (ประมาณ 0.5 มม.) การทดสอบด้วยเทคนิค CV ภายใต้ 2 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ถูกทดลองซ้ำทั้งหมด 5 รอบ หลังจากการตัดส่วนปลายของอิเล็กโทรดแต่ละครั้ง ซึ่งผลลัพธ์แสดงในรูปที่ 2.32E พบว่าค่าความ เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ของค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดมีค่าเท่ากับ 3.8% แสดงให้เห็นว่าพื้นที่พื้นผิว มีการทำซ้ำได้ดี จากผลการทดลองทั้งหมดบ่งชี้ว่าประสบความสำเร็จในการสร้าง GLE แบบใช้แล้วทิ้งที่มี ต้นทุนราคาถูกและยังคงให้ประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับอิเล็กโทรดที่มีการจัดจำหน่ายในเชิงพาณิชย์อีกด้วย



รูปที่ 2.32 (A) CV ของ 3 มิลลิเมตร planar-disc GLE ภายใต้ 1 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ที่อัตราการสแกน (a) 10, (b) 20, (c) 50, (d) 100, และ (e) 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ภายในรูปแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสไฟฟ้ากับรากที่สองของอัตราการสแกน, (B) CV ของ 6 มิลลิเมตร planar-disc GLE ภายใต้ 1 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที หลังจากทำให้เกิดการเสีรูปเชิงกล 15 ครั้ง, (C) ชิ้นงานก่อนและหลังทำให้เกิดการเสีรูปเชิงกล, (D) CV ของ Nanoband GLE ภายใต้เพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของ $K_3[Fe(CN)_6]$ (ตั้งแต่ (a) 0.5 ถึง (g) 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร) ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที, และ (E) CV ของ GLE ที่ทำการตัดส่วนปลาย: (a: ครั้งที่หนึ่ง b: ครั้งที่สอง c: ครั้งที่สาม d: ครั้งที่สี่ และ e: ครั้งที่ห้า) ภายใต้ 2 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.2 มิลลิโมลต่อลิตร KNO_3 ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที [85]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 การวิเคราะห์เชิงปริมาณของ AFB1

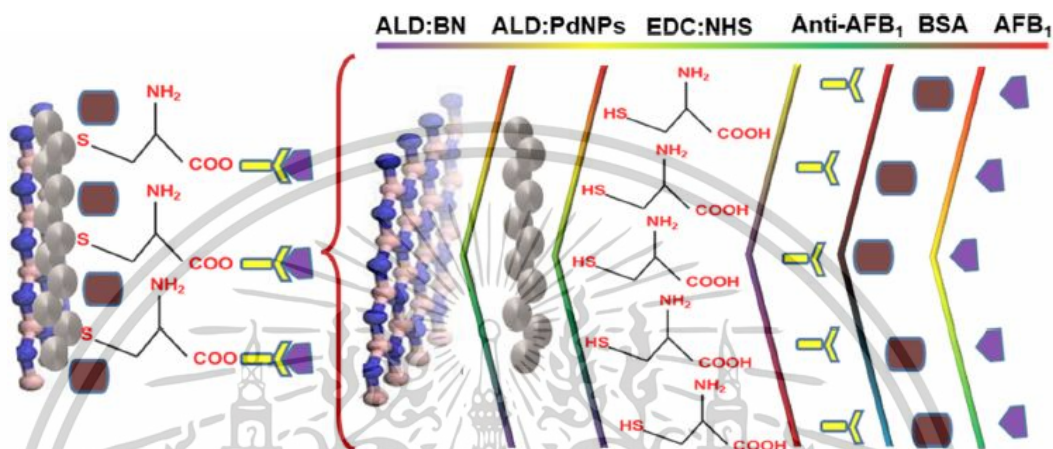
Y. Wang และคณะ [86] ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ใหม่ที่ใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับแบบเส้นใยนาโน (Packed-nanofibers Solid-Phase Extraction: PFSPE) ควบคู่กับการวิเคราะห์ HPLC-FLD เพื่อตรวจวัด AFs (G1 G2 B1 และ B2) ในอาหารจากพืช (อัลมอนต์, แปะก๊วย, ถั่วลิสง, เม็ดมะม่วงหิมพานต์, อาหารสัตว์) และอาหารจากสัตว์ (ตับหมู, ตับเป็ด, ตับไก่, เลือดหมู, ลำไส้เป็ด, กิ่งเป็ด) โดยกระบวนการเตรียมตัวอย่างเริ่มจากการบดและผสมตัวอย่างให้ละเอียด จากนั้นนำตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงและเติมสารละลายเมทานอล 70% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทำการวอร์เท็กซ์และอัลตราโซนิกเพื่อทำการสกัดสารตัวอย่าง จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 8000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนบนและดูดซับด้วย PFSPE และทำการล้างตัวดูดซับด้วยอะซิโตนไตรล์ 750 ไมโครลิตร และเก็บสารละลายในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1 มิลลิลิตร และทำการติดอนุพันธ์โดยทำให้แห้งภายใต้แก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 50°C หลังจากสารละลายแห้ง เติมเฮกเซน 200 ไมโครลิตร และกรดไตรฟลูออโรอะซิติก 100 ไมโครลิตร วอร์เท็กซ์และผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการติดอนุพันธ์โดยสมบูรณ์ หลังจากการติดอนุพันธ์เสร็จสิ้น ทำให้แห้งอีกครั้งภายใต้แก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 50°C และเติมสารละลาย 200 ไมโครลิตร ของเฟสเคลื่อนที่เพื่อนำไปตรวจด้วย HPLC สำหรับการตรวจวัด AFB1 ด้วย HPLC-FLD โดยใช้คอลัมน์ Shimadzu Inertsustain C18 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย น้ำกลั่น: เมทานอล: อะซิโตนไตรล์ (67: 19: 14 โดยปริมาตร) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้เวลาทั้งหมด 20 นาที ความยาวคลื่นกระตุ้นและตรวจจับความยาวคลื่นการเรืองแสงที่ 360 และ 440 นาโนเมตร ตามลำดับ จากวิธีดังกล่าวในการตรวจวิเคราะห์ AFB1 ในช่วง 0.5–50.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในค่า Rt อยู่ที่ประมาณ 13 นาที สมการเชิงเส้นของวิธีนี้คือ $y = 386061x - 472765$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9993$ และขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) คือ 0.08 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร วิธีนี้ให้ผลการคืนกลับที่ดีในตัวอย่างจริงในช่วง 93.00% ถึง 106.00%

2.5.2 การปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้าด้วยอนุภาคนาโนโลหะในการตรวจหาปริมาณ AFB1

K. Kunene และคณะ [87] ได้สร้างอิเล็กโทรเคมีไบโอเซนเซอร์สำหรับตรวจวัด AFB1 โดยการตรึงแอนติบอดี AFB1 ไว้บนชั้นของ L-cysteine (L-Cys) ซึ่งใช้ตัวกลางเชื่อมโยงระหว่างแอนติบอดีกับอิเล็กโทรดคาร์บอนเฟลต์ (CF) ที่ถูกปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนพลาตินัม-โบรอนไนไตรด์ (PdNP-BN) ชั้นสอง การสร้างไบโอเซนเซอร์ดังแสดงรูปที่ 2.33 โดยเริ่มจากการปรับพื้นผิวของ CF ด้วย BN และ PdNP ตามลำดับ ด้วยเทคนิคการเคลือบฟิล์มบาง (Atomic Layer Deposition, ALD) จากนั้นนำอิเล็กโทรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PdNP-BN/CF แขนในสารละลาย L-Cys ข้ามคืนเพื่อสร้างคอมเพล็กซ์ระหว่าง Cys/PdNP ผ่านพันธะไทออล หลังจากนั้นทำการปรับพื้นผิวเพิ่มเติมด้วย EDC และ NHS เพื่อเปลี่ยนหมู่คาร์บอกซิลของ Cys ให้เป็นเอสเทอร์ NHS ซึ่งมีความจำเพาะต่อหมู่อะมิโนในแอนติบอดี AFB₁ สุดท้ายเคลือบผิวด้วย BSA เพื่อบล็อกจุดจับที่เหลืออยู่บนอิเล็กโทรด

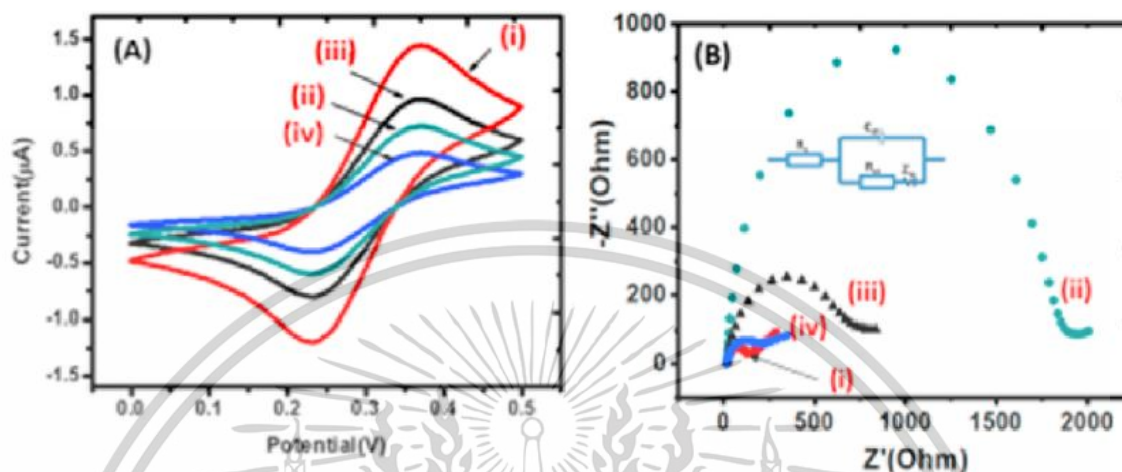


รูปที่ 2.33 ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัด AFB₁ [87]

ในการตรวจสอบกระบวนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ CV และ EIS ได้ถูกนำมาใช้ภายใต้สารละลายรีดอกซ์ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร KCl จากผล CV (รูปที่ 2.34A) แสดงให้เห็นว่า PdNP-BN/CF (กราฟ i) การเกิดปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีแบบย้อนกลับได้ พร้อมกับกระแสแอนอดิก (Ipa) 1.45 ไมโครแอมป์ซึ่งการเกิดขึ้นของกระแสเกิดจากพฤติกรรมเร่งปฏิกิริยาของ BN ที่ช่วยถ่ายโอนอิเล็กตรอนได้เร็วขึ้น และเมื่อทำการตรึง L-Cys บนพื้นผิวอิเล็กโทรด Ipa ลดลงเหลือ 0.73 ไมโครแอมป์ (กราฟ ii) เนื่องจาก L-Cys ลดแรงต้านไฟฟ้าของประจุลระหว่าง $-\text{COOH}$ ของ L-Cys และประจุลบของ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ และเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อทำการตรึงแอนติบอดีบนพื้นผิว Ipa เพิ่มขึ้นเป็น 0.97 ไมโครแอมป์ (กราฟ iii) แสดงให้เห็นว่าแอนติบอดี AFB₁ ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่าง L-Cys/PdNP-BN และ CF และสุดท้ายเมื่อบล็อกด้วย BSA Ipa ลดลงเป็น 0.50 ไมโครแอมป์ (กราฟ iv) การวิเคราะห์ EIS ยังแสดงให้เห็นความสำเร็จของการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ โดยใช้วงจร Randles สำหรับการพิตข้อมูลอิมพีแดนซ์ ซึ่งวงจรประกอบด้วยความต้านทานของอิเล็กโทรไลต์ (R_s), คาปาซิแตนซ์ชั้นคูไฟฟ้า (Cdl), ความต้านทานการถ่ายโอนประจุ (R_{ct}) และ Warburg impedance ดังรูปที่ 2.34B ใน PdNP-BN/CF (กราฟ i) ค่า R_{ct} เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 84 โอห์ม เนื่องจากความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของ PdNPs และ BN เมื่อเติม L-Cys บนพื้นผิว R_{ct} เพิ่มขึ้นเป็น 1200 โอห์ม (กราฟ ii) แสดงให้เห็นว่า L-Cys สามารถขัดขวางการถ่ายโอนประจุ และหลังจากตรึงแอนติบอดี ค่า R_{ct} ลดลงเป็น 567 โอห์ม (กราฟ iii) บ่งชี้ว่ามีการตรึง

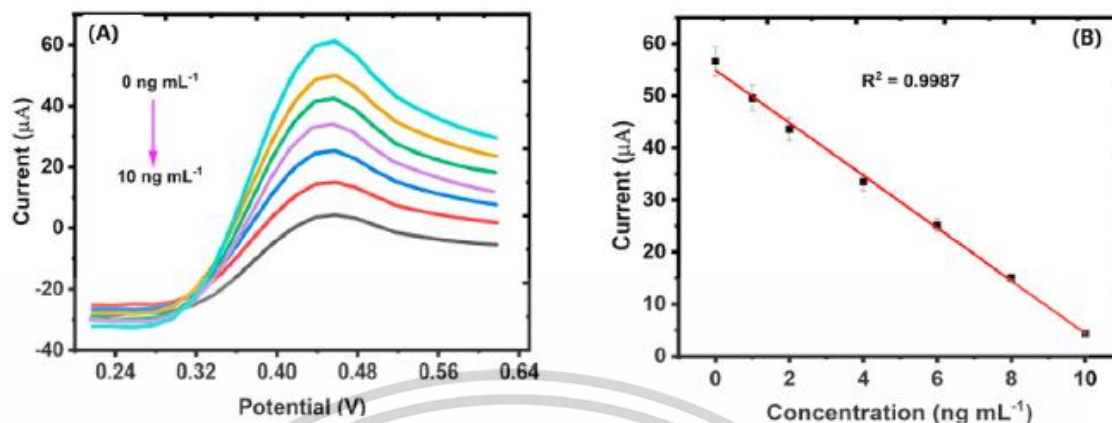
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอนติบอดีบนพื้นผิวอิเล็กโทรด และค่า Rct ยังคงลดลงหลังจากตรึง BSA (กราฟ iv) ยืนยันการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ได้สำเร็จ



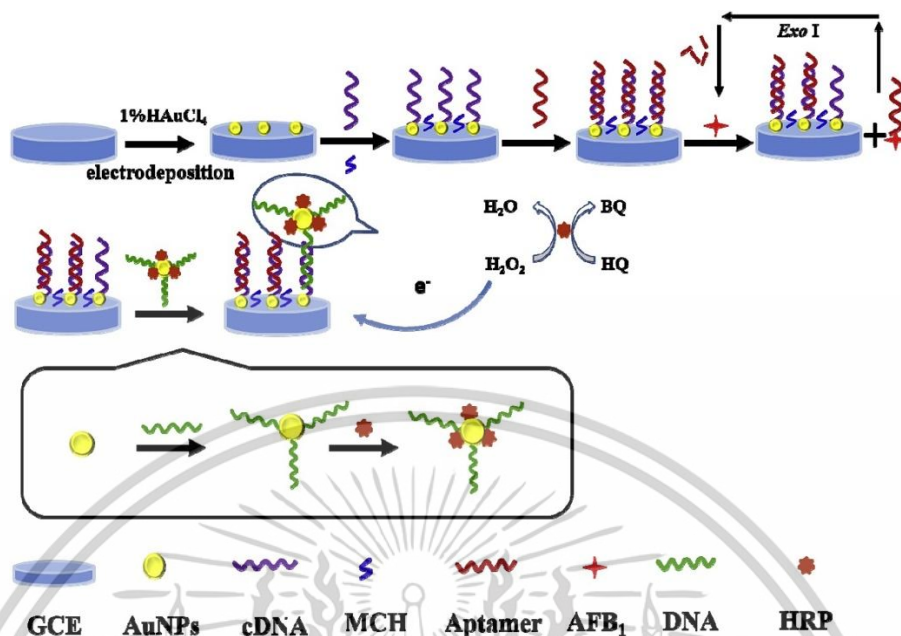
รูปที่ 2.34 (A) CV และ (B) EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของการสร้างไบโอเซ็นเซอร์ในแต่ละขั้นตอน (i) PdNP-BN/CF, (ii) L-Cys/PdNP-BN/CF, (iii) anti-AFB1/L-Cys/PdNP-BN/CF, and (iv) BSA/anti-AFB1/L-Cys/PdNP-BN/CF ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS และ 0.1 โมลต่อลิตร KCl ที่ pH 7.5 อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที [87]

ในการทดสอบประสิทธิภาพของไบโอเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้น ดังรูปที่ 2.35A และ B ทำการตรวจวัด AFB1 ในช่วงความเข้มข้น 1.0–10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่ากระแสไฟฟ้าลดลงเมื่อความเข้มข้นของ AFB1 เพิ่มขึ้น และแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น ($R^2 = 0.9987$) ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) คือ 0.834 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ไบโอเซ็นเซอร์ยังถูกนำไปทดสอบกับตัวอย่างไวน์ โดยพบว่ามีค่าการคืนกลับอยู่ในช่วง 93.00% ถึง 106.00% ซึ่งยืนยันได้ว่าไบโอเซ็นเซอร์นี้สามารถใช้ตรวจวัด AFB1 ในไวน์ได้



รูปที่ 2.35 (A) LSV curves ของไบโอเซ็นเซอร์ BSA/anti-AFB1/L-Cys/PdNP-BN/CF ที่ความเข้มข้น AFB1 ต่างๆ ในช่วง 1.0 ถึง 10.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ (B) กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัด AFB1 [87]

Y. Hui และคณะ [88] ได้สร้างอิเล็กโทรดทางไฟฟ้าเคมีแบบตาเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัด AFB1 โดยทำการปรับปรุงพื้นผิวของ GCE ด้วยการชุบโลหะไฟฟ้า ซึ่ง GCE จะถูกแช่ไว้ในสารละลาย HAuCl₄ และทำการจ่ายกระแสไฟฟ้าต่อเนื่องที่ศักย์ไฟฟ้า -0.2 โวลต์เป็นเวลา 80 วินาที จากนั้นทำการตรึง DNA ที่มีการปรับปรุงด้วยหมู่ไทออลที่ปลายสาย (Thiolated complementary strand, cDNA) ไว้บนผิวอิเล็กโทรดผ่านพันธะ Au-S ของ AuNPs กับ cDNA และใช้สาร MCH เพื่อบล็อกบริเวณที่ไม่ได้ถูกดัดแปลงเพื่อป้องกันการดูดซับที่ไม่เฉพาะเจาะจง จากนั้น Apt ถูกเติมลงไปเพื่อใช้เป็นตัวจับที่จำเพาะกับ AFB1 และทำการเติมสารละลาย AFB1 ที่มีความเข้มข้นต่างๆ พร้อมกับ Exo I เมื่อมี AFB1 อยู่ในระบบ Apt จะหลุดออกจากอิเล็กโทรด ทำให้เกิดคอนจูเกต Apt-AFB1 ในสารละลาย ซึ่งคอนจูเกตนี้จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ Exonuclease I (Exo I) และในขั้นตอนสุดท้าย นาโนโพรบ DNA-AuNPs-horseradish peroxidase (DNA-AuNPs-HRP) จะจับกับ cDNA ที่อยู่บนพื้นผิวอิเล็กโทรดผ่านการจับคู่เบส และ HRP จะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนน (HQ) ไปเป็นเบนโซควิโนน (BQ) ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ทำให้เกิดสัญญาณทางไฟฟ้าเคมีในการติดตามปริมาณของ AFB1 (รูปที่ 2.36)

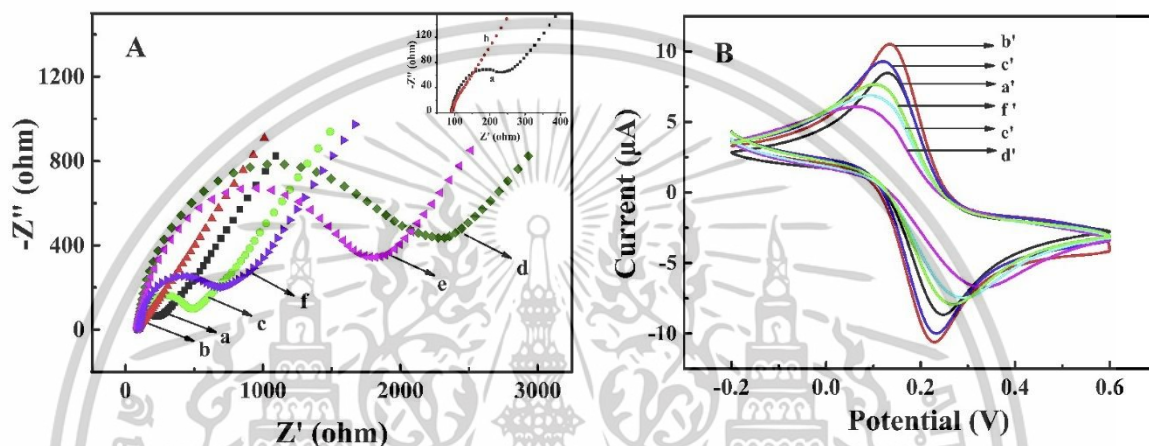


รูปที่ 2.36 แสดงขั้นตอนการสร้างออปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี [88]

EIS และ CV ถูกใช้สำหรับการตรวจเอกลักษณ์ทางไฟฟ้าของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ AFB1 สำหรับการวิเคราะห์ EIS เส้นผ่านศูนย์กลางของวงครึ่งวงกลมสามารถใช้ประเมินค่าความต้านทานการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (R_{ct}) บนพื้นผิวของอิเล็กโทรด โดยใช้ $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ เป็นสารละลายรีดอกซ์ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของเส้นผ่านศูนย์กลางวงครึ่งวงกลมแสดงถึงการเพิ่มขึ้นของค่า R_{ct} จากรูปที่ 2.37A พบว่าที่อิเล็กโทรด GCE ที่ไม่ถูกปรับแต่งพื้นผิว มีเส้นผ่านศูนย์กลางวงครึ่งวงกลมเล็กมาก ซึ่งบ่งบอกถึงกระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่รวดเร็ว (กราฟ a) เมื่อทำการปรับแต่งพื้นผิวด้วย AuNPs เส้นผ่านศูนย์กลางลดลงอย่างมาก (กราฟ b) แสดงให้เห็นว่า AuNPs ช่วยเพิ่มความสามารถในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนของอินเทอร์เฟซอิเล็กโทรด อย่างไรก็ตาม เมื่อ cDNA และ Apt ถูกตรึงเข้าบนผิวอิเล็กโทรด เส้นผ่านศูนย์กลางวงครึ่งวงกลมเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน (กราฟ c และ d) ซึ่งเส้นผ่านศูนย์กลางนี้เพิ่มขึ้นตามความยาวของโพลิโกนิวคลีโอไทด์และอิเล็กโทรดเนกาทิวิตี เนื่องจากโครงสร้างพอสเฟตที่มีประจุลบของโพลิโกนิวคลีโอไทด์ขัดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอน ต่อมาเมื่อมีการเติมสารละลาย AFB1 ที่มี Exo I (กราฟ f) เส้นผ่านศูนย์กลางวงครึ่งวงกลมลดลงอย่างชัดเจน ซึ่งอาจเนื่องจาก AFB1 ดึง Apt ออกจากพื้นผิวอิเล็กโทรดเพื่อสร้างคอมเพล็กซ์ AFB1-Apt ทำให้มี Apt เหลือบนพื้นผิวอิเล็กโทรดน้อยลง ในขณะเดียวกัน Exo I ช่วยย่อยคอมเพล็กซ์นี้ ทำให้ AFB1 ถูกปล่อยออกมาและหมุนเวียนเพื่อตรึงกับ Apt อื่นต่อไป ในกรณีที่ไม่มี Exo I (กราฟ e) เส้นผ่านศูนย์กลางวงครึ่งวงกลมเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่า Exo I ทำงานได้ดีในกระบวนการหมุนเวียน AFB1 ข้อมูลเหล่านี้ยืนยันว่าออปตาเซ็นเซอร์ถูกสร้างขึ้นสำเร็จ ในขณะเดียวกัน CV ถูกใช้ในการยืนยันกระบวนการปรับแต่งอิเล็กโทรดเช่นเดียวกัน จากรูปที่ 2.37B พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

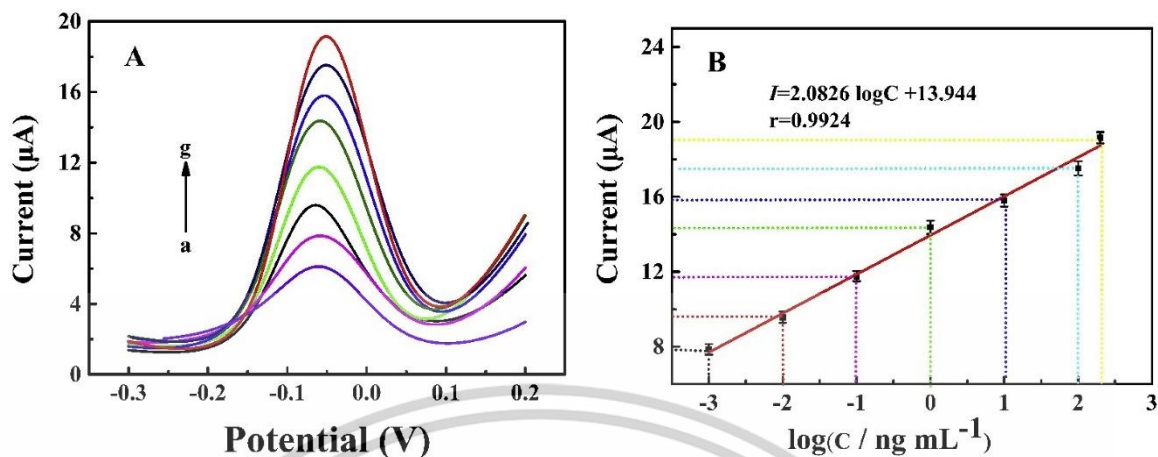
GCE เปล่าแสดงค่ากระแสที่ค่อนข้างสูง (กราฟ a') และค่ากระแสมีการเพิ่มขึ้นหลังจากปรับแต่งพื้นผิวด้วย AuNPs เนื่องจากการนำไฟฟ้าที่ดีของ AuNPs (กราฟ b') อย่างไรก็ตาม เมื่อ cDNA และ Apt ถูกตรึงบนพื้นผิวอิเล็กโทรด กระแสที่สังเกตได้ลดลงอย่างชัดเจน (กราฟ c' และ d') เมื่อเติม AFB1 และ Exo I (กราฟ f') กระแสเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยกระแสที่เกิดในสภาวะที่มี Exo I สูงกว่าสภาวะที่ไม่มี Exo I (กราฟ e') ผลลัพธ์นี้สอดคล้องกับที่ได้จากการวัด EIS ผลการทดลองทั้งหมดนี้ยืนยันว่าไบโอเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมีถูกสร้างขึ้นสำเร็จ



รูปที่ 2.37 (A) EIS และ (B) CV การตอบสนองทางไฟฟ้าที่แตกต่างกันในแต่ละขั้นตอนการปรับปรุงพื้นผิวของอิเล็กโทรด ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร KCl: (a,a') bare GCE, (b,b') AuNPs/GCE, (c,c') cDNA/AuNPs/GCE, (d,d') Apt/cDNA/AuNPs/GCE, (e,e') AFB₁/Apt/cDNA/AuNPs/GCE, (f,f) AFB₁ (Exo I)/Apt/cDNA/AuNPs/GCE. [88]

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม แอปตาเซ็นเซอร์ที่พัฒนาขึ้นถูกนำมาใช้ตรวจวัดความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB₁ (ดังแสดงในรูปที่ 2.38A) จากผลการตรวจวัดสัญญาณทางไฟฟ้าเคมีเพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรงเมื่อความเข้มข้นของ AFB₁ เพิ่มขึ้น ในช่วง 1×10^{-3} นาโนกรัมต่อมิลลิเมตร ถึง 200 นาโนกรัมต่อมิลลิเมตร สมการการถดถอยเชิงเส้นที่ได้คือ i_p (ไมโครแอมป์) = $2.0826 \log(\text{ความเข้มข้น AFB}_1/\text{นาโนกรัมต่อมิลลิเมตร}) + 13.944$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) เท่ากับ 0.9924 (ดังแสดงในรูปที่ 2.38B) ซึ่งบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดีระหว่างค่ากระแส DPV และความเข้มข้นของ AFB₁ ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) คำนวณได้เท่ากับ 3.3×10^{-4} นาโนกรัมต่อมิลลิเมตร จากการทดสอบแอปตาเซ็นเซอร์ในตัวอย่างถั่วลิสงและข้าวโพด พบว่ามีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 88.5%–110.2% และค่า RSD อยู่ระหว่าง 3.25% ถึง 7.82% ผลลัพธ์เหล่านี้ยืนยันความสามารถของแอปตาเซ็นเซอร์ที่ถูกสร้างขึ้นสำหรับการตรวจวัด AFB₁ โดยตรงในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

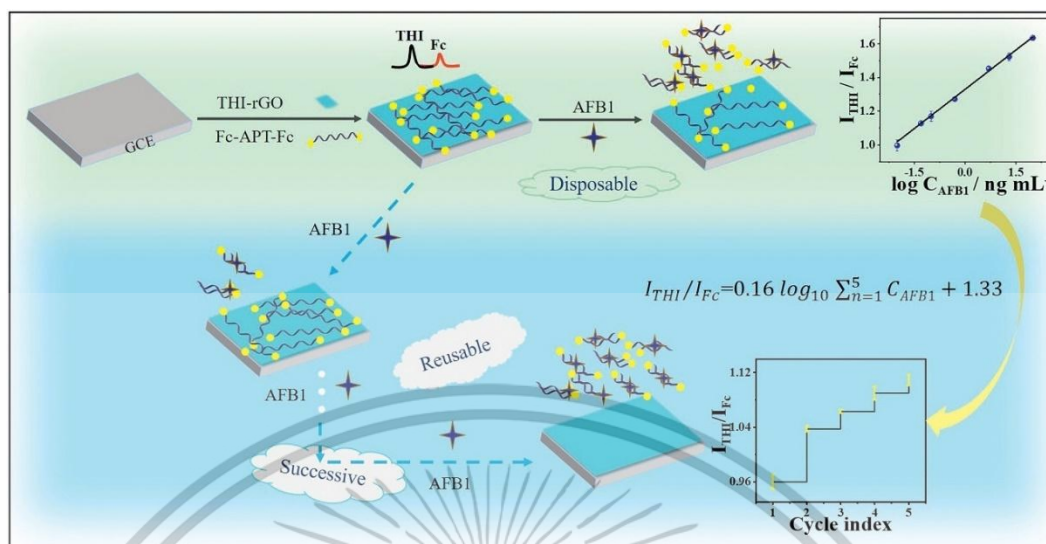
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.38 (A) DPV การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของแอปตาเซ็นเซอร์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB1 (ในช่วง 1×10^{-3} ถึง 200 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) (B) กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัด AFB1 [88]

2.5.3 การปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้าด้วยรีดิซกรฟีนออกไซด์ในการตรวจหาปริมาณ AFB1

Li Yuye และคณะ [89] ได้สร้างไบโอเซ็นเซอร์เพื่อการตรวจวัด AFB1 ในถั่วลิสง โดยใช้ อินเทอร์เฟซตรวจวัดที่ประกอบด้วย thionine-graphene (THI-rGO) และ aptamer ที่ติดฉลากด้วย เฟอร์โรซีน (Fc-APT-Fc) เพื่อส่งสัญญาณกระแสไฟฟ้าแบบสัดส่วน (I_{THI} และ I_{Fc}) ตามรูปที่ 2.39 อิเล็กโทรดคาร์บอนกลม (GCE) ถูกเคลือบด้วย THI-rGO และ Fc-APT-Fc ตามลำดับ AFB1 จะถูกจับกับ Fc-apt แบบจำเพาะเจาะจง ซึ่งทำให้ Fc-apt หลุดออกจากพื้นผิว GCE ส่งผลให้ค่า I_{Fc} ลดลง ขณะที่ค่า I_{THI} คงที่ นอกจากนี้ อปตาเมอร์ที่เหลืออยู่บนอิเล็กโทรดยังสามารถจับกับ AFB1 และหลุดออกจากพื้นผิว อิเล็กโทรดเพื่อตรวจวัดสารได้ต่อไป ทำให้สามารถใช้เซ็นเซอร์นี้ซ้ำได้หลายครั้ง

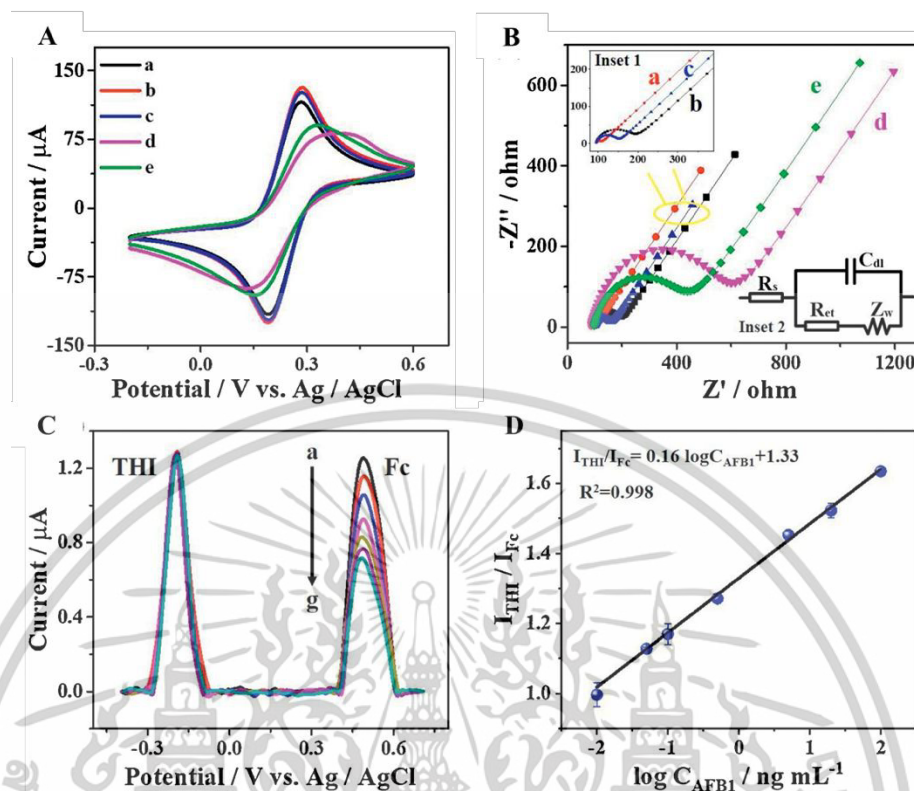


รูปที่ 2.39 ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัด AFB1 [89]

ไบโอเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้นถูกตรวจสอบด้วย CV และ EIS จากรูปที่ 2.40A แสดงให้เห็นฟิสิกส์ของ [Fe(CN)₆]^{3-/4-} ที่ได้จาก GCE เปล่า (กราฟ a) หลังจากปรับแต่งพื้นผิวด้วย THI-rGO ทำให้กระแสไฟเพิ่มขึ้นการเพิ่มพื้นที่ผิวและการเพิ่มการนำไฟฟ้าของ rGO (กราฟ b) ขณะที่การตรึง Fc-apt บนผิวส่งผลให้กระแสไฟลดลงอย่างมาก (กราฟ d) เนื่องจากผลของขนาดโมเลกุลที่ใหญ่ และมีการเพิ่มขึ้นของกระแสไฟหลังจากเกิดคอมเพล็กซ์ AFB1-Fc-apt และถูกลอกออกจากพื้นผิว GCE (กราฟ e) จากนั้น EIS ถูกใช้ยืนยันผลการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์โดยในรูปที่ 2.40B ค่า R_{ct} ของ THI-rGO/GCE (กราฟ b) ลดลงเมื่อเทียบกับ GCE เปล่า (กราฟ a) การตรึง Fc-apt บน THI-rGO/GCE ทำให้ค่า R_{ct} เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน (522 โอห์ม, กราฟ d) แต่หลังจากการเติม AFB1 บน Fc-apt/THI-rGO/GCE ค่า R_{ct} ลดลงเหลือ 337 โอห์ม (กราฟ e) ซึ่งยืนยันว่าเกิดการลอกคอมเพล็กซ์ Fc-apt-AFB1 ออกจากผิวอิเล็กโทรด ผลของ EIS สอดคล้องกับผลจาก CV ซึ่งยืนยันความสำเร็จในการปรับแต่งวัสดุในแต่ละขั้นตอน

ความสามารถในการวิเคราะห์ AFB1 ของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่สร้างขึ้น ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ AFB1 (C_{AFB1}) เพิ่มขึ้น ค่า I_{THI} ยังมีค่าเท่าเดิม ในขณะที่ค่า I_{Fc} ลดลง (ดังแสดงในรูปที่ 2.40C) ค่า I_{THI}/I_{Fc} แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้นของ AFB1 ในช่วง 0.01 ถึง 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) เท่ากับ 0.01 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังแสดงในรูปที่ 2.40D) สมการการถดถอยที่สอดคล้องกันคือ $I_{THI}/I_{Fc} = 0.16 \log(\text{ความเข้มข้น AFB1}) + 1.33$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (R^2) เท่ากับ 0.998 ผลจากการตรวจวิเคราะห์ AFB1 ในถั่วลิสงให้ค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ที่ 94 ถึง 116% บ่งบอกถึงความประสบความสำเร็จในการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์การตรวจวัด AFB1 ที่สามารถใช้ได้จริงในตัวอย่างจริงทางการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



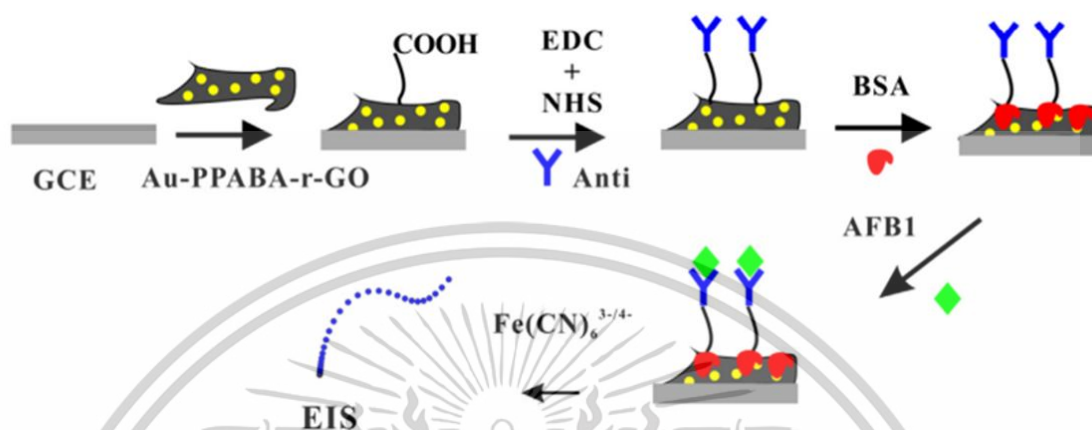
รูปที่ 2.40 (A) CV และ (B) EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของขั้นตอนการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัด AFB1: (a) Bare GCE, (b) GCE/THI-rGO, (c) GCE/THI-rGO/CS, (d) GCE/THI-rGO/CS/Fc-apt, and (e) GCE/THI-rGO/CS/Fc-apt/AFB1 (C) ACV การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีต่อความเข้มข้นต่างๆของ AFB1 ในช่วง 0.01 ถึง 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 0.1 โวลต์ต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS (D) กราฟมาตรฐานระหว่างค่าอัตราส่วนกระแสไฟ I_{THI}/I_{Fc} กับค่าล็อกกาติทึมความเข้มข้น AFB1 [89]

2.5.4 การปรับปรุงพื้นผิวขั้วไฟฟ้าด้วยนาโนคอมโพสิตในการตรวจหาปริมาณ AFB1

L. Shi และคณะ [90] ได้ใช้รีดิวซ์กราฟีนออกไซด์ r-GO ที่ถูกปรับแต่งให้มีหมู่ฟังก์ชันที่เหมาะสมสำหรับตรึงแอนติบอดี และยังมีคุณสมบัติเข้ากันได้ดีกับอนุภาคนาโนโลหะผ่านออกซิเจนในหมู่ฟังก์ชันต่างๆบนผิว ที่ซึ่งอนุภาคนาโนดังกล่าวสามารถช่วยเพิ่มการถ่ายโอนอิเล็กตรอนส่งผลให้มีการตรวจวัดที่ละเอียดมากยิ่งขึ้น จากรูปที่ 2.41 แสดงขั้นตอนการเตรียมไบโออิเล็กโทรดสำหรับการตรวจวัด AFB1 เริ่มจากการเคลือบวัสดุคอมโพสิต Au-PPABA-r-GO ลงบน GCE ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเพื่อสร้าง Au-PPABA-r-GO/GCE จากนั้นทำการเตรียมอิเล็กโทรดด้วย N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide (EDC) และ N-Hydroxysuccinimide (NHS) เพื่อสร้างตำแหน่งในการตรึง

