

เซนเซอร์ตรวจวัดไอออนชนิดทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้า
สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลง

ION SENSITIVE FIELD EFFECT TRANSISTOR
FOR PESTICIDE DETECTION



วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษิตตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2560

KMITL-2017-NT-M-001-007

เซนเซอร์ตรวจวัดไอออนชนิดทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้า
สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลง

ION SENSITIVE FIELD EFFECT TRANSISTOR
FOR PESTICIDE DETECTION



วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง รั้งที่มีการนำไปใช้

พ.ศ. 2560

KMITL-2017-NT-M-001-007

ION SENSITIVE FIELD EFFECT TRANSISTOR
FOR PESTICIDE DETECTION



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER SCIENCE IN NANOSCIENCE AND NANOTECHNOLOGY
COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG อนุญาตให้นำไปใช้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และตั้งปี 2017 เป็นต้นไป

KMITL-2017-NT-M-001-007



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

COPYRIGHT 2017

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์

เซนเซอร์ตรวจวัดไอออนชนิดทรานซิสเตอร์

สนามไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลง

นักศึกษา

นาย ศุภณัฐ ศศิพงศ์พนา

รหัสประจำตัว

58607019

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา

นาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี

พ.ศ.

2560

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ดร. นงลักษณ์ หวงกำแหง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการพัฒนาเซนเซอร์ไอส์เฟตสำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลง การตรวจวัดขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงของไอออนไฮโดรเจนในสารละลาย ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริล เซนเซอร์ไอส์เฟตทำการตรวจวัดไอออนไฮโดรเจนในสารละลาย โดยเปลี่ยนให้เป็นค่าสัญญาณความต่างศักย์ที่ตกคร่อมขั้วเกตและซอส โดยการออกันของไอออนไฮโดรเจนเหนี่ยวนำให้เกิดการไหลของอิเล็กตรอนจากขั้วเดรนไปซอสที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นซิลิกอนและสารละลาย เซนเซอร์ไอส์เฟตสำหรับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลทำได้โดยการหดยดเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสลงบนพื้นผิวไอส์เฟตที่เคลือบด้วยเจลอากาศาโรส ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจวัดสัญญาณของยาฆ่าแมลง ได้แก่ ความเข้มข้นของเจลอากาศาโรส ความเข้มข้นของเอนไซม์ ความเข้มข้นของซัสเตรท และค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายบัฟเฟอร์ พบว่าการใช้เจลอากาศาโรสที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.1 ยูนิต ความเข้มข้นซัสเตรท 5 มิลลิโมลาร์ และสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 7 ให้ค่าสัญญาณการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่มีความไวสูงที่สุดซึ่งมีค่า 44.64 mV/decade ช่วงความเข้มข้นในการตรวจวัดอยู่ที่ 5×10^{-7} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์ ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (LOD) เท่ากับ 1×10^{-7} โมลาร์ และทำการตรวจสอบลักษณะพื้นผิวของเจลอากาศาโรสด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม จากนั้นทำการพัฒนาในส่วนของการต่อขยายขาเกตของเซนเซอร์ไอส์เฟต เพื่อใช้เป็นขั้วทำงานที่สามารถใช้แล้วทิ้ง พกพาได้ และมีราคาถูกลง โดยการเคลือบเอนไซม์ลงบนกระจกนำไฟฟ้าไอทีโอ (ITO) ซึ่งเป็นส่วนต่อขยายขาเกตพร้อมกับการทดสอบสภาวะต่าง ๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัดสัญญาณของยาฆ่าแมลง ซึ่ง จากผลการทดสอบเบื้องต้นพบว่าสามารถตรวจวัดคาร์บาริลได้ที่ช่วงความเข้มข้น 1×10^{-6} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์ ดังนั้นจากงานวิจัยนี้การใช้งานอุปกรณ์ไอส์เฟตและแบบส่วนต่อขยายขาเกต สามารถใช้งานได้ดีต่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลง ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดแบบพกพาได้

คำสำคัญ : ไอส์เฟต, ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้า, เฟต, อีจีเฟต, คาร์บาริล, ไบโอสเซนเซอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Ion Sensitive Field Effect Transistor for Pesticide Detection
Student	Mr. Supanat Sasipongpana
Student ID	58607019
Degree	Master of Science
Program	Nanoscience and Nanotechnology
Year	2017
Thesis Advisor	Dr. Nongluck Houngkamhang

ABSTRACT

In this research, the development of ion sensitive field effect transistor (ISFET) for pesticide detection was carried out. The detection is based on the change of hydrogen ions in the solution which is a product of inhibition of acetylcholinesterase enzyme by the carbaryl pesticide. This hydrogen ion is converted to V_{gs} signal by ISFET where the accumulation of hydrogen ions induces the electron flow from drain to source at the interface of silicon substrate and solution. The ISFET sensor was prepared by dropping the acetylcholinesterase on the agarose gel which was coated on the sensor surface. This work studied conditions that affect the detection of pesticide including concentration of agarose gel, concentration of enzyme, concentration of substrate, and pH of buffer solution. Results showed that using 2% w/v of agarose gel, 0.1 unit of enzyme, 5 mM of substrate at buffer pH 7 provided the highest sensitivity for carbaryl detection at 44.64 mV/decade with linear detection range between 5×10^{-7} to 1×10^{-5} M and limit of detection (LOD) at 1×10^{-7} M. The surface morphology agarose gel was examined by using AFM technique. Moreover, the development of extended gate field effect transistor (EGFET) was demonstrated for the disposable and portable sensor with a lower price. The EGFET sensor was prepared by coating enzyme on the indium tin oxide (ITO) glass substrate and tested for the various conditions that affected to the detection signal of pesticide. The result found that EGFET could detect carbaryl in the range of 1×10^{-6} to 1×10^{-5} M. From this research, both of ISFET and EGFET sensors can be used to detect pesticide with good responses and have potential to be developed as a portable device.

Keywords : : ISFET, Ion sensitive field effect transistor, FET, Extended gate, Carbaryl, Biosensors

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความกรุณาจาก ดร.นงลักษณ์ หวงกำแหง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นผู้ที่ยกย่องให้คำปรึกษาคำแนะนำ ประสทธิประสาทวิชาการศึกษาความรู้ ทั้งทางด้านทฤษฎีและการปฏิบัติ และคอยชี้แนวทางให้งานวิจัยดำเนินหน้าด้วยความราบรื่น เป็นไปด้วยดี ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่อยู่เคียงข้างศิษย์คนนี้เสมอมา

ขอขอบพระคุณ ดร.สิริพัฒน์ ประโตนเทพ ที่คอยแนะนำและสั่งสอน ประสบการณ์ที่ดี การทำงานวิจัยโดยเริ่มต้น แนะนำและแก้ไขปัญหาต่างๆ ทำให้งานต่างๆสำเร็จและลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณโครงการเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลงในพืชผัก โดยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ดาริณี พรหมโยธิน รศ.ดร.สิริรุ่ง ปริชานนท์ ดร.ชญชญา ธนชยานนท์ และอาจารย์ทุกท่านที่เกี่ยวข้อง ที่คอยให้การดูแลติชม และแนะนำการพัฒนางานวิจัยส่วนต่างๆ จนทำให้งานบรรลุวัตถุประสงค์

ขอขอบพระคุณ คุณธนชาติ ชุ่มดี ที่สนับสนุนการตั้งกำลังกาย กำลังใจ ในการส่งเสริมให้งานวิจัยนี้ได้ดำเนินไปอย่างไม่มีติดขัด