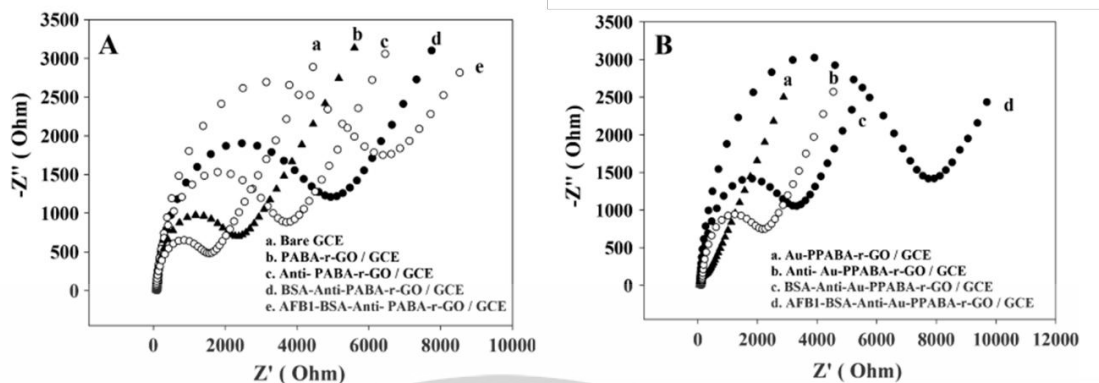
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอนติบอดี AFB1 หลังจากตรึงแอนติบอดีแล้วใช้ BSA เพื่อบล็อกจุดจับที่เหลืออยู่บนพื้นผิวอิเล็กโทรด จากนั้นทำการตรวจวัด AFB1 ด้วยเทคนิค EIS ภายใต้อิออนสารละลายรีดอกซ์ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$



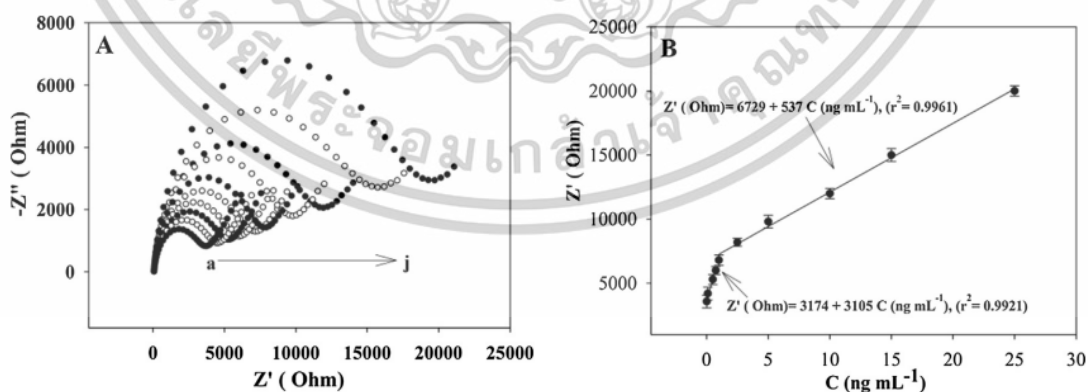
รูปที่ 2.41 ขั้นตอนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัด AFB1 [90]

ทำการทดสอบไบโอเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้นด้วย EIS โดยใช้ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ เป็นสารละลายรีดอกซ์ จากรูปที่ 2.42 แสดงให้เห็นกระบวนการสร้างไบโอเซ็นเซอร์สำหรับ AFB1 โดยพบ GCE ที่ไม่ได้มีการปรับปรุงพื้นผิวมีครึ่งวงกลมขนาดเล็ก (รูปที่ 2.42A(a)) ซึ่งบ่งชี้ว่าอิเล็กโทรดมีการนำไฟฟ้าที่ดี หลังจากการดัดแปลงพื้นผิวด้วย PABA-r-GO (รูปที่ 2.42A(b)) ค่า R_{ct} เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นผลมาจากการลดความสามารถในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเนื่องจากการมีอยู่ของกลุ่มออกซิเจนในหมู่ฟังก์ชันบนวัสดุนาโนคอมโพสิต และค่า R_{ct} เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อทำการตรึงแอนติบอดีบนผิว BSA และ AFB1 (รูปที่ 2.42A(c-e)) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีขีดขวางกระบวนการแลกเปลี่ยนประจุระหว่างสารละลายรีดอกซ์และอิเล็กโทรดเพิ่มขึ้นตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ การนำ AuNPs มาใช้ในการสร้างเป็นวัสดุคอมโพสิตกับ r-GO และเคลือบบน GCE (Au-PPABA-r-GO/GCE) จากรูปที่ 2.42B พบว่า AuNPs ช่วยเพิ่มการนำไฟฟ้าของวัสดุนาโนคอมโพสิตผสมและเพิ่มอัตราการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างอิเล็กโทรดและสารละลายรีดอกซ์ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ซึ่ง R_{ct} ที่วัดได้ของ Au-PPABA-r-GO/GCE (รูปที่ 2.42B(a-d)) มีค่าลดลงจาก PABA-r-GO/GCE (รูปที่ 2.42A(b-e))



รูปที่ 2.42 EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของการไบโอเซ็นเซอร์แต่ละขั้นตอน A: (a) Bare GCE; (b) PABA-r-GO/GCE; (c) Anti-PABA-r-GO/GCE; (d) BSA-Anti-PABA-r-GO/GCE; (e) AFB1-BSA-AntiPABA-r-GO/GCE. B: (a) Au-PPABA-r-GO/GCE; (b) Anti-Au-PPABA-r-GO/GCE; (c) BSA-Anti-Au-PPABA-r-GO/GCE; (d) AFB1-BSA-Anti-Au-PPABA-r-GO/GCE ภายใต้ 10 มิลลิโมลต่อลิตร $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ใน 0.1 โมลต่อลิตร KCl ในช่วงความถี่ 0.1 ถึง 10^5 Hz [90]

ค่า R_{ct} ของไบโอเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้นแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้นของ AFB1 โดยกราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างอิมพีแดนซ์ R_{ct} และความเข้มข้นของ AFB1 จากรูปที่ 2.43A และ B ซึ่งสมการการถดถอยเชิงเส้นที่ได้คือ Z' (โอห์ม) = 3174 + 3105 C (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) และ Z' (โอห์ม) = 6729 + 537 C (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (R^2) เท่ากับ 0.9921 และ 0.9961 ในช่วงความเข้มข้น 0.01 ถึง 1.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 2.5 ถึง 25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) คำนวณได้เท่ากับ 0.001 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 2.43 (A) EIS การตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของไบโอเซ็นเซอร์ Au-PPABA-r-GO/GCE ต่อความเข้มข้นต่างๆของ AFB1 ในช่วง 0.01 ถึง 25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ (B) กราฟมาตรฐานสำหรับการตรวจวัด AFB1 [90]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

ขั้นตอนการดำเนินงาน

ในบทนี้กล่าวถึงรายละเอียดเกี่ยวกับอุปกรณ์ สารเคมี และกระบวนการที่ใช้ในการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ ขั้วไฟฟ้าทองคำเปลวที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ร่วมกับ RGO ($GLE_{AuPt-Ru/RGO}$) เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิคไฟฟ้าเคมี ซึ่งสามารถแบ่งขั้นตอนการดำเนินงานออกเป็น ส่วน ดังนี้

1. ศึกษาวิธีการสังเคราะห์วัสดุผสมคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO และตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี
2. ศึกษาวิธีการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ สำหรับการตรวจวัด AFB1 และตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางไฟฟ้า
3. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ AFB1 เช่น เวลาการตรวจวัด pH และความเข้มข้นของบัฟเฟอร์
4. ประเมินประสิทธิภาพแอปตาเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้น ในการตรวจวัด AFB1 ทั้งจากตัวอย่างที่จำลองขึ้นในห้องปฏิบัติการ และตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร
5. เปรียบเทียบประสิทธิภาพแอปตาเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้นในการวิเคราะห์หาความเข้มข้น AFB1 กับเครื่องมือมาตรฐานอื่น เช่น HPLC-FLD

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- | | |
|---|--------------------|
| - ปีกเกอร์ | - ขวดรูปชมพู่ |
| - หลอดหยด | - จานเพาะเชื้อ |
| - แท่งแก้วคนสาร | - ไมโครปิเปต |
| - กระจกบอกล้าง | - ซ้อนตักสาร |
| - เครื่องปั่นกวน | - กระจกตวง |
| - ขวดปรับปริมาตร | - เทปกาว Kapton |
| - แผ่นทองคำเปลว 24K | - เทปทองแดงนำไฟฟ้า |
| - ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan) | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- พูเรียทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (IRTracer-100 Shimadzu, Kyoto, Japan)
- เครื่องตรวจวัดเอกซเรย์ดิฟแฟรคชัน (Rikagu smartlab, Japan) ใช้ CuK α ($\lambda = 0.15406$ nm) ตรวจวัดด้วยมุม 2θ ระหว่าง $5^\circ - 90^\circ$
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (JEM-2010 model, JEOL Co., Ltd Japan)
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Hitachi S-4700, US)
- กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Seiko Instruments Inc, SPI3800N/SPA-400 Japan)
- เครื่องสเปกโตรมิเตอร์รังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงาน (IXRF systems, EDS2006 550i Analyzer)
- คักยชีต้า (Malvern, UK)
- เครื่องตรวจวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมี (Potentiostat/Galvanostat AUT302N.MBA.S)
- โครมาโทกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูง ต่อกับระบบวัดค่าการเรืองแสง (LC-20 series, Shimadzu, Kyoto, Japan) คอลัมน์ C18 (4.6 mm \times 150 mm \times 5 μ m particle size, GL Sciences, Japan) ต่อเข้ากับการดคอลัมน์ LC-18 (4.0 cm \times 10 mm \times 5 μ m particle size)

3.2 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	สูตรโมเลกุล	บริษัทที่ผลิต
Graphite Powder	-	Sigma-Aldrich
Hydrazine 50 %	N ₂ H ₄	Sigma-Aldrich
Gold (III) chloride trihydrate	HAuCl ₄ ·3H ₂ O	Sigma-Aldrich
Chloroplatinic (IV) acid hexahydrate	H ₂ PtCl ₆ ·6H ₂ O	Sigma-Aldrich
Ruthenium Chloride	RuCl ₂	Sigma-Aldrich
L-ascorbic acid (AA)	C ₆ H ₈ O ₆	Sigma-Aldrich
Polyvinylpyrrolidone (PVP)	C ₆ H ₉ NO	Sigma-Aldrich
Sulfuric acid 96 %	H ₂ SO ₄	Carlo Erba
Aflatoxin B1 (AFB1)	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	Sigma-Aldrich
Aflatoxin B2 (AFB2)	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	Trilogy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี	สูตรโมเลกุล	บริษัทที่ผลิต
Aflatoxin G1 (AFG1)	$C_{17}H_{12}O_7$	Trilogy
Aflatoxin G2 (AFG2)	$C_{17}H_{14}O_7$	Trilogy
Ochratoxin A (OTA)	$C_{20}H_{18}ClNO_6$	Trilogy
Zearalenone (ZEN)	$C_{18}H_{22}O_5$	Trilogy
Sodium Chloride	NaCl	Carlo Erba
Potassium Chloride	KCl	Carlo Erba
Di-sodium Hydrogen Phosphate dihydrate	$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	Carlo Erba
Potassium dihydrogen Phosphate	KH_2PO_4	Carlo Erba
Bovine Serum Albumin (BSA)	$C_8H_{21}NO_5Si_2$	Sigma-Aldrich
Thiol-terminated modified aptamer	5'-thiol- GTT GGG CAC GTG TTG TCT CTC TGT GTC TCG TGC CCT TCG CTA GGC CCA CA -3	Sigma-Aldrich
Acetonitrile (HPLC grade) 99.5%	CH_3CN	Sigma-Aldrich
Methanol (HPLC grade) 99.5%	CH_3OH	Carlo Erba
Acetic acid	CH_3COOH	J.T. Baker
Trifluoroacetic acid (TFA)	CF_3CO_2H	Sigma-Aldrich
Potassium Ferricyanide	$K_3[Fe(CN)_6]$	Carlo Erba

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru

3.3.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน Au@Pt

อนุภาคนาโน Au@Pt ถูกสังเคราะห์ผ่านวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ ในการช่วยทำปฏิกิริยา โดยผสมกรดไตรคลอโรออร์ริก (III) ไตรไฮเดรต 20 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร กรดคลอโรแพลทินิก (IV) เฮกซะไฮเดรต 20 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร และ PVP 5 มิลลิกรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ทำให้สารเข้ากัน ด้วยคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ 25 %แอมป์ เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยเติมสารละลาย AA 10 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร ทีละหยด ขณะให้คลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ต่อเนื่อง 20 นาที เมื่อครบเวลาดำเนินการสารละลายที่อุณหภูมิห้องต่อเนื่องอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นสารละลายสีดำที่ได้ นำไปล้างด้วยเอทานอล 60 % โดยปริมาตร ปั่นเหวี่ยง 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 3 รอบ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80°C เพื่อให้ได้ตะกอนสีดำของอนุภาคนาโน Au@Pt สุดท้ายนำไปกระจายตัวในเอทานอล 60% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ Au@Pt NPs ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C

3.3.1.1 ศึกษาความเข้มข้นของ PVP ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารรักษาเสถียรภาพ

ความเข้มข้นของ PVP ที่ใช้ในการสังเคราะห์ Au@Pt สามารถส่งผลต่อขนาด ความคงตัว และสมบัติการนำไฟฟ้าของอนุภาคนาโนโลหะ โดยความเข้มข้นของ PVP ที่ศึกษาและสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ Au@Pt ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นต่างๆ ของ PVP ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนผสม Au@Pt

ลำดับ	น้ำหนัก PVP (mg)	ปริมาณของแต่ละองค์ประกอบ (mL)			
		20 mM HAuCl ₄	20 mM H ₂ PtCl ₆	10 mM AA	H ₂ O
1	1	0.4	0.4	4.0	10.0
2	5	0.4	0.4	4.0	10.0
3	10	0.4	0.4	4.0	10.0
4	20	0.4	0.4	4.0	10.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.2 ศึกษาความเข้มข้นของ AA ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารรีดิวซ์

ความเข้มข้นของ AA ที่ใช้ในการสังเคราะห์ Au@Pt สามารถส่งผลต่อขนาด ความคงตัว และสมบัติการนำไฟฟ้าของอนุภาคนาโนโลหะ โดยความเข้มข้นของ AA ที่ศึกษาและสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ Au@Pt ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ความเข้มข้นต่างๆ ของ AA ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน Au@Pt แบบแกนและเปลือก

ลำดับ	ความเข้มข้น AA		ปริมาณของแต่ละองค์ประกอบ			
	(mM) ปริมาตร	4.0	20 mM HAuCl ₄	20 mM H ₂ PtCl ₆	H ₂ O	PVP
	mL	(mL)	(mL)	(mL)	(mg)	
1	10	0.4	0.4	10.0	5.0	
2	20	0.4	0.4	10.0	5.0	
3	40	0.4	0.4	10.0	5.0	
4	80	0.4	0.4	10.0	5.0	

3.3.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโน AuPt-Ru

อนุภาคนาโน AuPt-Ru ถูกสังเคราะห์ผ่านวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่อัลตราโซนิคส์ในการช่วยทำปฏิกิริยา โดยผสมกรดไตรคลอโรออร์ริก (III) ไตรไฮเดรต 20 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร กรดคลอโรแพลทินิก (IV) เฮกซะไฮเดรต 20 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร รูทีเนียมคลอไรด์ 20 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และ 5.0 มิลลิกรัม PVP จากนั้นเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ทำให้สารเข้ากันด้วยคลื่นความถี่อัลตราโซนิคส์ 25 %แอมป์ เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยเติมสารละลาย AA 10 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร ที่ละลายขณะให้คลื่นความถี่อัลตราโซนิคส์ต่อเนื่อง 20 นาที เมื่อครบเวลา บั่นกวนที่อุณหภูมิห้องต่อเนื่องอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นสารละลายสีดำที่ได้ นำล้างด้วยเอทานอล 60 %โดยปริมาตร บั่นเหวี่ยง 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาทีจำนวน 3 รอบ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80°C เพื่อให้ได้ตะกอนสีดำของอนุภาคนาโน AuPt-Ru สุดท้ายนำไปกระจายตัวในน้ำกลั่น ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อให้ AuPt-Ru มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C

3.3.2.1 ศึกษาความเข้มข้น RuCl₂ ที่ใช้ในการสังเคราะห์ AuPt-Ru

ความเข้มข้นของ RuCl₂ ที่ใช้ในการสังเคราะห์ AuPt-Ru สามารถส่งผลต่อสมบัติการนำไฟฟ้าของอนุภาคนาโนโลหะ โดยความเข้มข้นของ RuCl₂ ที่ศึกษาและสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์ AuPt-Ru ดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ความเข้มข้นต่างๆ ของ PVP ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน AuPt-Ru

ลำดับ	อัตราส่วน ความเข้มข้น Au: Pt: Ru (mM)	ปริมาณของแต่ละองค์ประกอบ					
		20 mM HAuCl ₄ (mL)	20 mM H ₂ PtCl ₆ (mL)	20 mM RuCl ₂ (mL)	PVP (mg)	H ₂ O (mL)	10 mM AA (mL)
1	1: 1: 0.10	0.40	0.40	0.04	5.0	10.00	4.00
2	1: 1: 0.25	0.40	0.40	0.10	5.0	10.00	4.00
3	1: 1: 0.50	0.40	0.40	0.20	5.0	9.80	4.00
4	1: 1: 1.00	0.40	0.40	0.40	5.0	9.60	4.00
5	1: 1: 1.50	0.40	0.40	0.60	5.0	9.40	4.00

3.3.2.2 ศึกษา %Amplification power ที่ใช้ในการสังเคราะห์ AuPt-Ru

ดำเนินการสังเคราะห์ตามขั้นตอนในหัวข้อ 3.3.2 โดยศึกษา %Amplification power ของคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ที่แตกต่างกันคือ 20, 25, 30, 35 และ 40 %Amp

3.3.2.3 ศึกษาเวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์ AuPt-Ru

ดำเนินการสังเคราะห์ตามขั้นตอนในหัวข้อ 3.3.2 โดยศึกษาเวลาที่ใช้ในการให้คลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ขณะเติม AA ที่แตกต่างกันคือ 10, 20, 30, 40 และ 60 นาที ดังแสดงในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 เวลาต่างๆที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโน AuPt-Ru

ลำดับ	เวลาผสมสารหลังจากเติม PVP (นาที)	เวลาหลังจากเติม AA (นาที)
1	5	10
2	5	20
3	5	30
4	5	40
5	5	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของอนุภาคนาโน AuPt-Ru แบบแกนและเปลือก

อนุภาคนาโน AuPt-Ru แบบแกนและเปลือกที่สังเคราะห์ได้ ทำการศึกษาเอกลักษณ์ทางกายภาพและเคมีต่างๆ เช่น สัญญาณวิทยาและสมบัติทางไฟฟ้า โดยใช้เครื่องมือพิสูจน์เอกลักษณ์ดังตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 เครื่องมือที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ AuPt-Ru แบบแกนและเปลือก

เครื่องมือ	การพิสูจน์เอกลักษณ์
Transmission Electron Microscope, TEM	ตรวจสอบรูปร่าง ขนาด และการกระจายตัวของอนุภาค
Zeta Potential Analyzer	ตรวจสอบประจุบนพื้นผิว
X-ray Diffraction, XRD	ตรวจสอบผลึกของอนุภาคโลหะ
Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR	ตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน โครงสร้างทางเคมีในอนุภาค
X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS	ตรวจสอบสถานะออกซิเดชันของอนุภาคโลหะ
Cyclic Voltammetry, CV	ตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้า

3.4 การสังเคราะห์ RGO

3.4.1 ความเข้มข้นของไฮดราซีนที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารรีดิวซ์ในการสังเคราะห์ RGO

ความเข้มข้นที่เหมาะสมของไฮดราซีนส่งผลโดยตรงต่อการรีดิวซ์หมู่ฟังก์ชันบนโครงสร้างโมเลกุลของ GO โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของไฮดราซีนที่ 0.1, 0.3, และ 0.5% โดยปริมาตร เริ่มต้นด้วยการนำ GO ปริมาณ 3 กรัม มากระจายตัวในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อช่วยในการกระจายตัวเป็นเวลา 30 นาที จนกระทั่ง GO กระจายตัวในน้ำได้อย่างสมบูรณ์ จากนั้นแบ่งสารละลายที่มีความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อบีกเกอร์ มาทำการรีดิวซ์ด้วยสารไฮดราซีนที่มีความเข้มข้นสุดท้าย ได้แก่ 0.1%, 0.3%, และ 0.5% โดยปริมาตร โดยปั่นกวนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อการรีดักชันเสร็จสิ้น สารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นสีดำ แสดงว่าได้อิทธิพล RGO โดยสมบูรณ์

3.4.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของ RGO

RGO ที่สังเคราะห์ได้ ทำการศึกษาเอกลักษณ์ทางกายภาพและเคมีต่างๆ เช่น สัญญาณวิทยา และสมบัติทางไฟฟ้า โดยใช้เครื่องมือพิสูจน์เอกลักษณ์ดังตารางที่ 3.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.7 เครื่องมือที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ RGO

เครื่องมือ	การพิสูจน์เอกลักษณ์
Transmission Electron Microscope, TEM	ตรวจสอบรูปร่าง ขนาด และการกระจายตัวของอนุภาค
Zeta Potential Analyzer	ตรวจสอบประจุบนพื้นผิว
X-ray Diffraction, XRD	ตรวจสอบผลึกของอนุภาคโลหะ
Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR	ตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน โครงสร้างทางเคมีในอนุภาค
UV-vis spectrophotometer	ตรวจสอบค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาค

3.5 การสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

3.5.1 การสร้าง GLE

ในการสร้างขั้วไฟฟ้าทองคำเปลว (Gold Leaf Electrode; GLE) ขั้นตอนแรกเริ่มจากการนำแผ่นทองคำเปลวขนาด 25×30 มิลลิเมตร มาติดลงบนแผ่นเทปพอลิอิมิดหรือเทปแคปตอน โดยกตเบาๆ เพื่อให้ทองคำเปลวติดแนบสนิทกับแผ่นเทป โดยขั้นตอนนี้ควรระมัดระวังไม่ให้แผ่นทองคำเปลวฉีกขาด ซึ่งอาจส่งผลต่อการเชื่อมต่อทางไฟฟ้าหรือการสัมผัสของพื้นผิวทองคำเปลว จากนั้นนำเทปพอลิอิมิดที่เจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรที่ปลายด้านหนึ่ง มาวางทับบนแผ่นทองคำเปลว โดยเหลือพื้นที่ปลายอีกด้านไว้ประมาณ 7.5 มิลลิเมตร เพื่อเป็นบริเวณสำหรับจุดสัมผัสทางไฟฟ้า ต่อมานำเทปทองแดงนำไฟฟ้าสองหน้าขนาดความกว้าง 7.5 มิลลิเมตร มาติดบริเวณปลายด้านที่เหลือของแผ่นทองคำเปลว เพื่อเสริมความแข็งแรงและป้องกันการหลุดลอกของชั้นทองคำเปลว หลังจากนั้นนำชิ้นงานไปกดด้วยความร้อนผ่านเครื่อง Laminator ที่อุณหภูมิ 180°C และสุดท้ายทำการตัดชิ้นงานออกเป็นขนาดเล็กๆ ขนาด 1×25 มิลลิเมตร

3.5.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ RGO ในการปรับปรุงพื้นผิว GLE

RGO ที่สังเคราะห์ได้จากหัวข้อ 3.4 นำมาศึกษาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันคือ 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, และ 2.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการเคลือบลงบน GLE ด้วยปริมาตร 15 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ดูดความชื้น จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นและนำไปตรวจสอบพฤติกรรมทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค CV ภายใต้อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ AuPt-Ru สำหรับสารประกอบ AuPt-Ru/RGO ในการปรับปรุงพื้นผิว GLE

ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการส่งเสริมการนำไฟฟ้าของ GLE ด้วยการนำ AuPt-Ru มาใช้ร่วมกับ RGO เพื่อผลิตเป็นวัสดุนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO โดยทำการผสม 0.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร RGO ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับ AuPt-Ru ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, และ 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการให้คลื่นความถี่สูงอัลตราโซนิคเป็นเวลา 20 นาที และทำการเคลือบลงบน GLE ด้วยปริมาตร 15 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ดูดความชื้น จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นและนำไปตรวจสอบพฤติกรรมทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค CV ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที รวมถึงเอกลักษณ์ทางสัณฐานวิทยาด้วย SEM และ AFM

3.5.4 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Apt

ทำการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Apt สำหรับการใช้งานเพื่อเพิ่มความเฉพาะเจาะจงต่อ AFB1 ซึ่งศึกษาที่ความเข้มข้นในช่วง 1, 10, 25, 50, และ 75 นาโนโมลต่อลิตร ที่เตรียมใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS โดยนำ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่ได้มาทำการเคลือบด้วย Apt ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อป้องกันการสลายตัวของ Apt นำไปตรวจสอบพฤติกรรมทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค CV ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

3.5.5 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BSA

ทำการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BSA ซึ่งศึกษาที่ความเข้มข้นในช่วง 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, และ 2.00 % น้ำหนักต่อปริมาตร ที่เตรียมใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS โดยนำ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่ผ่านการเคลือบด้วย Apt เรียบร้อยแล้วมาทำการเคลือบด้วย BSA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปตรวจสอบพฤติกรรมทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค CV ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

3.5.6 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

แอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่สร้างขึ้น ทำการศึกษาเอกลักษณ์ทางกายภาพและเคมีต่างๆ เช่น สัณฐานวิทยาและสมบัติทางไฟฟ้า โดยใช้เครื่องมือพิสูจน์เอกลักษณ์ดังตารางที่ 3.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.8 เครื่องมือที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์แอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

เครื่องมือ	การพิสูจน์เอกลักษณ์
Scanning Electron Microscopy, SEM	ตรวจสอบลักษณะพื้นผิว
Atomic force microscope, AFM	ตรวจสอบลักษณะพื้นผิว
Cyclic Voltammetry, CV	ตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้า
Differential pulse Voltammetry, DPV	ตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้า
Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS	ตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้า

3.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด AFB1 ด้วย $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

3.6.1 ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่าง AFB1 และ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

ในการศึกษาระยะเวลาการทำปฏิกิริยากับ AFB1 ได้มีการทดสอบในช่วงเวลา 10, 20, 30, 45 และ 60 นาที โดยทำการศึกษาในความเข้มข้นของ AFB1 ที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0.3, 3.0, และ 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดสอบนี้ใช้ GLE ที่ผ่านการปรับปรุงพื้นผิวด้วยวัสดุนาโนคอมโพสิต $AuPt-Ru/RGO$ รวมถึง Apt และ BSA ในความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว จากนั้นหยดสารละลาย AFB1 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงบนขั้วไฟฟ้า GLE และตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดความชื้นตามระยะเวลาที่ต้องการศึกษา หลังจากครบระยะเวลาที่กำหนด จึงทำการล้างขั้วไฟฟ้าด้วยสารละลาย PBS และนำไปวิเคราะห์พฤติกรรมทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค CV ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

3.6.2 pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS

ในการศึกษาอิทธิพลของ pH ของสารละลายรีดอกซ์ที่ใช้ในการตรวจวัด ได้ทำการทดสอบในช่วงค่า pH 5 6 7 8 และ 9 โดยทำการปรับค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS นอกจากนี้ ยังศึกษาภายใต้ความเข้มข้นของ AFB1 ที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.3, 3.0, และ 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นดำเนินการตามขั้นตอนการทดสอบที่อธิบายไว้ในข้อ 3.7.1 โดยใช้อิเล็กโทรดที่ปรับปรุงพื้นผิว และทำการวิเคราะห์พฤติกรรมทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค CV ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3 PBS concentration

ในการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลาย PBS ที่ใช้ในการตรวจวัด ได้ทำการทดสอบ ในช่วงความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, และ 40 มิลลิโมลต่อลิตร โดยศึกษาในสภาวะที่มีความเข้มข้นของ AFB1 ต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 0.3, 3.0, และ 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นดำเนินการทดสอบตาม ขั้นตอนทีระบุในข้อ 3.7.2 โดยใช้อิเล็กโทรดที่ผ่านการปรับปรุงพื้นผิวเรียบร้อยแล้ว นำไปตรวจสอบ พฤติกรรมทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค เทคนิค CV ภายใต้อุณหภูมิ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อ ลิตร PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

3.7 การประเมินประสิทธิภาพของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

3.7.1 การศึกษาคุณลักษณะของการวิเคราะห์ AFB1

ทำการปรับปรุงพื้นผิวของ GLE โดยการเคลือบวัสดุนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO ปริมาตร 15 ไมโครลิตรลงบนขั้วไฟฟ้า แล้วทิ้งไว้ในตู้ดูดความชื้นจนแห้งสนิท จากนั้นทำการล้างด้วย PBS และหยด Apt ที่ความเข้มข้น 25 นาโนโมลต่อลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิ 4°C ต่อมาล้าง และหยด BSA ที่ความเข้มข้น 0.25% น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตร แล้วทิ้งไว้ 30 นาที ก่อน ทำการล้างออก จากนั้นหยด AFB1 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงบนขั้วไฟฟ้า ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วล้างออกและ ตรวจวัดด้วยเทคนิค CV โดยใช้สารละลาย 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 20 มิลลิโมลต่อลิตร PBS (pH 7) ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที คุณลักษณะของการศึกษาแสดงในตารางที่ 3.9

ตารางที่ 3.9 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีการวิเคราะห์

คุณลักษณะ	สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์	รายละเอียดที่ใช้ในการประเมิน
1. ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวิเคราะห์ AFB1 (Linearity)	AFB1 ที่ความเข้มข้น 0.30, 3.00, 6.00, 12.50, 18.75, 25.00, และ 30.00 พีโคกรัมต่อมิลลิลิตร	สร้างสมการเส้นตรง: $Y = mX + c$ เพื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ทดสอบที่ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ
2. ศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์ (Relative Standard Deviation; %RSD)	ต่อมิลลิลิตร	$RSD (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$ เมื่อ RSD = เมื่อส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ \bar{x} = ค่าเฉลี่ยของชุดข้อมูล SD = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำ 5 ซ้ำ
3. ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)	สารละลายบัฟเฟอร์ PBS	$LOD = \frac{3 (SD \text{ ของ } GLE_{AuPt-Ru/RGO})}{\text{ค่าความชัน (m)}}$ เมื่อ SD = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำ 10 ซ้ำ โดยที่สัมประสิทธิ์ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ LOQ = 10
4. ศึกษาการเลือกจำเพาะของวิธีวิเคราะห์ (Selectivity study)	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, ZEN, OTA, และสารละลายผสมของตัวรบกวนที่ความเข้มข้น 3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร	ทดสอบที่ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

3.7.2 ศึกษาร้อยละการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

การวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น พริกแดงแห้ง, กระเทียม, ถั่วลิสง, พริกไทย, และข้าวหอมมะลิไทย ที่ได้จากตลาดนัดและทำการเก็บรักษาภายใต้สภาวะที่มีความชื้นที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 5^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลาอย่างน้อย 6 เดือน ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเริ่มจากการบดตัวอย่างน้ำหนัก 5.0 กรัม จากนั้นทำการสกัดด้วยเมทานอล 60% ในปริมาตร 20 มิลลิลิตร พร้อมกับให้คลื่นความถี่สูงอัลตราโซนิกเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้น ทำการแยกสารละลายโดยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 42 จากนั้นกรองอีกครั้งผ่านเมมเบรนไนลอนขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร และนำ 10 มิลลิลิตรสารละลายตัวอย่างมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตรด้วย 10 มิลลิโมลต่อลิตร บัฟเฟอร์ PBS เมื่อได้สารสกัดแล้ว จึงทำการเติมสารมาตรฐาน AFB1 ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายที่ 3.0, 12.5, 25.0, 25.0×10^3 , และ 50.0×10^3 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้น ตัวอย่างทุกชนิดจะถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $\text{GLE}_{\text{AuPT-RU/RGO}}$ และผลลัพธ์จากการวิเคราะห์จะถูกคำนวณเป็นร้อยละการคืนกลับด้วยสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละการคืนกลับ (\%)} = \frac{\text{Spiked sample} - \text{Sample}}{\text{Standard}} \times 100$$

เมื่อ Spiked sample คือ ความเข้มข้นของ AFB1 ในตัวอย่างหลังจากเติม AFB1 มาตรฐาน
 Sample คือ ความเข้มข้นของ AFB1 ในตัวอย่าง
 Standard คือ ความเข้มข้นของ AFB1 มาตรฐาน

3.7.3 ตรวจสอบความน่าเชื่อถือของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่สร้างขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC-FLD

เปรียบเทียบความถูกต้องของของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่สร้างขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณ AFB1 ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรกับวิธีมาตรฐาน HPLC-FLD โดยตัวอย่างจะต้องทำการติดอนุพันธ์ก่อน โดยเริ่มจากบดตัวอย่างน้ำหนัก 5.0 กรัม จากนั้นทำการสกัดด้วยเมทานอล 60% ในปริมาตร 20 มิลลิลิตร พร้อมกับให้คลื่นความถี่สูงอัลตราโซนิกเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้น ทำการแยกสารละลายโดยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 42 จากนั้นกรองอีกครั้งผ่านเมมเบรนไนลอนขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร และนำ 10 มิลลิลิตรสารละลายตัวอย่างมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตรด้วย 10 มิลลิโมลต่อลิตร บัฟเฟอร์ PBS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร มาระเหยแห้งภายใต้แก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้น ตัวอย่างที่แห้งแล้วนำมาเติม AFB1 ในความเข้มข้น 25.0×10^3 และ 50.0×10^3 พิโคกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรและทำการติดอนุพันธ์ด้วยสารละลายผสม กรดอะซิติกเข้มข้น: น้ำ: TFA ในอัตราส่วน 1: 7: 2 โดยปริมาตร ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ในอ่างอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นรอให้อุณหภูมิของสารละลายเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องและกรองผ่านเมมเบรนไนลอนที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร ก่อนการวิเคราะห์ด้วย HPLC-FLD โดยมีสภาวะต่างๆ ดังตารางที่ 3.10

ตารางที่ 3.10 สภาวะของ HPLC-FLD

พารามิเตอร์	รายละเอียด
Column	C 18 – Reversed-phase 4.6 mm × 150 mm × 5 μm particle size
Column temperature	25°C
Detector	Fluorescence detector: excitation 365 nm and emission 430 nm
Mobile phase	Pump A น้ำกลั่นปราศจากไอออน 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที Pump B เมทานอล 99%: อะซิโตไนโตรล์ 99% (อัตราส่วน 1:1) 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที
Stationary phase	C 18 – Reversed-phase
Flow rate	1 มิลลิลิตรต่อนาที
Separation time	0-15 นาที
Injection volume	10 ไมโครลิตร
Mode	Isocratic

3.8 การออกแบบชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1

การพัฒนาชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1 แอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$ ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เพื่อเพิ่มความสะดวกในการเตรียมตัวอย่างและใช้งานนอกห้องปฏิบัติการ โดยข้อมูลทั่วไปของชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1 แสดงดังตารางที่ 3.11 ตัวอย่างที่ใช้ประกอบไปด้วยผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น พริกแดงแห้ง, กระเทียม, ถั่วลิสง, พริกไทย, และข้าวหอมมะลิไทย สามารถตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 9×10^{-3} พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร โดยขั้วไฟฟ้า $\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$ ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $2 - 8^{\circ}\text{C}$ และเลี่ยงการโดนแสงแดด เพื่อป้องกันการสลายตัวอย่างแอปตาเมอร์ที่ใช้เป็นสารที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำเพาะต่อ AFB1 ภายในชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1 ประกอบไปด้วย 1) ขั้วไฟฟ้า $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ 2) ขวดพลาสติกสกัดตัวอย่าง 3) ขวดบรรจุสารละลายเมทานอล 60% สำหรับสกัดตัวอย่าง (Reagent A) 4) ขวดบรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ PBS (Reagent B) 5) ไซริงค์ ขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 ชิ้น และ 6) หลอดหยดสารละลาย อุปกรณ์อื่น ๆ ที่ต้องการ เช่น เครื่องบดตัวอย่าง, เครื่องชั่ง, ปีกเกอร์ และที่กรองไซริงค์ขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

วิธีการสกัดและทดสอบตัวอย่างทำได้ดังขั้นตอนต่อไปนี้

- 1) บดตัวอย่างน้ำหนัก 5.0 กรัม ใส่ลงในขวดพลาสติกสกัดตัวอย่าง
- 2) สารสำหรับสกัดตัวอย่าง (Reagent A) ในปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วเขย่าประมาณ 5 นาที ตั้งทิ้งไว้จนวัสดุติดตัวอย่างตกตะกอน
- 3) เก็บสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มาเจือจางเป็น 5 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (Reagent B)
- 4) หยดสารละลายตัว 1 หยด ลงบนขั้วไฟฟ้า $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ บริเวณจุดทำปฏิกิริยา (วงกลมสีดำ) ด้วยหลอดหยดสารละลาย
- 5) ตั้งขั้วไฟฟ้าทิ้งไว้ 30 นาที ก่อนล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (Reagent B) และวัดค่าการนำไฟฟ้าด้วยเครื่อง Potentiostat ด้วยเทคนิค DPV

ตารางที่ 3.11 ข้อมูลทั่วไปของชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1

หัวข้อ	รายละเอียด
ตัวอย่างวัตถุดิบ	ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (พริกแดงแห้ง, กระเทียม, ถั่วลิสง, พริกไทย, และข้าวหอมมะลิไทย)
ขีดจำกัดการตรวจวัด	9×10^{-3} พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร
การเก็บรักษา	ในตู้เย็นที่ 2 – 8°C เลี่ยงการโดนแสงแดด
ระยะเวลาการเตรียมตัวอย่าง	40 นาที
ชุดอุปกรณ์	<ol style="list-style-type: none"> 1) ขั้วไฟฟ้า GLE_{AuPt-Ru/RGO} 2) ขวดพลาสติกสกัดตัวอย่าง (Sample preparation cup) 3) ขวดบรรจุสารละลายเมทานอล 60% สำหรับสกัดตัวอย่าง (Reagent A) 4) ขวดบรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ PBS (Reagent B) 5) ไชริงค์ ขนาด 10 มิลลิลิตร 2 ชั้น 6) หลอดหยดสารละลาย
ข้อควรระวัง	<ol style="list-style-type: none"> 1) น้ำยาในชุดเตรียมตัวอย่าง มีการควบคุมคุณภาพที่เหมาะสม ระวังการปนเปื้อนระหว่างกัน 2) อย่าใช้ขั้วไฟฟ้า GLE ขั้ว อาจส่งผลให้เกิดความผิดพลาดในการวิเคราะห์ 3) ระวังการเตรียมและทดสอบตัวอย่าง อาจมีโอกาสดูดซับสารพิษจากตัวอย่าง