ขอขอบพระคุณ เพื่อนๆ น้องๆ นักศึกษาวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง ที่คอยอยู่ร่วมทุกข์ร่วมสุข แบ่งปันประสบการณ์ที่ดีๆ ของการทำงานวิจัย โดยเฉพาะ ดร.ยศวัต รายละเอียดสุข ที่ถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ดีๆ สู่รุ่นน้องคนนี้

สุดท้ายนี้ต้องขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติพี่น้อง ที่คอยให้การสนับสนุนทั้งทุนทรัพย์ อุปกรณ์การศึกษา กำลังใจที่ดี จนทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จต่อการศึกษาและงานวิจัยในครั้งนี้ และคุณประโยชน์ของวิทยานิพนธ์นี้ ขออุทิศแด่ครูบาอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ศุภณัฐ ศศิพงศ์พนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ii
กิตติกรรมประกาศ.....	iii
สารบัญ.....	iv
สารบัญรูป.....	viii
สารบัญตาราง.....	xii
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 สมมติฐานงานวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....	4
1.6 รายละเอียดของงานวิจัย.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการทํางาน.....	6
2.1 ยาฆ่าแมลง.....	6
2.1.1 กลุ่มยาฆ่าแมลง.....	8
2.1.2 ชนิดยาฆ่าแมลงที่ใช้ในการศึกษา	9
2.2 เอนไซม์.....	11
2.2.1 หลักการทํางานของเอนไซม์ (Enzyme Mechanism).....	11
2.2.2 เอนไซม์แอกทิวิตี้ (Enzyme Activity).....	13
2.2.3 เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase; AChE)	13
2.3 เซนเซอร์และไบโอเซนเซอร์ (Sensor and Biosensor)	18
2.3.1 หลักการทํางานของไบโอเซนเซอร์.....	19
2.4 ชุดตรวจวัดยาฆ่าแมลง (Pesticide Sensor).....	20
2.4.1 ชุดทดสอบยาฆ่าแมลง โดยองค์การเภสัชกรรม.....	20
2.4.2 การทดสอบยาฆ่าแมลงด้วยเทคนิคการวิเคราะห์สี (Color Test).....	21
2.4.3 การทดสอบยาฆ่าแมลงด้วยเทคนิคการวิเคราะห์แผ่นโครมาโตกราฟี (Thin Layer Chromatography Test).....	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.5 อุปกรณ์ไอส์เฟต (Ion Sensitive Field Effect Transistor, ISFET).....	25
2.5.1 หลักการตอบสนองของไอส์เฟตต่อค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายใน ระบบ.....	26
2.5.2 ทรานซิสเตอร์แบบมอส.....	29
2.5.3 อุปกรณ์ ไอส์เฟต (Ion Sensitive Field Effect Transistor).....	35
2.6 หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต (Extended – Gate Field Effect Transistor; EGFET).....	39
2.6.1 หลักการทำงานของส่วนต่อขยายขาเกต.....	39
2.7 เทคนิคการตรวจวัดพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Atomic Force Microscope).....	41
2.7.1 โหมดการใช้งานกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม ที่สำคัญ.....	42
2.8 การทบทวนวรรณกรรม (Literature Review).....	43
2.8.1 เซนเซอร์ที่มีการใช้งานเอนไซม์ (Enzymatic system) : เทคนิคการยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibition assay).....	44
2.8.2 เซนเซอร์เซออร์ที่ไม่มีการใช้งานเอนไซม์ (Non-Enzymatic system) : เซนเซอร์แบบแม่พิมพ์โมเลกุล (Molecular Imprinted Polymer).....	48
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	50
3.1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์.....	51
3.2 การเตรียมสารละลายเอนไซม์.....	51
3.3 การเตรียมสารละลายซัสเตรท.....	52
3.4 การเตรียมสารละลายยาฆ่าแมลง.....	52
3.5 การเตรียมสารละลายน้ำผัก.....	52
3.6 การเตรียมและการทดลองการประยุกต์ใช้งานไอส์เฟต (ISFET).....	53
3.6.1 ไอส์เฟต.....	53
3.6.2 การทดสอบคุณสมบัติของอุปกรณ์ ด้วยการทดสอบการตอบสนองของค่า พีเอชในสารละลาย.....	54
3.6.3 การเตรียมพื้นผิวเซ็นเซอร์ไอส์เฟตด้วยเจลอากาโรสและเอนไซม์.....	55
3.6.4 การตรวจวัดสารละลายซัสเตรทความเข้มข้นต่าง ๆ.....	56
3.6.5 การเตรียมและตรวจหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเจลอากาโรสต่อการกัก เอนไซม์.....	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.6.6 การเตรียมสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ สำหรับการทดสอบความเหมาะสมของค่าพีเอชต่อการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์และซัสเตรท.....	58
3.6.7 การทดสอบการวัดค่าสัญญาณซ้ำของอุปกรณ์ฮีสเพด (Repeatability).....	59
3.6.8 การทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์.....	59
3.6.9 การทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงที่เจือในสารละลายน้ำผัก.....	60
3.6.10 การทดสอบการเก็บรักษาเซนเซอร์.....	60
3.7 การเตรียมและการทดลอง การประยุกต์ใช้งานส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET).....	61
3.7.1 การเตรียมกระจกนำไฟฟ้า (ITO) เพื่อเป็นส่วนต่อขยายขาเกต.....	61
3.7.2 การหาขนาดที่เหมาะสมของกระจกไอทีโอ และปริมาตรของเจลอากาศโรส.....	63
3.7.3 ตรวจสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของเจลอากาศโรสต่อการกักเก็บเอนไซม์....	63
3.7.4 การหาปริมาณเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสที่เหมาะสมที่กักอยู่ในเจลบนพื้นผิวของเซนเซอร์.....	63
3.7.5 การทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลง.....	63
3.8 การทำเส้นมาตรฐาน.....	64
3.9 การวิเคราะห์ข้อมูลค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์.....	64
3.10 การทดสอบวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของเจลอากาศโรสด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Atomic Force Microscope, AFM).....	66
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	67
4.1 ลักษณะสัญญาณการตอบสนองของอุปกรณ์ฮีสเพด ต่อสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่พีเอชต่าง ๆ.....	67
4.2 ทดสอบการ Drift ของสัญญาณฮีสเพด.....	69
4.3 ผลของความเข้มข้นของสารละลายซัสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ (Acetylthiocholine Chloride, AChCl) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสัญญาณ.....	70
4.4 ผลของความเข้มข้นเจลอากาศโรสที่ใช้กักเก็บเอนไซม์.....	73
4.5 ผลการทดสอบค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการใช้งานในระบบ.....	76
4.6 ผลการทดลองการวัดค่าสัญญาณซ้ำ (Repeatability) ของเซนเซอร์ฮีสเพด.....	77
4.7 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ละลายในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ด้วยกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์.....	78
4.8 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ละลายในน้ำผัก ด้วยกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์.....	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารของมหาวิทยาลัยสุโขทัยวิทยาเขตพิษณุโลก ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการพิมพ์หรือการเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัยสุโขทัยวิทยาเขตพิษณุโลก

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.9 ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์ โดยการตรวจวัดกับยาฆ่าแมลงใน กลุ่มต่าง ๆ	84
4.10 การเก็บรักษาเซนเซอร์เพื่อการใช้งานตามระยะเวลาต่างๆ โดยเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ไม่มีสารคงสภาพ) และ 25 องศาเซลเซียส (มีสารคงสภาพ).....	86
4.11 ผลการทดลองการประยุกต์ใช้งานเซนเซอร์แบบส่วนต่อขยายขาเกต (Extended- Gate Field Effect Transistor, EGFET).....	88
4.11.1 ลักษณะสัญญาณการตอบสนองของอุปกรณ์อีจีเฟต ต่อสารละลายพีบีเอส บัฟเฟอร์ที่พีเอชต่างๆ.....	89
4.11.2 ผลการทดสอบการหาขนาดของส่วนตอบสนองที่เหมาะสมของกระจกนำ ไฟฟ้าไอทีโอ (ITO).....	91
4.11.3 ผลของความเข้มข้นเจลอากาศโรสที่ใช้กักเก็บเอนไซม์.....	93
4.11.4 ผลของปริมาณเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสที่ใช้จริงในเจลอากาศโรส บนพื้นผิวเซนเซอร์.....	94
4.11.5 ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงในกลุ่มต่าง ๆ.....	96
4.12 ผลการวิเคราะห์พื้นผิวเจลอากาศโรสด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Atomic Force Microscope, AFM).....	97
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	100
เอกสารอ้างอิง.....	102
ประวัติผู้เขียน.....	108

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แผนภาพแสดงโครงสร้างอีสเฟตและส่วนพื้นที่ตอบสนอง.....	2
1.2 แสดงการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ และคู่ซัพสเตรท.....	3
2.1 ยาฆ่าแมลงคาร์บาริล.....	10
2.2 ภาพแสดงการทำงานของเอนไซม์.....	12
2.3 แสดงการใช้พลังงานของตัวเร่งปฏิกิริยา.....	12
2.4 รูป 3 มิติแสดงโครงสร้างของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส และส่วนของแอคทีฟไซต์.....	15
2.5 แผนภาพแสดงการทำปฏิกิริยาและผลิตภัณฑ์ระหว่างเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับ สารละลายซัพสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ ในตำแหน่งแอคทีฟไซต์.....	15
2.6 กลไกแสดงการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับคู่สารซัพสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์.....	15
2.7 ลักษณะองค์ประกอบของยาฆ่าแมลง (a) กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และ (b) คาร์บาเมต.....	16
2.8 แผนภาพเอนไซม์ที่ถูกกลุ่มยาฆ่าแมลงเข้าจับที่ตำแหน่งของแอคทีฟไซต์ (a) โดยกลุ่มยาฆ่าแมลงออร์กาโนฟอสเฟต (b) และกลุ่มคาร์บาเมต.....	17
2.9 แสดงองค์ประกอบของไปโอเซนเซอร์.....	19
2.10 แสดงตัวอย่างชุดทดสอบยาฆ่าแมลงที่รับรองโดยองค์การเภสัชกรรม.....	20
2.11 แผนภาพแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับแนพธิลอะซีเตตและฟาสบูลูปีซอลท์.....	21
2.12 แสดงการทดสอบแผ่น TLC กับ ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต.....	23
2.13 แสดงการทดสอบแผ่น TLC กับ ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและไพเรทรอยด์.....	23
2.14 แผนภาพแสดงโครงสร้างของอุปกรณ์ a) MOSFET b) ISFET c) โครงสร้างทางไฟฟ้าของอุปกรณ์ MOSFET และ ISFET.....	26
2.15 โครงสร้าง MIS พื้นฐาน.....	27
2.16 โครงสร้าง EIS พื้นฐาน.....	28
2.17 สมดุลระหว่างผิวที่เป็นได้ทั้งกรดและด่างของ Si-OH.....	29
2.18 a) ลักษณะโครงสร้าง และ b) สัญลักษณ์ของมอสทรานซิสเตอร์ชนิดเอ็นแชนแนลแบบเอ็นฮานซ์-เมนต์.....	31
2.19 คุณสมบัติ $I_{DS} - V_{DS}$ ที่แรงดัน V_{GS} คงที่ต่าง ๆ ของมอสเฟตชนิดเอ็นแชนแนล.....	32
2.20 คุณสมบัติ $I_{DS} - V_{DS}$ ในขณะที่อยู่ในย่านไม่อิ่มตัวของมอสเฟตชนิดเอ็นแชนแนล.....	32
2.21 แผนภาพโครงสร้างของอุปกรณ์อีสเฟต.....	35
2.22 ลักษณะแถบพลังงานของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ฉนวน และสารกึ่งตัวนำ.....	37
2.23 คุณสมบัติ $I_{DS} - V_{DS}$ ที่แรงดัน V_{GS} คงที่ค่าต่าง ๆ.....	38

เอกสารนี้ที่
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.24 คุณสมบัติ $I_{DS} - V_{GS}$ ในสารละลายตัวอย่างค่า pH 4, 7 และ 10 ที่ V_{DS} มีค่าคงที่.....	38
2.25 ภาพแสดงลักษณะของโครงสร้างของส่วนต่อขยายขาเกต อีจีเฟต (EGFET).....	41
2.26 แสดงองค์ประกอบหลักของเครื่องมือ Scanning Probe Microscope ในแบบ AFM	42
2.27 การตรึงเอนไซม์ลงบนอุปกรณ์เซนเซอร์ทั่วไป A.การตรึงติดด้วยการดูดซับทางกายภาพ B.การติดลงในวัสดุยึดหยุ่น C.การยึดติดเอนไซม์ด้วยแรง และพันธะโควาเลนต์.....	47
2.28 ภาพตัวอย่างแสดงการสร้างแม่พิมพ์โพลิเมอร์ แบบ Covalent binding และ แบบ Non-covalent/Self-assembly.....	49
3.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนและรายละเอียดการดำเนินงานวิจัยหลัก.....	50
3.2 แสดงสัดส่วนการเตรียมสารละลายยาฆ่าแมลง.....	52
3.3 แผนภาพแสดงวงจรขับเคลื่อนของอุปกรณ์อีจีเฟต.....	54
3.4 แผนภาพแสดงการเตรียมเซนเซอร์ ด้วยการประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์อีจีเฟต.....	56
3.5 แสดงขั้นตอนการทดสอบสารละลายซีปสเตอร์ท.....	57
3.6 แผนภาพแสดงขั้นตอนการตรวจวัดยาฆ่าแมลง.....	60
3.7 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมกระจกนำไฟฟ้า.....	62
3.8 ภาพชิ้นงานของกระจกนำไฟฟ้า ITO ที่ใช้ในการทดลอง (a) และแผนภาพแสดงส่วนประกอบของอุปกรณ์อีจีเฟต (b).....	62
3.9 แผนภาพแสดงตำแหน่งของสัญญาณ ที่ใช้ในการคิดคำนวณค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์.....	65
4.1 สัญญาณการตอบสนองอีจีเฟตต่อสารละลายพีอีเอสบัพเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ โดย (a) กราฟแสดงค่าสัญญาณไฟฟ้า (V_{gs}) เทียบกับเวลา และ (b) ค่าสัญญาณไฟฟ้าของสารละลายที่มีค่าพีเอชต่าง ๆ.....	68
4.2 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของอีจีเฟตในสารละลายพีอีเอสบัพเฟอร์พีเอช 7 เป็นเวลา 8 ชั่วโมง.....	70
4.3 กราฟการเปลี่ยนแปลงสัญญาณเทียบกับเวลา ของสารละลายซีปสเตอร์ท AChCl ที่ความเข้มข้น 0.001 และ 0.005 โมลาร์.....	71
4.4 แผนภูมิแท่งแสดงค่าตอบสนองของสัญญาณ เมื่อเตรียมเซนเซอร์ด้วยความเข้มข้นต่างๆของเจลอากาศโรส ตั้งแต่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ร้อยละน้ำหนักโดยปริมาตร (%w/v)	71
4.4 แสดงกราฟมาตรฐานของสัญญาณไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงของสารละลายซีปสเตอร์ท AChCl ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเซนเซอร์อีจีเฟต.....	73
4.5 แผนภูมิแท่งแสดงค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลง เมื่อเตรียมเซนเซอร์ด้วยความเข้มข้นต่าง ๆ ของเจลอากาศโรส ตั้งแต่ 0.5 1 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v) ที่เอนไซม์ความเข้มข้น 0.5 ยูนิต และตรวจวัดซีปสเตอร์ทความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์.....	75