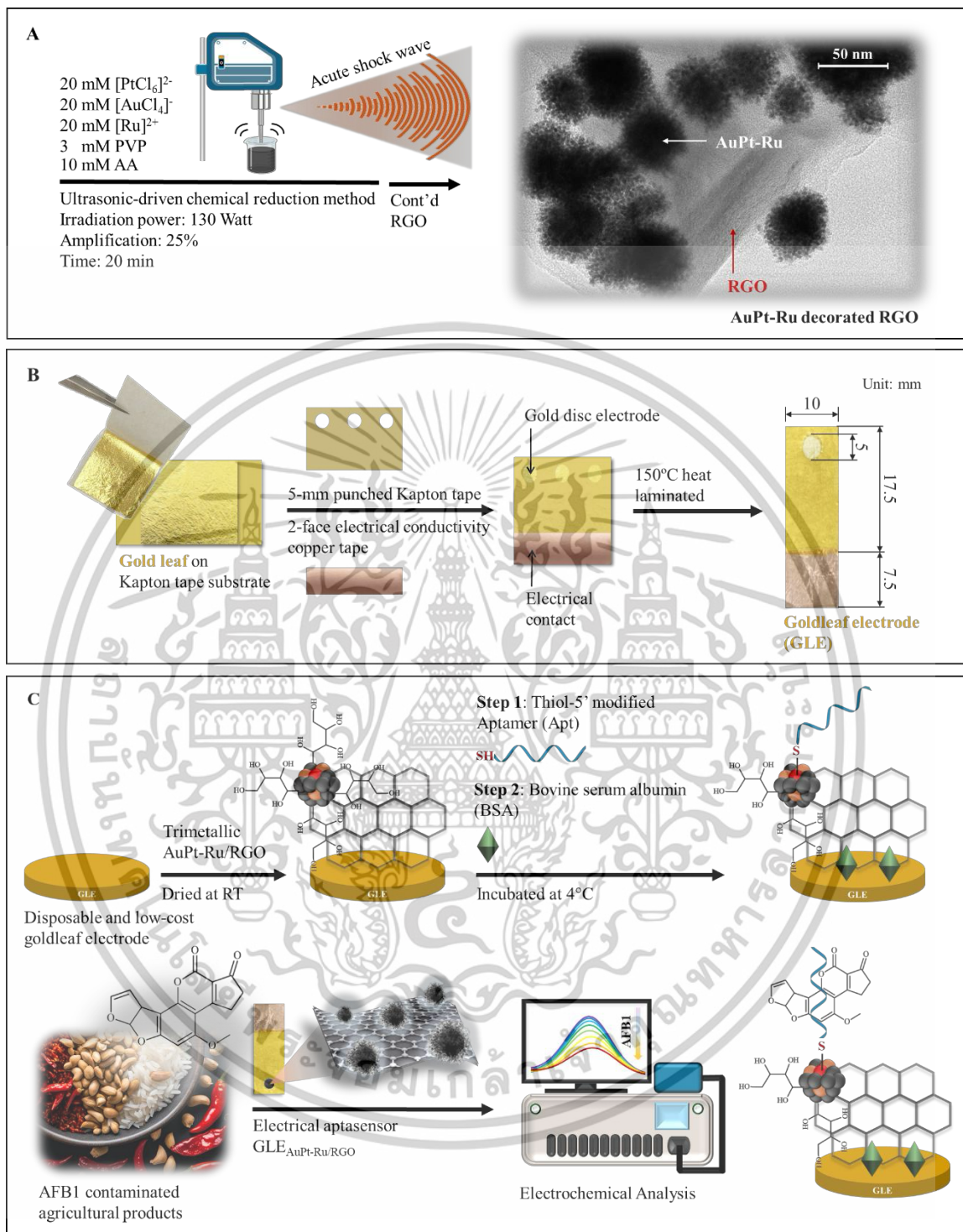
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปราย

งานวิจัยนี้เป็นการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ชีวไฟฟ้าทองคำเปลวที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ร่วมกับ RGO ($GLE_{AuPt-Ru/RGO}$) เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรด้วยเทคนิคไฟฟ้าเคมี โดยวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมได้ถูกสังเคราะห์ผ่านวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ในการช่วยทำปฏิกิริยาและนำมาปรับปรุงพื้นผิวของ GLE เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัด AFB1 หลังจากการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมและขึ้นรูปแอปตาเซ็นเซอร์เรียบร้อยแล้ว จึงทำการศึกษาเอกลักษณ์ต่างๆ ของแอปตาเซ็นเซอร์และประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

รูปแบบการพัฒนาแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

1. สังเคราะห์อนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO ด้วยวิธีการรีดักชันทางเคมีร่วมกับคลื่นความถี่อัลตราโซนิก (รูปที่ 4.1A)
2. สร้างขั้วอิเล็กโทรด GLE จากแผ่นทองคำเปลวภายใต้การใช้เทปแคปทอนและเทปทองแดงนำไฟฟ้าเป็นพื้นผิวเสริมความแข็งแรง (รูปที่ 4.1B)
3. สร้างแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ในการตรวจวัด AFB1 ภายใต้การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมทางไฟฟ้าจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Apt-AFB1 บนพื้นผิวอิเล็กโทรด (รูปที่ 4.1C)



รูปที่ 4.1 (A) การสังเคราะห์อนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO (B) ขั้นตอนการออกแบบและสร้าง GLE และ (C) ขั้นตอนการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$ ในการตรวจวัด AFB1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1 การสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru

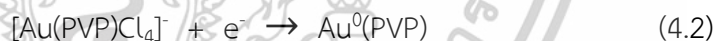
4.1.1 กลไกการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru

จากการสังเคราะห์อนุภาคนาโน AuPt-Ru ผ่านไอออนเตตระคลอโรอโรเรต ($[\text{AuCl}_4]^-$), เฮกซะคลอโรแพลตตินेट ($[\text{PtCl}_6]^{2-}$), และไอออนรูทีเนียม ($[\text{Ru}]^{2+}$) โดยใช้ PVP และ AA ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) เป็นสารรักษาเสถียรภาพและสารรีดิวซ์ ตามลำดับ โดยสามารถสรุปปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ดังนี้

ขั้นที่หนึ่ง: การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Au^{3+} และ PVP โดย $[\text{AuCl}_4]^-$ จะเกิดการสร้างพันธะโคออดิเนทโคเวเลนต์แบบไบเดนเทตกับหมู่คาร์บอกซิล ($\text{C}=\text{O}$) ในโครงสร้างโมเลกุลของ PVP เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ $[\text{Au}(\text{PVP})\text{Cl}_4]^-$ ดังสมการที่ (4.1)

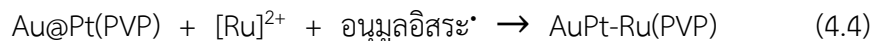
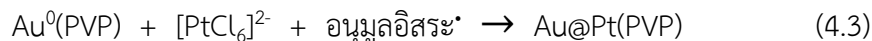


ขั้นที่สอง: การรีดักชันของสารประกอบเชิงซ้อน $[\text{Au}(\text{PVP})\text{Cl}_4]^-$ ด้วย AA เพื่อเปลี่ยน Au^{3+} เป็น Au^0 โดย Au^{3+} จะถูกรีดิวซ์เป็น Au^0 ได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชันของ Au^{3+} มีค่าต่ำกว่า AA ค่อนข้างมาก ($E^0_{\text{Au}^{3+}/\text{Au}^0} = +1.50$ โวลต์ และ $E^0_{\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6/\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6} = +0.35$ โวลต์ เทียบกับขั้วมาตรฐานไฮโดรเจน (SHE)) โดย AA หรือ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ จะเกิดการแตกตัวได้เป็น $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6 + 2e^- + 2\text{H}^+$ ในลักษณะเช่นเดียวกับสมการที่ 2.1 และเกิดการรีดิวซ์ต่อเนื่องจนสร้างเป็นโครงสร้างแกนของอนุภาคนาโน ดังสมการที่ (4.2)



ขั้นที่สาม: หลังจากการเกิดขึ้นของโครงสร้างแกน AuNPs แล้ว สารประกอบ $[\text{PtCl}_6]^{2-}$ จะยึดจับบนผิวของ AuNPs ผ่านแรงแวนเดอร์วาลส์ และมีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่สามารถสร้างอนุมูลอิสระหลายชนิดจากการแตกตัวของน้ำ ได้แก่ e^-_{aq} , H^\cdot , HO^\cdot , HO_2^\cdot , OH^\cdot , H_3O^+ , H_2 , และ H_2O_2 ซึ่งช่วยให้เกิดการรีดิวซ์ไอออนโลหะอื่นๆในระบบได้ง่ายมากขึ้น ซึ่งจะทำให้ Pt^{4+} ถูกรีดิวซ์เป็น Pt^0 ขึ้น ทำให้เกิดอนุภาคนาโนแบบแกน-เปลือก Au@Pt หลังจากนั้น ไอออน $[\text{Ru}]^{2+}$ ถูกรีดิวซ์เป็น Ru^0 และเคลือบบนพื้นผิวของอนุภาคอีกชั้นหนึ่ง จนได้เป็นวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ดังสมการที่ (4.3 และ 4.4) ในการเกิดลำดับขั้นตอนการรีดิวซ์จนได้โครงสร้างแบบแกน-เปลือกนั้น สามารถพิจารณาได้จากค่าศักย์ไฟฟ้าของการรีดักชัน โดย $E^0_{\text{Pt}^{4+}/\text{Pt}^0} = +1.20$ โวลต์ และ $E^0_{\text{Ru}^{2+}/\text{Ru}^0} = +0.45$ โวลต์ จะพบว่ารูปแบบโครงสร้างมีการเรียงลำดับตามค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชัน $\text{Au}^{3+} > \text{Pt}^{4+} > \text{Ru}^{2+}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



4.1.2 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru

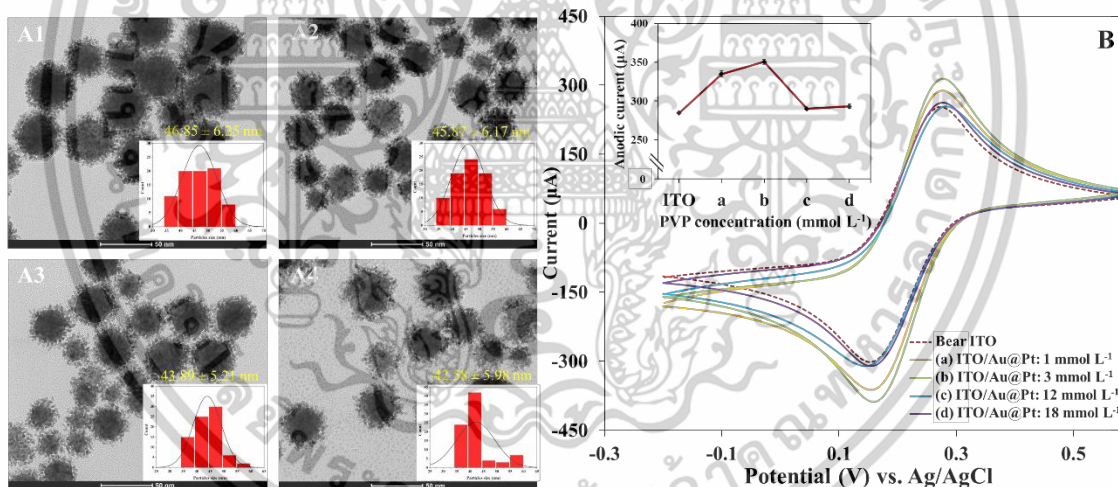
วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ได้ถูกสังเคราะห์ผ่านวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ในการช่วยทำปฏิกิริยา ซึ่งสภาวะการสังเคราะห์สามารถส่งผลกระทบต่อรูปร่าง ขนาดอนุภาคและสมบัติการนำไฟฟ้าของ AuPt-Ru ดังนั้นในการได้มาซึ่งสภาวะที่เหมาะสมจึงได้ทำการศึกษาสภาวะในการสังเคราะห์ทั้งหมด 5 ตัวแปรดังนี้ 1) ความเข้มข้นของ PVP ที่ 1, 3, 12 และ 18 มิลลิโมลต่อลิตร สำหรับรักษาเสถียรภาพของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม, 2) ความเข้มข้นของ AA ในช่วง 10 ถึง 80 มิลลิโมลต่อลิตร ใช้สำหรับรีดิวซ์ไอออนโลหะ, 3) ความเข้มข้นของ RuCl_2 ในช่วง 0.10 ถึง 1.25 มิลลิโมลต่อลิตร, 4) ระยะเวลาในการสังเคราะห์ที่ 10, 20, 30, 45, และ 60 นาที และ 5) ความแรงของคลื่นอัลตราโซนิกตั้งแต่ 20 ถึง 40%แอมป์

4.1.2.1 ศึกษาความเข้มข้นของ PVP

จากรูปที่ 4.2A1-4 แสดงรูปภาพ TEM ของอนุภาคนาโนโลหะ Au@Pt เมื่อใช้ PV ที่ความเข้มข้นต่างๆ (1, 3, 12 และ 18 มิลลิโมลต่อลิตร) พบว่า Au@Pt ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะที่เหมือนกันคือเป็นอนุภาคทรงกลมและชนล้อมรอบคล้ายกับผล waxberry และอนุภาคจะมีขนาดเล็กลงเล็กน้อยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PVP ซึ่งมีขนาด 46.85 ± 6.25 นาโนเมตร, 45.87 ± 6.17 นาโนเมตร, 43.89 ± 5.21 นาโนเมตร และ 42.58 ± 5.98 นาโนเมตร ตามลำดับ บ่งชี้ว่า PVP สามารถทำหน้าที่เป็นสารรักษาเสถียรภาพและกำหนดขนาดของอนุภาคในกระบวนการสังเคราะห์ได้ตั้งแต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร อีกทั้งจากผลฮิสโทแกรมการกระจายตัวของขนาดอนุภาค Au@Pt การเพิ่มความเข้มข้นของ PVP ทำให้การกระจายตัวของขนาดอนุภาคบนฮิสโทแกรมเบี่ยงเบนจากทรงระฆังคว่ำไปเป็นลักษณะกระจายตัวไม่สมมาตร เนื่องจาก PVP เป็นพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ส่งผลให้มีการจับตัวระหว่างอนุภาคนาโนหลายๆ อนุภาคผ่านการเกิดพันธะที่ไม่พึงประสงค์ ต่อมาทำการวัดค่าประจุบนพื้นผิวด้วยเครื่องวัดศักย์ซีตาพบว่าได้ค่าประจุบนพื้นผิว Au@Pt อยู่ที่ -50.2 มิลลิโวลต์, -56.4 มิลลิโวลต์, -30.1 มิลลิโวลต์ และ -34.0 มิลลิโวลต์ แสดงให้เห็นว่าประจุลบที่ผิวอนุภาคลดลงเมื่อความเข้มข้นของ PVP สูงขึ้น นอกจากนี้ในการศึกษาพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ Au@Pt ที่สังเคราะห์ได้ ทำโดยนำกระจกนำไฟฟ้า ITO ขนาด 1×1 เซนติเมตรมาเคลือบด้วย 40 ไมโครลิตร Au@Pt ที่สังเคราะห์ด้วยสภาวะต่างๆ แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ดูดความชื้น จากนั้นล้างส่วนเกินด้วยน้ำกลั่น และทำการวัดประสิทธิภาพทางไฟฟ้าด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคนิค CV โดยใช้สารละลาย $K_3[Fe(CN)_6]$ เข้มข้น 5 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ผลแสดงดังรูปที่ 4.2B ลักษณะการตอบสนองทางไฟฟ้าของ ITO เปล่าและ ITO ที่ผ่านการปรับปรุงพื้นผิวด้วย Au@Pt ที่สภาวะการสังเคราะห์โดยใช้ PVP ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ITO เปล่าให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดอยู่ที่ 284.82 ไมโครแอมป์ และเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 350.54 ไมโครแอมป์ อีกทั้งค่าความต่างศักย์ (ΔE) ในการเกิดออกซิเดชัน (E_o) และรีดักชัน (E_r) ของสารละลายรีดอกซ์ยังคงลดลงจาก 0.11231 โวลต์เป็น 0.10742 โวลต์ ซึ่งผลเหล่านี้บ่งบอกถึงความสามารถในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่ดีขึ้นของ ITO หลังจากทำการเคลือบด้วย Au@Pt ที่ใช้ PVP ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร แต่ค่ากระแสไฟฟ้าลดลงเมื่อทำการเคลือบ ITO ด้วย Au@Pt ที่ใช้ PVP ตั้งแต่ความเข้มข้นที่ 12 มิลลิโมลต่อลิตรเป็นต้นไป เนื่องจาก PVP เป็นสายพอลิเมอร์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่แสดงพฤติกรรมเป็นฉนวนทางไฟฟ้าได้ ส่งผลให้เกิดการบดบังการถ่ายโอนอิเล็กตรอนของอนุภาค Au@Pt ดังนั้น PVP ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร จึงถูกเลือกเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการใช้เป็นตัวสารถักเสถียรภาพ Au@Pt ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ Au@Pt ที่สังเคราะห์ภายใต้ความเข้มข้นต่างๆ ของ PVP ได้แสดงดังตารางที่ 4.1



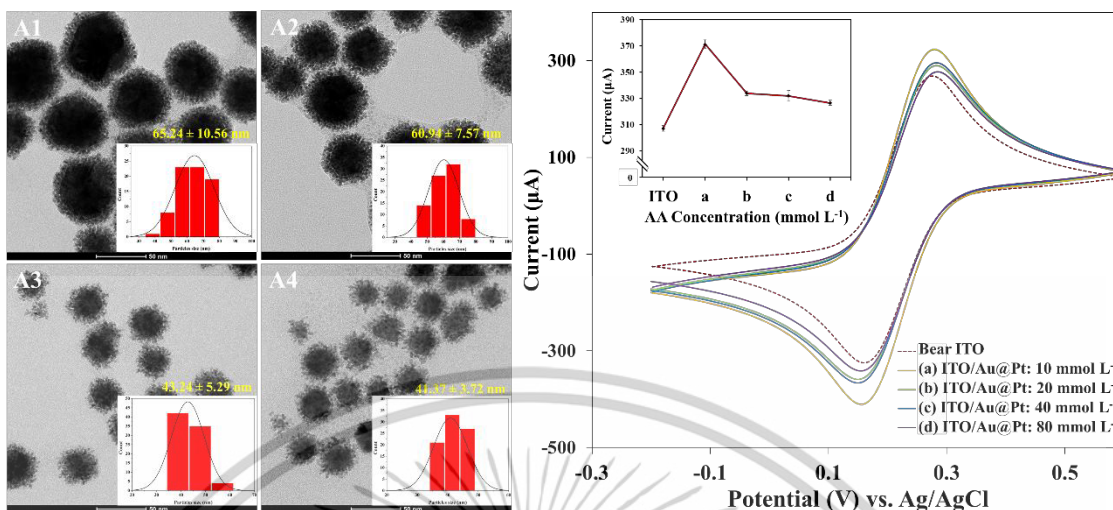
รูปที่ 4.2 (A) ภาพ TEM ของ Au@Pt ที่ใช้ PVP เข้มข้น (A1) 1, (A2) 3, (A3) 12 และ (A4) 18 มิลลิโมลต่อลิตร และ (B) ผล CV ของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย Au@Pt ที่ใช้ PVP เข้มข้น (a) 1, (b) 3, (c) 12 และ, (d) 18 มิลลิโมลต่อลิตร ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

ตารางที่ 4.1 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย Au@Pt ที่สังเคราะห์ภายใต้การใช้ PVP ที่ความเข้มข้นต่างๆ

	E_a	E_c	ΔE	I_a	I_c	I_a/I_c
ITO	0.26871	0.15640	0.11231	284.82	-279.38	-1.01947
ITO-Au@Pt, PVP 1 mM	0.27359	0.16129	0.11230	334.83	-318.57	-1.05104
ITO-Au@Pt, PVP 3 mM	0.27115	0.16373	0.10742	350.54	-341.44	-1.02665
ITO-Au@Pt, PVP 12 mM	0.27847	0.15152	0.12695	290.04	-271.25	-1.06927
ITO-Au@Pt, PVP 18 mM	0.27359	0.15884	0.11475	293.25	-282.76	-1.03710

4.1.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก (AA)

จากรูปที่ 4.3A1-4 แสดงรูปภาพ TEM ของอนุภาคนาโนโลหะ Au@Pt ที่มีการใช้ AA ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าขนาดของ Au@Pt ที่สังเคราะห์ได้มีขนาดที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัด โดยพบที่ 65.24 ± 10.56 นาโนเมตร, 60.94 ± 7.57 นาโนเมตร, 43.24 ± 5.29 นาโนเมตร และ 41.37 ± 3.72 นาโนเมตร เมื่อใช้ AA ที่ความเข้มข้น 10, 20, 40 และ 80 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลมาจาก AA เป็นสารรีดิวซ์ ช่วยทำให้ไอออนโลหะเกิดการรีดิวซ์จนกลายเป็นโลหะประจุศูนย์ ยิ่งเพิ่มความเข้มข้นของ AA มากขึ้น ก็ยิ่งช่วยให้เกิดการรีดิวซ์ได้ดีขึ้นด้วย กลายเป็นอนุภาคขนาดเล็ก จากนั้นจะถูกรักษาเสถียรภาพด้วย PVP ต่อมาได้ทำการวัดศักย์ซีตา พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งได้ค่าอยู่ในช่วง -51.0 มิลลิโวลต์ ถึง -57.8 มิลลิโวลต์ สำหรับผลการศึกษาสมบัติทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค CV พบว่าเมื่อใช้ AA ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร จะให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุด โดยได้ค่าเท่ากับ 375.90 ไมโครแอมป์ และสูงกว่าเมื่อเทียบกับ ITO เปล่า (304.08 ไมโครแอมป์) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่อนุภาคมีขนาดเล็กลง ทำให้ความกว้างของช่องว่างระหว่างแถบพลังงานกว้างมากขึ้นด้วย การถ่ายโอนของอิเล็กตรอนจึงเกิดได้ยากขึ้น ส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าลดลง ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ Au@Pt ที่สังเคราะห์ภายใต้ความเข้มข้นต่างๆ ของ AA แสดงดังตารางที่ 4.2 ดังนั้นจึงเลือกใช้ AA ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม



รูปที่ 4.3 (A) ภาพ TEM ของ Au@Pt เมื่อใช้ AA เข้มข้น (A1) 10, (A2) 20, (A3) 40 และ (A4) 80 มิลลิโมลต่อลิตร และ (B) ผล CV ของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย Au@Pt ที่ใช้ AA เข้มข้น (a) 10, (b) 20, (c) 40 และ, (d) 80 มิลลิโมลต่อลิตร ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

ตารางที่ 4.2 ผลการวัดพหุคูณทางไฟฟ้าของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย Au@Pt ที่สังเคราะห์ภายใต้การใช้ AA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

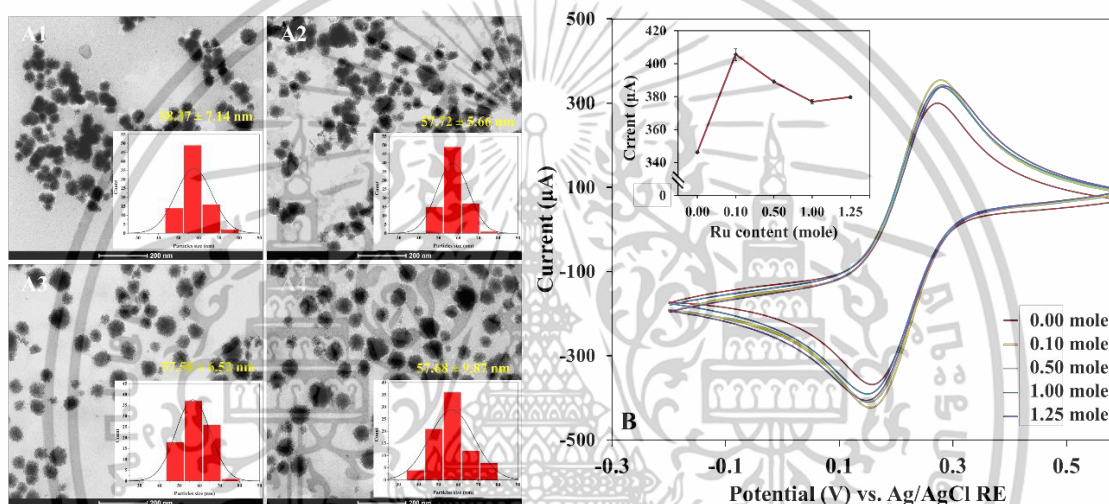
	E_a	E_c	ΔE	I_a	I_c	I_a/I_c
ITO	0.27359	0.16373	0.10986	304.08	-299.70	-1.01461
ITO-Au@Pt, AA 10 mM	0.27603	0.15884	0.11719	375.90	-365.89	-1.02736
ITO-Au@Pt, AA 20 mM	0.27847	0.15640	0.12207	335.32	-317.18	-1.05719
ITO-Au@Pt, AA 40 mM	0.27115	0.15884	0.11231	331.95	-312.98	-1.06063
ITO-Au@Pt, AA 80 mM	0.27847	0.15884	0.11963	326.57	-314.09	-1.03973

4.1.2.3 ศึกษาความเข้มข้น $RuCl_2$

เพื่อเพิ่มความสามารถในการนำไฟฟ้าของ Au@Pt ให้ดีขึ้น จึงทำการสังเคราะห์อนุภาคของ Ru บนพื้นผิว Au@Pt จากรูปที่ 4.4A1-4 รูปภาพ TEM แสดงให้เห็นว่าอนุภาค AuPt-Ru ที่ได้มีรูปร่างและขนาดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ไม่ว่าจะใช้ $RuCl_2$ ที่ความเข้มข้นเท่าไรก็ตาม (57.58 นาโนเมตร - 58.37 นาโนเมตร) แต่เมื่อทำการวัดค่าศักย์ซีต้า พบว่าค่าประจุบนพื้นผิวลดลงเมื่อปริมาณ Ru สูงขึ้น ตั้งแต่ 0, 0.10, 0.50, 1.00, และ 1.25 โมล โดยมีค่าเท่ากับ -57.4, -66.5, -56.2, -51.5 และ, -46.7 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการเติม Ru ที่ปริมาณ 0.1 โมล สามารถเสริมความเสถียรให้กับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ได้ แต่ในทางกลับกันยิ่งปริมาณ Ru มากขึ้นส่งผลให้ประจุบนพื้นผิวลดลงอย่างต่อเนื่อง และเมื่อนำ AuPt-Ru ที่สังเคราะห์ได้มาตรวจสอบสมบัติทางไฟฟ้าด้วยเทคนิค CV (รูปที่ 4.4B) พบว่าเมื่อมีการเติม Ru จะให้ค่ากระแสไฟฟ้าที่สูงขึ้น เมื่อเทียบกับ Au@Pt ที่ไม่มีการเติม Ru โดยเมื่อใช้ Ru ที่ 0.10 โมล จะให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุด (405.70 ไมโครแอมป์) แต่เมื่อปริมาณ Ru สูงขึ้น ค่ากระแสไฟฟ้าจะลดต่ำลง เนื่องจากเกิดการสะสมของอนุภาค Ru บนพื้นผิวของ Au@Pt ที่มากขึ้น ทำให้บริเวณที่สามารถเกิดปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมี (Electroactive area) ถูกบล็อก ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพของเส้นทางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนลดลง โดยผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ AuPt-Ru ที่สังเคราะห์ภายใต้ปริมาณต่างๆ ของ Ru ได้แสดงดังตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.4 (A) ภาพ TEM ของ AuPt-Ru เมื่อใช้ Ru (A1) 0.10, (A2) 0.50, (A3) 1.00 และ (A4) 1.25 โมล และ (B) ผล CV ของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย AuPt-Ru เมื่อใช้ Ru ปริมาณ 0, 0.10, 0.50, 1.00 และ 1.25 โมล ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

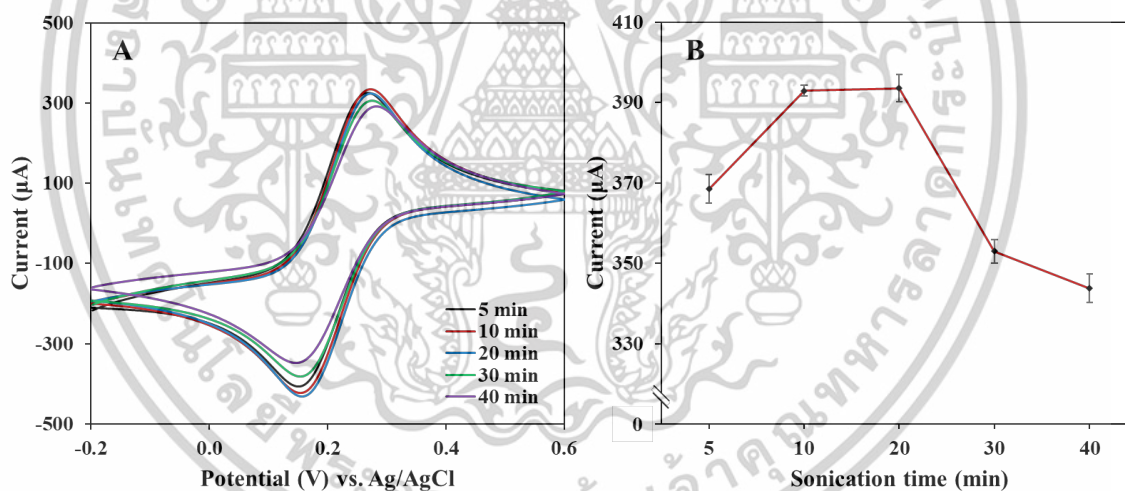
ตารางที่ 4.3 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ ITO และ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย AuPt-Ru ที่สังเคราะห์ภายใต้ปริมาณต่างๆ ของ Ru

เงื่อนไข	E_a	E_c	ΔE	I_a	I_c	I_a/I_c
Au@Pt	0.26871	0.16373	0.10498	347.26	-330.93	-1.04935
AuPt-Ru, Ru 0.10 mole	0.27359	0.16129	0.11230	405.70	-385.60	-1.05213
AuPt-Ru, Ru 0.50 mole	0.27603	0.15884	0.11719	389.06	-368.32	-1.05631
AuPt-Ru, Ru 1.00 mole	0.27603	0.15396	0.12207	376.98	-354.10	-1.06461
AuPt-Ru, Ru 1.25 mole	0.27847	0.15396	0.12451	379.77	-358.64	-1.05892

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2.4 ศึกษาระยะเวลาการสังเคราะห์

จากรูปที่ 4.5A แสดง Cyclic Voltammogram (CV) ของ AuPt-Ru ที่สังเคราะห์โดยใช้ เวลาในการสังเคราะห์ผ่านวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ในการช่วยทำปฏิกิริยา โดยให้ความแรงคลื่นอัลตราโซนิกที่ 25%แอมป์ เป็นเวลา 5, 10, 20, 30, และ 40 นาที และรูปที่ 4.5B แสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของแต่ละสภาวะการสังเคราะห์ จากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้เวลาในการสังเคราะห์ที่น้อย (5 นาที) อาจส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาที่ไม่สมบูรณ์ส่งผลให้ค่ากระแสไฟฟ้าที่วัดได้ต่ำ แต่เมื่อใช้ระยะเวลาในการสังเคราะห์ 10 และ 20 นาที อนุภาคนาโนที่ได้จะให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุด คือ 392.91 และ 393.55 ไมโครแอมป์ ตามลำดับ และเมื่อใช้เวลามากเกินไปตั้งแต่ 30 นาทีเป็นต้นไป อาจส่งผลให้อนุภาคเกิดการสลายตัวได้ เนื่องจากการให้คลื่นเสียงความถี่อัลตราโซนิกนอกจากจะมีการสร้าง สารอนุมูลอิสระ เช่น H^{\bullet} และ HO^{\bullet} ที่เกิดจากการทำลายพันธะของโมเลกุลน้ำแล้วยังก่อให้เกิดอนุมูลและความดันที่สูงภายในระบบด้วยเช่นเดียวกัน ดังนั้นระยะเวลาการสังเคราะห์ในช่วง 10 ถึง 20 นาที จึงเหมาะสมต่อการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ AuPt-Ru ที่ระยะเวลาการสังเคราะห์ต่างๆ ได้แสดงดังตารางที่ 4.4



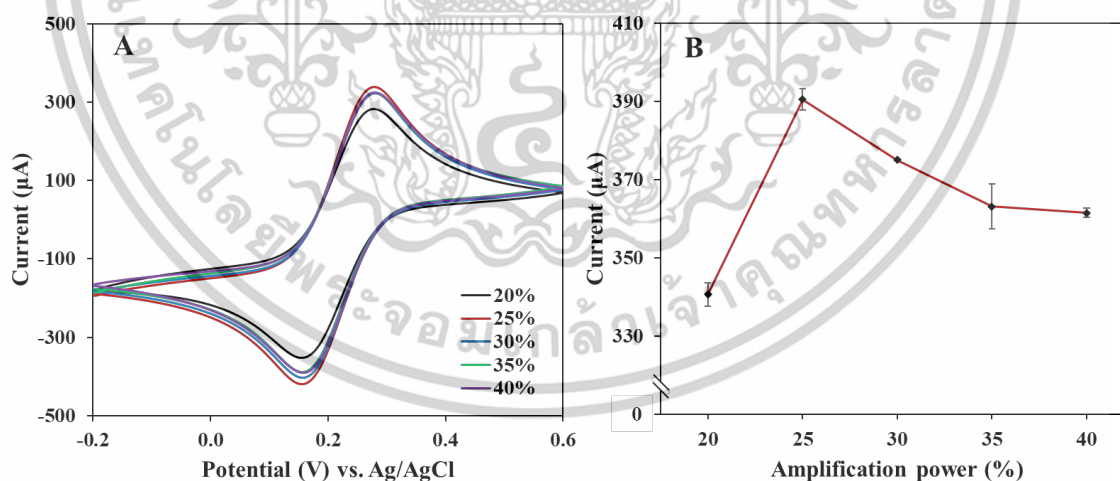
รูปที่ 4.5 สมบัติทางไฟฟ้า (A) CV และ (B) กราฟแสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย AuPt-Ru ที่ระยะเวลาการสังเคราะห์ 5, 10, 20, 30, และ 40 นาที ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

ตารางที่ 4.4 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ AuPt-Ru ที่ระยะเวลาการสังเคราะห์ต่างๆ

เงื่อนไข	E_a	E_c	ΔE	I_a	I_c	I_a/I_c
AuPt-Ru, 5 min	0.26138	0.15396	0.10742	368.45	-345.16	-1.06748
AuPt-Ru, 10 min	0.26871	0.15884	0.10987	392.91	-375.25	-1.04706
AuPt-Ru, 20 min	0.26871	0.16129	0.10742	393.55	-379.83	-1.03612
AuPt-Ru, 30 min	0.27115	0.15884	0.11231	352.98	-336.66	-1.04848
AuPt-Ru, 40 min	0.27359	0.15640	0.11719	343.79	-332.45	-1.03411

4.1.2.5 ศึกษาความแรงของคลื่นอัลตราโซนิก

จากรูปที่ 4.6A แสดง CV ของ AuPt-Ru ที่สังเคราะห์โดยใช้ความแรงคลื่นอัลตราโซนิกที่ 20, 25, 30, 35, และ 40% แอมป์ เป็นเวลา 20 นาที และรูปที่ 4.6B แสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของแต่ละสถานะการสังเคราะห์ จากผลพบว่าที่ความแรง 25% แอมป์ สามารถให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่สุด คือ 390.55 ไมโครแอมป์ แต่ถ้าใช้ความแรงคลื่นอัลตราโซนิกที่น้อยเกินไป (20% แอมป์) อาจส่งผลให้เกิดการรีดิวซ์ที่ไม่สมบูรณ์ได้เช่นเดียวกับระยะเวลาการสังเคราะห์ และเมื่อใช้ความแรงตั้งแต่ 30% แอมป์ ขึ้นไป ส่งผลให้อนุภาคเกิดการสลายตัวได้ ส่งผลให้การนำไฟฟ้าลดลง ดังนั้นความแรงคลื่นอัลตราโซนิกที่ 25% แอมป์ จึงเหมาะสมต่อการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ AuPt-Ru ที่ใช้ความแรงคลื่นอัลตราโซนิกต่างๆ ได้แสดงดังตารางที่ 4.5



รูปที่ 4.6 สมบัติทางไฟฟ้า (A) CV และ (B) กราฟแสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของ ITO ที่ถูกเคลือบด้วย AuPt-Ru ที่ใช้ความแรงคลื่นอัลตราโซนิกในการสังเคราะห์ 20, 25, 30, 35, และ 40% แอมป์ ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการวัดพฤติกรรมทางไฟฟ้าของ AuPt-Ru ที่ใช้ความแรงคลื่นอัลตราโซนิกต่างๆ ในการสังเคราะห์

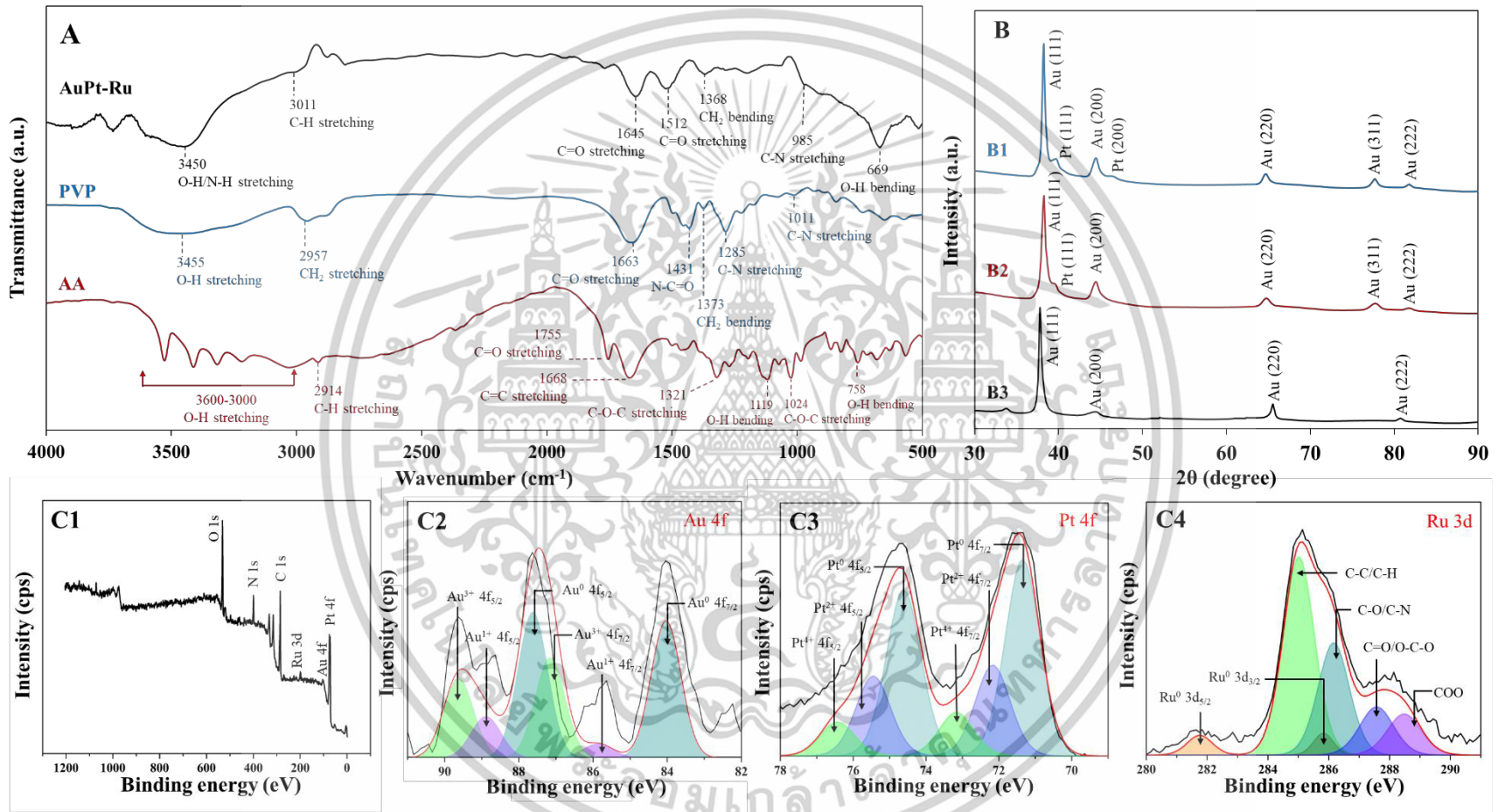
เงื่อนไข	E_a	E_c	ΔE	I_a	I_c	I_a/I_c
AuPt-Ru, 20%	0.26871	0.16373	0.10498	340.75	-320.27	-1.06395
AuPt-Ru, 25%	0.27359	0.15884	0.11475	390.55	-377.53	-1.03449
AuPt-Ru, 30%	0.27359	0.16129	0.1123	375.11	-362.64	-1.03439
AuPt-Ru, 35%	0.27359	0.16373	0.10986	363.2	-351.67	-1.03279
AuPt-Ru, 40%	0.27603	0.16129	0.11474	361.58	-352.77	-1.02497