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.6 แผนภูมิแท่งแสดงค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงจากการวัดสารละลายซัสเตรททีละลายใน บัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ ด้วยไอสเฟตเปล่า (bare ISFET) และไอสเฟตที่เคลือบเอนไซม์ (En-ISFET) และ ค่าความต่างของสัญญาณที่ได้จาก En-ISFET และ bare ISFET ที่บัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ (จุดสีน้ำเงิน).....	76
4.7 กราฟแสดงค่าสัญญาณการวัดซ้ำ (repeatability) ของซัสเตรท AChCl ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ จากไอสเฟตจำนวน 3 ชิ้นงาน.....	78
4.8 กราฟแสดงค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของสารละลายซัสเตรทเทียบกับสัญญาณบัฟเฟอร์ เมื่อเซนเซอร์ถูกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 1×10^{-9} ถึง 1×10^{-2} โมลาร์	79
4.9 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ที่ช่วงความเข้มข้น 5×10^{-7} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์.....	80
4.10 แผนภูมิแท่งแสดงผลการทดสอบการรบกวนของน้ำผักที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเซนเซอร์ไอสเฟตที่มีเอนไซม์ 0.1 ยูนิต.....	82
4.11 แสดงค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริลความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ ละลายในสารละลายน้ำผัก.....	82
4.12 กราฟแสดงค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยคาร์บาริลความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ละลายใน สารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ (เส้นสีดำ) และน้ำผัก (เส้นสีแดง).....	83
4.13 กราฟแสดงค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาฆ่าแมลงคาร์บา ริล เมทโรนิล เมธิลพาราไทออน และอิมิดาโคลพริด	85
4.14 กราฟแสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของเซนเซอร์ไอสเฟตต่อการตรวจวัดสารละลาย ซัสเตรท โดยใช้ไอสเฟตที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ไม่มีสารคงสภาพ (เส้นสีดำ) ไอสเฟตที่ เก็บในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ไม่มีสารคงสภาพ (เส้นสีน้ำเงิน) และ ไอสเฟตที่เก็บในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีสารคงสภาพ เก็บตามระยะเวลาต่าง ๆ ก่อนนำมาทดสอบ.....	87
4.15 กราฟเส้นแสดงค่าสัญญาณการตอบสนองตามเวลาของไอจีเฟตในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ พีเอชต่าง ๆ.....	89
4.16 แผนภูมิแท่งแสดงค่าความไวต่อการตอบสนองสัญญาณค่าพีเอช จากอุปกรณ์ส่วนต่อขยาย ขาเกต (EGFET) ด้วยพื้นที่ส่วนตอบสนองขนาด 3x3 และ 5x5 ตารางมิลลิเมตร บนพื้นผิวมีเจล อากาโรสในปริมาตร 2 3 และ 5 ไมโครลิตร.....	91
4.17 แผนภูมิแท่งแสดงค่าความไวต่อการตอบสนองสัญญาณค่าพีเอช จากอุปกรณ์ส่วนต่อขยาย ขาเกต (EGFET) ด้วยพื้นที่ส่วนตอบสนองขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร บนพื้นผิวมี เจลอากาโรสใน ปริมาตร 2 3 และ 5 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้นเจลอากาโรส 0.5, 1.0, และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักต่อปริมาตร.....	93

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ห้ามทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.18 แผนภูมิแห่งแสดงค่าสัญญาณการตอบสนองต่อสารละลายซึบสเตรท 5 มิลลิโมลาร์ ของการใช้ งานส่วนต่อขยายขาเกต ที่มีเอนไซม์ 0.5 ยูนิต ในเจลอากาศโรสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	94
4.19 แผนภูมิแห่งแสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารละลายซึบสเตรท 5 มิลลิโมลาร์ ของการ ใช้งานส่วนต่อขยายขาเกต โดยใช้เอนไซม์ที่ปริมาณ 0.01 0.25 0.5 และ 0.75 ยูนิต.....	95
4.20 กราฟแสดงค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาฆ่าแมลง คาร์บาริล เมธิลพาราไทออน และ อิมิดาโคลพริด.....	96
4.21 รูปภาพ 3 มิติ จากเทคนิคการถ่ายภาพแรงอะตอม (AFM) ของพื้นผิวเจลอากาศโรส ที่ความ เข้มข้น (a) 1.0 (b) 1.5 และ (c) 2.0 เเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร.....	98



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตารางแสดงค่ามาตรฐาน MRLs ของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่พบในผลิตภัณฑ์การเกษตรต่าง ๆ...	7
2.2 ร้อยละของการจัดยาฆ่าแมลงตกค้างในผัก จำแนกตามชนิดผักและวิธีการล้าง.....	8
2.3 ตารางแสดงรายการชุดทดสอบยาฆ่าแมลงที่มีการใช้งานจำหน่ายในประเทศไทย.....	24
2.4 ตารางแสดง ลักษณะเซนเซอร์ที่ใช้เอนไซม์กลุ่มโคลินเอสเทอร์เรสสำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลง...	46
3.1 ส่วนผสมของสารต่างๆ ในการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์พีอีเอส.....	51
3.2 ตารางแสดงการใช้งานสารละลายเอนไซม์ ในอุปกรณ์เซนเซอร์.....	51
3.3 ตารางการเตรียมเจลอากาโรสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	58
4.1 แสดงค่าความว่องไวของอุปกรณ์ออสเฟต ของตัวอย่างแต่ละชิ้นงาน.....	69
4.2 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของสัญญาณการตอบสนอง ค่า SD และ %RSD ของออสเฟต แต่ละชิ้นงาน (โดยคิดจากค่าสัญญาณการวัดซ้ำ 20 รอบ).....	78
4.3 ตารางแสดงสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นคาร์บาริล (หน่วย log M) และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (%Inhibition) ค่าความว่องไว และค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ จากการตรวจวัดด้วยเซนเซอร์ออสเฟต.....	84
4.4 ตารางแสดงช่วงความเข้มข้นและค่าความเข้มข้นต่ำสุด (LOD) ของยาฆ่าแมลงที่ตรวจวัดได้ และค่าความว่องไวของเซนเซอร์ออสเฟต.....	86
4.5 ตารางแสดงค่าความขรุขระของพื้นผิวของเจลอากาโรสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

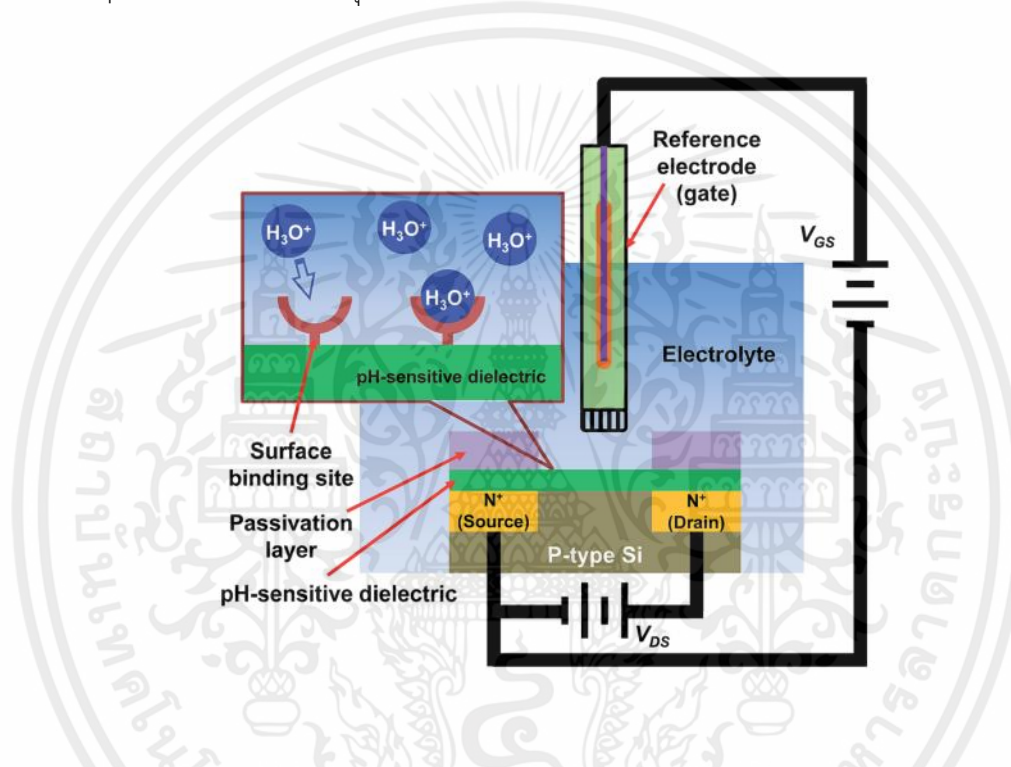
ยาฆ่าแมลง เป็นสารประกอบสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อกำจัดแมลง ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต ไม่ว่าจะเป็นตระกูลแมลง ตัวง ด้ว ฝี่ ีเสื้อ ปลวก มด แมลงสาบ ที่สามารถพบได้ตามอาคาร บ้านเรือน รวมถึงสัตว์น้ำ จำพวกปลา และสัตว์อื่น รวมถึงมนุษย์ ยาฆ่าแมลงนั้นแม้ว่าจะสามารถสลายไปตามกาลเวลา ตามกระบวนการเคมี ถึงอย่างนั้นแล้วมันก็ยังคงสะสมและเข้าไปทำลายระบบต่างๆ ของร่างกายให้ทำงานผิดปกติ ตั้งแต่ระบบทางเดินหายใจที่ขัดข้อง การอักเสบของผิวหนัง การมองเห็นที่เสื่อมสภาพ ตลอดจนท้ายที่สุดอาจถึงแก่ชีวิต

ยาฆ่าแมลง มีการใช้งานที่เพิ่มมากขึ้นในเชิงอุตสาหกรรมการเกษตร เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร เพิ่มปริมาณอาหารให้กับประชากรในขณะที่พื้นที่การเกษตรน้อยลงและความต้องการของประชากรมีมากขึ้น จึงทำให้เกิดงานวิจัยต่างๆ สำหรับการตรวจวัด ทดสอบคุณภาพของพืชผลทางการเกษตร และเพื่อควบคุมให้มีสารพิษ หรือยาฆ่าแมลงให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค นักวิจัยจึงได้พัฒนาเซนเซอร์ เพื่อตรวจวัดยาฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่อง เพื่อใช้ในภาคอุตสาหกรรมรวมทั้งการใช้ในครัวเรือน

ปัจจุบันมีวิธีการสำหรับทดสอบและวัดปริมาณยาฆ่าแมลงหลากหลายวิธี ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการใช้กระบวนการเอนไซม์ร่วมทำปฏิกิริยากับคู่ซัสเตรทเพื่อตรวจวัด ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและกลุ่มคาร์บาเมต โดยใช้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ซัสเตรท ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างหรือค่า พีเอช (pH) ในสารละลาย ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงสนใจในการประยุกต์ใช้งาน อีสเฟต (ISFET) หรือทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้า ISFET (Ion-Sensitive Field Effect Transistor) เนื่องจากอีสเฟตมีคุณสมบัติสามารถวัดค่าความเป็นกรดต่างในสารละลายได้ โดยอ้างอิงจากไอออนไฮโดรเจนในสารละลาย และอุปกรณ์ชิ้นนี้ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือวัดขนาดใหญ่ หรือผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ จึงง่ายสำหรับการใช้งานและประยุกต์ใช้ในงานตรวจวัดยาฆ่าแมลง

อีสเฟตหรือทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้า ถูกใช้เป็นตัววัดค่าความเป็นกรดต่าง ในสารละลาย อีสเฟตเป็นเครื่องมือวัสดุสารกึ่งตัวนำซึ่งพัฒนามาจากเทคโนโลยีมอสเฟต (MOSFET; Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor) [1] โดยอีสเฟตประกอบไปด้วย ขาเกต (Gate) ขาเดรน (Drain) ขาซอส (Source) และมีส่วนที่สำคัญคือส่วนพื้นที่ตอบสนอง (Sensing Membrane) หรือชั้นฉนวน (Gate Insulator) ในกรณีที่เป็นวัสดุสำหรับตรวจวัดไฮโดรเจนในสารละลาย ชั้นฉนวนหรือพื้นที่ตอบสนอง จะเป็นวัสดุจำพวกวัสดุออกไซด์ เช่น ซิลิคอนไนไตรด์ (Si_3N_4) อะลูมิเนียมออกไซด์ (Al_2O_3) และ แทนทาลัมเพนทอกไซด์ (Ta_2O_5) [2] โดยที่พื้นผิวเหล่านี้จะทำหน้าที่รับ และปล่อยไฮโดรเจนไอออน (Protonation/Deprotonation) ซึ่งจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าแรงดันทางไฟฟ้าที่พื้นผิวของของชั้นฉนวน โดยหลักการพื้นฐาน คือ เมื่อต่ออุปกรณ์อีสเฟตร่วมกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง เช่น ซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) จากภายนอก จุ่มลงในสารละลายที่ต้องการตรวจวัด และเมื่อสารละลายที่ทำการตรวจวัดนั้นมีประจุทางไฟฟ้าอยู่ เช่น ไอออนไฮโดรเจน จะถูกเหนี่ยวนำให้มา