4.1.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru

ผลการวิเคราะห์สเปกตรัม FT-IR ของวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ที่สังเคราะห์โดยใช้ PVP เป็นสารรักษาเสถียรภาพและ AA เป็นสารรีดิวซ์ แสดงดังรูปที่ 4.7A โดย AA แสดงพีกเอกลักษณ์ที่ $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ (O-H stretching vibrations), 2914 cm^{-1} (C-H stretching), 1755 cm^{-1} (C=O stretching vibration), 1668 cm^{-1} (C=C stretching vibration), 1321 และ 1024 cm^{-1} (C-O-C asymmetric และ symmetric stretching vibration, ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบพีกที่ 1119 cm^{-1} (O-H in-plane bending vibration) [91] ส่วน PVP พบพีกเอกลักษณ์ที่ 3455 cm^{-1} (O-H stretching vibration ของการดูดซับโมเลกุลน้ำที่พื้นผิว), 2957 cm^{-1} (C-H stretching vibrations), 1663 cm^{-1} (C=O stretching vibration), 1431 cm^{-1} (N-C=O stretching vibration), 1373 cm^{-1} (CH_2 -bending), 1285 cm^{-1} และ 1011 cm^{-1} (C-N stretching) [92] สำหรับวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru พบพีกเอกลักษณ์ที่ 3450 cm^{-1} (O-H และ N-H stretching vibration), 3011 cm^{-1} (C-H stretching vibrations), 1765 และ 1645 cm^{-1} (C=O stretching vibrations), 1512 cm^{-1} (C=C stretching vibration), 1368 cm^{-1} (CH_2 bending vibration), 1285 cm^{-1} และ 985 cm^{-1} (C-N stretching) และ 669 cm^{-1} (O-H bending vibration). จากผลการวิเคราะห์ของ AuPt-Ru พบว่าการขยับของ C-O จาก 1163 cm^{-1} ไปยัง 1145 cm^{-1} รวมถึงการขยับของพีก C-N จาก 1011 cm^{-1} ไปยัง 985 cm^{-1} และการลดลงของความเข้มพีกที่ 1285 cm^{-1} ซึ่งบ่งบอกถึงการเกิดอันตรกิริยาของอะตอมออกซิเจนและไนโตรเจนภายในโครงสร้างของ PVP ที่ทำหน้าที่เป็นสารรักษาเสถียรภาพ นอกจากนี้ การปรากฏของพีก C=O ที่ 1512 cm^{-1} และ O-H ที่ 669 cm^{-1} ยังชี้ให้เห็นถึงการมีอยู่ของสาร 2,3-diketo-1-gulonic acid (DGA) ที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวของ AA ในขั้นตอนการรีดิวซ์ไอออนโลหะ DGA นี้มีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญคือหมู่คาร์บอกซิล ($-\text{COOH}$) ที่สามารถจับกับอนุภาคแพลทินัมเพิ่มความเสถียรของโครงสร้างวัสดุนาโนได้ รวมถึงส่งผลให้โครงสร้างนั้นมีลักษณะแบบขนล้อมรอบ [93] โดยสรุปคือในกระบวนการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru นั้นมี PVP และ AA ที่ช่วยในการรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เสถียรภาพของโครงสร้างอนุภาค สำหรับผล XRD เป็นการศึกษาโครงสร้างผลึกของ AuPt-Ru ดังรูปที่ 4.7B โดยทำการวัดค่าการเลี้ยวเบนที่มุม 2θ ตั้งแต่ 5° ถึง 90° พบค่าการเลี้ยวเบนที่ $2\theta = 38.2^\circ, 44.4^\circ, 64.6^\circ, 77.6^\circ$ และ 81.7° ที่สอดคล้องกับระนาบของอนุภาคทอง คือ (111), (200), (220), (311) และ (222) ซึ่งเป็นโครงสร้างผลึกลูกบาศก์แบบ face-centered cubic (fcc) ตาม JCPDF 04-0784 [94] ส่วนมุมที่ $2\theta = 39.8^\circ$ (111), 46.3° (200), 67.5° (220), 81.3° (311) เป็นจุดเลี้ยวเบนที่ตรงกับอนุภาคแพลทินัม ที่มีโครงสร้าง fcc ตาม JCPDF 04-0802 [95] ในขณะเดียวกัน อนุภาครูที่นิยมพบการเลี้ยวเบนที่มุม $2\theta = 37.75^\circ, 44.84^\circ$, และ 58.38° ซึ่งตรงกับระนาบ (100), (101) และ (102) โดยจุดเลี้ยวเบนที่ $2\theta = 43.8^\circ$ สอดคล้องกับโครงสร้าง fcc ของ RuNPs ตาม JCPDS 06-0663 [96] จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม (B1: AuPt-Ru) และอนุภาคนาโนโลหะคู่ (B2: Au@Pt) แสดงการเลี้ยวเบนที่เป็นการรวมกันของโลหะทุกชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่า วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมถูกสังเคราะห์ที่ได้สำเร็จด้วยวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ในการช่วยทำปฏิกิริยา อย่างไรก็ตาม ไม่สามารถตรวจพบค่าการเลี้ยวเบนของ RuNPs ได้ เนื่องจากปริมาณของ Ru ที่น้อยและถูกบดบังสัญญาณขององค์ประกอบ Au และ Pt การวิเคราะห์องค์ประกอบเชิงอะตอมสถานะทางเคมี และพลังงานยึดเหนี่ยวของ AuPt-Ru ถูกตรวจสอบโดยใช้เทคนิค X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) สเปกตรัม Full survey ของ AuPt-Ru พบสัญญาณของ Au 4f, Pt 4f, และ Ru 3d ดังที่แสดงในรูปที่ 4.7C1 สเปกตรัม XPS ของ Au 4f แสดงพลังงานยึดเหนี่ยว (BE) ที่ตำแหน่ง $Au4f_{5/2}$ และ $Au4f_{7/2}$ ที่ 87.5 eV และ 83.9 eV ตามลำดับ (รูปที่ 4.7C2) ค่าพลังงานยึดเหนี่ยวที่ $89.7, 88.9, 87.6, 87.2, 85.9,$ และ 83.9 eV แสดงถึง $Au^{3+} 4f_{5/2}, Au^{1+} 4f_{5/2}, Au^0 4f_{5/2}, Au^{3+} 4f_{7/2}, Au^{1+} 4f_{7/2}$ และ $Au^0 4f_{7/2}$ ตามลำดับ ซึ่งยืนยันการมีอยู่ของสถานะออกซิเดชันของทองใน AuPt-Ru นอกจากนี้ยังมีการขยายพีคของ Pt และ Ru ตามที่แสดงในรูปที่ 4.7C3-4 สเปกตรัมในบริเวณ Pt 4f และการฟิตติ้งแสดงสถานะการออกซิเดชันของแพลทินัม 3 ชนิด ได้แก่ Pt (0), Pt (II), และ Pt (IV) โดยมีพีคตำแหน่งที่ BE 74.7 eV และ 71.4 eV ซึ่งสัมพันธ์กับ $Pt4f_{7/2}$ และ $Pt4f_{5/2}$ ของ Pt (0) สัญญาณอีก 4 พีคอยู่ที่ BE 76.4 eV ($Pt4f_{7/2}$), 75.5 eV ($Pt4f_{7/2}$), 74.6 eV ($Pt4f_{7/2}$), 73.2 eV ($Pt4f_{7/2}$), 72.2 eV ($Pt4f_{7/2}$) และ 71.4 eV ($Pt4f_{7/2}$) แสดงถึง Pt ที่ถูกออกซิเดชันเป็น Pt (II) และ Pt (IV) ในขณะที่ในส่วนของ Ru สเปกตรัมพบที่ BE 281.8 eV และ 285.1 eV ซึ่งสัมพันธ์กับ $3d_{5/2}$ (Ru^0) และ $3d_{3/2}$ (Ru^0) ตามลำดับ ผลลัพธ์เหล่านี้ยืนยันการมีอยู่ของไอออนของโลหะ Au, Pt และ Ru ใน AuPt-Ru นอกจากนี้การสังเคราะห์ AuPt-Ru ที่สำเร็จสามารถยืนยันได้จากการพบค่าพลังงานของ C 1s และ O 1s ซึ่งมาจากสาร PVP และ AA ที่เคลือบอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคนาโน แสดงดังตารางที่ 4.6

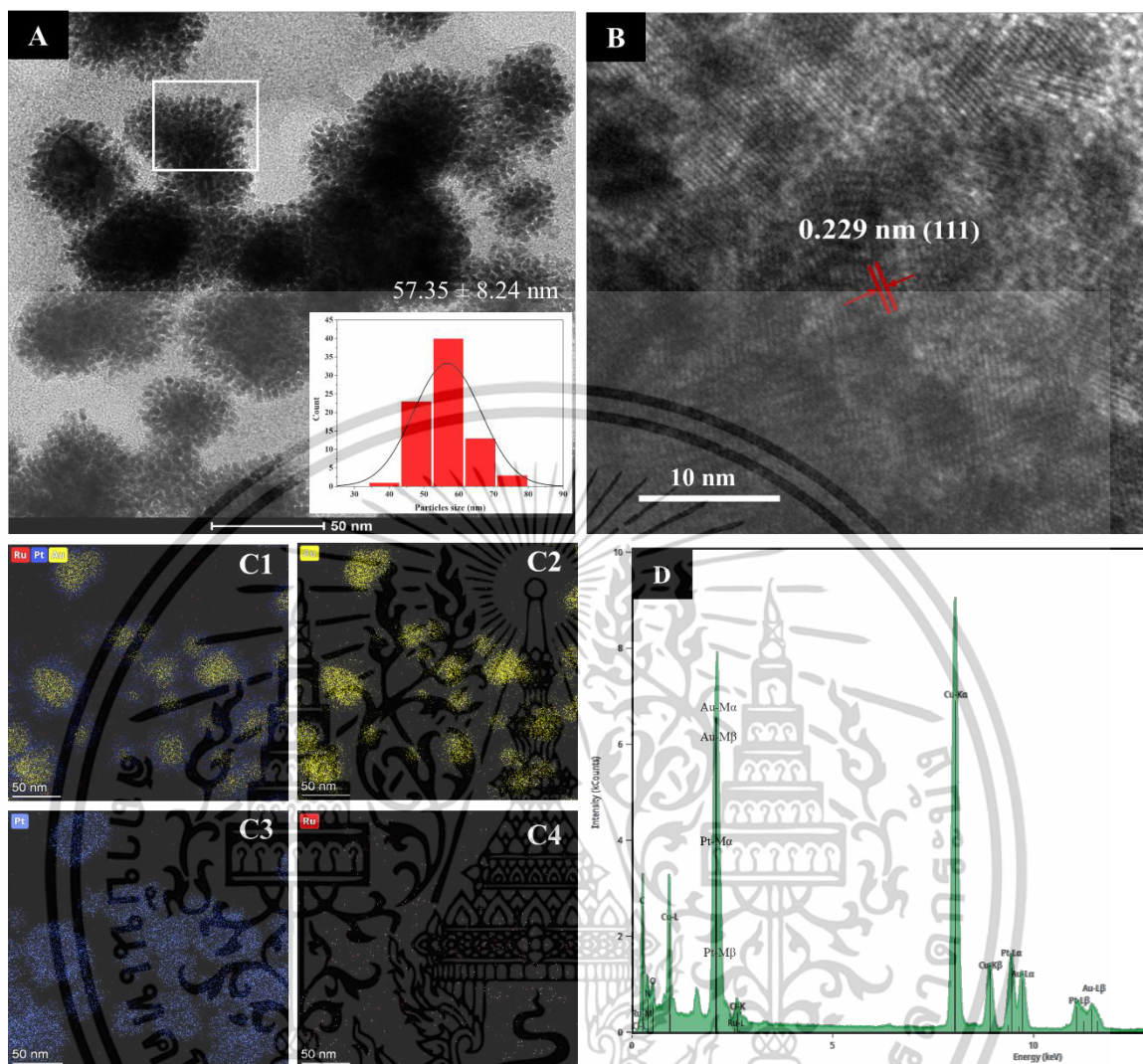


รูปที่ 4.7 (A) FT-IR ของ AA, PVP และ AuPt-Ru, (B) XRD: B1) AuPt-Ru, B2) Au@Pt, และ B3) AuNPs, (C1) XPS survey และสเปกตรัมความละเอียดสูง XPS ของ (C2) Au 4f (C3) Pt 4f และ (C4) Ru 3d

ตารางที่ 4.6 พลังงานพันธะของ C 1s และ O 1s และ Δ (eV) ของ AuPt-Ru

O 1s (eV) position	Δ (eV)	Connection mode	C 1s (eV) position	Δ (eV)	Connection mode
531.1	-	C=O	285.0	-	COO
531.9	0.8	COOH	286.2	1.2	C-O/O-C-O
532.9	1.8	C-OH	287.6	2.6	C-O/C-N
534.2	3.1	C-O-C	288.5	3.5	C-C/C-H

การวิเคราะห์สัณฐานวิทยาและโครงสร้างของ AuPt-Ru โดยเทคนิค TEM ดังแสดงในรูปที่ 4.8A พบว่า AuPt-Ru ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะทรงกลมและมีรูปร่างคล้ายขนล้อมรอบ เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 57.35 ± 8.24 นาโนเมตร แกนกลางและขอบมีขนาดอยู่ที่ 42.17 ± 3.11 นาโนเมตร และ 8.1 ± 1.76 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อวัดจากภาพ HR-TEM (รูปที่ 4.8B) ระยะห่าง Lattice spacing ของ AuPt-Ru คือ 0.229 นาโนเมตร ซึ่งบ่งชี้ตามการหักเหที่ระนาบ (111) ของ Au@Pt ที่เป็นโครงสร้างผลึกลูกบาศก์แบบ fcc และผล EDS ในรูปที่ 4.8C1-4 แสดงการกระจายตัวของอนุภาคโลหะต่างๆ โดยแกนกลางของอนุภาคเป็นทอง มีเปลือกนอกเป็นอนุภาคแพลทินัมและมีอนุภาคของรูทีเนียมกระจายบนอนุภาคนาโนโลหะ Au@Pt อีกชั้นหนึ่ง จากสเปกตรัม EDS (รูปที่ 4.8D) พบพีค 2.12 keV, 9.71 keV (Au), 2.05 keV, 9.44 keV (Pt), และ 0.24 keV, 2.56 keV (Ru) จากผลทั้งหมดชี้ให้เห็นว่าประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ผ่านวิธีการรีดักชันทางเคมีที่อาศัยคลื่นความถี่อัลตราโซนิคส์ในการช่วยทำปฏิกิริยา



รูปที่ 4.8 (A) ภาพ TEM และฮิสโทแกรมการกระจายตัวของขนาดอนุภาค, (B) HR-TEM, (C1) ภาพการทำแผนที่องค์ประกอบธาตุ, (C2) Au, (C3) Pt, และ (C4) Ru และ (D) สเปกตรัม EDX

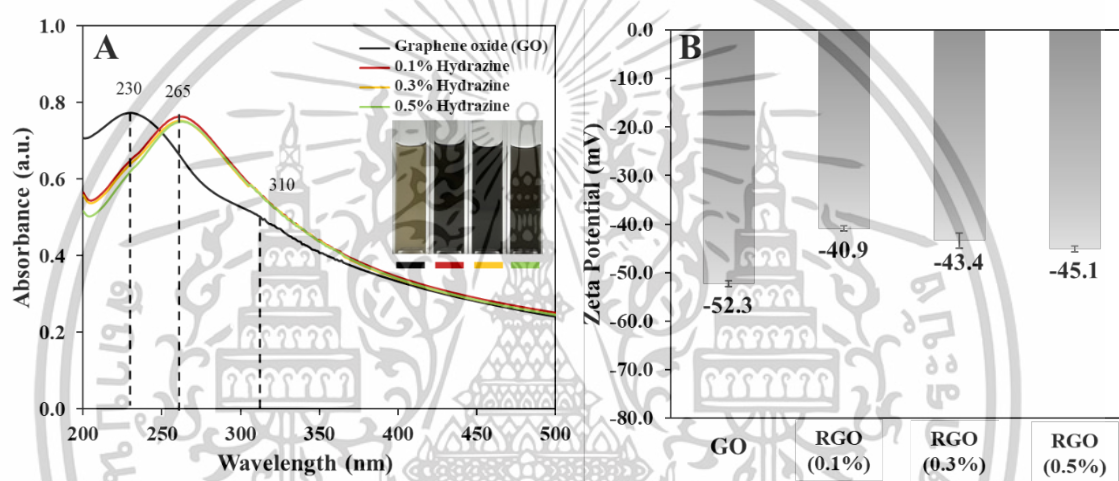
4.2 การสังเคราะห์ RGO

4.2.1 ความเข้มข้นของไฮดราซีนที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นสารรีดิวซ์ในการสังเคราะห์ RGO

จากรูปที่ 4.9A แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสง UV-vis ของ GO และ RGO ที่ได้จากการรีดิวซ์ GO ด้วยไฮดราซีนที่ความเข้มข้น 0.1, 0.3, และ 0.5% โดยปริมาตร ในสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ GO พบพีคการดูดกลืนสองตำแหน่งที่ 230 นาโนเมตร และ 310 นาโนเมตร ซึ่งบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนจาก $\pi-\pi^*$ ในพันธะคู่คาร์บอน C=C และที่ 310 นาโนเมตร สอดคล้องกับการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนจาก $n-\pi^*$ ในพันธะคาร์บอนิล C=O เมื่อนำ GO มาทำการรีดิวซ์ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารไฮดราซีนที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ RGO ที่ 230 นาโนเมตร เกิดการเคลื่อนที่ไปที่ 265 นาโนเมตร และพีคที่ 310 นาโนเมตร หายไป ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหมู่ฟังก์ชันออกซิเจนบางกลุ่ม (-OH, -COOH, -C=O, และ -O-) ได้ถูกกำจัดออกไปจากโครงสร้าง โดยการใช้สารละลายไฮดราซีนที่ความเข้มข้นต่างๆ พบลักษณะการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นไฮดราซีนที่ 0.1% จึงเพียงพอในการสังเคราะห์ RGO ผ่านวิธีการรีดิวซ์ทางเคมี อีกทั้งผลการวัดประจุพื้นผิว (รูปที่ 4.9B) GO มีค่าประจุบนพื้นผิวที่ -52.3 มิลลิโวลต์ และลดลงหลังจากทำการรีดิวซ์ด้วยไฮดราซีนเป็น -40.9 มิลลิโวลต์, -43.4 มิลลิโวลต์ และ -45.1 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการดูดกลืนแสงที่หมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวลดลง จึงส่งผลให้ประจุบนพื้นผิวลดลงด้วยเช่นเดียวกัน

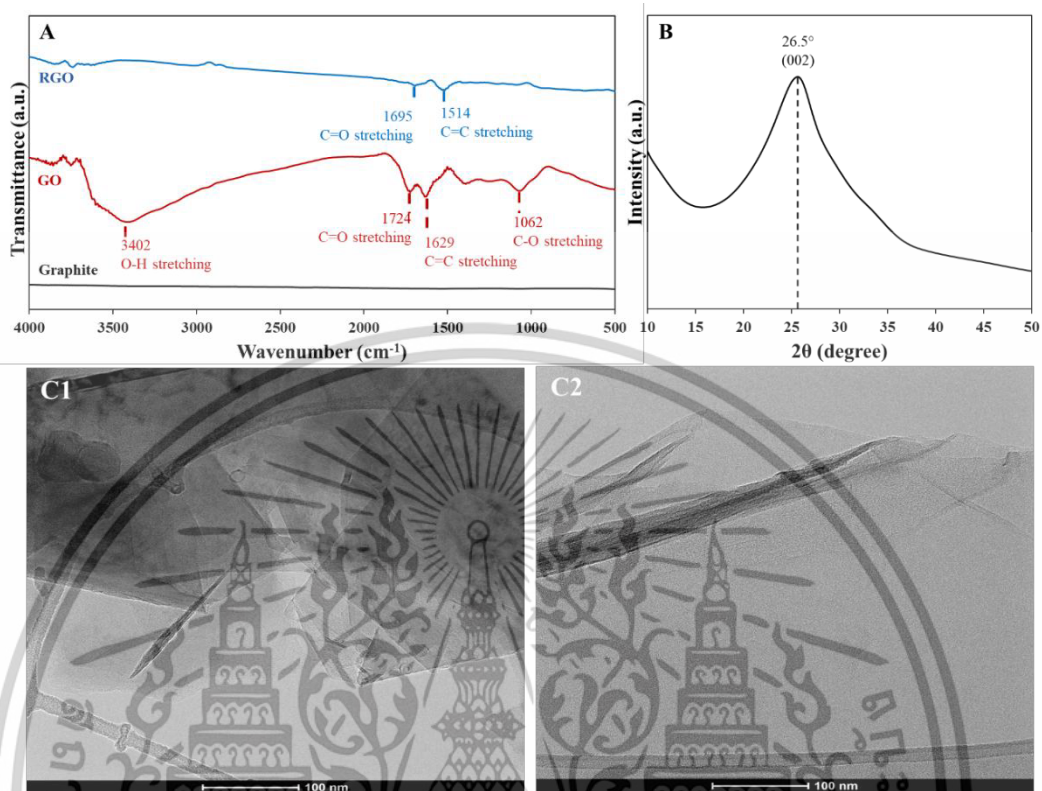


รูปที่ 4.9 (A) สเปกตรัมการดูดกลืนแสง UV-vis และ (B) ค่าศักย์ซีตาของ GO และ RGO ที่ได้จากการใช้ไฮดราซีนเป็นสารรีดิวซ์ที่ความเข้มข้น 0.1%, 0.3%, และ 0.5% โดยปริมาตร

4.2.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ RGO

จากผลการวิเคราะห์ FT-IR ในรูปที่ 4.10A สเปกตรัมของ RGO ที่สังเคราะห์ขึ้นพบพีคที่ 1695 cm^{-1} (C=O stretching vibration) และ 1514 cm^{-1} (C=C stretching vibration) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ RGO และการหายไปของพีคที่ 3402 cm^{-1} (O-H stretching) และ 1062 cm^{-1} (C-O stretching) ที่มีใน GO แสดงถึงการสังเคราะห์ที่ประสบความสำเร็จในการรีดิวซ์ไปเป็น RGO อีกทั้งในรูปที่ 4.10B การวิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วย XRD พบค่าการเลี้ยวเบนที่ $2\theta = 26.5^\circ$ (002) ผลการวิเคราะห์ด้วย TEM ยังแสดงถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ GO และ RGO อีกด้วย โดย GO แสดงลักษณะเป็นแผ่นพับและมีรอยย่น (รูปที่ 4.10C1) ส่วน RGO ที่ได้จากการรีดิวซ์ด้วยไฮดราซีน แสดงให้เห็นว่าแผ่น GO หลายชั้นถูกแยกออกเป็นแผ่นบางของ RGO (รูปที่ 4.10C2) ซึ่งยืนยันการสังเคราะห์ RGO สำเร็จ

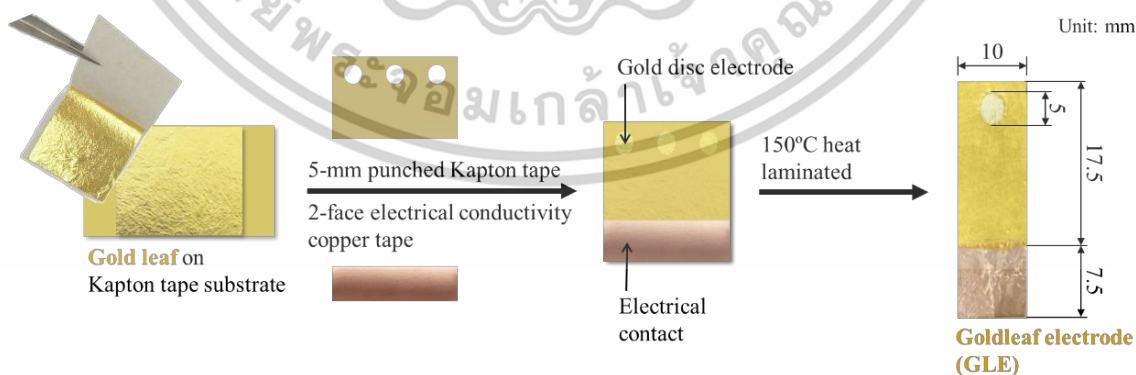
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 (A) สเปกตรัม FT-IR ของ Graphite, GO และ RGO, (B) XRD ของ RGO, และ รูปภาพ TEM (C1) GO, และ (C2) RGO

4.3 การสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี GLE_{AuPt-Ru/RGO}

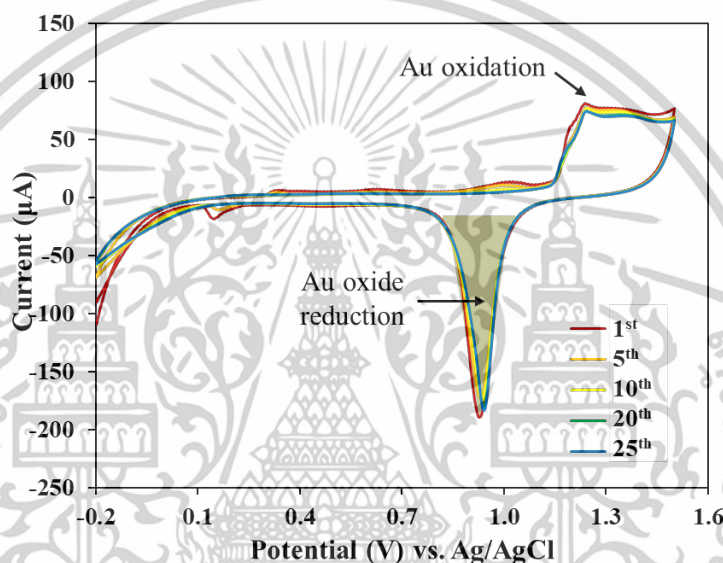
4.3.1 การสร้าง Goldleaf electrode (GLE)



รูปที่ 4.11 ขั้นตอนการสร้าง Goldleaf electrode (GLE)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GLE ที่สร้างขึ้นภายในห้องปฏิบัติการ (ความยาว 25 มิลลิเมตร, ความกว้าง 10 มิลลิเมตร) มีการออกแบบและสร้างชั้นตามขั้นตอนในรูปที่ 4.11 สำหรับใช้เป็นแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีสำหรับการตรวจวัด AFB1 โดย GLE ถูกนำมาทำความสะอาดพื้นผิวภายใต้เทคนิค CV ในสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ที่อัตราการสแกน 0.1 โวลต์ต่อวินาที ทั้งหมด 25 รอบ ซึ่งผลการวัดด้วย CV แสดงในรูปที่ 4.12 พบพีคแอโนดิกที่ 1.35 โวลต์ (เทียบกับ Ag/AgCl) และพีคแคโทดิกที่ 0.90 โวลต์ ซึ่งเกิดจากการออกซิเดชันและรีดักชันของอะตอมทองคำที่อยู่ชั้นนอกสุด พบว่าพฤติกรรมทางไฟฟ้าเคมีของ GLE ที่ผลิตในห้องปฏิบัติการมีลักษณะคล้ายคลึงกับขั้วไฟฟ้าทองคำเชิงพาณิชย์ [97]

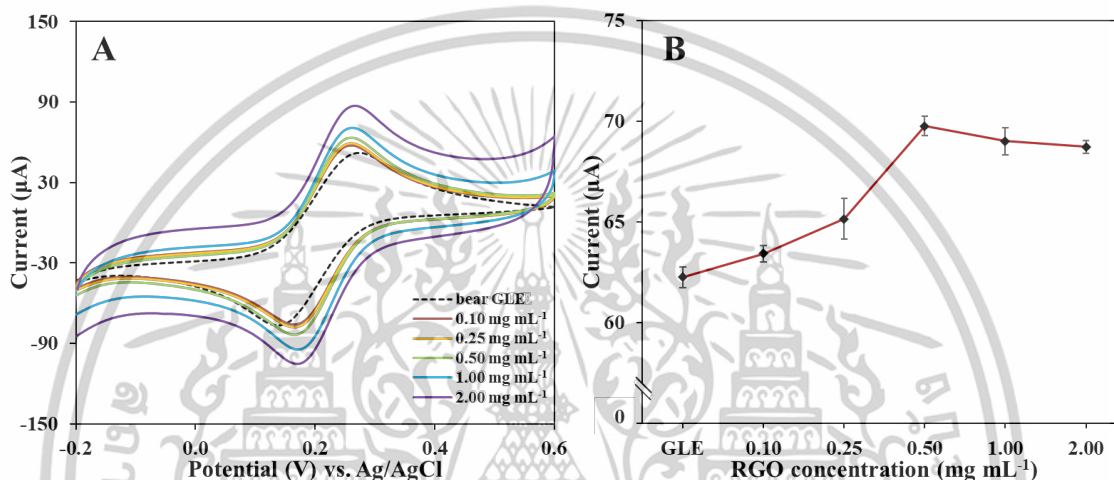


รูปที่ 4.12 Cyclic voltammogram ของ GLE ในสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ที่อัตราการสแกน 0.1 โวลต์ต่อวินาที ทั้งหมด 25 รอบ

4.3.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ RGO ในการปรับปรุงพื้นผิว GLE

สมบัติทางไฟฟ้าของ RGO ถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิค CV โดยใช้ RGO ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาปรับปรุงพื้นผิวของ GLE การวิเคราะห์ CV ทำในสารละลาย $K_3[Fe(CN)_6]$ เข้มข้น 5 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ PBS 10 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 7.4) ภายใต้อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยการสแกนศักย์ไฟฟ้าจาก -0.2 ถึง +0.6 โวลต์ ผลการทดลอง (รูปที่ 4.13A และ 13B) แสดงให้เห็นว่าเมื่อทำการปรับปรุงพื้นผิว GLE ด้วย RGO ค่าการกระแสไฟฟ้าสูงสุดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจาก 77.33, 80.81, 83.01 และ 88.89 ไมโครแอมป์ สำหรับ GLE เปล่าและ GLE ที่ถูกปรับปรุงพื้นผิวด้วย RGO ที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดลดลงหลังจากเพิ่มความเข้มข้นของ RGO ที่

1.00 และ 2.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การเพิ่มการนำไฟฟ้าหลังจากปรับปรุงพื้นผิวด้วย RGO เป็นผลมาจากโครงสร้างของ RGO ที่มีโครงสร้าง π -conjugated สามารถเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอนได้ดีภายในระบบ ส่งผลให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดเพิ่มขึ้น และการลดลงของค่ากระแสไฟฟ้าหลังจากเพิ่มความเข้มข้นของ RGO เนื่องมาจากการสะสมชั้น RGO บนผิว GLE ที่หนาเกินไป จึงส่งผลให้ขัดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่หน้าขั้ว ดังนั้น RGO ที่ความเข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุด จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุง GLE



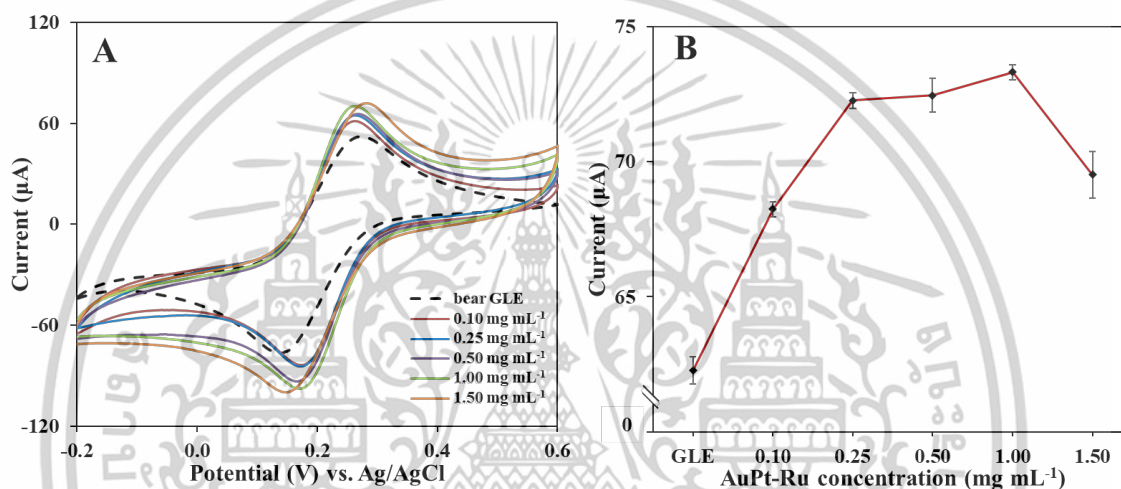
รูปที่ 4.13 (A) CV และ (B) ค่าการนำไฟฟ้าสูงสุดของ GLE ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย RGO ที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS (pH 7.4) ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

4.3.3 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ AuPt-Ru สำหรับสร้างเป็นอนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO ที่ใช้ในการปรับปรุงพื้นผิว GLE

อนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO เตรียมด้วยวิธีอัลตราโซนิก วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru มีพื้นที่ผิวสูงและความสามารถในการนำไฟฟ้าที่ดีเยี่ยม เมื่อใช้งานร่วมกันระหว่าง RGO กับ AuPt-Ru สามารถช่วยเพิ่มการถ่ายโอนอิเล็กตรอนภายในระบบได้ ทำให้เกิดการตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีที่ดีขึ้น สมรรถนะทางไฟฟ้าของ AuPt-Ru/RGO ถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิค CV จากรูปที่ 4.14A และ 4.14B โดยผสม AuPt-Ru ที่มีความเข้มข้นต่างกันคือ 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับ RGO ที่มีความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (อัตราส่วน 1: 1 โดยปริมาตร) จากนั้นให้คลื่นอัลตราโซนิกที่ระดับ 25% เป็นเวลา 20 นาที และเคลือบลงบน GLE ปริมาตร 15 ไมโครลิตร พบว่าค่ากระแสแอโนดิกสูงสุดมีการเพิ่มขึ้นหลังจากปรับแต่งพื้นผิวด้วย AuPt-Ru/RGO โดยเพิ่มขึ้นจาก 77.33,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

86.94 และ 92.01 ไมโครแอมป์ สำหรับ GLE เปล่าและ GLE ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย AuPt-Ru/RGO ที่ความเข้มข้น 0.10 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้น จากนั้นลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงถึง 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการลดลงของค่ากระแสไฟฟ้านี้เกิดมาจากปริมาณ AuPt-Ru ที่มากเกินไปส่งผลให้วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมเกิดการรวมตัวกัน จึงทำให้เกิดการขัดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนได้ จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับสร้างอนุภาคนาโนคอมโพสิตคือ AuPt-Ru ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 4.14 (A) CV และ (B) ค่าการนำไฟฟ้าสูงสุดของ GLE ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย AuPt-Ru/RGO ที่ความเข้มข้น AuPt-Ru 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใต้ 5 มิลลิโวลต์ต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโวลต์ต่อลิตร PBS (pH 7.4) ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

4.3.4 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอปตาเมอร์

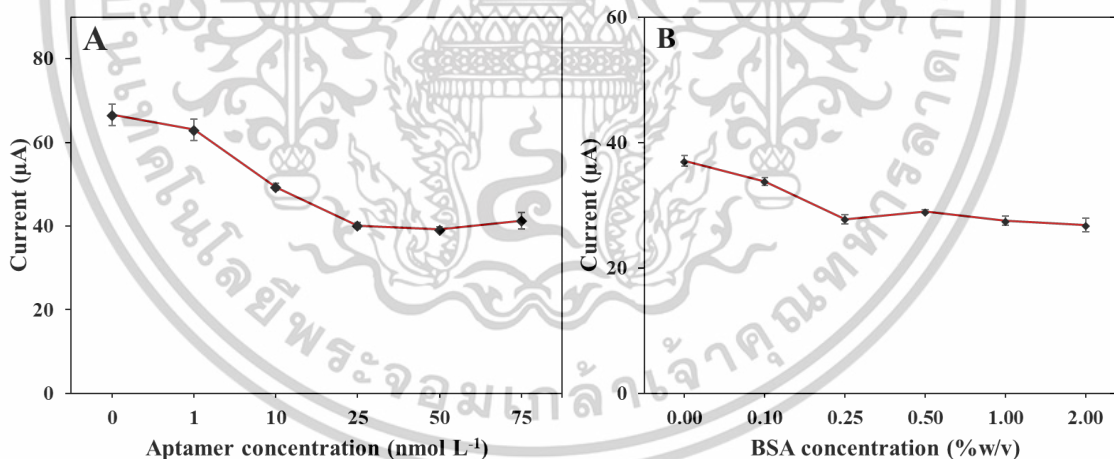
จากรูปที่ 4.15A แสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของ GLE_{AuPt-Ru/RGO} ที่ได้จากการตอบสนองทางไฟฟ้า CV หลังจากปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กโทรดด้วยแอปตาเมอร์ (Apt) ที่ 0, 1, 10, 25, 50, และ 75 นาโนโมลต่อลิตร พบว่าเมื่อทำการปรับปรุงพื้นผิวด้วย Apt ส่งผลให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ Apt โดยค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดลดลงจาก 66.62 ไมโครแอมป์ จนถึง 42.10 ไมโครแอมป์ สำหรับ Apt ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 25 นาโนโมลต่อลิตร การลดลงของค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดเกิดขึ้นเนื่องจาก Apt เป็นโครงสร้าง ssDNA ขนาดใหญ่มีพฤติกรรมเป็นฉนวนทางไฟฟ้าส่งผลให้เกิดการขัดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่พื้นผิวของอิเล็กโทรด และเมื่อความเข้มข้น Apt สูงตั้งแต่ 25 นาโนโมลต่อลิตรขึ้นไป พบว่าค่ากระแสไฟฟ้าคงที่ แสดงถึง Apt ได้ถูกตรึงบนอิเล็กโทรดอย่างสมบูรณ์แล้ว ดังนั้นไม่ว่าจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มความเข้มข้นอีกเท่าใด จึงไม่ส่งผลต่อพฤติกรรมทางไฟฟ้าของอิเล็กโทรด ดังนั้น ในการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ จึงเลือกใช้ Apt ที่ความเข้มข้น 25 นาโนโมลต่อลิตร สำหรับเป็นสารที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อ AFB1

4.3.5 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BSA

จากรูปที่ 4.15B แสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่ได้จากการตอบสนองทางไฟฟ้า CV หลังจากปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กโทรดด้วย BSA ที่ 0.00, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 %โดยมวลต่อปริมาตร หลังจากได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Apt พบว่าพฤติกรรมทางไฟฟ้าเคมีของอิเล็กโทรดเปลี่ยนไปหลังจากทำการเติม BSA โดยค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดลดลงจาก 37.03 ไมโครแอมป์ ไปจนถึง 27.76 ไมโครแอมป์ สำหรับ BSA ที่ 0.00 ถึง 0.25%โดยมวลต่อปริมาตร เนื่องจาก BSA เป็นโปรตีนขนาดใหญ่จึงเกิดการขัดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่ผิวของอิเล็กโทรด หลังจากนั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้น BSA ตั้งแต่ 0.25 %โดยมวลต่อปริมาตร เป็นต้นไป ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดมีค่าคงที่เนื่องจากพื้นผิวของอิเล็กโทรดเกิดการอิ่มตัว BSA เข้าปกคลุมโดยสมบูรณ์แล้ว ทำให้ค่ากระแสไฟฟ้าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังนั้น BSA ที่ 0.25 %โดยมวลต่อปริมาตร จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$



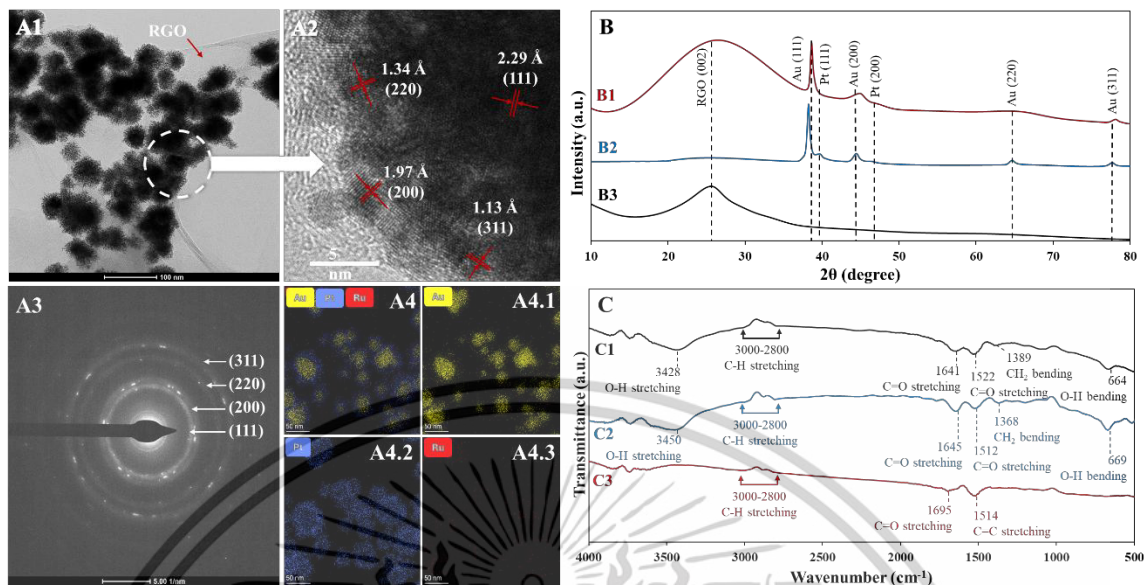
รูปที่ 4.15 ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆของ (A) Apt 0, 1, 10, 25, 50, และ 75 นาโนโมลต่อลิตร และ (B) BSA 0.00, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 %โดยมวลต่อปริมาตร

4.3.6 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

จากผลการวิเคราะห์อนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO ภาพ HR-TEM (รูปที่ 4.16A1) แสดงให้เห็นว่าอนุภาค AuPt-Ru ฝังตัวอยู่บนแผ่น RGO ที่มีโครงสร้างแผ่นบาง โดยอนุภาค AuPt-Ru มีลักษณะโครงสร้างแบบแกน-เปลือกคล้ายผล waxberry และในรูปที่ 4.16A2 พบระยะระหว่างชั้นผลึก ขนาด 2.29 Å, 1.97 Å, 1.34 Å, และ 1.13 Å ซึ่งสอดคล้องกับระนาบ (111), (200), (220), และ (311) ของ AuPt-Ru ตามลำดับ ซึ่งตรงกับค่าระยะระหว่างชั้นผลึกของ Au (111) (JCPDS card no. 04-0784) [94], Pt (111) (JCPDS card no. 04-0802) [95], และ Ru (101) ในโครงสร้างหกเหลี่ยม (JCPDS card no. 65-7646) [96] รวมถึงงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับวัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสมแบบแกน-เปลือก Au@Pt [98] การวิเคราะห์ SAED ของ AuPt-Ru (รูปที่ 4.16A3) แสดงวงแหวนที่บ่งบอกถึงลักษณะพอลิคริสตัลของ AuPt-Ru ที่ระนาบ (111), (200), (220), และ (311) สำหรับโครงสร้าง FCC ของ AuPt-Ru สเปกตรัม EDX (รูปที่ 4.16A4 และ A4.1-3) ยืนยันว่าพื้นผิวของ RGO ประกอบด้วยธาตุ Au, Pt และ Ru ซึ่งบ่งบอกถึงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO อย่างสมบูรณ์

ในรูปที่ 4.16B การวิเคราะห์ XRD ยืนยันการสร้าง AuPt-Ru/RGO โดยแสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของ XRD ของ AuPt-Ru/RGO (B1), AuPt-Ru (B2), และ RGO (B3) เปรียบเทียบกัน ลักษณะของ RGO พบจุดสูงสุดที่ระนาบ (002) ที่ 26.5° เนื่องจากลักษณะของ RGO ที่ไม่เป็นผลึก ซึ่งสอดคล้องกับ AuPt-Ru/RGO จุดสูงสุดที่เกี่ยวข้องกับ Au@Pt อยู่ที่ 38.6° (111), 44.8° (200), 65.6° (220), และ 78.1° (311) ซึ่งระนาบอยู่ระหว่าง Au (111) และ Pt (111) บ่งชี้ถึงโครงสร้างแกน-เปลือก Au@Pt ขณะที่เส้นการเลี้ยวเบนของ Ru ไม่ปรากฏใน XRD ของ AuPt-Ru/RGO เนื่องจากปริมาณต่ำและถูกบดบังด้วยสัญญาณของ AuPt

สเปกตรัม FT-IR ถูกใช้ยืนยันการผสม RGO กับ AuPt-Ru อย่างสมบูรณ์ ในรูปที่ 4.16C1 พบการสั่นที่แสดงถึงหมู่ของออกซิเจน เช่น O-H (3428 cm^{-1}), C=O (1641 cm^{-1} และ 1522 cm^{-1}), และ O-H (664 cm^{-1}) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ AuPt-Ru/RGO สเปกตรัม FTIR ของ AuPt-Ru (รูปที่ 4.16C2) และ RGO (รูปที่ 4.16C3) พบคุณสมบัติที่สอดคล้องกันใน AuPt-Ru/RGO ซึ่งยืนยันถึงความสำเร็จในการผสมรวมของนาโนคอมโพสิต



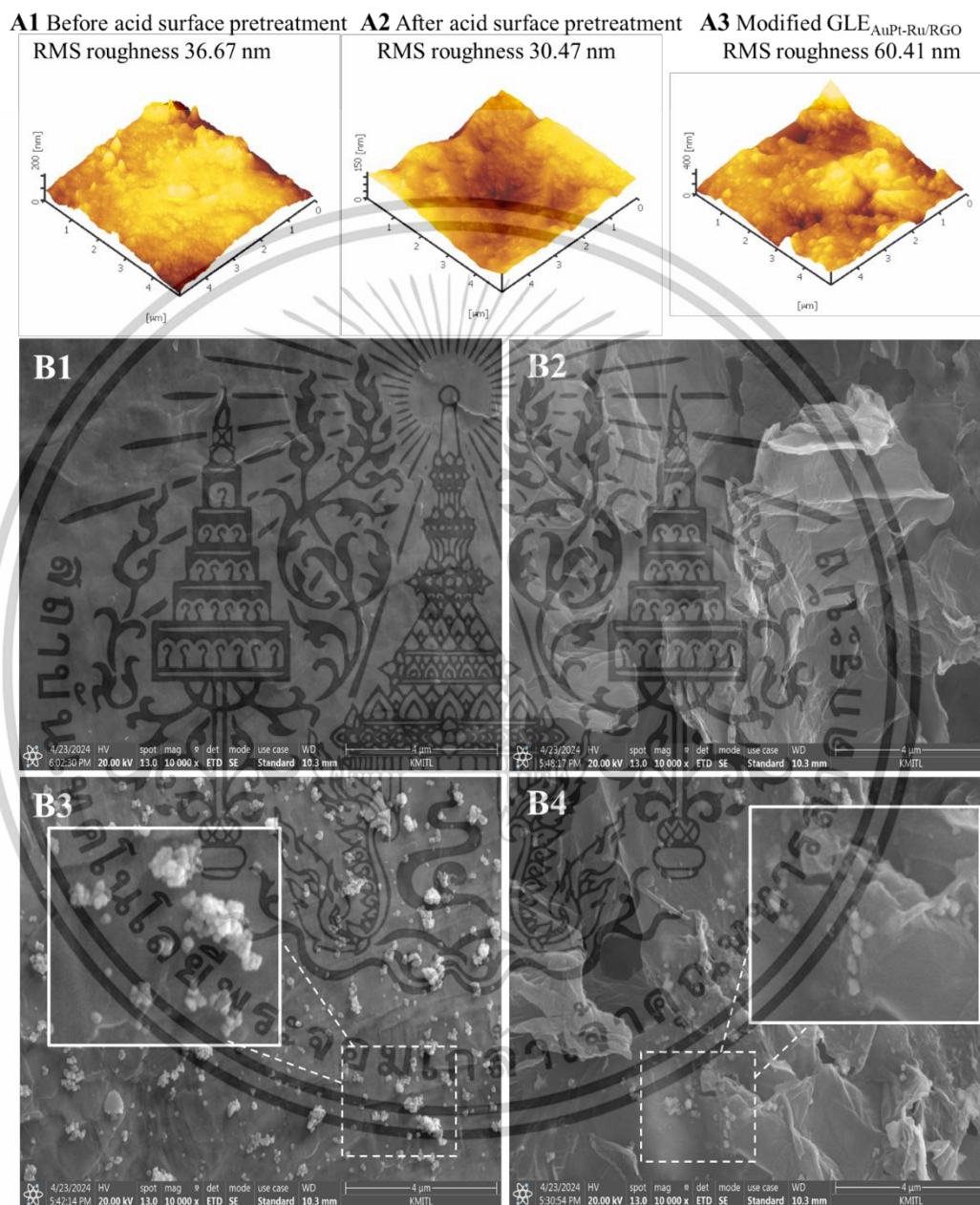
รูปที่ 4.16 (A1) TEM, (A2) HR-TEM, (A3) SAED, (A4) EDX ของ AuPt-Ru/RGO (B) XRD ของ (B1) AuPt-Ru/RGO, (B2) AuPt-Ru และ (B3) RGO และ (C) FT-IR ของ (C1) AuPt-Ru/RGO, (C2) AuPt-Ru และ (C3) RGO

การวิเคราะห์โครงสร้างของขั้วไฟฟ้าได้ใช้เทคนิค AFM และ Fe-SEM ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.17A และ 17B ตามลำดับ โดยพบว่าพื้นผิว GLE ค่อนข้างขรุขระและมีความขรุขระเฉลี่ยอยู่ที่ 36.67 นาโนเมตร (รูปที่ 4.17A1) หลังจากผ่านกระบวนการทำความสะอาดพื้นผิวด้วยเทคนิค CV จำนวน 25 รอบ ภายใต้สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.5 โมลต่อลิตร พบว่าพื้นผิวของ GLE มีความเรียบขึ้นและค่าความขรุขระลดลงเป็น 30.47 นาโนเมตร (รูปที่ 4.17A2) ซึ่งเกิดจากกรดซัลฟิวริกเข้มข้นจะช่วยให้สารเจือปนต่างๆ ถูกออกซิไดซ์และละลายออกไปจากพื้นผิวในระหว่างกระบวนการสแกนศักย์ไฟฟ้า กระบวนการนี้ช่วยให้พื้นผิวอิเล็กโทรดมีความเรียบมากขึ้น และเมื่อทำการปรับปรุงพื้นผิวด้วยอนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO พื้นผิวของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ เพิ่มขึ้นมาที่ 60.41 นาโนเมตร

ภาพถ่ายพื้นผิวของ GLE จาก Fe-SEM (รูปที่ 4.17B) แสดงการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในโครงสร้างพื้นผิวเมื่อมีการปรับปรุงด้วยวัสดุต่างๆ โดยพื้นผิวของ GLE (รูปที่ 4.17B1) ก่อนการปรับปรุงมีลักษณะเรียบสม่ำเสมอ หลังจากการเคลือบด้วย RGO พบลักษณะของแผ่นขนาดใหญ่ซ้อนทับกัน (รูปที่ 4.17B2) ซึ่งเป็นคุณสมบัติเด่นของ RGO ที่ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวได้ดี เมื่อทำการปรับปรุงด้วย AuPt-Ru พื้นผิวแสดงลักษณะของอนุภาคกลมเล็กๆ ที่กระจายตัวอยู่และมีการเกาะกลุ่มของอนุภาคบางส่วน ซึ่งเกิดจากวิธีการเตรียมชิ้นงานโดยการหยดสารและปล่อยให้แห้ง ทำให้ AuPt-Ru รวมตัวกันเป็นกลุ่มในบางส่วน ดังแสดงในรูปที่ 4.17B3 ในขณะที่การปรับปรุงด้วย AuPt-Ru/RGO (รูปที่ 4.17B4) แสดงลักษณะเฉพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

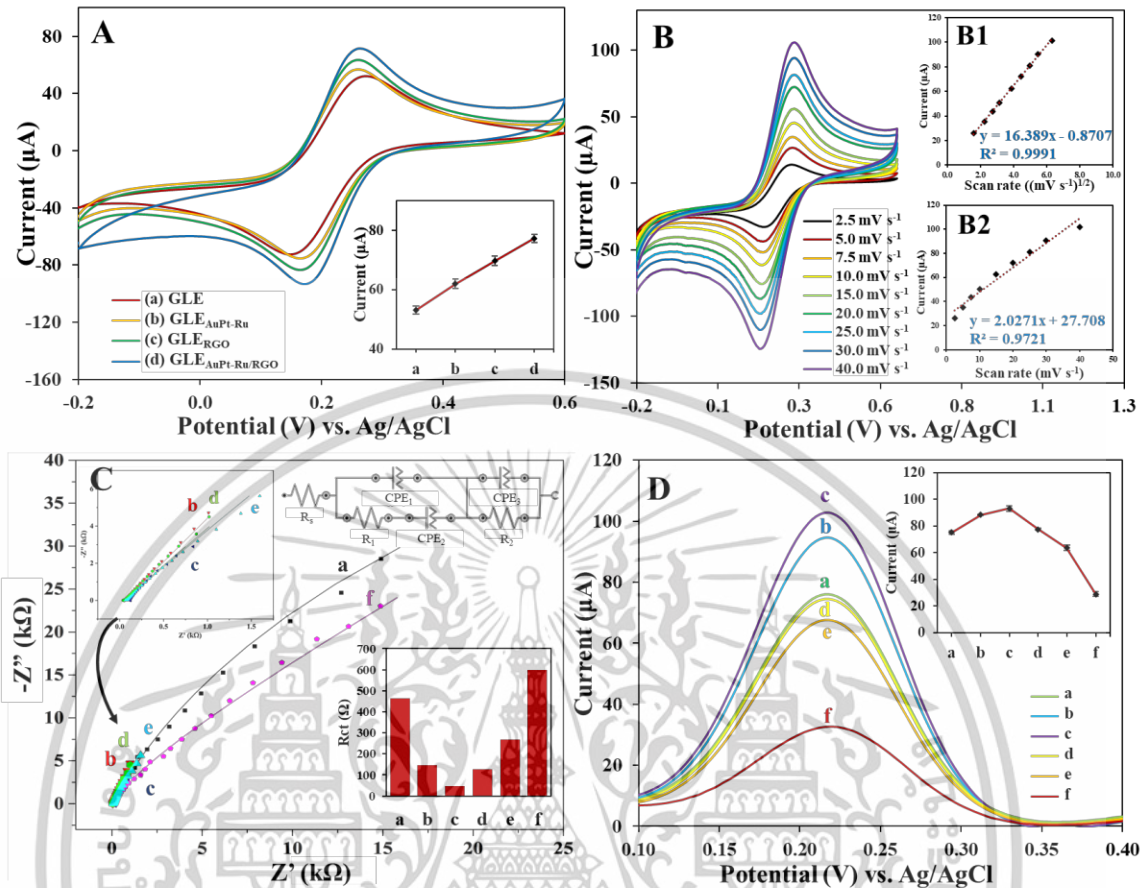
ของทั้ง RGO และ AuPt-Ru ปกคลุมพื้นผิวอยู่ร่วมกัน ซึ่งคาดว่า การเพิ่มของ RGO ทำให้มีพื้นที่ผิวที่มากขึ้น เป็นผลดีต่อการนำไปใช้งานด้านอิเล็กทรอนิกส์



รูปที่ 4.17 (A) AFM ของ GLE (A1) ก่อนทำความสะอาดพื้นผิวด้วยกรด, (A2) หลังทำความสะอาดพื้นผิวด้วยกรด, และ (A3) GLE ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย AuPt-Ru/RGO และ (B) SEM ของ (B1) GLE, (B2) GLE_{RGO}, (B3) GLE_{AuPt-Ru} และ (B4) GLE_{AuPt-Ru/RGO}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบด้วยเทคนิค CV, EIS และ DPV ในสารละลาย $K_3[Fe(CN)_6]$ 5 มิลลิโมลต่อลิตร ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ PBS 10 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 7.4) (รูปที่ 4.18A-D) การวิเคราะห์ CV (รูปที่ 4.18A) พบว่าการตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีของ GLE เปล่าที่ไม่ได้ถูกปรับปรุงพื้นผิวให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดอยู่ที่ 53.12 ไมโครแอมป์ และเพิ่มขึ้นต่อเนื่องเมื่อทำการปรับปรุงพื้นผิวด้วยวัสดุนาโน โดย $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดประมาณ 77.32 ไมโครแอมป์ ซึ่งเพิ่มขึ้น 45.56% เนื่องจากโครงสร้างนาโนของ $AuPt-Ru/RGO$ ที่มีระบบ π -อิเล็กทรอนิกส์แบบเคลื่อนที่อิสระทั้งโครงสร้าง นอกจากนี้ ผลการวัดกระแสไฟฟ้ากับอัตราสแกนตั้งแต่ 2.5 ถึง 40.0 มิลลิโวลต์ต่อวินาทีในสารละลายเดียวกัน (รูปที่ 4.18B) เมื่อเปรียบเทียบกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้า (I_{pa}) กับรากที่สองของอัตราสแกน ($v^{-1/2}$) และความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้า (I_{pa}) กับอัตราสแกน (v) ดังรูปที่ 4.18B1 และ B2 ตามลำดับ พบว่ากราฟทั้งสองแบบเมื่อเพิ่มอัตราสแกน ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ขณะเดียวกัน กราฟการพล็อตระหว่างกระแสกับรากที่สองของการสแกนมีความเป็นเส้นตรงสูงกว่าตามสมการ I_{pa} (ไมโครแอมป์) = $16.389v^{-1/2}$ (มิลลิโวลต์ต่อวินาที) - 0.8707 ($R^2 = 0.9991$) ซึ่งบ่งบอกถึงพฤติกรรมที่ควบคุมกลไกการถ่ายโอนอิเล็กตรอนภายในระบบด้วยด้วยการแพร่บนพื้นผิวอิเล็กโทรด (ตาม Randles-Sevcik model) ในการวิเคราะห์ EIS (รูปที่ 4.18C) เพื่อวัดความต้านทานการถ่ายโอนประจุ (R_{ct}) พบว่า R_{ct} ของ GLE เริ่มต้นที่ 463 โอห์ม (a) และลดลงเหลือ 136 และ 62 โอห์มใน GLE ที่ปรับปรุงด้วย RGO (b) และ $AuPt-Ru/RGO$ (c) ตามลำดับ จากนั้นเมื่อเติม Apt (d), BSA (e) และ AFB1 (f) R_{ct} เพิ่มขึ้นเป็น 74, 85 และ 141 โอห์ม ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ DPV ในรูปที่ 4.18D ที่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรมทางไฟฟ้าที่เหมือนกัน โดยวัสดุนาโนคอมโพสิตสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่พื้นผิวอิเล็กโทรดและเมื่อทำการตรึง Apt, BSA และจับกับ AFB1 ซึ่งยับยั้งการถ่ายโอนอิเล็กตรอนทำให้เกิดการลดลงของกระแสไฟฟ้าสูงสุด โดยผลเหล่านี้แสดงถึงความสำเร็จในการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$



รูปที่ 4.18 (A) กราฟ CV แสดงผลลัพธ์ของขั้วไฟฟ้า — GLE, — GLE_{RGO}, — GLE_{AuPt-Ru} และ — GLE_{AuPt-Ru/RGO} (B) CV ของ GLE_{AuPt-Ru/RGO} แสดงค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดเป็นฟังก์ชันของ (B1) รากที่สองของอัตราการสแกนและ (B2) อัตราการสแกนในช่วง 2.5 ถึง 40 มิลลิโวลต์ต่อวินาที, (C) กราฟ Nyquist และ (D) การวิเคราะห์ DPV ที่แสดงขั้นตอนการพัฒนาของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีสำหรับ a) GLE, b) GLE_{RGO}, c) GLE_{AuPt-Ru/RGO}, d) GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt}, e) GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt/BSA} และ f) GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt/BSA/AFB1} การวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมีดำเนินการในสารละลาย PBS 10 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 7.4) ที่มี 5 มิลลิโมลต่อลิตร K₃[Fe(CN)₆]

พื้นที่ผิวที่มีความสามารถทางไฟฟ้าเคมีของขั้วไฟฟ้า GLE ทั้งก่อนและหลังการปรับปรุง ได้คำนวณโดยใช้สมการ Randles-Sevcik (สมการที่ 4.5)

$$I_{pa} = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} AC(Dv)^{1/2} \quad (4.5)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยที่ I_{pa} แทนกระแสไฟฟ้าสูงสุดชั่วแอนดิก, n คือจำนวนอิเล็กตรอนที่ถ่ายโอนในระบบ (ในที่นี้ใช้ค่า n เท่ากับ 1 สำหรับ $K_3[Fe(CN)_6]$), A แทนพื้นที่ผิวที่มีความสามารถทางไฟฟ้าเคมี (cm^2), C คือความเข้มข้นของ $K_3[Fe(CN)_6]$ (5 มิลลิโมลต่อลิตร), D คือค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ ($7.6 \times 10^{-6} cm^2s^{-1}$ สำหรับ $K_3[Fe(CN)_6]$ ที่อุณหภูมิ $25^\circ C$) และ v คืออัตราการสแกน (Vs^{-1}) จากการคำนวณ พื้นที่ผิวที่มีความสามารถทางไฟฟ้าเคมีของ GLE, $GLE_{AuPt-Ru}$, GLE_{RGO} และ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ได้ค่าตามลำดับคือ 10.12 ± 0.27 ตารางมิลลิเมตร, 12.27 ± 0.30 ตารางมิลลิเมตร, 13.75 ± 0.30 ตารางมิลลิเมตร และ 14.77 ± 0.30 ตารางมิลลิเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการปรับปรุงพื้นผิวด้วย AuPt-Ru, RGO และ AuPt-Ru/RGO ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวที่มีความสามารถทางไฟฟ้าเคมีของขั้วไฟฟ้าได้

จากการศึกษาการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ สามารถสรุปความเข้มข้นขององค์ประกอบต่างๆ ได้ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 สภาวะที่เหมาะสมในการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

ตัวแปรที่ศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
ความเข้มข้นของ RGO	50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
ความเข้มข้นของ AuPt-Ru	25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
ความเข้มข้นของ Apt	25 นาโนโมลต่อลิตร
ความเข้มข้นของ BSA	0.25 %โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

4.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด AFB1

4.4.1 ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยากับ AFB1

การศึกษาผลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างแอปตาเซ็นเซอร์กับ AFB1 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.30, 3.00 และ 30.00 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.19A) พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น กระแส DPV ของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีจะค่อยๆ ลดลง เนื่องจาก Apt ที่ถูกตรึงไว้บนผิวอิเล็กโทรดจะจับกับ AFB1 และสร้าง Apt-AFB1-complex มากขึ้น เมื่อเวลาการบ่มเกินกว่า 30 นาที กระแสไฟฟ้าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ บ่งชี้ว่า Apt บนขั้วไฟฟ้ามีการจับกับ AFB1 เต็มที่แล้ว ดังนั้นเวลาในการทำปฏิกิริยากับ AFB1 ที่ 30 นาทีจึงเป็นเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัด

4.4.2 pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS

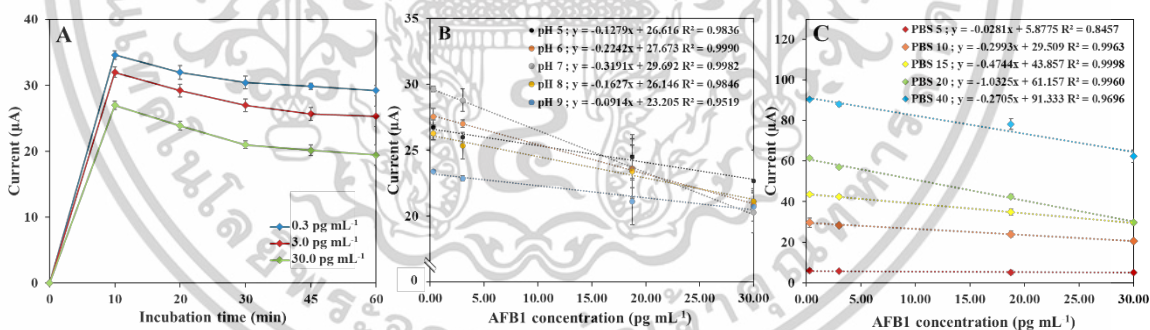
ผลของค่า pH เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการตอบสนองทางไฟฟ้าเคมี (รูปที่ 4.19B) หลังจากทำการศึกษาที่ pH 5-9 พบว่าที่ pH 7 ให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดีที่สุด (ความชันของเส้นเท่ากับ 0.3191

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และค่า R^2 เท่ากับ 0.9982) แต่เมื่อค่า pH มากหรือน้อยกว่า 7 ความไวการตอบสนองของเซ็นเซอร์ลดลงอย่างมาก เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง pH สามารถทำให้โครงสร้าง Apt เปลี่ยนแปลงหรือถูกทำลาย ส่งผลให้การเชื่อมต่อระหว่าง aptamer และ AFB1 น้อยลง ดังนั้น pH ที่เหมาะสำหรับการตรวจวัดจึงเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ PBS ที่ pH 7.0

4.4.3 ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS

อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลาย PBS ต่อการตรวจวัด AFB1 ถูกทดสอบในช่วงความเข้มข้น 5-40 มิลลิโมลต่อลิตร (รูปที่ 4.19C) โดยที่ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลต่อลิตร ให้ความชันในการตรวจวัดที่ดีที่สุด (1.0325) และมีค่า R^2 ที่ 0.9960 ในทางกลับกันที่ความเข้มข้นของสารละลาย PBS ต่ำ (5, 10 และ 15 มิลลิโมลต่อลิตร) มีผลทำให้ประสิทธิภาพของการตอบสนองทางไฟฟ้าเคมีลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของสารอิเล็กโทรไลต์ที่น้อยหรือไอออนในระบบน้อย ส่งผลให้การถ่ายโอนอิเล็กตรอนนั้นไม่มีประสิทธิภาพ ในขณะที่ความเข้มข้นที่มากเกินไป (PBS ที่ 40 มิลลิโมลต่อลิตร) ให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่สูงแต่ความชันและ R^2 ลดลง เนื่องมาจากปริมาณไอออนที่มากเกินไปในสารละลายอาจก่อให้เกิดการสะสมและบดบังประจุที่พื้นผิวอิเล็กโทรดทำให้การถ่ายโอนอิเล็กตรอนลดลง ดังนั้นความเข้มข้น PBS (pH 7.0) ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลต่อลิตร จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด AFB1 ด้วยแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{Apt-Ru/RGO}$



รูปที่ 4.19 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด AFB1: (A) เวลาปฏิบัติการ, (B) ค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS, และ (C) ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS ตรวจวัดด้วยเทคนิค DPV ภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 10 มิลลิโมลต่อลิตร PBS

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด AFB1 โดยใช้แอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{Apt-Ru/RGO}$ สามารถสรุปสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดได้ดังตารางที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 สภาวะที่เหมาะสมที่ส่งผลต่อการตรวจวัด AFB1 ด้วย $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

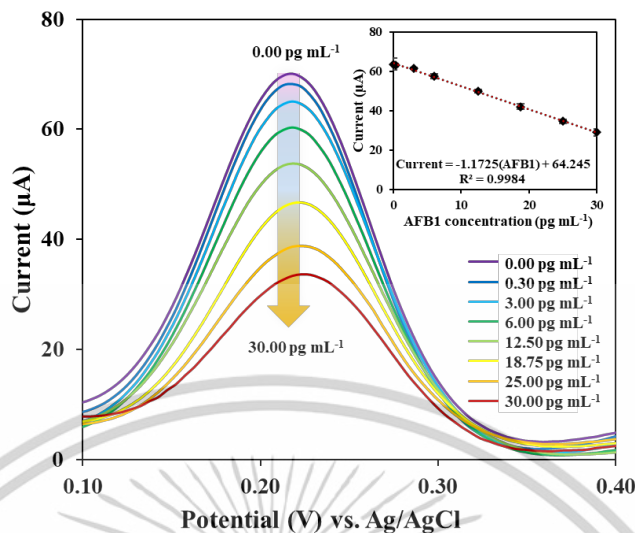
ตัวแปรที่ศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา	30 นาที
pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS	7.0
ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS	20 มิลลิโมลต่อลิตร
สภาวะการตรวจวัดด้วยเทคนิค DPV	ค่าศักย์ไฟฟ้าช่วง -0.2 – +0.5 โวลต์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

4.5 การประเมินประสิทธิภาพของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

4.5.1 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีในการวิเคราะห์ AFB1

1. ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด AFB1 ด้วย $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ โดยเทคนิค DPV

ประสิทธิภาพของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีได้รับการตรวจสอบโดยใช้ AFB1 ในความเข้มข้นที่แตกต่างกันระหว่าง 0.3 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ถึง 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร กราฟ DPV ที่ดำเนินการในสารละลาย PBS ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 7.0) ที่มี $K_3[Fe(CN)_6]$ ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดลดลงเมื่อความเข้มข้นของ AFB1 เพิ่มขึ้นจาก 0.3 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.20) เมื่อนำผลที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรง ได้สมการการถดถอยดังนี้ กระแสไฟฟ้า (ไมโครแอมป์) = $-1.1725 [AFB1, \text{พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร}] + 64.245$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9984



รูปที่ 4.20 การตอบสนองทางไฟฟ้า DPV และกราฟเส้นตรงพล็อตระหว่างความเข้มข้นของ AFB1 และค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดในช่วงการตรวจวัด AFB1 ความเข้มข้น 0.3 - 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์

AFB1 ที่ความเข้มข้น 0.3 - 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการตรวจวัดด้วยเทคนิค DPV จำนวน 5 ครั้ง จากนั้นนำมาคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ดังตารางที่ 4.9 พบว่าในการตรวจวัด AFB1 มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วงร้อยละ 0.88 ถึง 4.10 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแอปตาเซ็นเซอร์ที่สร้างขึ้นมีความเที่ยงสูง

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการตรวจวัด AFB1

Standard added (µg mL ⁻¹)	Found valued (Mean ± SD, µg mL ⁻¹)	Accuracy (%)	Precision (%RSD)
0.30	0.32 ± 0.56	106.98	0.88
3.00	3.05 ± 0.79	101.81	1.30
6.00	6.10 ± 1.02	101.62	1.79
12.50	12.43 ± 1.07	99.47	2.15
18.75	18.87 ± 1.73	100.64	4.10
25.00	25.21 ± 0.76	100.84	2.19
30.00	30.08 ± 0.78	100.25	2.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ในการศึกษาหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) ได้ทำการตรวจวัดสารละลายแบบลงกักซ้ำจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นนำมาคำนวณหาค่า LOD และ LOQ โดยใช้สมการ ดังนี้

$$\text{LOD} = \frac{3 (\text{SD of Blank GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}})}{\text{Slope}}$$

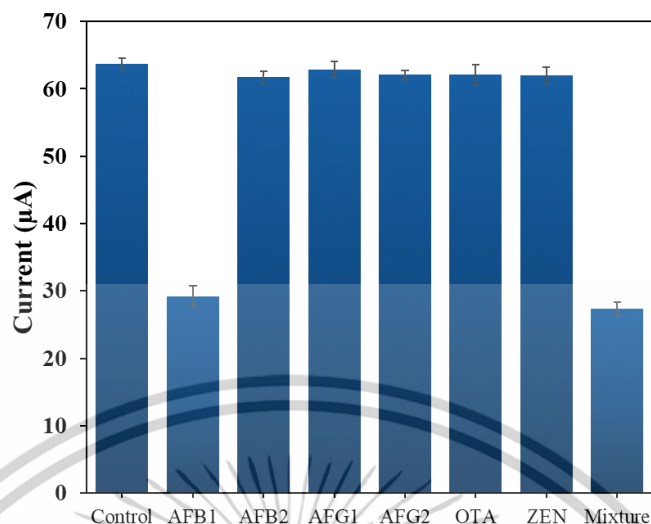
และ

$$\text{LOQ} = \frac{10 (\text{SD of Blank GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}})}{\text{Slope}}$$

ซึ่งได้ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.009 และ 0.031 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยใช้ค่า SD ของ blank $\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$ ในการคำนวณเท่ากับ 0.00359 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การศึกษาความเลือกจำเพาะของแอปตาเซ็นเซอร์

การศึกษาความเลือกจำเพาะของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่พัฒนาขึ้นในการตรวจวัด AFB1 ที่ทำการตรวจวัดสารรบกวนต่างๆ ได้แก่ AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, ZEN และ OTA โดยทำการตรวจวัดสารรบกวนที่ความเข้มข้น 3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ซึ่งสูงกว่าความเข้มข้นของ AFB1 100 เท่า) พบว่าค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ได้จากการวัดสารเหล่านี้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยยะสำคัญ เมื่อเทียบกับผลกระแสไฟฟ้าสูงของ blank $\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$ (รูปที่ 4.21) นอกจากนี้ แอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น $\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$ ยังถูกตรวจสอบด้วย AFB1 ที่ความเข้มข้น 30 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ผสมอยู่กับสารรบกวนทั้งหมดข้างต้น ผลที่ได้แสดงความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ชัดเจน ซึ่งบ่งบอกว่าแอปตาเซ็นเซอร์ $\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$ ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความจำเพาะที่ดีต่อ AFB1



รูปที่ 4.21 การเลือกจำเพาะของแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ สำหรับการตรวจวัด AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารบวกรวมที่ 3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (สูงกว่าความเข้มข้นของ AFB1 100 เท่า)

4.5.2 ศึกษาอัตราการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

เพื่อประเมินประสิทธิภาพของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ สำหรับตรวจวัด AFB1 ได้มีการใช้วิธีเติมสารมาตรฐาน AFB1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ($3.0, 12.5, 25.0, 25.0 \times 10^3$ และ 50.0×10^3 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น พริกแดงแห้ง กระเทียม ถั่วลิสง พริกไทย และข้าวหอมมะลิไทย จากนั้นทำการตรวจวัดและคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ (%) จากการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง และแสดงผลในตารางที่ 4.10 ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 94.6-104.9%, 96.8-105.1%, 96.8-106.8%, 95.3-105.1% และ 99.3-107.9% สำหรับพริกแดงแห้ง กระเทียม ถั่วลิสง พริกไทย และข้าวหอมมะลิไทย ตามลำดับ ซึ่งบ่งชี้ว่าแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ นี้มีศักยภาพในการนำไปใช้ตรวจวัด AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรจริงได้ และเมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวัดปริมาณ AFB1 ด้วยเครื่อง HPLC-FLD ที่ระดับความเข้มข้นของ AFB1 ที่ 25.0×10^3 และ 50.0×10^3 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่สร้างขึ้นนี้สามารถตรวจวัด AFB1 ได้ในช่วงความเข้มข้นที่ต่ำกว่า HPLC-FLD ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการตรวจวัด AFB1 ได้อย่างแม่นยำและมีความไวสูง

ตารางที่ 4.10 การตรวจวิเคราะห์ AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

Real samples	Added (pg mL ⁻¹)	Electrochemical aptasensor GLE _{AuPt-Ru/RGO}		HPLC-FLD	
		Found (pg mL ⁻¹)	Recovery (%)	Found (pg mL ⁻¹)	Recovery (%)
Dried red chili	0	0.38 ± 0.61	-	ND ^a .	-
	3.00	3.35 ± 1.16	99.13	ND.	-
	12.50	12.93 ± 0.49	100.50	ND.	-
	25.00	24.03 ± 1.37	94.63	ND.	-
	25.00 × 10 ³	24.96 × 10 ³ ± 1.01	99.43	26.32 × 10 ³ ± 0.93	105.28
	50.00 × 10 ³	52.44 × 10 ³ ± 0.48	104.89	53.54 × 10 ³ ± 0.52	107.07
Garlic	0	0.93 ± 0.21	-	ND.	-
	3.00	4.02 ± 0.69	102.52	ND.	-
	12.50	13.05 ± 0.57	96.84	ND.	-
	25.00	25.54 ± 0.30	98.41	ND.	-
	25.00 × 10 ³	26.27 × 10 ³ ± 0.40	105.09	27.24 × 10 ³ ± 0.22	108.97
	50.00 × 10 ³	50.23 × 10 ³ ± 0.60	100.45	53.33 × 10 ³ ± 0.13	106.65
Peanuts	0	2.34 ± 0.78	-	ND.	-
	3.00	5.44 ± 0.32	103.20	ND.	-
	12.50	14.44 ± 0.95	96.76	ND.	-
	25.00	26.73 ± 0.78	97.55	ND.	-
	25.00 × 10 ³	26.70 × 10 ³ ± 0.70	106.79	23.49 × 10 ³ ± 0.50	93.97
	50.00 × 10 ³	52.32 × 10 ³ ± 1.34	104.64	52.76 × 10 ³ ± 0.21	105.52

ตารางที่ 4.11 การตรวจวิเคราะห์ AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (ต่อ)

Real samples	Added (pg mL ⁻¹)	Electrochemical aptasensor GLE _{AuPt-Ru/RGO}		HPLC-FLD	
		Found (pg mL ⁻¹)	Recovery (%)	Found (pg mL ⁻¹)	Recovery (%)
Pepper	0	1.78 ± 0.38	-	ND.	-
	3.00	4.83 ± 0.69	102.03	ND.	-
	12.50	13.68 ± 0.41	95.28	ND.	-
	25.00	25.95 ± 0.23	96.72	ND.	-
	25.00 × 10 ³	26.27 × 10 ³ ± 1.00	105.09	26.56 × 10 ³ ± 0.48	106.26
	50.00 × 10 ³	50.23 × 10 ³ ± 1.21	100.45	50.30 × 10 ³ ± 0.83	100.60
Thai jasmine rice	0	0.46 ± 0.55	-	ND.	-
	3.00	3.56 ± 0.21	103.40	ND.	-
	12.50	13.95 ± 0.60	107.93	ND.	-
	25.00	25.29 ± 0.24	99.31	ND.	-
	25.00 × 10 ³	25.71 × 10 ³ ± 0.60	102.84	23.52 × 10 ³ ± 0.45	94.07
	50.00 × 10 ³	49.71 × 10 ³ ± 1.03	99.43	48.49 × 10 ³ ± 0.85	97.39

^aND.: Not detected

4.5.3 ตรวจสอบความน่าเชื่อถือของแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่สร้างขึ้นกับการวิเคราะห์

ปริมาณ AFB1 ด้วยเทคนิค HPLC-FLD

เมื่อเปรียบเทียบผลลัพธ์ที่ได้จากแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีกับ HPLC-FLD พบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการทดสอบ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{stat}} = 1.0211$ และ $t_{\text{crit}} = 2.2622$) (ตารางที่ 4.11) ซึ่งสนับสนุนว่าแอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่มีความเทียบเท่ากับวิธี HPLC-FLD มาตรฐาน ในการตรวจวัดปริมาณ AFB1 และยืนยันถึงความสามารถในการนำไปใช้งานได้จริง

ตารางที่ 4.12 t-Test: Paired Two Sample for Means

	HPLC-FLD	Electrochemical aptasensor GLE _{AuPt-Ru/RGO}
Mean	123.44064	121.09012
Variance	2001.832669	1638.257073
Observations	10	10
Pearson Correlation	0.990394471	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	1.021070085	
P(T<=t) one-tail	0.16694118	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.33388236	
t Critical two-tail	2.262157163	

นอกจากนี้ ได้มีการเปรียบเทียบกับงานวิจัยล่าสุดของเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีที่ใช้สำหรับการตรวจวัด AFB1 โดยใช้ GLE_{AuPt-Ru/RGO} ซึ่งเป็นครั้งแรกที่ใช้แอปตาเซ็นเซอร์ไฟฟ้าเคมีเพื่อตรวจวัด AFB1 และพบว่าแอปตาเซ็นเซอร์นี้มีค่า LOD ที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับวิธีการตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมีอื่นๆ ที่มีรายงานไว้ งานวิจัยก่อนหน้า ดังแสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.13 แสดงการเปรียบเทียบการพัฒนาอิเล็กโทรดในการตรวจวัด AFB1 ที่สร้างขึ้นกับงานวิจัยต่างๆ

Electrode	Modified electrode	Technique	Analyte	LOD (pg mL ⁻¹)	Linearity range (pg mL ⁻¹)	Recovery (%)	Ref.
Carbon felt	PdNPs-boron nitride/L-cysteine/Anti AFB1	LSV	Wine	830.0	10 ³ - 10 ⁴	93.0 - 106.0	[87]
Gold electrode	Chitosan-AuNPs/Anti-AFB1	CV	Wheat	120.0	200 - 3.0 × 10 ⁴	90.1 - 105.7	[99]
Screen print carbon felt	GO/Hexamethylenediamine/Aptamer	DPV	Beer and wine	50.0	50 - 6.0 × 10 ³	84.0 - 89.0	[100]
Indium tin oxide	Mesoporous silicafilm/Aptamer	DPV	Peanut and corn	2.30	3.0 - 3.0 × 10 ⁶	97.5 - 105.0	[101]
Indium tin oxide	RGO/Poly(5-formylindole)/Au	PEC	Peanut and wheat	2.00	10 - 1.0 × 10 ⁵	97.2 - 110.0	[102]
Glassy carbon	Graphene nanosheet Polystyrene- COOH/Aptamer	EIS	Oil and soy sauce	2.00	1.0 - 1.0 × 10 ²	94.5 - 103.3	[103]
Glassy carbon	AuNPs-ZIF-8/Aptamer	DPV	Corn oil and peanut oil	1.82	10 - 1.0 × 10 ⁵	93.5 - 106.9	[45]
Glassy carbon	Highly porous gold/cDNA/ Methylcyclohexane/Zr-MOF/Aptamer	DPV	Corn	0.60	1.0 - 3.0 × 10 ⁴	95.0 - 120.0	[104]
Gold electrode	MoS ₂ -RGO/DNA-AFB1/Thionin	DPV	Corn oil and peanut oil	1.82	10 - 1.0 × 10 ⁵	96.6 - 109.1	[105]
Low-cost goldleaf (GLE)	AuPt-Ru/RGO/Aptamer	DPV	Dried red chili, garlic, peanut, pepper, and Thai jasmine rice	0.009	0.3 - 30.0	94.6 - 107.9	This work