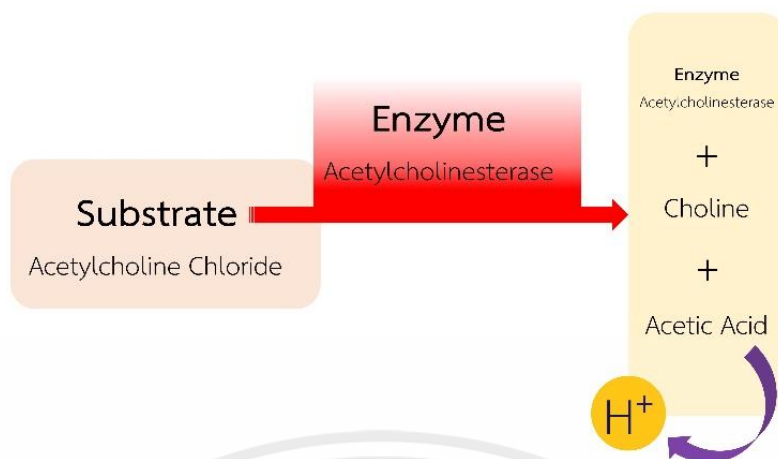
อยู่บริเวณพื้นที่ตอบสนองหรือชั้นฉนวนนั้น และจะเหนี่ยวนำให้อิออนพาหะที่อยู่ในอุปกรณ์ฮีสเพดในชั้นสารกึ่งตัวนำ (Semiconductor) ที่เป็นประจุตรงข้ามเคลื่อนที่เข้ามาที่ผิวรอยต่อระหว่างชั้นฉนวนกับชั้นวัสดุสารกึ่งตัวนำ ซึ่งสามารถเกิดเป็นเส้นทางการไหลของกระแสไฟฟ้าได้ ดังแสดงในรูปที่ 1.1 จึงทำให้มีกระแสไฟฟ้าเคลื่อนที่ระหว่างขาคเรนและขาซอส ซึ่งกิจกรรมที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวที่ชั้นฉนวนนี้สามารถเรียกได้ว่าเป็นการเปิดปิดหรือเป็นสวิตช์ของสัญญาณ และการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอุปกรณ์จะรายงานผลเป็นค่าความต่างศักย์คร่อม ขาคเรน และ ขาซอส (V_{GS}) [3] และ ความจำเพาะต่อการตรวจวัดของเซนเซอร์นั้น จะขึ้นอยู่กับ การปรับปรุงพื้นผิว หรือชั้นที่อยู่ระหว่างสารละลาย ไอออนิก (Ionic Solution/Electrolyte) กับชั้นฉนวน ดังนั้นการปรับปรุงอุปกรณ์ฮีสเพดเพื่อการประยุกต์ใช้งานต่าง ๆ นั้น จะสามารถปรับปรุงหรือเสริมชั้นส่วนตอบสนองเข้าไปที่บริเวณดังกล่าวได้



รูปที่ 1.1 แผนภาพแสดงโครงสร้างฮีสเพดและส่วนพื้นที่ตอบสนอง [4-6]

ดังนั้นสำหรับการประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์ฮีสเพดเพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงนั้นจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสและซัสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ เมื่อเอนไซม์และคู่ซัสเตรททำปฏิกิริยา จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น โคลีน และ กรดอะซีติก ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย หรือการที่มีความเข้มข้นของไอออนไฮโดรเจน (H^+) เพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 1.2 ซึ่งจะส่งผลกับเซนเซอร์ฮีสเพด และเมื่อยาฆ่าแมลงเข้าสู่ระบบ ยาฆ่าแมลงจะเข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับคู่ซัสเตรทได้ส่งผลให้ไอออนไฮโดรเจนในระบบลดลง ทำให้แรงดันทางไฟฟ้าที่พื้นผิวที่ชั้นฉนวนและกระแสไฟฟ้าในวงจรของอุปกรณ์เปลี่ยนแปลงไป จึงสามารถนำค่าสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงนั้น ไปวิเคราะห์หาปริมาณของยาฆ่าแมลงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ขอสงวนสิทธิ์ในเนื้อหา
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.2 แสดงการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ และคู่ซัสเตรท

สำหรับงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ด้วยเซนเซอร์ออสเฟต โดยทำการตรึงเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสด้วยวิธีการดูดซับทางกายภาพลงบนพื้นที่ตอบสนองของออสเฟตโดยอาศัยเจลอากาโรสเป็นชั้นกักเก็บเอนไซม์ โดยจะศึกษาถึงสัญญาณการตอบสนองของเซนเซอร์ออสเฟต ผลของความเข้มข้นเจลอากาโรส ความเข้มข้นของเอนไซม์และซัสเตรทที่เหมาะสมต่อการใช้งานในการตรวจวัดยาฆ่าแมลง แนวทางในการเก็บรักษาเซนเซอร์เพื่อการใช้งานในระยะยาว รวมถึงการศึกษาพัฒนาเบื้องต้นเกี่ยวกับการสร้างหัววัดออสเฟตในรูปแบบที่สามารถใช้แล้วทิ้ง เพื่อลดต้นทุนและเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้งานจริงได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาการใช้งานและลักษณะสัญญาณการตอบสนองของเซนเซอร์ออสเฟตในสารละลาย
- 1.2.2 เพื่อประยุกต์ใช้งานเซนเซอร์ออสเฟตสำหรับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล โดยอาศัยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส

1.3 สมมติฐานงานวิจัย

เซนเซอร์ออสเฟตที่สามารถตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย โดยมีชั้นของพื้นที่ตอบสนอง (Sensing membrane) เป็นซิลิกอนไนไตรด์ (Si_3N_4) ที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไอออนไฮโดรเจนบนผิวหน้า จะสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงได้ โดยการเคลือบบนชั้นพื้นที่ตอบสนองด้วยเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสในเจลอากาโรสที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับคู่ซัสเตรทและเกิดผลิตภัณฑ์เป็นไอออนไฮโดรเจน ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถถูกยับยั้งด้วยยาฆ่าแมลง (Enzyme Inhibition assay) ซึ่งส่งผลต่อการลดลงของไอออนไฮโดรเจนในสารละลาย ดังนั้นจึงสามารถประยุกต์ใช้เซนเซอร์ออสเฟตในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงในสารละลายได้

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.5.1 ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับระบบเซนเซอร์และอุปกรณ์โครงสร้างอิสรเฟต
- 1.5.2 ศึกษาผลทางไฟฟ้าของอุปกรณ์โครงสร้างอิสรเฟต ทั้งก่อนและหลังการเคลือบพื้นผิวด้วย เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส
- 1.5.3 ทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลผ่านการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส เพื่อหาค่าความไว ช่วงความเข้มข้น และความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ด้วยเซนเซอร์อิสรเฟต
- 1.5.4 ทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในน้ำผัก (real sample) ด้วยเซนเซอร์อิสรเฟต
- 1.5.5 ศึกษาการเก็บรักษาเซนเซอร์อิสรเฟตเบื้องต้นสำหรับการใช้งานเป็นระยะเวลานาน
- 1.5.6 ตรวจสอบลักษณะของชั้นฟิล์มอากาศโรสด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Atomic Force Microscope, AFM)
- 1.5.7 สร้างหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกดที่สามารถใช้แล้วทิ้งและทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

- 1.6.1 สามารถใช้ความรู้จากงานวิจัยไปประยุกต์ใช้งานการตรวจวัดยาฆ่าแมลงในเชิงอุตสาหกรรมการส่งออก และการใช้งานในครัวเรือน
- 1.6.2 สามารถลดขั้นตอนการตรวจวัดยาฆ่าแมลงจากการตรวจวัดโดยวิธีปกติ
- 1.6.3 สามารถนำวิธีการเตรียมเซนเซอร์ไปประยุกต์ใช้กับงานวิจัยทางไบโอเซนเซอร์ เพื่อการตรวจวัดสารหรือชีวโมเลกุลอื่นๆ ได้

1.6 รายละเอียดของงานวิจัย

ในวิทยานิพนธ์เล่มนี้ แบ่งเนื้อหาออกเป็น 5 บท โดยในแต่ละบทมีรายละเอียดดังนี้

บทที่ 1 บทนำ กล่าวถึง ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย วัตถุประสงค์ของงานวิจัย สมมติฐานของงานวิจัย ขอบเขตของงานวิจัย รวมถึงประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยและรายละเอียดของงานวิจัย

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย โดยมีการกล่าวถึง ยาฆ่าแมลงและรายละเอียดยาฆ่าแมลงแต่ละชนิด กระบวนการใช้งานเอนไซม์และกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลง รวมถึงทฤษฎีอิสรเฟต และส่วนต่อขยายขาเกด และการทบทวนวรรณกรรมเพื่อศึกษาเซนเซอร์การใช้งานทั่วไป ปรับปรุง และพัฒนา รวมถึงการออกแบบงานวิจัยเซนเซอร์เพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย ประกอบด้วยกระบวนการเตรียมเซนเซอร์ในเงื่อนไขที่เหมาะสมต่อการใช้งาน เพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลทั้งในสารละลายฟอสเฟตและน้ำผักจริงด้วยเซนเซอร์อิสรเฟต รวมถึงวิธีการสร้างหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกดและวิธีทดสอบประสิทธิภาพ

เบื้องต้นในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายฟอสเฟต เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนา เซนเซอร์ให้มีราคาถูกลง สามารถใช้แล้วทิ้งได้ เหมาะกับการนำไปใช้ในการตรวจวัดสารตัวอย่างจริง

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง แสดงความเหมาะสมของเงื่อนไข ต่างๆ สำหรับการเตรียมเซนเซอร์ออสเฟตเพื่อใช้ตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ซึ่งรวมถึง ความเข้มข้น ของเจลอากาโรส ปริมาณเอนไซม์ ความเข้มข้นซัสเตรท ช่วงความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ วัดได้ แนวทางวิธีการเก็บรักษาเซนเซอร์เพื่อการใช้งานระยะยาว ลักษณะพื้นผิวของเจลอากาโรสที่ใช้ กักเก็บเอนไซม์ รวมถึงผลทดสอบประสิทธิภาพของหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตในการตรวจวัด ความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล

บทที่ 5 บทสรุปของงานวิจัย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการทำงาน

2.1 ยาฆ่าแมลง

ยาฆ่าแมลง หรือสารกำจัดแมลง เป็นกลุ่มสารเคมีที่มีฤทธิ์ทำหน้าที่ในการฆ่า บรรเทาให้ น้อยลง หรือการไล่แมลงออกจากสถานที่ที่ต้องการให้ปลอดจากแมลงชนิดนั้นๆ การเลือกใช้ยาฆ่า แมลงนั้นต้องคำนึงให้เหมาะสมกับชนิดของแมลง คำนึงถึงผลกระทบ และสารตกค้างที่จะเกิดแก่ตัว ผู้ใช้และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ยาฆ่าแมลงที่เห็นได้ทั่วไป คนส่วนใหญ่จะใช้ในครัวเรือน เพื่อกำจัด มด ปลวก แมลงสาบ หรือใช้ในการเกษตรกับแมลงศัตรูพืช

ตั้งแต่ปี พ.ศ.2549 มนุษย์ได้มีการเพิ่มขึ้นจำนวนมากเป็นทวีคูณ ในขณะที่เดียวกันการทำ การเกษตร และพื้นที่ทำการเกษตรกลับเพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 10 ประกอบกับราคาผลผลิตทาง การเกษตรถูกบีบให้มีราคาลดลงตามกลไกตลาด และผืนดินที่ทำการเกษตรนั้นก็เริ่มเสื่อมโทรมลง ดังนั้นในเชิงการเกษตรกรรมแล้ว เกษตรกรจึงมีการเร่งการผลิต รวมถึงการเพิ่มเติมสารภายนอกเข้า ไป เพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นจำนวนมากพอต่อการดำรงชีวิต จึงมีการใช้สารเคมี ปุ๋ย และยาฆ่าแมลง เพื่อ เพิ่มปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของผลผลิตทางการเกษตร [7]

แต่อย่างไรก็ตามหากเกษตรกรไม่ได้คำนึงถึงผลกระทบต่อตนเอง ต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงผู้บริโภค ทำให้ยาฆ่าแมลงสังเคราะห์ถูกใช้อย่างแพร่หลาย ตั้งแต่ยุคเกษตรกรรมเชิงอุตสาหกรรมใน ศตวรรษที่ 50 มีการใช้งานของยาฆ่าแมลงเป็นวงกว้าง สารเคมี ยาฆ่าแมลงถูกกระจายออกไปใน สิ่งแวดล้อม จนเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ แม้สารเคมีบางตัวจะสามารถสลายไปได้ง่าย แต่บาง ชนิดนั้นต้องใช้เวลานานกว่าจะสลายตัว ตัวอย่างเช่น สารดีดีที รวมถึงอนุพันธ์ลำดับที่สองของสาร เนื่องจากผลของการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ป่า ทำให้เกิดงานวิจัย เกี่ยวกับผลกระทบของยาฆ่าแมลงที่เพิ่มขึ้นอย่างมากในเวลาสามสิบปีที่ผ่านมา [8] ผลการวิจัยเหล่านี้ ปรากฏออกมาเป็นที่แน่ชัดแล้วว่า การตกค้างของสารเคมีเกิดขึ้นเป็นวงกว้างและหลากหลาย ใน ขณะเดียวกันความเข้าใจเรื่องผลกระทบของยาฆ่าแมลงต่อสุขภาพของมนุษย์และกลไกการทำงานของ สารเคมีดังกล่าวก็ขยายเป็นวงกว้างไปอย่างรวดเร็ว

ดังนั้นยาฆ่าแมลงจึงเป็นตัวการสำคัญที่สามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อชีวิตมนุษย์ เพราะ ผู้บริโภคจะไม่สามารถรู้ได้เลยว่ายาฆ่าแมลงนั้นจะมีการตกค้างและส่งผลกระทบต่อตัวเองในปริมาณ มากน้อยเพียงใด หรือในวิถีทางไหน ดังนั้นในปัจจุบันนี้จึงมีงานวิจัยและแนวทางปฏิบัติมากมายใน การตรวจสอบ เพื่อหาว่ายาฆ่าแมลงในพืชผัก ผลผลิตทางการเกษตร โดยหน่วยงานต่างๆ ได้ออกกฎ และกำหนดค่ามาตรฐานของยาฆ่าแมลงขึ้นในประเทศไทยมีสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและ อาหารแห่งชาติได้ประกาศใช้มาตรฐานของ CODEX Maximum Residue Limits (MRLs) หรือ ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของยาฆ่าแมลงในอาหาร ซึ่งกำหนดโดย Codex Alimentarius

Commission และมีการรองรับมาตรฐานจากองค์การอนามัยโลก (World Health Organization) โดยค่า MRLs ของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในผลิตภัณฑ์การเกษตรต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงค่ามาตรฐาน MRLs ของยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่พบในผลิตภัณฑ์การเกษตรต่าง ๆ [9]

รายการ	ค่ามาตรฐาน (MRLs) [Mg/Kg]
ลิ้นจี่	1
มะม่วง	1
มะพร้าว	0.02
ทุเรียน	1
แตงโม	1
เงาะ	1
พริกแห้ง	2
ข้าว	1
มัน	0.2
ไข่	0.5
นม	0.05
ผัก (วงศ์ผักกาด)	5

แต่อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันวิธีการมากมายสำหรับผู้บริโภคในการทำความสะอาดพืชผักทางการเกษตรก่อนที่จะรับประทาน เช่น การล้างน้ำสะอาดมาก ๆ การล้างที่ละเอียด การล้างผักในน้ำที่มีส่วนผสมของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (เบคกิ้งโซดา) หรือ ด่างทับทิม หรือเกลือ หรือน้ำส้มสายชู ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถล้างทำความสะอาดผักได้ [10] แต่ทั้งนี้การล้างด้วยวิธีดังกล่าวไม่อาจล้างให้สะอาดปลอดยาฆ่าแมลงหรือสารเคมีต่าง ๆ แต่ด้วยวิธีดังกล่าวก็ช่วยให้ผู้บริโภคเกิดความมั่นใจและมีความปลอดภัยในการรับประทานอาหารมากขึ้น อย่างน้อยถ้าล้างด้วยน้ำธรรมดา ด้วยการแช่ผัก 10 นาที และล้างให้น้ำไหลผ่านเพียงครั้งเดียวก็สามารถ ล้างยาฆ่าแมลงออกไปได้กว่าร้อยละ 50 ดังตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ร้อยละของการกำจัดยาฆ่าแมลงตกค้างในผัก จำแนกตามชนิดผักและวิธีการล้าง [10]