ในการผลิต GLE ในห้องปฏิบัติการนั้น มีต้นทุนต่อชิ้นอยู่ที่ 0.15 ดอลลาร์ ซึ่งถูกกว่าขั้วไฟฟ้าเชิงพาณิชย์ ทำให้ GLE นี้ดูเหมาะสมกับการใช้ในห้องปฏิบัติการพกพาและห้องปฏิบัติการมาตรฐาน ดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.14 แสดงการเปรียบเทียบราคาของอิเล็กโทรดประเภทต่างๆ

Electrode material	Cost per piece (\$)	Ref.
In-lab fabricated GLE	0.15	This work
Carbon paste electrode	120.00	[106]
Graphene-gold nanoparticles modified screen-printed carbon electrode	13.00	Metrohm Siam Ltd., Thailand
Screen-printed gold electrode	7.40	Metrohm Siam Ltd., Thailand

หมายเหตุ: อิเล็กโทรดแบบที่ไม่ได้รับการปรับแต่งพื้นผิว

4.5.4 การออกแบบชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1

คำสำคัญ (Keyword): ชุดเตรียมตัวอย่าง, การทดสอบทางไฟฟ้าเคมี, AFB1, ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

องค์ความรู้เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์

- Khattiya, A., et al., Ultrasensitive electrochemical aptasensors based on trimetallic AuPt-Ru nanoparticles decorated RGO with disposable and low-cost goldleaf electrode for aflatoxin B1 quantification in agricultural products. *Microchemical Journal*, 2024, 112631.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.112631>

ที่มาและความสำคัญ และรายละเอียดผลิตภัณฑ์

ปัจจุบัน ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น ถั่วลิสง พริก กระเทียม พริกไทย ข้าว และเครื่องเทศอื่น ๆ ที่หากเก็บรักษาในสภาพแวดล้อมที่มีความร้อนและความชื้น อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ หนึ่งในสารพิษเหล่านี้คืออะฟลาทอกซิน (AFs) ซึ่งมีความสามารถก่อมะเร็งได้ โดยเฉพาะ AFB1 เป็นสารเคมีมีพิษที่ถูกสร้างโดยเชื้อราและพบได้บ่อยที่สุดในอาหารที่มีการปนเปื้อน แม้ได้รับในปริมาณเล็กน้อยก็อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพอย่างรุนแรง เนื่องจากมีความเป็นพิษสูง

การพัฒนาชุดเตรียมตัวอย่างและการทดสอบที่มีความไวและความจำเพาะสูง โดยไม่ต้องใช้อุปกรณ์ซับซ้อน ช่วยลดขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่าง รวมถึงลดปริมาณสารที่ต้องใช้ในการตรวจวัด มีความสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการตรวจวัด AFB1 เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าทองคำเปลวแบบใช้แล้วทิ้ง ($GLE_{AuPt-Ru/RGO}$) ซึ่งออกแบบมาเพื่อให้สามารถใช้งานได้ง่าย พร้อมทั้งอุปกรณ์การเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานในสภาวะทั่วไป โดยไม่จำเป็นต้องดำเนินการในห้องปฏิบัติการ โดยข้อมูลทั่วไปของชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบแสดงดังตารางที่ 4.15

ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการทดสอบ ได้แก่ พริกแดงแห้ง กระเทียม ถั่วลิสง พริกไทย และข้าวหอมมะลิไทย ชุดเตรียมตัวอย่างและการทดสอบนี้สามารถตรวจวัด AFB1 ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดถึง 9×10^{-3} พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการเก็บรักษาขั้วไฟฟ้า $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ควรเก็บที่อุณหภูมิ 2–8°C และหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับแสงแดดโดยตรง เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของแอปตาเมอร์ที่ใช้เป็นสารจำเพาะต่อ AFB1 ภายในชุดเตรียมตัวอย่างและการทดสอบ ประกอบด้วย: 1) ขั้วไฟฟ้า $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ 2) ขวดพลาสติกสำหรับสกัดตัวอย่าง, 3) ขวดบรรจุสารละลายเมทานอล 60% สำหรับการสกัดตัวอย่าง (Reagent A), 4) ขวดบรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ PBS สำหรับการเจือจางตัวอย่างและล้างขั้วไฟฟ้า (Reagent B), 5) ไชริงค์ขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 ชิ้น และ 6) หลอดหยดสารละลาย แสดงดังรูปที่ 4.22 ชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1 อุปกรณ์เพิ่มเติมที่อาจต้องใช้ ได้แก่ เครื่องบดตัวอย่าง เครื่องชั่ง และบีกเกอร์ ทั้งหมดนี้ได้รับการออกแบบเพื่อให้ผู้ใช้งานสามารถดำเนินการได้ง่ายและมีประสิทธิภาพสูงในทุกสภาวะแวดล้อม

วิธีการประยุกต์ใช้ชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1

บดตัวอย่างน้ำหนัก 1.0 กรัมจนละเอียดและใส่ลงในขวดพลาสติกสำหรับการสกัด จากนั้นเติมสารละลายเมทานอล 60% สำหรับสกัดตัวอย่าง (Reagent A) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วทำการเขย่าเป็นเวลาประมาณ 5 นาที เพื่อให้ตัวอย่างถูกสกัดอย่างสมบูรณ์ จากนั้นเก็บสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ PBS (Reagent B) (เพื่อทำการเจือจางความเข้มข้นสารลง 5 เท่า) นำสารละลายที่เจือจางแล้วมาหยดลงบนขั้วไฟฟ้า $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ บริเวณจุดทำปฏิกิริยา (วงกลมสีดำ) ด้วยหลอดหยดสารละลาย 1 หยด หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ก่อนล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (Reagent B) เพื่อรอน้ำไฟตรวจวัดด้วยด้วยเครื่อง Potentiostat โดยใช้เทคนิค DPV ทั้งรูปแบบเครื่องมือแบบพกพา (Portable potentiostats) หรือในห้องปฏิบัติการ (Modular potentiostats) จากนั้นเปรียบเทียบผลการเปลี่ยนแปลงของค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้กับกราฟความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน

ผู้ที่เหมาะนำผลิตภัณฑ์ต่อยอดเชิงพาณิชย์

ผู้จัดจำหน่ายสินค้าเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยผู้ใช้ต้องการตรวจสอบความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ในฐานะผู้ใช้ ผู้ผลิตและจำหน่ายจะใช้เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของ quality assurance ในขั้นตอนผลิตและจำหน่าย ให้ผู้บริโภคเชื่อถือ

ตลาด/กลุ่มเป้าหมาย

- กลุ่มผู้บริโภคที่ใส่ใจในความปลอดภัยของสินค้าที่บริโภค
- ผู้ผลิตและจัดจำหน่ายที่รับผิดชอบและสร้างมาตรฐานความปลอดภัย
- หน่วยงานคุ้มครองผู้บริโภคของรัฐ

ตารางที่ 4.15 ข้อมูลทั่วไปของชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1

หัวข้อ	รายละเอียด
ตัวอย่างวัตถุติด	ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (พริกแดงแห้ง, กระเทียม, ถั่วลิสง, พริกไทย, และข้าวหอมมะลิไทย)
ขีดจำกัดการตรวจวัด	9×10^{-3} พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร
การเก็บรักษา	ในตู้เย็นที่ 2 – 8°C เลี่ยงการโดนแสงแดด
ระยะเวลาการเตรียมตัวอย่าง	40 นาที
ชุดอุปกรณ์	<ol style="list-style-type: none"> 1) ขั้วไฟฟ้า GLE_{AuPt-Ru/RGO} 2) ขวดพลาสติกสกัดตัวอย่าง (Sample preparation cup) 3) ขวดบรรจุสารละลายเมทานอล 60% สำหรับสกัดตัวอย่าง (Reagent A) 4) ขวดบรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ PBS (Reagent B) 5) ไชริงค์ ขนาด 10 มิลลิลิตร 2 ชั้น 6) หลอดหยดสารละลาย
สภาวะที่เหมาะสมที่ส่งผลต่อการตรวจวัด AFB1 ด้วยเทคนิค Differential pulse voltammetry (DPV)	<ol style="list-style-type: none"> 1) ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 30 นาที 2) pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS 7.0 3) ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS 20 มิลลิโมลต่อลิตร 4) สภาวะการตรวจวัดด้วยเทคนิค DPV ค่าศักย์ไฟฟ้าช่วง -0.2 – +0.5 โวลต์ 5) ที่อัตราสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที
ข้อควรระวัง	<ol style="list-style-type: none"> 1) น้ำยาในชุดเตรียมตัวอย่าง มีการควบคุมคุณภาพที่เหมาะสม ระวังการปนเปื้อนระหว่างกัน 2) อย่าใช้ขั้วไฟฟ้า GLE ซ้ำ อาจส่งผลให้เกิดความผิดพลาดในการวิเคราะห์ 3) ระวังการเตรียมและทดสอบตัวอย่าง อาจมีโอกาสดูดซับสารพิษจากตัวอย่าง



รูปที่ 4.22 ชุดเตรียมตัวอย่างและทดสอบ AFB1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมีแบบใช้แล้วทิ้ง GLE ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยอนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO ที่ติดแอปตาเมอร์สำหรับการประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด AFB1 ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยอนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO ถูกสังเคราะห์ผ่านวิธีการรีดักชันทางเคมีร่วมกับคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ในการช่วยทำปฏิกิริยา

1. วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ถูกสังเคราะห์ภายใต้การใช้ PVP เป็นสารรักษาเสถียรภาพและ AA เป็นสารรีดิวซ์ร่วมกับคลื่นความถี่อัลตราโซนิกส์ในการช่วยทำปฏิกิริยา สภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์วัสดุเชิงประกอบนาโนโลหะผสม AuPt-Ru ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการถ่ายโอนอิเล็กตรอนมากที่สุด คือมีอัตราส่วนความเข้มข้นสารตั้งต้นโลหะไอออน Au (III): Pt (III): Ru (II) อยู่ที่ 1: 1: 0.10 มิลลิโมลต่อลิตร ใช้ 5 มิลลิกรัม PVP ในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในการรักษาเสถียรภาพของอนุภาคนาโนและใช้ 4 มิลลิลิตร ของ 10 มิลลิโมลต่อลิตร AA ในการรีดิวซ์ไอออนโลหะร่วมกับการให้คลื่นความถี่อัลตราโซนิกที่พลังงาน 25% Amp เป็นเวลา 20 นาที โดยอนุภาคที่ได้มีทรงกลมและมีลักษณะคล้ายขนล่อมรอบ ลักษณะเป็นอนุภาคแบบแกนและเปลือก โดยมีอนุภาคทองเป็นแกน อนุภาคแพลทินัมเปลือกและอนุภาครูทีเนียมกระจายตัวโดยรอบ มีขนาดเฉลี่ยอยู่ที่ 57.35 ± 8.24 นาโนเมตร แกนกลางและขอบมีขนาดอยู่ที่ 42.17 ± 3.11 นาโนเมตร และ 8.1 ± 1.76 นาโนเมตร ตามลำดับ

2. RGO ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจากวิธีการรีดักชันทางเคมีของ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร GO ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยไฮดราซีนที่ความเข้มข้น 0.1% โดยปริมาตร RGO

3. แอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ โดย GLE ถูกสร้างขึ้นจากแผ่นทองคำเปลวภายใต้การใช้เทปแคปทอนและเทปทองแดงนำไฟฟ้าเป็นพื้นผิวเสริมความแข็งแรง ซึ่งชิ้นงานที่ขนาดความยาว 25 มิลลิเมตร, ความกว้าง 10 มิลลิเมตร และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ gold-disc อยู่ที่ 5 มิลลิเมตร ซึ่งถูกปรับแต่งพื้นผิวด้วยอนุภาคนาโนคอมโพสิต AuPt-Ru/RGO ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ AuPt-Ru และ RGO ตามลำดับ ซึ่งให้พื้นที่ผิวการเกิดปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมี 14.77 ± 0.30 ตารางมิลลิเมตร จากนั้นปรับปรุงพื้นผิวให้มีความจำเพาะเจาะจงต่อ AFB1 ด้วยการตรึง Apt ความเข้มข้น 25 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร ตามด้วย BSA 0.25% โดยมวลต่อปริมาตร

แอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่สร้างขึ้นในการตรวจวัดปริมาณ AFB1 โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมทางไฟฟ้าจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Apt-AFB1 บนพื้นผิว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิเล็กโทรดซึ่งทำให้เกิดการขัดขวางการถ่ายโอนอิเล็กตรอนและนำไปสู่การลดลงของค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ตรวจวัดด้วยเทคนิค DPV โดยสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด AFB1 คือ ทำการบ่มสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน AFB1 เป็นเวลา 30 นาที และทำการตรวจวัดภายใต้ 5 มิลลิโมลต่อลิตร $K_3[Fe(CN)_6]$ ใน 20 มิลลิโมลต่อลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ PBS (pH 7.0) ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ซึ่งแสดงประสิทธิภาพการตรวจวัดในช่วง AFB1 เข้มข้นตั้งแต่ 0.3 ถึง 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร มีขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 0.009 และ 0.031 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีอัตราการคืนกลับอยู่ในช่วง 94.6-104.9%, 96.8-105.1%, 96.8-106.8%, 95.3-105.1% และ 99.3-107.9% สำหรับพริกแดงแห้ง กระเทียม ถั่วลิสง พริกไทย และข้าวหอมมะลิไทย ตามลำดับ และความสามารถในการทำซ้ำของแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ อยู่ในช่วง 0.88-4.10 %RSD จากผลข้างต้นแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการตรวจวัด AFB1 ได้อย่างแม่นยำและมีความไวสูงและสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด AFB1 ในผลิตภัณฑ์การเกษตรจริงได้



เอกสารอ้างอิง

1. Pérez-Fernández, B. and A. de la Escosura-Muñiz, Electrochemical biosensors based on nanomaterials for aflatoxins detection: A review (2015–2021). *Analytica Chimica Acta*, 2022. 1212: p. 339658.
2. Pożarska, A., et al., AFB1 Toxicity in Human Food and Animal Feed Consumption: A Review of Experimental Treatments and Preventive Measures. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024. 25(10): p. 5305.
3. Liu, J., et al., Rapid and selective detection of AFB1 by direct mass spectrometry using immunoaffinity paper substrate. *Microchemical Journal*, 2024. 196: p. 109439.
4. Kaur, G., et al., Highly sensitive and selective electrochemical detection of Aflatoxin B1 in water and Pistachio samples with MOF/MXene composite based sensor. *Food Control*, 2024. 165: p. 110694.
5. Lv, X., et al., A ratiometric electrochemiluminescent/electrochemical strategy based on novel designed BPYHBF nanorod and Fc-MOF with tungsten for ultrasensitive AFB1 detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2022. 352: p. 131026.
6. Abera, B.D., et al., Development of flexible dispense-printed electrochemical immunosensor for aflatoxin M1 detection in milk. *Sensors*, 2019. 19(18): p. 3912.
7. Rahimi, F., H. Roshanfekar, and H. Peyman, Ultra-sensitive electrochemical aptasensor for label-free detection of Aflatoxin B1 in wheat flour sample using factorial design experiments. *Food Chemistry*, 2021. 343: p. 128436.
8. Wu, M., et al., An ultrasensitive electrochemical aptasensor based on zeolitic imidazolate framework-67 loading gold nanoparticles and horseradish peroxidase for detection of aflatoxin B1. *Food Chemistry*, 2024: p. 140039.
9. Li, W., et al., A DNA tetrahedral scaffolds-based electrochemical biosensor for simultaneous detection of AFB1 and OTA. *Food Chemistry*, 2024. 442: p. 138312.
10. Ye LingXian, Y.L., Z.G. Zhao GuangYing, and D.W. Dou WenChao, An electrochemical immunoassay for Escherichia coli O157: H7 using double

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- functionalized Au@ Pt/SiO₂ nanocomposites and immune magnetic nanoparticles. 2018.
11. Matías Regiart, S.V.P., Viviana G. Spotorno, Franco A. Bertolino and Julio Raba, Food safety control of zeranol through voltammetric immunosensing on Au–Pt bimetallic nanoparticle surfaces. *Analyst*, 2014. 139: p. 4702-4709.
 12. Christensen, S.T., et al., Supported Ru– Pt bimetallic nanoparticle catalysts prepared by atomic layer deposition. *Nano letters*, 2010. 10(8): p. 3047-3051.
 13. Zhu, J., et al., Copper-induced formation of structurally ordered Pt–Fe–Cu ternary intermetallic electrocatalysts with tunable phase structure and improved stability. *Chemistry of Materials*, 2018. 30(17): p. 5987-5995.
 14. Li, H.H., et al., Ultrathin PtPdTe nanowires as superior catalysts for methanol electrooxidation. *Angewandte Chemie International Edition*, 2013. 52(29).
 15. Xiang, X., et al., In situ twisting for stabilizing and toughening conductive graphene yarns. *Nanoscale*, 2017. 9(32): p. 11523-11529.
 16. Zeng, Y., et al., Thermally conductive reduced graphene oxide thin films for extreme temperature sensors. *Advanced Functional Materials*, 2019. 29(27): p. 1901388.
 17. Aprida, H., et al. Electrical and electrochemical properties of reduced graphene oxide film for secondary battery electrode. in *Journal of Physics: Conference Series*. 2018. IOP Publishing.
 18. Qi, X., et al., Detection of aflatoxin B1 with a new label-free fluorescence aptasensor based on PVP-coated single-walled carbon nanohorns and SYBR Gold. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2022. 414(9): p. 3087-3094.
 19. Guo, L., et al., Signal-enhanced electrochemical sensor employing MWCNTs/CMK-3/AuNPs and Au@ Pd core–shell structure for sensitive determination of AFB1 in complex matrix. *Microchimica Acta*, 2024. 191(10): p. 1-13.
 20. Zamani, M., C.M. Klapperich, and A.L. Furst, Recent advances in gold electrode fabrication for low-resource setting biosensing. *Lab on a Chip*, 2023. 23(5): p. 1410-1419.

21. Rawal, S., J.E. Kim, and R. Coulombe, Jr., Aflatoxin B1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. *Res Vet Sci*, 2010. 89(3): p. 325-31.
22. Shephard, G.S., Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. *Anal Bioanal Chem*, 2009. 395(5): p. 1215-24.
23. Pickova, D., et al., Aflatoxins: History, Significant Milestones, Recent Data on Their Toxicity and Ways to Mitigation. *Toxins (Basel)*, 2021. 13(6).
24. Nazhand, A., et al., Characteristics, occurrence, detection and detoxification of aflatoxins in foods and feeds. *Foods*, 2020. 9(5): p. 644.
25. Lerdsri, J., C. Thunkhamrak, and J. Jakmune, Development of a colorimetric aptasensor for aflatoxin B1 detection based on silver nanoparticle aggregation induced by positively charged perylene diimide. *Food Control*, 2021. 130.
26. Shan, Y., The toxic effects of aflatoxin B1: an update. *Aflatoxin B1 occurrence, detection and toxicological effects*, 2019: p. 1-22.
27. Sriwattanapong, K., et al., Editor's Highlight: Pregnancy Alters Aflatoxin B1 Metabolism and Increases DNA Damage in Mouse Liver. *Toxicol Sci*, 2017. 160(1): p. 173-179.
28. Kumar, A., et al., Aflatoxin contamination in food crops: causes, detection, and management: a review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 2021. 3(1).
29. Van Egmond, H.P., R.C. Schothorst, and M.A. Jonker, Regulations relating to mycotoxins in food: perspectives in a global and European context. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2007. 389: p. 147-157.
30. Anukul, N., K. Vangnai, and W. Mahakarnchanakul, Significance of regulation limits in mycotoxin contamination in Asia and risk management programs at the national level. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2013. 21(3): p. 227-241.
31. Kumar, A., et al., Aflatoxin contamination in food crops: causes, detection, and management: a review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 2021. 3: p. 1-9.
32. Chang, P.-K., Aflatoxin Biosynthesis and sclerotial development in *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons*, 2010: p. 77-92.

33. Khan, R., et al., Aflatoxin biosynthesis, genetic regulation, toxicity, and control strategies: A review. *Journal of Fungi*, 2021. 7(8): p. 606.
34. Zentai, A., et al., Carry-over of aflatoxin B1 from feed to cow milk—a review. *Toxins*, 2023. 15(3): p. 195.
35. Namjoo, M., et al., Quantitative determination of aflatoxin by high performance liquid chromatography in wheat silos in Golestan province, north of Iran. *Iranian journal of public health*, 2016. 45(7): p. 905.
36. Nguyen, T.D., et al., A high-performance method for quantitation of aflatoxins B1, B2, G1, G2: Full validation for raisin, peanut matrices, and survey of related products at Ho Chi Minh City. *Food Science & Nutrition*, 2023. 11(10): p. 6509-6521.
37. Xu, L., et al., Electrochemical immunosensor based on antibody-oriented probe for the detection of AFB1 in rice bran oil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2024. 130: p. 106198.
38. Eslami, M., et al., Determination of aflatoxin B1 levels in Iranian rice by ELISA method. *Toxin Reviews*, 2015. 34(3): p. 125-128.
39. Zhang, Y., et al., Using of Tyramine Signal Amplification to Improve the Sensitivity of ELISA for Aflatoxin B1 in Edible Oil Samples. *Food Analytical Methods*, 2018. 11: p. 2553-2560.
40. Hu, Y.-Y., et al., Determination of aflatoxins in high-pigment content samples by matrix solid-phase dispersion and high-performance liquid chromatography. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006. 54(12): p. 4126-4130.
41. Lu, L., R. Yu, and L. Zhang, AFB1 colorimetric aptamer sensor for the detection of AFB1 in ten different kinds of miscellaneous beans based on gold nanoparticles and smartphone imaging. *Food Chemistry*, 2023. 421: p. 136205.
42. Liu, S., et al., A label-free fluorescence sensing strategy based on gold nanoparticles assisted copper nanoclusters for the detection of aflatoxin B1 in cereals and peanuts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2024. 135: p. 106573.

43. Lee, N.A., et al., A rapid aflatoxin B1 ELISA: development and validation with reduced matrix effects for peanuts, corn, pistachio, and soybeans. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2004. 52(10): p. 2746-2755.
44. Kolosova, A.Y., et al., Direct competitive ELISA based on a monoclonal antibody for detection of aflatoxin B 1. Stabilization of ELISA kit components and application to grain samples. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2006. 384: p. 286-294.
45. Zhong, T., et al., A label-free electrochemical aptasensor based on AuNPs-loaded zeolitic imidazolate framework-8 for sensitive determination of aflatoxin B1. *Food chemistry*, 2022. 384: p. 132495.
46. Zhou, X., et al., Regenerable ratiometric aptasensor based on electro-oxidation conducted host-guest dissociation for aflatoxin B1 detection in grains. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2024. 406: p. 135348.
47. Shaw, Z., et al., Antipathogenic properties and applications of low-dimensional materials. *Nature communications*, 2021. 12(1): p. 3897.
48. Pacioni, N.L., et al., Synthetic routes for the preparation of silver nanoparticles: A mechanistic perspective, in *Silver nanoparticle applications: in the fabrication and Design of Medical and Biosensing Devices*. 2015, Springer. p. 13-46.
49. Jamkhande, P.G., et al., Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of drug delivery science and technology*, 2019. 53: p. 101174.
50. Meyers, M.A., A. Mishra, and D.J. Benson, Mechanical properties of nanocrystalline materials. *Progress in materials science*, 2006. 51(4): p. 427-556.
51. Tsuzuki, T. and P.G. McCormick, Mechanochemical synthesis of nanoparticles. *Journal of materials science*, 2004. 39: p. 5143-5146.
52. Iwasaki, T., et al., Mechanochemical preparation of magnetite nanoparticles by coprecipitation. *Materials Letters*, 2008. 62(25): p. 4155-4157.
53. Tavakoli, A., M. Sohrabi, and A. Kargari, A review of methods for synthesis of nanostructured metals with emphasis on iron compounds. *chemical papers*, 2007. 61(3): p. 151-170.

54. Singh, J., et al., A review on green synthesis and characterization of silver nanoparticles and their applications: a green nanoworld. *World J. Pharm. Pharm. Sci*, 2016. 6(7).
55. Zhao, P., N. Li, and D. Astruc, State of the art in gold nanoparticle synthesis. *Coordination Chemistry Reviews*, 2013. 257(3-4): p. 638-665.
56. Kimling, J., et al., Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2006. 110(32): p. 15700-15707.
57. Vijayakumar, M., et al., Biosynthesis, characterisation and anti-bacterial effect of plant-mediated silver nanoparticles using *Artemisia nilagirica*. *Industrial crops and products*, 2013. 41: p. 235-240.
58. Fu, X., et al., Trimetallic signal amplification aptasensor for TSP-1 detection based on Ce-MOF@ Au and AuPtRu nanocomposites. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019. 132: p. 302-309.
59. Kang, S.W., et al., One-pot synthesis of trimetallic Au@ PdPt core-shell nanoparticles with high catalytic performance. *ACS nano*, 2013. 7(9): p. 7945-7955.
60. Dalodière, E., et al., Insights into the sonochemical synthesis and properties of salt-free intrinsic plutonium colloids. *Scientific reports*, 2017. 7(1): p. 43514.
61. Wang, L. and Y. Yamauchi, Strategic synthesis of trimetallic Au@ Pd@ Pt core-shell nanoparticles from poly (vinylpyrrolidone)-based aqueous solution toward highly active electrocatalysts. *Chemistry of Materials*, 2011. 23(9): p. 2457-2465.
62. Coetzee, D., et al., Influence of nanoparticles on thermal and electrical conductivity of composites. *Polymers*, 2020. 12(4): p. 742.
63. Al-Douri, Y., *Nanomaterials*. Vol. 13. 2022: Springer.
64. Challhua, R., et al., Portable reduced graphene oxide biosensor for detection of rabies virus in bats using nasopharyngeal swab samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 2023. 232: p. 115291.
65. Gao, Y., et al., Reduced graphene oxide as a catalyst for hydrogenation of nitrobenzene at room temperature. *Chemical Communications*, 2011. 47(8): p. 2432-2434.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

66. Mousavi, S.M., et al., Recent advances in energy storage with graphene oxide-for supercapacitor technology. *Sustainable Energy & Fuels*, 2023.
67. Zaaba, N., et al., Synthesis of graphene oxide using modified hummers method: solvent influence. *Procedia engineering*, 2017. 184: p. 469-477.
68. Hummers Jr, W.S. and R.E. Offeman, Preparation of graphitic oxide. *Journal of the american chemical society*, 1958. 80(6): p. 1339-1339.
69. Huang, H.-H., et al., Structural evolution of hydrothermally derived reduced graphene oxide. *Scientific reports*, 2018. 8(1): p. 6849.
70. Eda, G., G. Fanchini, and M. Chhowalla, Large-area ultrathin films of reduced graphene oxide as a transparent and flexible electronic material. *Nature nanotechnology*, 2008. 3(5): p. 270-274.
71. Gómez-Navarro, C., et al., Electronic transport properties of individual chemically reduced graphene oxide sheets. *Nano letters*, 2007. 7(11): p. 3499-3503.
72. Shin, H.J., et al., Efficient reduction of graphite oxide by sodium borohydride and its effect on electrical conductance. *Advanced Functional Materials*, 2009. 19(12): p. 1987-1992.
73. Wang, S., et al., Band-like transport in surface-functionalized highly solution-processable graphene nanosheets. 2008.
74. Fan, X., et al., Deoxygenation of exfoliated graphite oxide under alkaline conditions: a green route to graphene preparation. *Advanced Materials*, 2008. 20(23): p. 4490-4493.
75. Park, S., et al., Chemical structures of hydrazine-treated graphene oxide and generation of aromatic nitrogen doping. *Nature communications*, 2012. 3(1): p. 638.
76. Li, J., et al., The preparation of graphene oxide and its derivatives and their application in bio-tribological systems. *Lubricants*, 2014. 2(3): p. 137-161.
77. Sali, S., H.R. Mackey, and A.A. Abdala, Effect of graphene oxide synthesis method on properties and performance of polysulfone-graphene oxide mixed matrix membranes. *Nanomaterials*, 2019. 9(5): p. 769.

78. Bhattacharya, G., et al., Aloe vera assisted facile green synthesis of reduced graphene oxide for electrochemical and dye removal applications. RSC advances, 2017. 7(43): p. 26680-26688.
79. Rai, S., et al., Biocompatible synthesis of rGO from ginger extract as a green reducing agent and its supercapacitor application. Bulletin of Materials Science, 2021. 44(1): p. 40.
80. Çıplak, Z., et al., Green synthesis of reduced graphene oxide-AgAu bimetallic nanocomposite: Catalytic performance. Chemical Engineering Communications, 2020. 207(4): p. 559-573.
81. Rattan, S., S. Kumar, and J. Goswamy, Graphene oxide reduction using green chemistry. Materials Today: Proceedings, 2020. 26: p. 3327-3331.
82. Xiang, X., et al., Study of microwave reduction of graphene oxide suspension: structure and functional groups. Journal of Materials Science, 2022: p. 1-15.
83. Wang, S., et al., The role of sp²/sp³ hybrid carbon regulation in the nonlinear optical properties of graphene oxide materials. RSC advances, 2017. 7(84): p. 53643-53652.
84. Podunavac, I., et al., Low-cost goldleaf electrode as a platform for Escherichia coli immunodetection. Talanta, 2023. 259: p. 124557.
85. Santos, M.S.F., et al., Gold leaf: From gilding to the fabrication of disposable, wearable and low-cost electrodes. Talanta, 2018. 179: p. 507-511.
86. Wang, Y., et al., A novel sample pretreatment of nanofiber-packed solid-phase extraction of aflatoxin B1, B2, G1 and G2 in foods and simultaneous determination with HPLC. Food Chemistry, 2024. 436: p. 137699.
87. Kunene, K., et al., Smart electrochemical immunosensing of aflatoxin B1 based on a palladium nanoparticle-boron nitride-coated carbon felt electrode for the wine industry. Talanta, 2023. 253: p. 124000.
88. Hui, Y., et al., An electrochemical aptasensor based on DNA-AuNPs-HRP nanoprobes and exonuclease-assisted signal amplification for detection of aflatoxin B1. Food Control, 2020. 109: p. 106902.

89. Li, Y., et al., A ratiometry-induced successive reusable electrochemical aptasensing platform: Efficient monitoring of aflatoxin B1 in peanut. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021. 336: p. 129021.
90. Shi, L., et al., A novel electrochemical immunosensor for aflatoxin B1 based on Au nanoparticles-poly 4-aminobenzoic acid supported graphene. *Applied surface science*, 2020. 527: p. 146934.
91. Ebnalwaled, A., A.H. Said, and M.M. Mahmoud, XRD and FTIR of ascorbic acid and Monosodium Glutamate Food Additives. *Journal homepage: www. ijrpr. com ISSN*, 2022. 2582: p. 7421.
92. Huang, S.-W., et al., Synthesis of fluorescent carbon dots as selective and sensitive probes for cupric ions and cell imaging. *Molecules*, 2019. 24(9): p. 1785.
93. Wang, L., et al., On the role of ascorbic acid in the synthesis of single-crystal hyperbranched platinum nanostructures. *Crystal growth & design*, 2010. 10(8): p. 3454-3460.
94. Hyo Jeong Yang, M.W.K., Chikkili Venkateswara Raju, Chae Hwan Cho, Tae Jung Park, Jong Pil Park, Highly sensitive and label-free electrochemical detection of C-reactive protein on a peptide receptor-gold nanoparticle-black phosphorous nanocomposite modified electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 2023. 234: p. 115382.
95. Han Been Lee, S.E.S., Chang Hyeon Ha, Do Hyeon Kim, and Gi Hun Seong, Dual-mode colorimetric and photothermal aptasensor for detection of kanamycin using flocculent platinum nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics*, 2024. 249: p. 116007.
96. Abhijit Biswas, S.P., and Arindam Banerjee, Carbon nanodots, Ru nanodots and hybrid nanodots: preparation and catalytic properties. *Journal of Materials Chemistry A*, 2015. 3(29): p. 15074-15081.
97. Ivana Podunavac, M.K., Vincent Léguillier, Francesco Rizzotto, Zoran Pavlovic, Ljiljana Janjušević, Vlad Costache, Vasa Radonic, and Jasmina Vidic, Low-cost goldleaf electrode as a platform for Escherichia coli immunodetection. *Talanta*, 2023. 259: p. 124557.

98. Samira Moniri, M.R.H., Mahmood Ghoranneviss, and Mohsen Asadi Asadabad, Au-Pt alloy nanoparticles obtained by nanosecond laser irradiation of gold and platinum bulk targets in an ethylene glycol solution. *The European Physical Journal Plus*, 2017. 132: p. 318.
99. Ma HaiHua, M.H., et al., Disposable amperometric immunosensor for simple and sensitive determination of aflatoxin B1 in wheat. 2016.
100. Goud, K.Y., et al., An electrochemical aptasensor based on functionalized graphene oxide assisted electrocatalytic signal amplification of methylene blue for aflatoxin B1 detection. *Electrochimica Acta*, 2017. 244: p. 96-103.
101. Zhang, T., et al., Label-free electrochemical aptasensor based on the vertically-aligned mesoporous silica films for determination of aflatoxin B1. *Biosensors*, 2023. 13(6): p. 661.
102. Zhang, B., et al., Simple “signal-on” photoelectrochemical aptasensor for ultrasensitive detecting AFB1 based on electrochemically reduced graphene oxide/poly (5-formylindole)/Au nanocomposites. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019. 134: p. 42-48.
103. Lin, T. and Y. Shen, Fabricating electrochemical aptasensors for detecting aflatoxin B1 via layer-by-layer self-assembly. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2020. 870: p. 114247.
104. Li, X., et al., Dual-signal aptasensor based on Zr-MOF for ultrasensitive detection of AFB1 in corn. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2023. 394: p. 134372.
105. Yu, Y., et al., Dual-target electrochemical sensor based on 3D MoS2-rGO and aptamer functionalized probes for simultaneous detection of mycotoxins. *Frontiers in Chemistry*, 2022. 10: p. 932954.
106. Schmidt, B., et al., Application of 3D printers to fabricate low-cost electrode components for undergraduate experiments and research. 2022, ACS Publications.



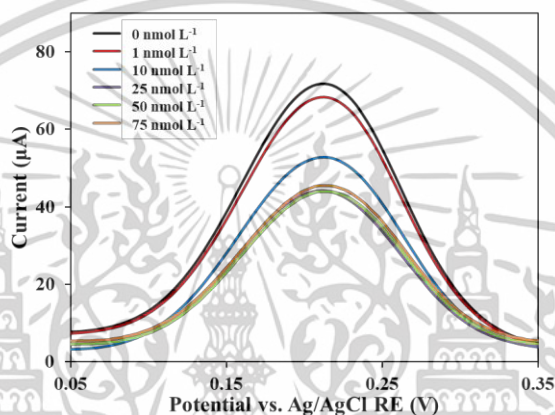
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

โวลแทมโมแกรมและโครมาโตแกรม

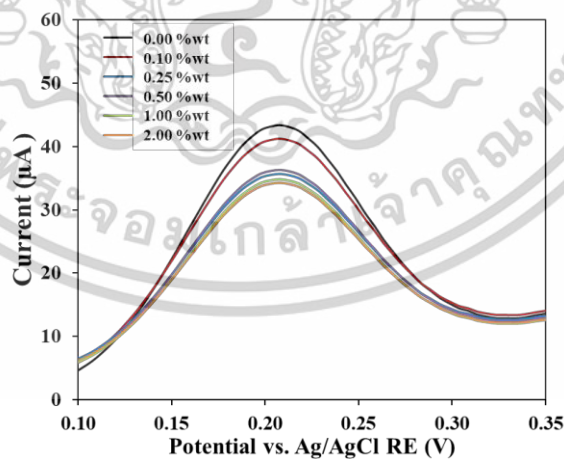
1. การสร้างแอปตาเซ็นเซอร์ทางไฟฟ้าเคมี $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$

1.1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Apt



รูปที่ ก.1 DPV โวลแทมโมแกรมของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ Apt

1.2 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ BSA

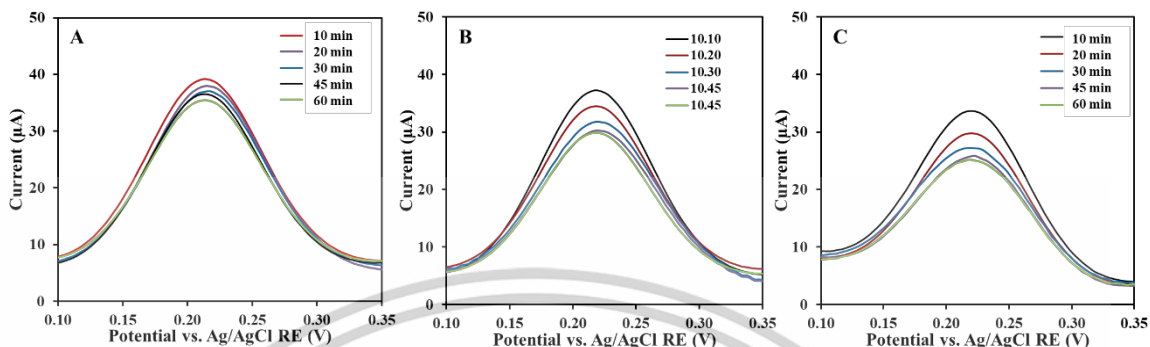


รูปที่ ก.1 DPV โวลแทมโมแกรมของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ BSA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

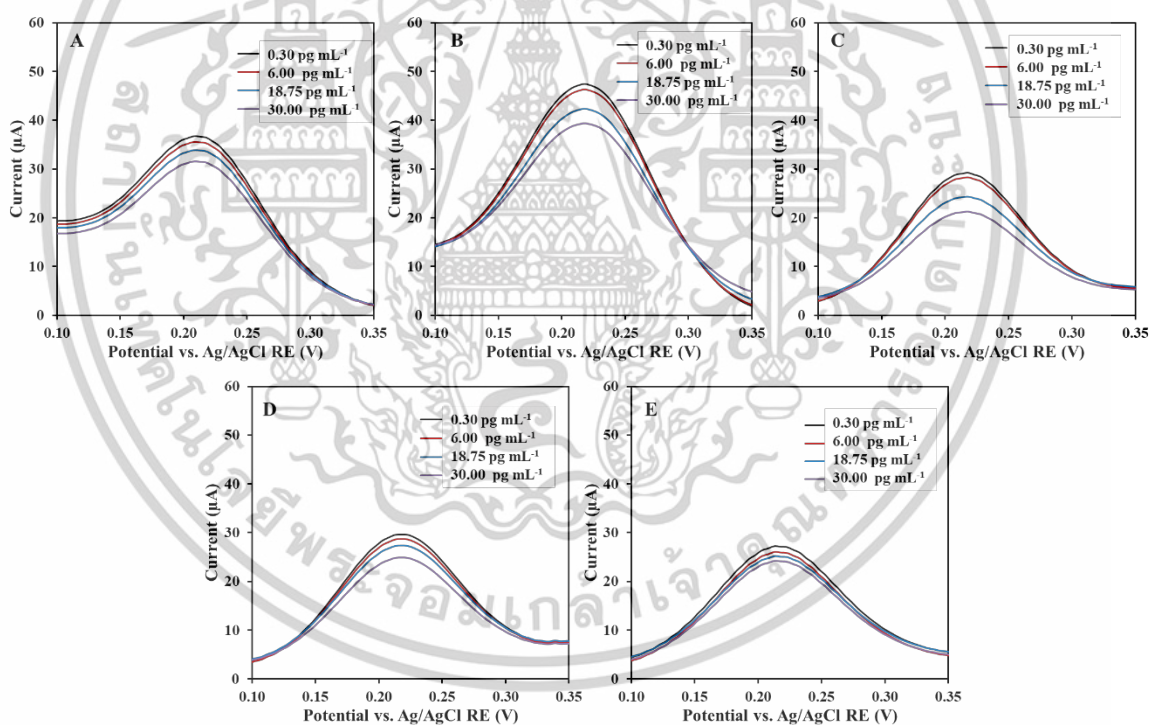
2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด AFB1 ด้วยเทคนิค DPV

2.1 ระยะเวลาทำปฏิกิริยากับ AFB1



รูปที่ ก.3 DPV โวลแทมโมแกรมของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่เวลา 10, 20, 30, 45 และ 60 นาที โดยใช้ความเข้มข้น AFB1 (A) 0.3, (B) 3.0, และ (C) 30.0 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร

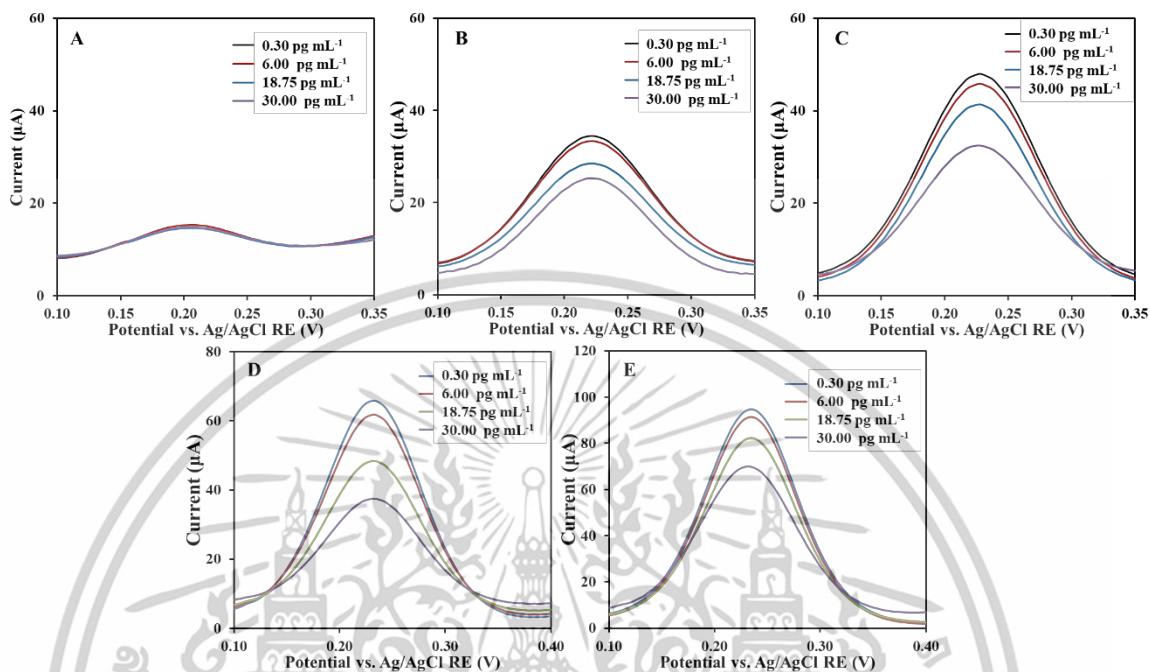
2.2 pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ PBS



รูปที่ ก.4 DPV โวลแทมโมแกรมของ $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB1 โดยใช้ pH (A) 5, (B) 6, (C) 7, (D) 8, และ (E) 9

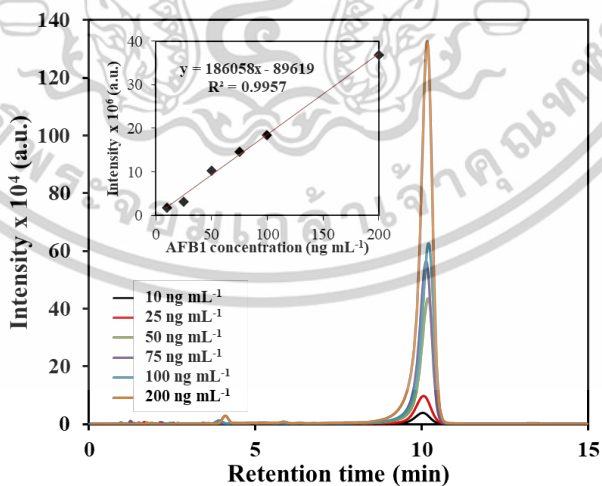
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ความเข้มข้นของสารละลาย PBS



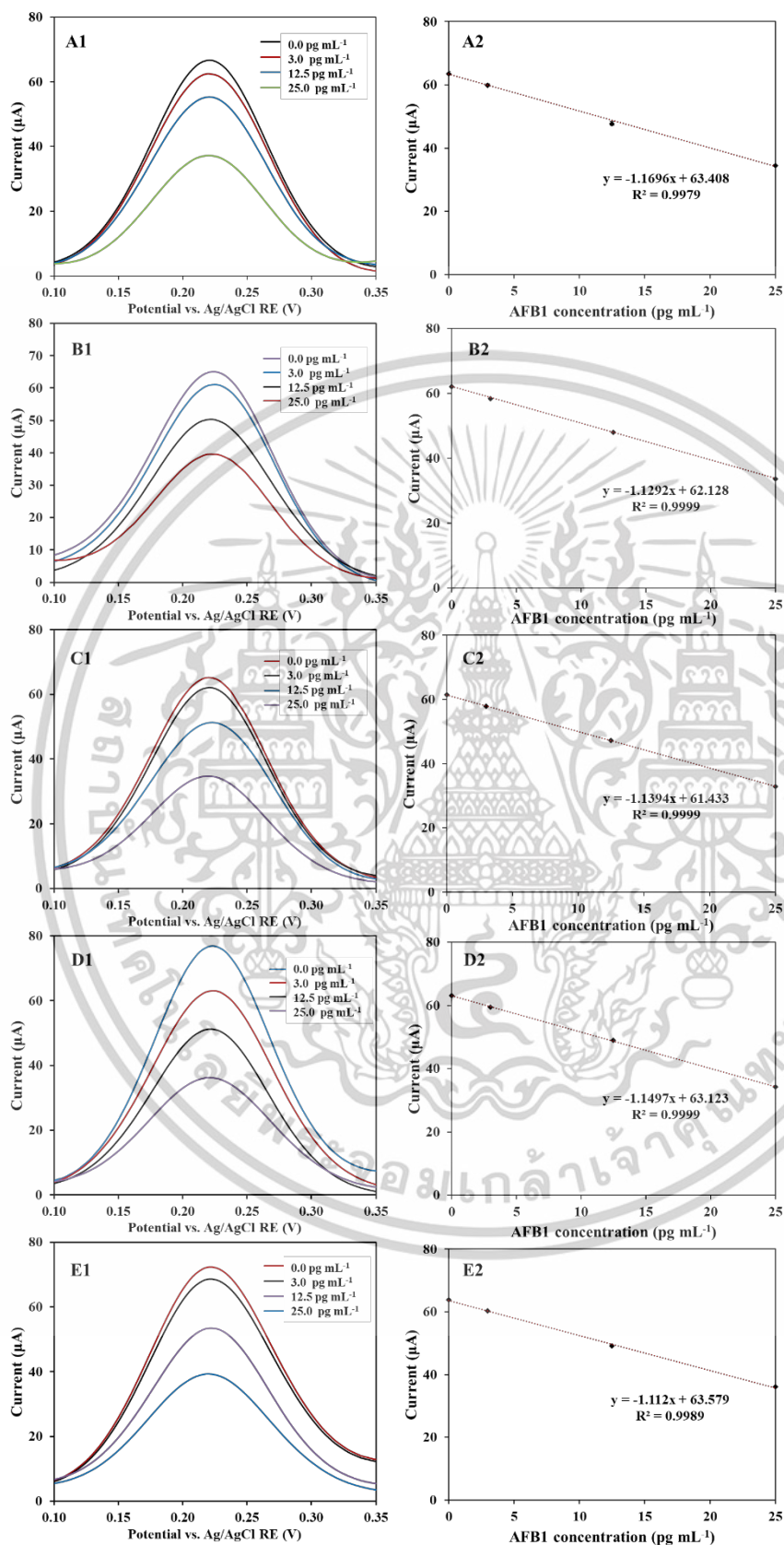
รูปที่ ๕.5 DPV โวลแทมโมแกรมของ GLE_{AuPt-Ru/RGO} ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของ AFB1 โดยใช้ PBS ความเข้มข้น (A) 5, (B) 10, (C) 15, (D) 20, และ (E) 40 มิลลิโมลต่อลิตร

3. ศึกษาอัตราการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร



รูปที่ ๕.๖ โครมาโตแกรมและกราฟสมการเส้นตรงในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน AFB1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.7 DPV โวลแทมโอมแกรมและกราฟสมการเส้นตรงของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (A) ข้าวหอมมะลิไทย (B) พริกไทย (C) ถั่วลิสง (D) กระเทียมและ (E) พริกแดงแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Ultrasensitive electrochemical aptasensors based on trimetallic AuPt-Ru nanoparticles decorated RGO with disposable and low-cost goldleaf electrode for aflatoxin B1 quantification in agricultural products

Akrarath Khattiya^{a,1}, Ratchanok Karaket^{a,2}, Arjnarong Mathaweensurn^{a,3}, Ekarat Detsri^{a,c,4,*}

^a Department of Chemistry, School of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

^b Applied Analytical Chemistry Research Unit, School of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

^c Integrated Applied Chemistry Research Unit, School of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

ARTICLE INFO

Keywords:

Electrochemical aptasensor
Goldleaf electrode
AuPt-Ru nanoparticles
Aflatoxin B1
Agricultural products

ABSTRACT

Due to the significant increase in cases of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma associated with the agricultural products contaminated with Aflatoxin B1 (AFB1), there is an urgent need for rapid AFB1 detection methods. Herein, we propose using waxberry-like heterostructure AuPt-Ru nanoparticles supported by RGO (AuPt-Ru/RGO) embedded goldleaf as a disposable and low-cost electrode (GLE_{AuPt-Ru/RGO}) for electrochemical aptasensor detection of AFB1. The trimetallic AuPt-Ru nanocomposite was synthesized through the ultrasonic-driven chemical reduction method. The AuPt-Ru was integrated with RGO to accelerate the electron transfer and increase the specific immobilizing surface area of the thiol-5'-terminated modified aptamer (aptamer) to target AFB1 on GLE. The electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} shows a highly selective response for AFB1 through specific hydrogen bonding and π - π stacking interactions. The linearity of differential pulse voltammetry (DPV) measurements for AFB1 was 0.3–30.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($R^2 = 0.9972$) with a detection limit (LOD) and a quantification limit (LOQ) of 9×10^{-3} $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 3.1×10^{-2} $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. The developed aptamer-based GLE_{AuPt-Ru/RGO} performed effectively in actual samples, with recoveries ranging from 94.6% to 107.9% in agricultural products including dried red chili, garlic, peanuts, pepper, and Thai jasmine rice. The fabricated aptamer-based GLE-decorated AuPt-Ru/RGO exhibited excellent electrochemical behavior similar to that of a modified commercial electrode, which has great potential application prospects for detecting AFB1 in agricultural products.

1. Introduction

Aflatoxins (AFs), produced by *Aspergillus flavus* (A. flavus) and *Aspergillus parasiticus* (A. parasiticus) fungi, are very toxic and cause significant contamination in the food chain. There are various types of aflatoxins, including AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, and their metabolites AFM1 and AFM2. Among them, aflatoxin B1 (AFB1) is particularly notorious for being one of the most potent naturally occurring carcinogens. The International Agency for Research on Cancer (IARC) has

classified AFB1 as a class I carcinogen [1]. AFB1 poses severe health risks to both humans and animals. It contaminates large quantities of food, especially agricultural products such as dried red chili, garlic, peanuts, pepper, and rice, and feed, affecting food security and contributing to global food insecurity [2]. The acceptable limit for AFB1 in various foods has been set at below 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (64.05 nmol L^{-1}) [3].

Consequently, the development of methods with high sensitivity and selectivity for detecting AFB1 in real agricultural product samples is critical for food quality control. The electrochemical biosensing

* Corresponding author at: Department of Chemistry, School of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

E-mail address: Ekarat.de@kmitl.ac.th (E. Detsri).

¹ ORCID: 0009-0008-6833-2534.

² ORCID: 0009-0009-0057-7276.

³ ORCID: 0000-0002-5484-989X.

⁴ ORCID: 0000-0001-8627-0631.

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.112631>

Received 22 October 2024; Received in revised form 16 December 2024; Accepted 29 December 2024

Available online 30 December 2024

0026-265X/© 2024 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

techniques have drawn significant attention for AFB1 detection owing to their various advantages, including rapid detection capabilities, selectivity, high sensitivity, miniaturization, ease of operation, and low manufacturing costs. Several publications have been reported on an established electrochemical biosensor for AFB1 determination with high sensitivity and selectivity. An electrochemical biosensing platform has received much attention for AFB1 quantification by combining biomarkers such as antibodies [4–6], enzymes [7], aptamers [8,9], and DNA [10,11] with nanomaterials (NPs). The selection of NPs with large specific surface areas and high conductive properties is critical for improving the sensitivity of AFB1 electrochemical sensors. Recently, some NPs such as reduced graphene oxide (RGO) [12], gold-platinum bimetallic nanoparticles (Au-PtNPs) [13,14], and ruthenium nanoparticles (RuNPs) [15], have received much attention in electrochemical biosensing. RGO is a nanostructured carbon material formed by stacking up layers of carbon nanostructured graphite. RGO exhibits tunable sizes and morphologies with properties of high surface area ($>600 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) [16], excellent mechanical stability (200–500 MPa) [17], thermal ($30\text{--}2600 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$) [18], and remarkable electrical conductivity ($>667 \text{ S m}^{-1}$) and electrochemical activity [19]. Inspired by RGO properties, we have found a novel and remarkable electrochemical activity of trimetallic AuPt-Ru nanoparticles (AuPt-Ru) supported by RGO (AuPt-Ru/RGO) towards the electrochemical aptasensor for AFB1 quantification. The Au-Pt nanoparticles (Au-PtNPs) could facilitate electron transfer, hence accelerating the reaction rate. Moreover, ruthenium nanoparticles (RuNPs) have long been known for their superior catalytic performance. To achieve the biosensing application of the found electrochemical activity, a label-free electrochemical biosensing platform was carried out using AuPt-Ru/RGO signal receptor triggered by a specific target aptamer (thiol-terminated modified aptamer: 5'-thiol-GTT GGG CAC GTG TTG TCT CTC TGT GTC TCG TGC CCT TCG CTA GGC CCA CA-3'; Apt) [20,21]. The AuPt-Ru was synthesized by ultrasonic-driven chemical reduction using polyvinylpyrrolidone (PVP) and L-ascorbic acid (AA) as the stabilizer and reducing agent, respectively. The combination of chemical reduction and ultrasonic irradiation demonstrates excellent applicability for the synthesis of AuPt-Ru. In addition, AuPt-Ru can further fix RGO surface material. The as-synthesized AuPt-Ru/RGO exhibits excellent electrical conductivity, facilitates efficient electron transfer, and thereby accelerates the reaction rate. It demonstrates strong catalytic performance and provides active sites for binding thiol aptamers, effectively amplifying electrical signals.

Additionally, the high cost of conventional electrochemical electrodes has spurred efforts to find alternative, more affordable sources of these metals, particularly driven by the demand for reusable and low-cost devices. The gold leaf sheets (24 k), known for their thinness and fragility but high conductivity and chemical stability [22], were selected as the base material for the electrodes. Herein, we report the gold leaf electrode (GLE) fabrication modified with AuPt-Ru/RGO for an electrochemical aptasensor of AFB1. The GLE_{AuPt-Ru/RGO} exhibits great electrochemical performance in AFB1 detection. The detection limit (LOD) can be as low as $9 \times 10^{-3} \text{ pg mL}^{-1}$ and linearity is relatively wide (0.3 pg mL^{-1} – 30.0 pg mL^{-1}). Besides, the electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} also displays high precision, stability, specificity and has excellent recoveries in agricultural products. Moreover, the innovative use of gold leaf sheets as a cost-effective electrode material underscores the potential for creating affordable and disposable sensors.

2. Experimental

2.1. Chemicals, reagents and apparatus

The graphite power (99.9 %, measuring approximately $20 \mu\text{m}$ in size), gold (III) chloride trihydrate ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), chloroplatinic (IV) acid hexahydrate ($\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), ruthenium chloride (RuCl_2), L-ascorbic acid (AA: $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), polyvinylpyrrolidone (PVP: $\text{C}_6\text{H}_9\text{NO}$)_n,

aflatoxin B1 (AFB1: $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_6$), aflatoxin B2 (AFB2: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$), aflatoxin G1 (AFG1, $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_7$), aflatoxin G2 (AFG2, $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$), zearalenone (ZEN, $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_5$), ochratoxin A (OTA, $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClNO}_6$), bovine serum albumin (BSA, $\text{C}_8\text{H}_{21}\text{NOSi}_2$), and thiol-terminated modified aptamer sequences of 5'-SH-GTT GGG CAT CGT GTT GTC TCT CTG TGT CTC GTG CCC TTC GCT AGG CCC ACA-3' (Apt) were all purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). All the chemicals used were of analytical reagent grade (AR grade). The 24 k gold leaf ($30 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$) was bought at local market (Krung Thep Maha Nakhon, Thailand). The polyimide tape (Kapton®) and two-sided electrical conductivity copper tape were purchased from 3 M Thailand, Ltd. All chemical solutions were prepared using ultrapure deionized distilled water (DI water, Milli-Q® EQ 7000, Merck).

The chemical and physical characteristics of AuPt-Ru heterostructured nanoparticles were identified by Transmission electron microscope (TEM, JEM-2010 model, JEOL, Japan), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS, AXIS Ultra DLD, Kratos Analytical, England), X-ray diffraction analysis (XRD, Rikagu smart lab, Japan), Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR, IRTracer-100, Shimadzu, Japan), and UV-visible spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu, Japan). The AuPt-Ru heterostructured nanoparticles supported on RGO with disposable gold leaf electrode was characterized by field-emission scanning electron microscopy (Fe-SEM, S-4700, Hitachi, US), Zeta potential analyzer (Zetasizer nano ZS, Malvern, UK), and Atomic Force Microscopy (AFM, SPA400 model, SEIKO Instruments, Japan). Electrochemical measurements were performed with a PGSTAT302N Autolab Potentiostat workstation (Metrohm, Switzerland) and electrochemical impedance measurements were carried out with a Gamry Reference 3000 P/G system (Metrohm, Switzerland). The AuPt-Ru heterostructured nanoparticles supported on RGO modified gold leaf was used as the working electrode (WE). The Ag/AgCl($\text{KCl}_{3.5 \text{ M}}$) electrode and a platinum rod (1.0 mm diameter) were used as the reference (RE) and counter electrodes (CE), respectively.

2.2. Synthesis of trimetallic AuPt-Ru nanoparticles decorated RGO

Trimetallic AuPt-Ru nanoparticles were synthesized by the ultrasonic-driven chemical reduction method. In brief, 0.4 mL of $20 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0.4 mL of $20 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $40 \mu\text{L}$ of $20 \text{ mmol L}^{-1} \text{ RuCl}_2$, and 10 mL of 3 mmol L^{-1} of PVP were added into a 25 mL flask and mixed under a high-power ultrasonicator (VCX 130, Vibra-Cell™, USA) for 5 min . Then, 4.0 mL of 10 mmol L^{-1} AA was added drop by drop to the solution and allowed to sonicate for 20 min . The solution was removed from ultrasonic and then continuously stirred at room temperature for 24 h . Subsequently, the mixed solution was centrifuged, washed with 60% v/v ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), and dried at $80 \text{ }^\circ\text{C}$ to obtain black precipitated trimetallic AuPt-Ru nanoparticles. The obtained trimetallic AuPt-Ru nanoparticles were dispersed in 2 mL DI to obtain a 2 mg mL^{-1} colloidal concentration and stored in a refrigerator at $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Reduced graphene oxide (RGO) was synthesized by following previously reported procedures [23] with a few modifications. In the experiment, 5.0 g of graphite was mixed with 5.0 g of NaNO_3 in a 500 mL round-bottom flask. 250 mL of concentrated H_2SO_4 was carefully added into the flask. The solution was continuously stirred in an ice bath for 30 min , resulting in a black-colored product. Subsequently, 35 g of KMnO_4 was slowly added into the above reaction mixture, maintaining the temperature below $10 \text{ }^\circ\text{C}$ for 2 h to yield a greenish-brown product. This product was then transferred into a 1000 mL three-neck flask containing 500 mL of DI water and heated to $90 \text{ }^\circ\text{C}$ for 10 h . Followed by adding dropwise 50.0 mL of 30% w/v H_2O_2 to the reaction mixture. The reaction mixture was centrifuged at $14,000 \text{ rpm}$ for 5 min to yield a black precipitate of graphene oxide (GO). The collected GO was rinsed with DI water until pH 5.6 and dried in an oven at $80 \text{ }^\circ\text{C}$. The prepared GO has been reduced to RGO with hydrazine through gradual mixing of $1 \mu\text{L}$ of 50% v/v hydrazine and 10 mL of 3 mg mL^{-1} GO. In order to achieve

a homogeneous RGO dispersion, the mixture was stirred at 80 °C for 12 h. Afterward, the prepared black dispersion of RGO was obtained.

To prepare AuPt-Ru heterostructured nanoparticles supported on RGO, 5 mL of 0.25 mg mL⁻¹ of RGO and 0.50 mg mL⁻¹ of AuPt-Ru heterostructured nanoparticles were sonicated for 40 min. Afterward, the prepared dispersion was centrifuged for 10 min at 14,500 rpm and rinsed with DI to eliminate free AuPt-Ru heterostructured nanoparticles, which were not bound to RGO, followed by drying at 80 °C for 12 h and storing in a desiccator.

2.3. Electrode design and fabrication

The 24 k gold leaf (20 mm x 30 mm) was placed onto a flat surface of 30 mm x 35 mm single-side polyimide tape (Kapton®), followed by thermal laminate (Lamirel LMR-220, Thailand). Subsequently, 2-faced electrical conductivity copper tape (resistivity of 0.003 Ω/in²) with a size of 7.5 mm x 30 mm was placed over the edge of the gold leaf to reinforce the gold film, aiming to create an electrical contact terminal. Another piece of 5-mm diameter punched Kapton® tape (17.5 mm x 30 mm) was placed over the gold leaf to define the electrode surface area (78.5 mm²). Finally, the GLE was laminated at 150 °C. As a result, the planar-disc gold leaf electrode (GLE) is in standard width and length of 10 mm and 25 mm, respectively. Afterwards, all GLE were cleaned using acid treatment (1.0 M H₂SO₄). The electrochemical cleaning method used was cyclic voltammetry (CV) with a potential range of -0.2 V to +0.6 V, 25 cycles, and a scanning rate of 0.5 V s⁻¹. Finally, the in-lab-fabricated GLE was rinsed with DI water, dried with a hairdryer (2100 W, BHD340, Philips), and kept at room temperature in a desiccator.

To fabricate the electrochemical aptasensor, 0.125 mg mL⁻¹ of the as-prepared AuPt-Ru/RGO solution was sonicated for 10 min. The 15 μL of the prepared AuPt-Ru/RGO inks was dropcast onto the surface of the GLE, dried at room temperature, and rinsed with DI, corresponding to an AuPt-Ru/RGO mass loading of 14.3 μg cm⁻². Finally, 15 μL of 25 nmol L⁻¹ thiol-terminated aptamer (Apt) in 10 mmol L⁻¹ PBS (pH 7.4) solution was dropped onto the prepared GLE_{AuPt-Ru/RGO} surface, followed by incubation at 4 °C until dried to obtain the aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO-Apt}. The obtained aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO-Apt} was carefully rinsed with 10 mM pH 7.4 PBS and stored at 4 °C until dried. To prevent non-specific binding of AFB1 to the Apt, 15 μL of 0.25 % BSA blocking buffer was dropped on aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} and allowed to dry at 4 °C for 30 min. Finally, the in-lab-fabricated aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} was obtained and stored at 4 °C for characterizations and further use.

2.4. Agricultural sample preparation and AFB1 measurement procedure

Agricultural samples, including dried red chili, garlic, peanuts, pepper, and Thai jasmine rice, were bought from the local market in Krung Thep Maha Nakhon (Bangkok), Thailand, and stored at 30 ± 5 °C (room temperature, RT) for over 6 months. Approximately 5 g of the agricultural samples were ground with a kitchen electric blender (450 W, HR2041/30, Philips). Then, each sample was extracted using 20 mL of 60 % v/v methanol and sonicated at room temperature for 20 min, followed by centrifugation at 11000 rpm for 15 min. Finally, the supernatant was filtrated to remove insoluble solids, first through a Whatman No. 42 filter paper (CHM™, Barcelona, Spain) and then through a 0.22 μm pore size nylon membrane (GNW Technologies, China). The filtrated sample solutions were stored in 500 mL plastic bottles in a 4 °C refrigerator.

For AFB1 detection, the aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} was incubated with 15 μL of spiked sample with different target AFB1 concentrations of 3.0 pg mL⁻¹, 12.5 pg mL⁻¹, 25.0 pg mL⁻¹, 25.0 x 10³ pg mL⁻¹ and 50.0 x 10³ pg mL⁻¹ at 4 °C in the refrigerator for 45 min. The aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} was finally thoroughly rinsed with 10 mM pH 7.4 of PBS and immersed in 5 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆] containing 20 mmol L⁻¹ PBS (pH 7.0) to perform differential pulse voltammetry (DPV) measurement

through scanning the potential (V) from -0.2 to +0.5 V at 20 mV/s. Experiments were conducted in triplicate. The findings were presented as the mean ± standard deviation.

To evaluate the ability of the electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} for detecting AFB1 with high specificity, five mycotoxins structurally related to AFB1, including AFB2, AFG1, AFG2, ZEN, and OTA, were examined. Moreover, a mixture of five mycotoxins containing AFB1 was also investigated. Each of these mycotoxins was prepared at the same concentration of 3 ng mL⁻¹, which is over 100 times higher than the target AFB1 concentration of 30 pg mL⁻¹. The GLE_{AuPt-Ru/RGO} electrical aptasensor was incubated with 15 μL of each mycotoxin and a mixture of five mycotoxins containing AFB1 solution for 30 min at room temperature. After washing the electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} surface with 10 mmol L⁻¹ PBS solution (pH 7.4) to remove physically adsorbed substances, DPV was recorded in 5 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆] containing 20 mmol L⁻¹ PBS (pH 7.0) through scanning the potential (V) from -0.2 to +0.5 V at 20 mV/s.

2.5. Correlation assay

To compare the significance of GLE_{AuPt-Ru/RGO} electrochemical aptasensors for AFB1 detection, a correlation assay was performed using the standard HPLC method (AOAC method 994.08) [24]. For the analytical procedure, AFB1 was derivatized with trifluoroacetic acid (TFA). The mechanism of AFB1 derivatization was shown in Fig. S1. Briefly, 2.0 mL of prepared sample solutions were evaporated and dried under a gentle nitrogen stream (N₂, 99.995 %) at room temperature. The dried samples were spiked with different concentrations of AFB1 of 3.0 pg mL⁻¹, 12.5 pg mL⁻¹, 25.0 pg mL⁻¹, 25.0 x 10³ pg mL⁻¹, and 50.0 x 10³ pg mL⁻¹. Then, AFB1 was derivatized with 700 μL of a 1:7:2 vol ratio of concentrated acetic acid, DI water (H₂O), and concentrated TFA under a 50 °C ultrasonic bath (DR-P30, Derui) for 40 min. After cooling down to RT, the derivatized AFB1 was diluted with 1 mL of 3:1:1 of DI water (H₂O), 99.9 % CH₃OH, and 99.9 % C₂H₅N, followed by filtering through a nylon membrane with a pore size of 0.45 μm (CNW Technologies, China). For AFB1 detection, HPLC system (RF-20A Prominence LC-20 series, Shimadzu, Japan) connected with a C18 capillary column (4.6 mm x 150 mm x 5 μm particle size, GL Sciences, Japan) and a fluorescence detector (RF-20A) with excitation 365 nm and emission of 430 nm was used. The column was equilibrated at RT (25 ± 5 °C) with a constant flow rate of 1.0 mL min⁻¹. The AFB1-derivatized sample (10 μL) was injected into the HPLC and eluted using a mixed mobile phase of 3:1:1 of DI water (H₂O), 99.9 % CH₃OH, and 99.9 % C₂H₅N. Data acquisition and processing were carried out using LabSolutions software version 5.92 (Shimadzu Co., Ltd., Kyoto, Japan).

3. Results and discussion

3.1. Formation and characterizations of the prepared trimetallic AuPt-Ru nanoparticles-decorated RGO

Trimetallic AuPt-Ru nanoparticles-supported RGO (AuPt-Ru/RGO) was prepared according to a very facile ultrasonic-assisted chemical reduction method as shown in Fig. 1A. Firstly, trimetallic AuPt-Ru nanoparticles (AuPt-Ru) are prepared through the assembly of tetrachloroaurate ions [AuCl₄]⁻, hexachloroplatinate ions [PtCl₆]²⁻, and ruthenium ions [Ru]²⁺ with polyvinylpyrrolidone (PVP) and ascorbic acid (C₆H₈O₆) as the stabilizing and reducing agents, respectively. Adsorption and cobridging of [AuCl₄]⁻ are easily attracted to carboxyl functional groups (C = O) and nitrogen (N) atoms of pyrrolidine ring of PVP via bidentate coordinating covalent bonds, resulting in the [Au(PVP)Cl₄]⁻ complex. While [PtCl₆]²⁻ can directly adsorb double-layered onto [Au(PVP)Cl₄]⁻ complexes through the van der Waals interactions. As is well known, high-intensity ultrasonic irradiation can generate reactive radicals of e_{aq}⁻, H[•], HO[•], HO₂[•], OH[•], H₂O⁺, H₂, and H₂O₂. The combination of ultrasound with the chemical reduction

3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

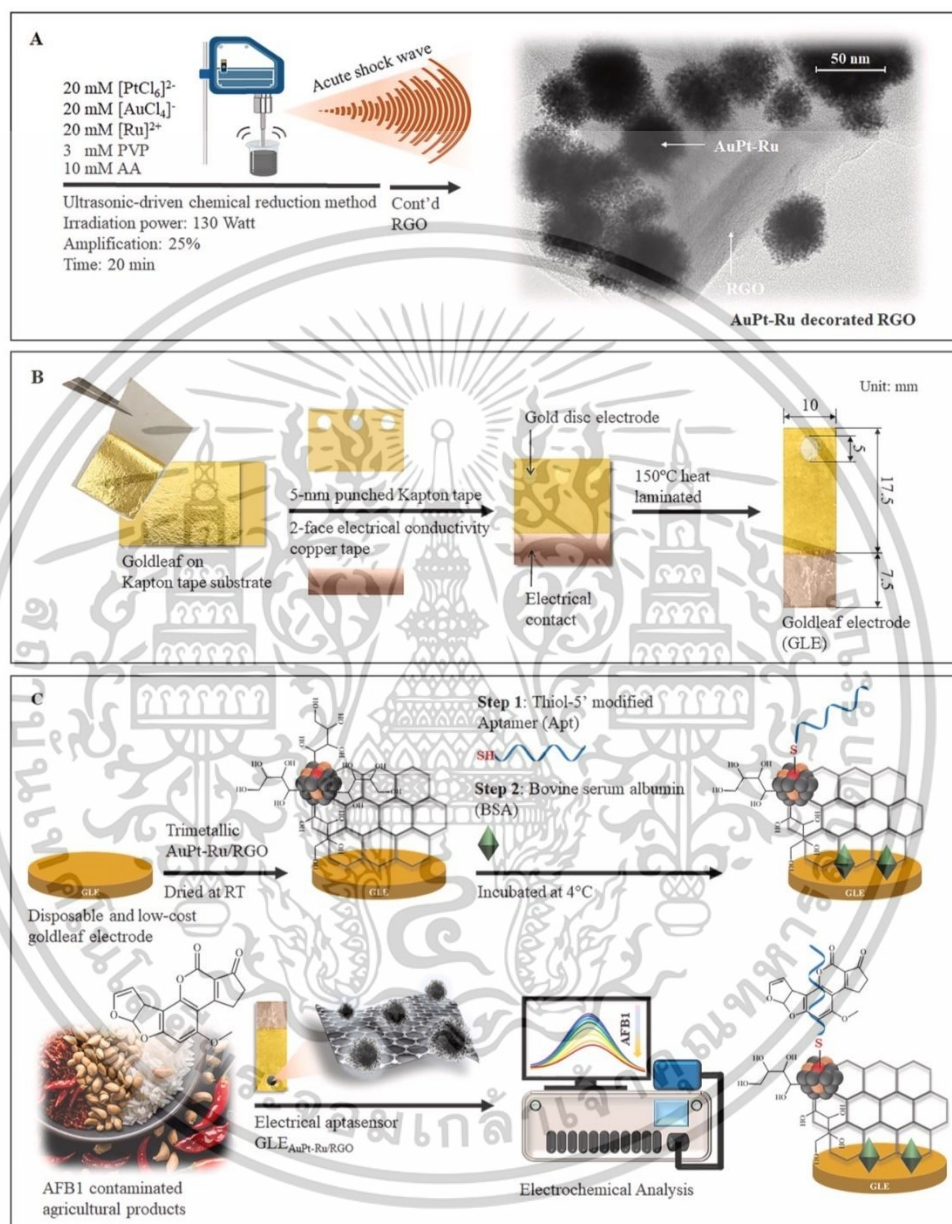


Fig. 1. Unique designs and geometries of $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ electrochemical AB1 aptasensor biosensors. (A) Synthesis of $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$. (B) Schematic illustration of planar-disc GLE design and fabrication. (C) Schematic representation for the stepwise fabrication of electrochemical $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ aptasensor and interaction mechanism of $GLE_{AuPt-Ru/RGO}$ aptasensor with AB1.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

method ($E^0_{C_6H_8O_6/C_6H_6O_6} = +0.35$ V vs. the standard hydrogen electrode (SHE)) can create enormous reduction power of AuPt-Ru nanoparticles. When high-power ultrasonic irradiation was applied to the complex solution, high-intensity shock waves (nano-sized bubbles) were generated and altered the acoustic properties of the medium. Both hydrogen radicals (H^\bullet) and hydroxyl radicals (HO^\bullet) may diffuse into the bulk $C_6H_8O_6$ -reducing liquid phase and initiate the reduction of gold (III) ions and platinum (IV) ions in $[PtCl_6]^{2-}$ double-layered $[Au(PVP)Cl_4]^-$ complexes. The gold (III) species was rapidly reduced to metallic Au (Au^0) and formed core structure. Following this, platinum (IV) ions were later reduced and then deposited on the Au^0 core, forming shell nanoparticles leading to the generation of Au@Pt core-shell. Considering the reduction potentials of $[AuCl_4]^-$ and $[PtCl_6]^{2-}$ as a measure of their ability to undergo reduction ($E^0_{Au(III)/Au} = +1.50$ V vs. SHE; $E^0_{Pt(IV)/Pt} = +1.20$ V vs. SHE). After the formation of Au@Pt core-shell, high-temperature and high-pressure conditions in ultrasonic irradiation, more $[Ru]^{2+}$ ions were reduced to Ru^0 ($E^0_{Ru(III)/Ru} = +0.45$ V vs. SHE) and then deposited onto the surfaces of the Au@Pt core-shell, leading to the generation of AuPt-Ru nanoparticles. Note: ascorbic acid functioned as the reducing agent and perhaps as a stabilizing agent for Ru^0 . The synthesis conditions and characterization of Au@Pt core-shell were shown in Fig. S2-S5. Most importantly, reduced graphene oxide (RGO), as a potential electrical contact material, has been synthesized, and the information were provided in Fig. S6-S8. AuPt-Ru heterostructure nanoparticles were loaded on the surfaces of RGO by the ultrasonic irradiation method. Acute shock waves produced at a high-

temperature and high-pressure of ultrasonic irradiation can create the chemical reaction between RGO and AuPt-Ru. The RGO sheets, which have partially oxygen-containing functional groups including $-OH$, $-C=O$, and $-O-$, served as a platform for the strong hydrogen bonding of AuPt-Ru, resulting in the high uniformity and dispersity formation of AuPt-Ru heterostructure nanoparticles-supported RGO (AuPt-Ru/RGO).

To investigate the successful synthesis of the AuPt-Ru/RGO, we first characterized the AuPt-Ru/RGO by HR-TEM and SAED, XRD, XPS, and FT-IR. The particle size, morphology, and crystallinity of AuPt-Ru/RGO were determined using HR-TEM. Representative HR-TEM of AuPt-Ru/RGO (Fig. 2A1) shows that AuPt-Ru was embedded on folded/wrinkled RGO nanosheets. The AuPt-Ru displayed a core-shell waxberry-like structure with an average size of 53.83 ± 4.54 nm, with a core of Au^0 approximately 42.17 ± 3.11 nm and a shell of Pt thickness around 8.1 ± 1.76 nm. The spherical shape of Ru^0 was dispersed onto the surfaces of the Au@Pt core-shell. In Fig. 2A2, the observed lattice spacings of 2.29 Å, 1.97 Å, 1.34 Å, and 1.13 Å are assigned to the (111), (200), (220), and (311) planes of AuPt-Ru, respectively, which are in good agreement with the interplanar distance between the Au(111) (JCPDS card no. 04-0784) [25], Pt(111) (JCPDS card no. 04-0802) [26], hexagonal Ru(101) (JCPDS card no. 65-7646) [27], and the associated study of Au@Pt core-shell nanoparticles [28], respectively. Moreover, the selected area electron diffraction (SAED) analysis of AuPt-Ru was obtained (Fig. 2A3). The bright rings with occasional bright spots are due to the polycrystalline nature of the AuPt-Ru. The (111), (200), (220), and (311) planes for FCC AuPt-Ru were obtained. The EDX spectrum

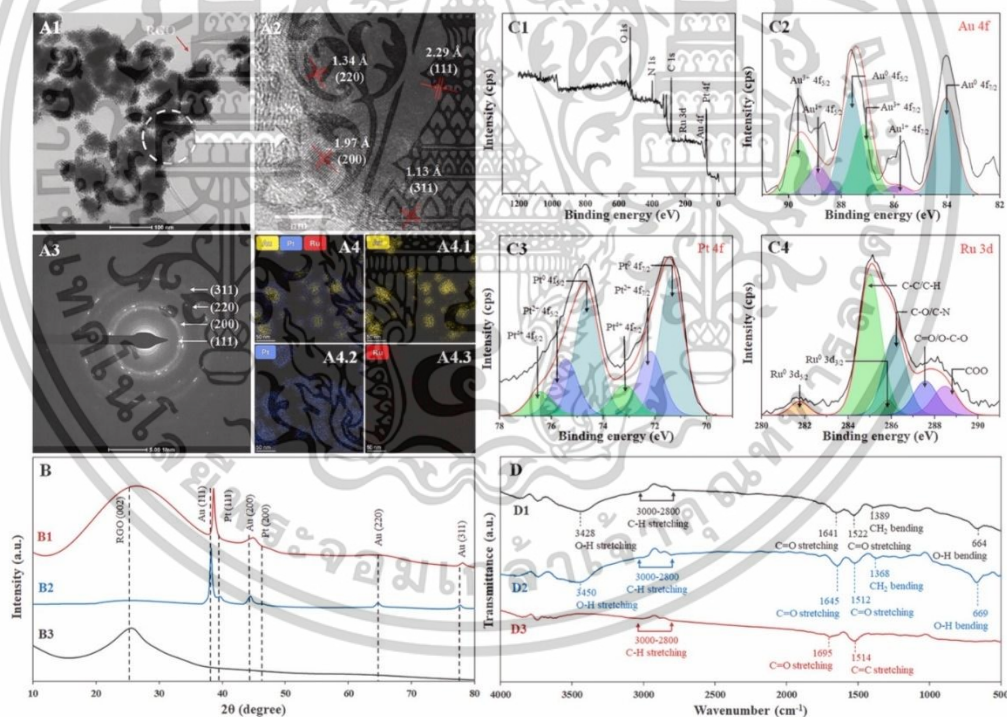


Fig. 2. HR-TEM images (A1), lattice planes (A2), SAED image (A3), and elemental mapping images and EDX spectrum (A4) of AuPt-Ru/RGO. XRD pattern (B) of AuPt-Ru/RGO (B1), AuPt-Ru (B2), and RGO (B3). XPS full survey XPS spectra of AuPt-Ru/RGO (C1), and XPS spectra of AuPt-Ru/RGO corresponding to the (C2) Au 4f, (C3) Pt 4f, and (C4) Ru 3d. FT-IR spectra of the as-synthesized AuPt-Ru/RGO (D1), AuPt-Ru (D2), and RGO (D3).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Fig. 2A4.1-3) also confirmed that the surfaces of RGO are composed of Au, Pt, and Ru elements; the presence of strong peaks at approximately 2.12 keV, 9.71 keV (Au), 2.05 keV, 9.44 keV (Pt), and 0.24 keV, 2.56 keV (Ru) were attributed to the distinct energy shells of M α and L α , which confirm that the AuPt-Ru/RGO have been successfully synthesized.

The successful formation of AuPt-Ru/RGO was further confirmed by XRD. For comparison, the XRD patterns of RGO, AuPt-Ru, and AuPt-Ru/RGO were shown in Fig. 2B. The XRD pattern of AuPt-Ru/RGO exhibits a broad peak of RGO (002) at 26.5° due to the presence of amorphous RGO, which was well observed for AuPt-Ru/RGO. The peaks associated with Au@Pt at 38.6° (111), 44.8° (200), 65.6° (220), and 78.1° (311) were located between the Au (111) and Pt (111) planes for the face-centered cubic (fcc) lattice, indicating the formation of an Au@Pt core-shell, whereas no observable lines in the XRD spectra of Ru could be detected with AuPt-Ru/RGO because they were low in content and obscured by the dominant diffraction peaks of the AuPt components.

X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) was utilized to determine the atomic composition, chemical state, and binding energy of AuPt-Ru/RGO. Fully spectra of high-resolution AuPt-Ru/RGO were recorded, and the signals for Au 4f, Pt 4f, and Ru 3d were shown in Fig. 2G1. The Au 4f XPS spectrum shows two binding energies (BE) of Au4f_{5/2} and Au4f_{7/2} at

87.5 eV and 83.9 eV, respectively (Fig. 2C2). The peak BE values of 89.7, 88.9, 87.6, 87.2, 85.9, and 83.9 eV were attributed to Au³⁺ 4f_{5/2}, Au¹⁺ 4f_{5/2}, Au⁰ 4f_{5/2}, Au³⁺ 4f_{7/2}, Au¹⁺ 4f_{7/2}, and Au⁰ 4f_{7/2}, respectively. All these BE results confirmed the presence of any oxidized species of gold in AuPt-Ru/RGO. Furthermore, the corresponding amplified peak of Pt and Ru are seen in Fig. 2C3-4. The sharpening spectral in the Pt4f region and its curve fitting show three species oxidation states for platinum Pt (0), Pt (II), and Pt (IV). Two peaks located at BE of 74.7 eV and 71.4 eV are attributed to Pt4f_{7/2} and Pt4f_{5/2} of Pt (0), respectively. Another four-emission signal at 76.4 eV (Pt 4f_{7/2}), 75.5 eV (Pt 4f_{7/2}), 74.6 eV (Pt 4f_{7/2}), 73.2 eV (Pt 4f_{7/2}), 72.2 eV (Pt 4f_{7/2}) and 71.4 eV (Pt 4f_{7/2}) can be ascribed to oxidized Pt species of Pt (II), and Pt (IV). In addition, two additional doublets can be identified at 281.8 eV and 285.1 eV due to 3d_{5/2} (Ru⁰) and 3d_{3/2} (Ru⁰), respectively. These results confirm the presence of any metal ions (Au, Pt, and Ru) in AuPt-Ru/RGO. The successful AuPt-Ru heterostructure nanoparticles-supported RGO synthesis could be affirmed by the more specific binding of C 1 s, and O 1 s, which is mainly attributed to RGO and PVP compounds on the heterostructure nanoparticles surface. The peaks corresponding to C 1 s, and O 1 s (Fig. S9) and the main connection mode, BE of C 1 s, and O 1 s, and the parameter Δ (eV) for AuPt-Ru/RGO were shown in Table S1. The C 1 s

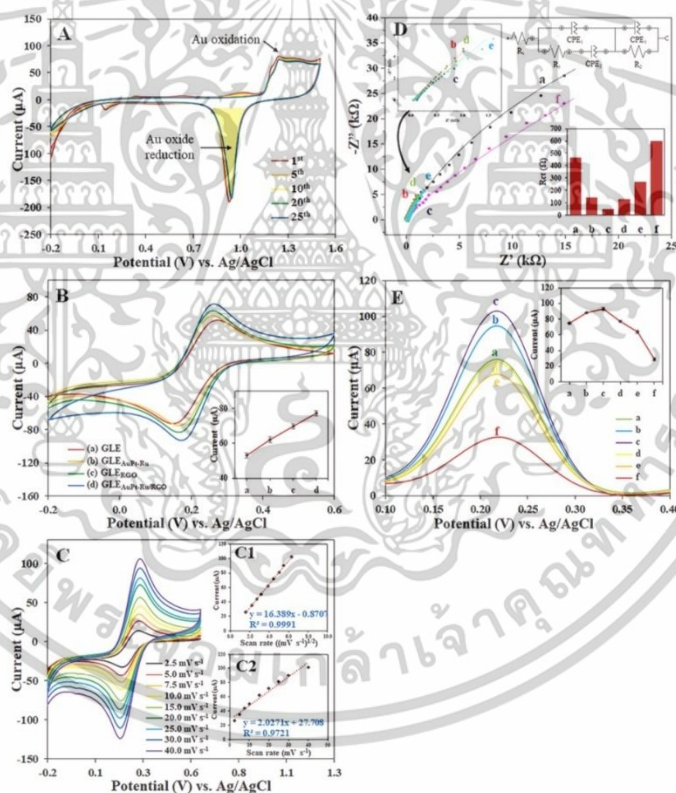


Fig. 3. Cyclic voltammogram characteristic peak (CV curve) of GLE in 0.5 mmol L⁻¹ H₂SO₄ (scan rate 0.1 V s⁻¹) (A), CV curves (B) of — GLE, — GLE_{RGO}, — GLE_{AuPt-Ru}, and — GLE_{AuPt-Ru/RGO}, CV curves of GLE_{AuPt-Ru/RGO} peak current as a function of (C1) square root scan rate and (C2) scan rate in the ranging of 2.5 mV s⁻¹ to 40 mV s⁻¹, and Nyquist plots (D) and DPV characterization of stepwise development of electrochemical aptasensor of a) GLE, b) GLE_{RGO}, c) GLE_{AuPt-Ru/RGO}, d) GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt}, e) GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt/BSA}, and f) GLE_{AuPt-Ru/RGO/Apt/BSA/AFB1}. The electrochemical investigation was performed in 10 mmol L⁻¹ PBS (pH 7.4) containing 5 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

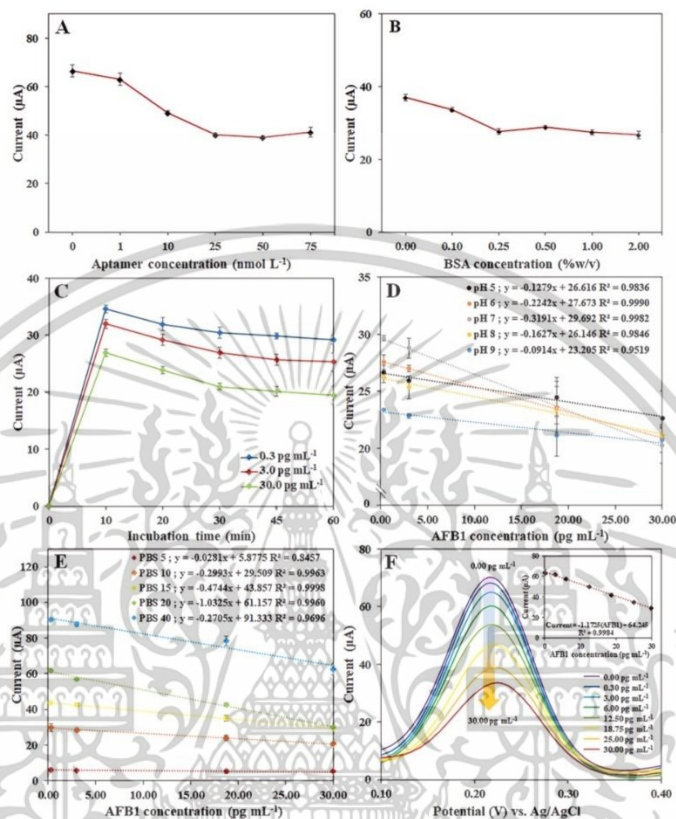


Fig. 4. Optimization parameters: (A) aptamer concentration, (B) BSA concentration, (C) reaction time, (D) pH, and (E) PBS concentration, and (F) electrochemical response DPV curves and linear relationship between currents with different AFB1 concentrations, ranging from 0.30 pg mL^{-1} to 30.0 pg mL^{-1} DPV conditions: amplitude 50 mV, pulse width 0.05 s, and step potential of 5.0 mV. The error bar represents standard deviation of five replicated measurements.

spectra of AuPt-Ru/RGO display four BE peaks, at 285.0 eV, 286.2 eV ($\Delta\text{eV} = 1.2$ eV), 287.6 eV ($\Delta\text{eV} = 2.6$ eV), and 288.5 eV ($\Delta\text{eV} = 3.5$ eV), corresponding to COO, C-O/O-C-O, C-O/C-N, and C-C/C-H bonds, respectively. Moreover, the O 1s spectra of AuPt-Ru/RGO display five BE peaks at 531.1 eV, 531.9 eV ($\Delta\text{eV} = 0.8$ eV), 532.9 eV ($\Delta\text{eV} = 1.8$ eV), and 534.2 eV ($\Delta\text{eV} = 3.1$ eV), corresponding to C = O, COOH, C-OH, and C-O-C bonds, respectively. XPS analysis confirmed the presence of characteristic C 1s and O 1s peaks, which confirmed the successful synthesis of AuPt-Ru/RGO.

Fourier transform infrared (FT-IR) spectra were investigated to confirm the successful combination of RGO with AuPt-Ru. As seen in Fig. 2D1, the intensity of the stretching bands of oxygen (-O-) functionalities like O-H (3428 cm^{-1}) and C = O (1641 cm^{-1} and 1522 cm^{-1}) and bending bands of CH_2 (1389 cm^{-1}) and O-H (664 cm^{-1}) corresponds to characteristics of AuPt-Ru/RGO. All FTIR characteristics of AuPt-Ru (Fig. 2D2) and RGO (Fig. 2D3) were found in arguments in AuPt-Ru/RGO, which confirm the successfully embedded nanocomposite.

Upon the decoration of AuPt-Ru onto RGO (Fig. S10), a remarkable electrochemical current was observed. The AuPt-Ru/RGO revealed better electrochemical performance and had superior properties for electron transfer. This enhancement is attributed to the synergistic

interaction between AuPt-Ru and RGO that created additional electron transport pathways and reduced resistance.

3.2. Morphology and electrochemical performances of electrochemical aptasensors $\text{GLE}_{\text{AuPt-Ru/RGO}}$

The in-lab-fabricated GLE (25 mm length, 12 mm width) was designed and fabricated (Fig. 1B) for ultrasensitive electrochemical aptasensor of AFB1 quantification. The GLE was first electrochemically cycled in 0.1 M H_2SO_4 solutions at a scan rate of 0.1 V s^{-1} for 25 cycles, and the CVs are presented in Fig. 3A. During potential cycling of GLE in H_2SO_4 , anodic peaks of 1.35 V (vs. Ag/AgCl) and a well-defined cathodic peak at 0.90 V were obtained by oxidation and reduction of the outermost layer of gold atoms. The electrochemical behavior of in-lab-fabricated GLE was observed to be similar to that of commercial gold electrodes [29–31]. The AFM and Fe-SEM were used to morphologically characterize the electrode construction process, as shown in Fig. S11–S12. The GLE surface exhibited a surface topography of rougher and had a surface roughness of 36.67 nm (Fig. S11A). After the 25 cycles of anodic treatment, the topography changed to a smooth one, and the roughness decreased to 30.47 nm (Fig. S11B). The changes in GLE

polycrystalline roughness might be due to lower impurity adsorption. The assembly process and sensing mechanism of the AuPt-Ru/RGO electrochemical aptasensor were shown in Fig. 1C. The stepwise development of the aptasensor was first dropping AuPt-Ru/RGO onto the exposed GLE working electrode surface, resulting in a significant increase in the electron transport rate on the electrode surface and improvement of the electroactive site of the sensor. The surface morphology of the AuPt-Ru/RGO decorated on GLE (GLEAuPt-Ru/RGO) was observed by Fe-SEM (Fig. S12). The prepared GLEAuPt-Ru/RGO trends are to be adsorbed onto the GLE surface through a gold-oxygen bond of AuPt-Ru/RGO. The AuPt-Ru/RGO were densely packed on a GLE, which affected an increase in surface roughness of 60.41 nm of the modified electrode (Fig. S11C). Then, the addition of thiol-terminated modified aptamer is linked to AuPt-Ru/RGO by metal-thiol bonding between the AuPt-Ru/RGO composite and aptamer, which acts as a highly selective site for AFB1. The selected aptamer serves as a highly selective recognition element for AFB1 [20,21], forming Apt-AFB1 complexes through specific hydrogen bonding and π - π stacking interactions upon exposure to the target molecule. These interactions induce conformational changes in the aptamer, folding around AFB1, which effectively traps the analyte on the electrode surface. Subsequently, BSA seals the unbound site of the electrode for blocking non-target binding. The sensing mechanism relies on monitoring changes in the electrical behavior of the sensor using differential pulse voltammetry (DPV). When AFB1 binds to the immobilized aptamer, the formation of Apt-AFB1 complexes disrupts the electron transfer at the electrode surface. This results in a measurable decrease in the peak current during DPV analysis, proportional to the concentration of AFB1. The as-prepared electrochemical aptasensor behaviors were evaluated by CV, EIS, and DPV methods, performed in 10 mmol L⁻¹ PBS (pH 7.4) containing 5 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆], as shown in Fig. 3B-3E. The CV analysis (Fig. 3B) corresponds to GLE, GLE_{AuPt-Ru}, GLE_{RGO}, and GLE_{AuPt-Ru/RGO}, the current response of the GLE_{AuPt-Ru/RGO} exhibited approximately 77.32 μ A, which is a 45.56 % increase compared with bare GLE (53.12 μ A) due to the electron transport on its conjugated nanostructure, which created a system of π -electrons that were delocalized over the entire structure. The electron transfer kinetics of the modified GLE were monitored, and the current response to different scan rates from 2.5 mV s⁻¹ to 40.0 mV s⁻¹ was performed in 10 mmol L⁻¹ PBS (pH 7.4) containing 5 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆], as shown in Fig. 3C. The results showed that the plot of the current versus the square root of the scan rate yielded a highly linear relationship according to the equation $I_{pa} (\mu A) = 16.389v (mV s^{-1})^{1/2} - 0.8707 (R^2 = 0.9991)$. In contrast, the plot of the current versus the scan rate also displayed linearity, but with a lower R² value of 0.9721 ($I_{pa} (\mu A) = 2.0271v (mV s^{-1}) + 27.708$). These findings indicated that the modified electrode exhibited behavior characteristic of diffusion-controlled reactions (Randles-Sevcik model) [32]. The effect on impedimetric response was elucidated in terms of R_s, CPE₁, R₁, CPE₂, R₂, and CPE₃ by fitting the experimental curves with the modified Randles equivalent circuit [33]. EIS measured the impedance of an electrochemical system over the wide frequency range of 0.1 mHz to 1 MHz and provided a kinetic of electrochemical processes, as shown in Fig. 3D. Fig. 3D, (a) shows EIS spectra of GLE with higher charge transfer resistance (R_{ct}) of 463 Ω . The addition of AuPt-Ru/RGO (c), Apt (d), and BSA (e) onto the working GLE surface leads to the binding of covalently bound molecular linker, thiol bond (metal-S), and hydrogen bond (O-H), respectively. This results in a reduction of resistance offered by the electrode surface to 62 Ω , 74 Ω , and 85 Ω , respectively. Subsequent addition of AFB1 (f), the R_{ct} was increased to 141 Ω . For reference, the R_{ct} of RGO (b) on GLE was found to be 136 Ω . The DPV results (Fig. 3E) were in agreement with the EIS data, indicating the successful construction of the electrochemical aptasensor. The electrode active surface areas before and after modification of GLE were calculated by the Randles-Sevcik Eq. (1).

$$I_{pa} = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} AC(Dv)^{1/2} \quad (1)$$

Where I_{pa} = anodic peak current, n = number of electrons (1 electron for K₃[Fe(CN)₆]), v = scan rate (V/s), A = electrochemically active area (cm²), D = diffusion coefficient (7.6×10^{-6} cm² s⁻¹ for K₃[Fe(CN)₆]), and C = concentration of K₃[Fe(CN)₆] (5 mmol L⁻¹). The electrochemical active surface areas of GLE, GLE_{AuPt-Ru}, GLE_{RGO}, and GLE_{AuPt-Ru/RGO} were calculated to be 10.12 ± 0.27 mm², 12.27 ± 0.30 mm², 13.75 ± 0.30 mm², and 14.77 ± 0.30 mm², respectively. The observation of a larger active surface area means that the AuPt-Ru, RGO, and AuPt-Ru/RGO contribute to the increase in the electrochemical active surface area of the electrode.

3.3. Optimization of the experimental parameters and electrochemical performance analysis

Different experimental conditions for the electrochemical aptasensor detection of AFB1 were investigated by DPV measurement, including Apt concentrations (1, 10, 25, 50, and 75 nmol L⁻¹ in 10 mmol L⁻¹ PBS solution), BSA concentrations in the range of 0.10 % w/v to 2.00 % w/v in 10 mmol L⁻¹ PBS solution, incubation times of 10, 20, 30, 45, and 60 min, pH of 5-9, and PBS concentrations between 5 mmol L⁻¹ and 40 mmol L⁻¹.

As shown in Fig. 4A, The Apt concentrations on the modified electrode significantly affected the electrical properties of the electrode. The corresponding value of the current signals was decreased from 66.62 μ A to 42.10 μ A as Apt concentrations increased from 0 to 25 nmol L⁻¹. Then, reaching constant currents at 25 nmol L⁻¹ and higher Apt concentrations. This observation could be explained by the ssDNA structure of the aptamer. These molecules restrict electron transport activities on the electrode by acting as insulating layers on the electrode surface. The higher concentrations indicated that the electrode surface was saturated bound with Apt molecules. Therefore, 25 nmol L⁻¹ was carried out in the modified electrochemical aptasensor, which played a crucial role in the electrochemical aptasensor for specific binding capability. The optimal BSA concentrations were also investigated. BSA was used to cover unbound active areas on the electrode. The results were shown in Fig. 4B, the currents of electrochemical aptasensors were decreased at BSA concentrations up to 0.25 % w/v. At the higher concentrations, BSA was excessed, leading to constant current values. Thus, 0.25 % w/v was selected as the optimal concentration. The effect of incubation time was investigated under different AFB1 concentrations of 0.30 pg mL⁻¹, 3.00 pg mL⁻¹ and 30.00 pg mL⁻¹ (Fig. 4C). The DPV current responses of electrochemical aptasensors gradually decreased with increasing incubation time, leading to more Apt folded into Apt-AFB1 complexes. The incubation time was longer than 30 min, and the currents did not significantly differ, indicating the binding sites of the electrode became saturated. Hence, the 30 min of incubation time was chosen for ensuring complete interaction. The effect of pH on the electrochemical aptasensor is a critical parameter affecting the DPV responses to AFB1 detection. Results showed that in Fig. 4D, the strongest linear relationship in anodic currents was obtained in pH 7 (calibration slope = 0.3191 with R² = 0.9982). However, more acidic and alkaline, there was a significant decrease in the sensitivity due to the break of the aptamer-AFB1 linkage. These results highlight the importance of maintaining a neutral pH for reliable detection. The pH 7 was therefore selected as the optimal pH. The influence of PBS concentrations on the detection performance of AFB1 was examined over the concentrations from 5 mmol L⁻¹ to 40 mmol L⁻¹ (Fig. 4E), and 20 mmol L⁻¹ provided the best calibration slope of 1.0325 with the linear correlation coefficient (R²) of 0.9960. Electron transfer efficiency is decreased by insufficient ionic strength. On the other hand, higher PBS concentrations (40 mmol L⁻¹) can increase ion density and lead to shielding effects that minimize current responses and interfere with efficient charge transfer. The optimal concentration was therefore determined to be 20 mmol L⁻¹ PBS. The performance of the electrochemical aptasensor was verified using AFB1 at different concentrations of 0.3 pg mL⁻¹ to 30.0 pg mL⁻¹. The DPV curves, performed in 10 mmol L⁻¹ PBS (pH 7.4) containing 5 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆],

revealed the peak current decreased with increased AFB1 concentrations from 0.3 pg mL⁻¹ to 30.0 pg mL⁻¹ (Fig. 4F). A regression equation was done and was found to be: Current (μA) = -1.1725 [AFB1, pg mL⁻¹] + 64.245, with 0.9984 of correlation coefficient (R²). The directly measured detection limit value (LOD = 3SD of blank/slope of calibration; the SD of blank measurements was calculated to be 3.59 × 10⁻³ pg mL⁻¹) and the quantitation limit value (LOQ; 10SD of blank/slope of calibration curve) for target AFB1 were 9 × 10⁻³ pg mL⁻¹ and 3.1 × 10⁻² pg mL⁻¹, respectively. The RSD range from 0.88 % to 4.10 % (n = 5) is indicative of reliable analytical performance for AFB1 concentrations of 0.3 pg mL⁻¹ to 30.0 pg mL⁻¹, ensuring confidence in the accuracy of the results. The results showed that the constructed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} can be used for quantitative analysis of AFB1. Furthermore, Table S2 shows a comparison of the proposed electrochemical aptasensor to several previous reports on AFB1 detection. The comparison clearly showed that the proposed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} outperformed the competition in terms of performance, detection limit, and low-cost fabrication.

3.4. Electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} selectivity

The selective electrochemical aptasensor based on AuPt-Ru nanoparticles supported by RGO-modified goldleaf electrode was examined in the presence of various substances, including individual and mixtures of AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, ZEN, and OTA. By detecting the interferences concentration of 3 ng mL⁻¹ (higher than 100 times), all of the nontarget substances were not detected (Fig. S13) compared to blank. In addition, the constructed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} was incubated with 30 pg mL⁻¹ of AFB1 containing all the above interfering substance mixtures. There were significant differences in the obtained current from only 30 pg mL⁻¹ AFB1, indicating that the proposed GLE_{AuPt-Ru/RGO} has outstanding selectivity.

3.4. Electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} selectivity

The selective electrochemical aptasensor based on AuPt-Ru nanoparticles supported by RGO-modified goldleaf electrode was examined in the presence of various substances, including individual and mixtures of AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, ZEN, and OTA. By detecting the interferences concentration of 3 ng mL⁻¹ (higher than 100 times), all of the nontarget substances were not detected (Fig. S13) compared to blank. In addition, the constructed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} was incubated with 30 pg mL⁻¹ of AFB1 containing all the above interfering substance mixtures. There were significant differences in the obtained current from only 30 pg mL⁻¹ AFB1, indicating that the proposed GLE_{AuPt-Ru/RGO} has outstanding selectivity.

3.5. Detection of AFB1 in real agricultural products

To evaluate the performance of the proposed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} for AFB1 detection, the standard addition method was used to detect different concentrations of AFB1 (3.0 pg mL⁻¹, 12.5 pg mL⁻¹, 25.0 pg mL⁻¹, 25.0 × 10³ pg mL⁻¹, and 50.0 × 10³ pg mL⁻¹) in agricultural products including dried red chili, garlic, peanuts, pepper, and Thai jasmine rice. The recovery (%) of three replicate determinations was calculated, and the results were shown in Table 1. The results showed that recoveries were found to range from 94.6–104.9 %, 96.8–105.1 %, 96.8–106.8 %, 95.3–105.1, and 99.3–107.9 % for dried red chili, garlic, peanuts, pepper, and Thai jasmine rice, respectively, indicating that the electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} is expected to be used for the detection of AFB1 in real agricultural products.

Comparing HPLC equipped with FL detector (HPLC-FLD) signal measurement results of AFB1 content in agricultural products (dried red chili, garlic, peanuts, pepper, and Thai jasmine rice), two different concentrations of AFB1, including 25.0 × 10³ pg mL⁻¹ and 50.0 × 10³ pg mL⁻¹, were selected for investigation. The HPLC-FID detection displayed recoveries from 94.0 % to 109.0 %. Since the HPLC-FID method cannot detect the AFB1 concentrations less than 25.0 pg mL⁻¹, the proposed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} showed a superior linear detection range, which demonstrated the great promise of the proposed electrochemical platform in AFB1 quantification. Furthermore, the comparison between the results obtained through the electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} and HPLC-FLD showed no significant differences based on the statistical paired t-test (t_{stat} = 1.0211 and t_{crit} = 2.2622) at a 95 % confidence level. These results corroborate the ultrasensitive AFB1 quantification of our developed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} and confirm their practicability.

Additionally, the recently published electrochemical sensor was selected for comparative analysis of AFB1. The in-lab-fabricated GLE decorated with AuPt-Ru/RGO was used for the first time as an

Table 1
Determination of AFB1 in agricultural products.

Real samples	Added (pg mL ⁻¹)	Electrochemical aptasensor GLE _{AuPt-Ru/RGO}			HPLC-FLD		
		Found (pg mL ⁻¹)		Recovery (%)	Found (pg mL ⁻¹)	Recovery (%)	
Dried red chili	0	0.38	± 0.61	—	ND ^a	—	
	3.00	3.35	± 1.16	99.13	ND	—	
	12.50	12.93	± 0.49	100.50	ND	—	
	25.00	24.03	± 1.37	94.63	ND	—	
	25.00 × 10 ³	24.96 × 10 ³	± 1.01	99.43	26.32 × 10 ³	± 0.93	105.28
	50.00 × 10 ³	52.44 × 10 ³	± 0.48	104.89	53.54 × 10 ³	± 0.52	107.07
Garlic	0	0.93	± 0.21	—	ND	—	
	3.00	4.02	± 0.69	102.52	ND	—	
	12.50	13.05	± 0.57	96.84	ND	—	
	25.00	25.54	± 0.30	98.41	ND	—	
	25.00 × 10 ³	26.27 × 10 ³	± 0.40	105.09	27.24 × 10 ³	± 0.22	108.97
	50.00 × 10 ³	50.23 × 10 ³	± 0.60	100.45	53.33 × 10 ³	± 0.13	106.65
Peanuts	0	2.34	± 0.78	—	ND	—	
	3.00	5.44	± 0.32	103.20	ND	—	
	12.50	14.44	± 0.95	96.76	ND	—	
	25.00	26.73	± 0.78	97.55	ND	—	
	25.00 × 10 ³	26.70 × 10 ³	± 0.70	106.79	23.49 × 10 ³	± 0.50	93.97
	50.00 × 10 ³	52.32 × 10 ³	± 1.34	104.64	52.76 × 10 ³	± 0.21	105.52
Pepper	0	1.78	± 0.38	—	ND	—	
	3.00	4.83	± 0.69	102.03	ND	—	
	12.50	13.68	± 0.41	95.28	ND	—	
	25.00	25.95	± 0.23	96.72	ND	—	
	25.00 × 10 ³	26.27 × 10 ³	± 1.00	105.09	26.56 × 10 ³	± 0.48	106.26
	50.00 × 10 ³	50.23 × 10 ³	± 1.21	100.45	50.30 × 10 ³	± 0.83	100.60
Thai jasmine rice	0	0.46	± 0.55	—	ND	—	
	3.00	3.56	± 0.21	103.40	ND	—	
	12.50	13.95	± 0.60	107.93	ND	—	
	25.00	25.29	± 0.24	99.31	ND	—	
	25.00 × 10 ³	25.71 × 10 ³	± 0.60	102.84	23.52 × 10 ³	± 0.45	94.07
	50.00 × 10 ³	49.71 × 10 ³	± 1.03	99.43	48.49 × 10 ³	± 0.85	97.39

^a ND: Not detected.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

electrochemical aptasensor for AFB1 detection. The proposed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} exhibited relatively lower LOD values for the electrochemical analysis of AFB1 than other electrochemical detection methods reported in the literature (Table S2).

The in-lab-fabricated GLE presents at \$0.15 per piece, which is less expensive than commercial working electrodes (Table S3). Therefore, the fabricated GLE seems suitable for use in portable and standard laboratories.

4. Conclusion

The in-lab-fabricated GLE modified with AuPt-Ru/RGO was successfully fabricated for an electrochemical aptasensor AFB1 detection. The AuPt-Ru/RGO was synthesized by a very facile ultrasonic-assisted chemical reduction method. The waxberry-like core-shell structure AuPt-Ru embedded on RGO was used as the sensor substrate for electrical signal amplification, and the aptamer with high specific recognition target AFB1 performance was used as the sensor probe. The fabricated electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} has remarkable detection efficiency towards AFB1 in the range of 0.3 pg mL⁻¹ to 30.0 pg mL⁻¹, LOD of 9×10^{-3} pg mL⁻¹, and recoveries ranging from 96.6 % to 107.2 %. The developed electrochemical aptasensor GLE_{AuPt-Ru/RGO} shows fantastic application prospects with low cost, simple design, and easy operation, which makes it a good candidate for developing disposable electrochemical electrodes for AFB1 detection in agricultural products.

The unique properties of AuPt-Ru/RGO deposited on in-lab-fabricated GLE, such as increased surface area, outstanding electrical performance, and high reactivity, are shown to enhance the efficacy for an electrochemical aptasensor AFB1 detection. However, these electrochemical aptasensors based on AuPt-Ru/RGO still have limitations, such as the complex chemisorption of aptamer molecules on the conductive surface, aptamer shelf life, or even the quality of the 24 k gold leaf sheet. Although many limitations must still be overcome, AuPt-Ru/RGO deposited on in-lab-fabricated GLE have great potential as probes for ultrasensitive electrochemical aptasensors of aflatoxin B1 quantification in agricultural products.

CRedit authorship contribution statement

Akrarath Khattiya: Investigation, Methodology, Data curation, Writing – original draft. **Ratchanok Karaket:** Investigation. **Arjnarong Mathaweesansurn:** Methodology, Data curation, Writing – review & editing. **Ekarat Detsri:** Supervision, Conceptualization, Methodology, Data curation, Writing – review & editing, Visualization, Funding acquisition.

Declaration of competing interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: Ekarat Detsri reports was provided by National Science, Research and Innovation Fund (NSRF). If there are other authors, they declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

Financial support from National Science, Research and Innovation Fund (NSRF), Grant number RE-KRIS/FF67/044. The authors express their appreciation to the School of Science, Scientific Instruments Center, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang for supporting the instruments.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.112631>.

Data availability

No data was used for the research described in the article.

References

- [1] B. Pérez-Fernández, A. de la Escosura-Muñiz, Electrochemical biosensors based on nanomaterials for aflatoxins detection: A review (2015–2021), *Anal. Chim. Acta.* **1212** (2022) 339658, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339658>.
- [2] A. Pozarska, K. Karpieski, W. Kozera, U. Czarnik, M. Dąbrowski, L. Zielonka, AFB1 Toxicity in Human Food and Animal Feed Consumption: A Review of Experimental Treatments and Preventive Measures, *Int. j. mol. sci.* **25** (2024) 5305, <https://doi.org/10.3390/ijms25105305>.
- [3] J. Liu, M. Yang, M. He, M. Xu, Y. Chen, F. Zhang, Rapid and selective detection of AFB1 by direct mass spectrometry using immunoaffinity paper substrate, *Microchem. J.* **196** (2024) 109439, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109439>.
- [4] G. Kaur, S. Sharma, N. Bhardwaj, M.K. Nayak, A. Deep, Highly sensitive and selective electrochemical detection of Aflatoxin B1 in water and Pistachio samples with MOF/MXene composite based sensor, *Food Control* **165** (2024) 110694, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110694>.
- [5] X. Lv, X. Xu, T. Miao, X. Zang, C. Geng, Y. Li, et al., A ratiometric electrochemiluminescent/electrochemical strategy based on novel designed BPYHBF nanorod and Fe-MOF with tungsten for ultrasensitive AFB1 detection, *Sens. Actuators b: Chem.* **352** (2022) 131026, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.131026>.
- [6] R. Cancelliere, A. Di Tinno, A. Cataldo, S. Bellucci, S. Kumbhat, L. Micheli, Nafion-based label-free immunosensor as a reliable warning system: The case of AFB1 detection in cattle feed, *Microchem. J.* **191** (2023) 108868, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.108868>.
- [7] B.D. Abera, A. Falco, P. Tiba, G. Cantarella, L. Petti, E. Lugli, Development of flexible dispense-printed electrochemical immunosensor for aflatoxin M1 detection in milk, *Sens.* **19** (2019) 3912, <https://doi.org/10.3390/s19183912>.
- [8] F. Rahimi, H. Roshanfekr, H. Peyman, Ultra-sensitive electrochemical aptasensor for label-free detection of Aflatoxin B1 in wheat flour sample using factorial design experiments, *Food Chem.* **343** (2021) 128436, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128436>.
- [9] M. Wu, Y. Ma, Y. Huang, X. Zhang, J. Dong, D. Sun, An ultrasensitive electrochemical aptasensor based on zeolitic imidazolate framework-67 loading gold nanoparticles and horseradish peroxidase for detection of aflatoxin B1, *Food Chem.* (2024) 140039, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140039>.
- [10] W. Li, Y. Shi, X. Zhang, X. Hu, X. Huang, N. Liang, et al., A DNA tetrahedral scaffold-based electrochemical biosensor for simultaneous detection of AFB1 and OTA, *Food Chem.* **442** (2024) 138312, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138312>.
- [11] M. Dardmehr, B. Korouzhdehi, M. Hosseini, Multimodal lab-on-a-tube detection of AFB1 based on fluorescence and nanozyme activity of DNA templated silver nanocluster: enhanced sensitivity through G-quadruplex formation, *Microchem. J.* **205** (2024) 111427, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111427>.
- [12] S.S. Suranshe, A. Patil, Strategically improving electrical conductivity of reduced graphene oxide through a series of reduction processes, *Mat. Lett.* **333** (2023) 133648, <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2022.133648>.
- [13] Y.L. Ye, LingXian, Z.G. Zhao, GuangYing, D.W. Dou, WenChao, An electrochemical immunosay for Escherichia coli O157:H7 using double functionalized Au@Pt/SiO2 nanocomposites and immune magnetic nanoparticles, *Talanta* **182** (2018) 354–362, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.095>.
- [14] M. Regiart, S.V. Pereira, V.G. Spatorno, F.A. Bertolino, J. Raba, Food safety control of zeranol through voltammetric immunosensing on Au-Pt bimetallic nanoparticle surfaces, *Anst.* **139** (2014) 4702–4709, <https://doi.org/10.1039/C4AN00686K>.
- [15] A. Rodríguez-Gómez, E. Lepre, L. Sánchez-Silva, N. López-Salas, A.R. de la Osa, PtRu nanoparticles supported on noble carbons for ethanol electrooxidation, *J. Energy Chem.* **66** (2022) 168–180, <https://doi.org/10.1016/j.jechem.2021.07.004>.
- [16] A. Abakumov, I. Bychko, O. Voitsihovska, R. Rudenko, P. Strizhak, Tuning the surface area of reduced graphene oxide by modulating graphene oxide concentration during hydrazine reduction, *Mater. Lett.* **354** (2024) 135417, <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2023.135417>.
- [17] X. Xiang, Z. Yang, J. Di, W. Zhang, R. Li, L. Kang, et al., In situ twisting for stabilizing and toughening conductive graphene yarns, *Nanoscale* **9** (2017) 11523–11529, <https://doi.org/10.1039/C7NR03305B>.
- [18] Y. Zeng, T. Li, Y. Yao, T. Li, L. Hu, A. Marconnet, Thermally conductive reduced graphene oxide thin films for extreme temperature sensors, *Adv. Funct. Mater.* **29** (2019) 1901388, <https://doi.org/10.1002/adfm.201901388>.
- [19] H. Aprida, S. Hidayat, N. Syakir, R. Siregar, Electrical and electrochemical properties of reduced graphene oxide film for secondary battery electrode, *J. phys. conf. ser. IOP Publishing* (2018) 012032, <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1080/1/012032>.

- [20] X. Qi, L. Lv, D. Wei, J.J. Lee, M. Niu, C. Cui, Z. Guo, Detection of aflatoxin B1 with a new label-free fluorescence aptasensor based on PVP-coated single-walled carbon nanohorns and SYBR Gold, *Anal. Bioanal. Chem.* 414 (2022) 3087–3094, <https://doi.org/10.1007/s00216-022-03938-3>.
- [21] L. Guo, S. Zhou, J. Xue, Z. Liu, S. Xu, Z. He, H. Yang, Signal-enhanced electrochemical sensor employing MWCNTs/CMK-3/AuNPs and Au@ Pd core-shell structure for sensitive determination of AFB1 in complex matrix, *Microchim. Acta.* 191 (2024) 1–13, <https://doi.org/10.1007/s00604-024-06665-x>.
- [22] M. Zamani, C.M. Klapperich, A.L. Furst, Recent advances in gold electrode fabrication for low-resource setting biosensing, *Lab. Chip.* 23 (2023) 1410–1419, <https://doi.org/10.1039/D2LC00552B>.
- [23] R. Karaket, E. Detsri, A. Khattiya, P. Monvisade, A. Mathaweensum, Facile construction of magnetic solid-phase extraction of polyaniline blend poly (amidoamine) dendrimers modified graphene oxide quantum dots for efficient adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water, *J. Chromatogr. A.* 1717 (2024) 464668, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2024.464668>.
- [24] A. Lupo, C. Roebuck, M. Dutcher, J. Kennedy, M. Abouzied, Validation study of a rapid ELISA for detection of aflatoxin in corn, *J. AOAC Int.* 93 (2010) 587–599, <https://doi.org/10.1093/jaoac/93.2.587>.
- [25] H.J. Yang, M.W. Kim, C.V. Raju, C.H. Cho, T.J. Park, J.P. Park, Highly sensitive and label-free electrochemical detection of C-reactive protein on a peptide receptor-gold nanoparticle-black phosphorous nanocomposite modified electrode, *Biosens. Bioelectron.* 234 (2023) 115382, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2023.115382>.
- [26] H.B. Lee, S.E. Son, C.H. Ha, G.H. Seong, Dual-mode colorimetric and photothermal aptasensor for detection of kanamycin using flocculent platinum nanoparticles, *Biosens. Bioelectron.* 249 (2024) 116007, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2024.116007>.
- [27] A. Biswas, S. Paul, A. Banerjee, Carbon nanodots, Ru nanodots and hybrid nanodots: preparation and catalytic properties, *J. Mater. Chem. A.* 3 (2015) 15074–15081, <https://doi.org/10.1039/C5TA03355A>.
- [28] S. Moniri, M. Reza Hantehzadeh, M. Ghoranneviss, M. Asadi Asadabad, Au-Pt alloy nanoparticles obtained by nanosecond laser irradiation of gold and platinum bulk targets in an ethylene glycol solution, *Eur. Phys. J. plus.* 132 (2017) 1–16, <https://doi.org/10.1140/epjp/i2017-11582-9>.
- [29] C. Jeyabharathi, P. Ahrens, U. Hasse, F. Scholz, Identification of low-index crystal planes of polycrystalline gold on the basis of electrochemical oxide layer formation, *J. Solid. State. Electr.* 20 (2016) 3025–3031, <https://doi.org/10.1007/s10008-016-3228-1>.
- [30] I. Podunavac, M. Kukkar, V. Léguillier, F. Rizzotto, Z. Pavlovic, L. Janjusevic, et al., Low-cost goldleaf electrode as a platform for *Escherichia coli* immunodetection, *Talanta* 259 (2023) 124557, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.124557>.
- [31] M.S.F. Santos, W.A. Ameku, I.G.R. Gutz, T.R.L.C. Paixao, Gold leaf: From gilding to the fabrication of disposable, wearable and low-cost electrodes, *Talanta* 179 (2018) 507–511, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.11.021>.
- [32] A.M. Hassamein, Y.I. Moharram, M.E. Sadek, A.A. Khamis, S.E. Ebied, Voltammetric quantitative analysis of vildagliptin in bulk form and spiked human serum at a modified electrode, *J. Iran. Chem. Soc.* 20 (2023) 1503–1522, <https://doi.org/10.1007/s13738-023-02779-z>.
- [33] A.R. Bredar, A.L. Chown, A.R. Burton, B.H. Farnum, Electrochemical impedance spectroscopy of metal oxide electrodes for energy applications, *ACS Appl. Energy Mater.* 3 (2020) 66–98, <https://doi.org/10.1021/acsami.9b01965>.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายอัครรัฐ ชัดติยะ
วัน เดือน ปีเกิด	23 กรกฎาคม พ.ศ. 2541
ที่อยู่	12/389 หมู่ 15 ต.บางแก้ว อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ 10540
ประวัติการศึกษา	(2563) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม ภาควิชาเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (2567) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีประยุกต์ ภาควิชาเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

งานวิจัยระดับนานาชาติ

1. Karaket, R., Detsri, E., Khattiya, A., Monvisade, P., Mathaweesansurn, A., Facile construction of magnetic solid-phase extraction of polyaniline blend poly(amidoamine) dendrimers modified graphene oxide quantum dots for efficient adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water, *Journal of Chromatography A*, 2024, 1717, 464668.
2. Karaket, R., Khattiya, A., Lerdpiyaskulkij, N., Mathaweesansurn, A., Detsri, E., Covalent organic frameworks blended cellulose nanocrystal for in-needle syringe solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in dark roasted coffee, *Microchemical Journal*, 2024, 206, 111566.
3. Khattiya, A., Karaket, R., Mathaweesansurn, A., Detsri, E., Ultrasensitive electrochemical aptasensors based on trimetallic AuPt-Ru nanoparticles decorated RGO with disposable and low-cost goldleaf electrode for aflatoxin B1 quantification in agricultural products *Microchemical Journal*, 2025, 208, 112631.

รางวัลทางวิชาการ

1. Bronze Oral presentation awards: Khattiya, A., Karaket, R., Mathaweesansurn, A., Detsri, E., Electrochemical sensor for aflatoxin B1 determination in agricultural products based on reduced graphene oxide decorated trimetallic-AuPtRu-nanoparticles-modified gold

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

leaf electrode, International Conference on Integrated Science Bioscience and Bioinnovation for Sustainability and Forensic Science 2024 (BBFS2024), Khon Kaen University, 2024.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้