Type of Pesticide	Vegetables	Washing method			
		Pipe water (%)	Sodium bicarbonate (%)	Potassium permanganate (%)	Vinegar (%)
Organophosphate	Chinese Broccoli	49.7	71.9	47	7.7
	Bog choy	53.9	74.2	38.7	28.1
	Napa cabbage	52.5	74.6	49.3	20.7
Organochlorine	Chinese Broccoli	22.5	34.2	25.2	33.4
	Bog choy	24.9	41.1	20.7	21.6
	Napa cabbage	34.8	48.2	46.5	7.0

2.1.1 กลุ่มยาฆ่าแมลง

ยาฆ่าแมลงที่มีการใช้งานกันนั้น สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้ [11]

2.1.1.1 กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (OP, Organophosphate)

กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ โดยสารเคมีในกลุ่มนี้ที่รู้จักกันคือ มาลาธาออน (Malathion), ไดอาซินอน (Diazinon), เฟนนิโตรออน (Fenitrothion), พิริมิฟอสเมทิล (Pirimiphos methyl), และไดคลอวอส (Dichlorvos หรือ DDVP) เป็นต้น สารเคมีในกลุ่มนี้จะมีพิษรุนแรงมากกว่ากลุ่มอื่น โดยเป็นพิษทั้งกับแมลงและสัตว์อื่นๆ ทุกชนิด แต่สารในกลุ่มนี้จะย่อยสลายได้เร็ว

2.1.1.2 กลุ่มคาร์บาเมต (Car, Carbamate)

กลุ่มคาร์บาเมต ซึ่งมีคาร์บาริลเป็นองค์ประกอบสำคัญ โดยสารเคมีกำจัดแมลงที่รู้จักและใช้กันมาก คือ คาร์บาริล (Carbaryl ที่มีชื่อการค้า Savin), คาร์โบฟูแรน (Carbofuran), โพรพ็อกเซอร์ (Propoxur), เบนไดโอคาร์บ (Bendiocarb) สารเคมีในกลุ่มคาร์บาเมตจะมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมน้อยกว่าพวกออร์กาโนฟอสเฟต

2.1.1.3 กลุ่มออร์กาโนคลอรีน (OC, Organochlorine)

กลุ่มออร์กาโนคลอรีน ซึ่งเป็นกลุ่มของสารเคมีที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้กันมาก คือ ดีดีที (DDT), ดีลด์ริน (Dieldrin), ออลด์ริน (Aldrin), ท็อกซาฟีน (Toxaphene), คลอเดน (Chlordane), ลินเดน (Lindane), เอนดริน (Endrin), เฮปตาครอ (Heptachlor) เป็นต้น สารเคมีในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นสารเคมีที่เป็นพิษต่อแมลงทุกชนิด และค่อนข้างจะสลายตัวช้า ทำให้พบตกค้างในห่วงโซ่อาหารและสิ่งแวดล้อมได้นาน บางชนิดอาจตกค้างได้นาน

หลายสิบปี ปัจจุบันประเทศส่วนใหญ่ทั่วโลกจะไม่อนุญาตให้ใช้สารเคมีในกลุ่มนี้ หรือไม่ก็มีการควบคุมการใช้ ไม่อนุญาตให้ใช้อย่างเสรี เพราะผลกระทบต่อด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

2.1.1.4 กลุ่มไพเรทรอยด์ (Pyr, Pyrethroid)

กลุ่มสารสังเคราะห์ไพเรทรอยด์ เป็นสารเคมีกลุ่มที่สังเคราะห์ขึ้นโดยมีความสัมพันธ์ตามโครงสร้างของไพรีทริน ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่สกัดได้จากพืชไพรีทรัม สารเคมีในกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่อแมลงสูง แต่มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นต่ำ อย่างไรก็ตาม สารเคมีในกลุ่มนี้มีราคาแพงจึงไม่ค่อยเป็นที่นิยมใช้ สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มนี้ ได้แก่ เดลตาเมธริน (deltamethrin), เพอร์เมธริน (permethrin), เรสเมธริน (resmethrin), และไบโอเรสเมธริน (bioresmethrin) เป็นต้น

ซึ่งยาฆ่าแมลงแต่ละกลุ่มจะออกฤทธิ์ หรือมีผลต่อระบบร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้เมื่อมนุษย์สัมผัส สูดดม หรือบริโภคเข้าไปจะเป็นอันตราย เช่น เกิดอาการวิงเวียนศีรษะ ท้องเสีย คุณภาพการมองเห็นลดลง ระบบทางเดินหายใจผิดปกติ และท้ายที่สุดสามารถส่งผลกระทบต่อชีวิตได้

2.1.2 ชนิดยาฆ่าแมลงที่ใช้ในการศึกษา

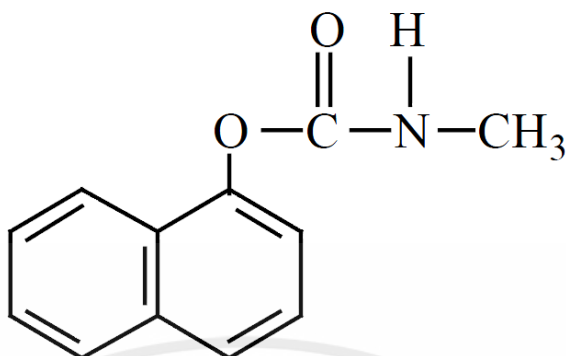
สำหรับงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการใช้เซนเซอร์ออปติคัลเพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลง โดยยาฆ่าแมลงที่ทำการตรวจวัดคือ คาร์บาริล ซึ่งอยู่ในกลุ่มของคาร์บาเมต เพื่อเป็นตัวอย่างในการพัฒนาอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลงตัวอื่นต่อไป

2.1.2.1 คาร์บาริล (Carbaryl Pesticide)

ยาฆ่าแมลงคาร์บาริล เป็นยาฆ่าแมลงในกลุ่ม คาร์บาเมต ที่มีการนำเข้ามาในประเทศไทย สูงสุดเป็นอันดับที่ 3 รองจากยาฆ่าแมลงคลอโรไพริฟอส (Chloropyrifos) กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และไซเปอร์เมทิล (Cypermethrin) กลุ่มไพเรทรอยด์ โดยข้อมูลสถิติการนำเข้ายาฆ่าแมลง ของ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร (2558)

คาร์บาริล เป็นกลุ่มยาฆ่าแมลงที่มีการใช้กันมากในอุตสาหกรรมเกษตร ซึ่งมีโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.1 โดยมีคุณสมบัติเป็นสารที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในชั่วขณะ โดยที่เอนไซม์กลับมาใช้งานได้ใหม่อีกครั้ง หรือเรียกว่า Reversible Inhibitor คือ เมื่อยาฆ่าแมลงแสดงสมบัติเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ แต่สามารถหลุดออกจากตำแหน่งที่เข้าไปทำพันธะกับเอนไซม์ได้ ทำให้เอนไซม์กลับมาใช้งานได้อีกครั้ง แต่ถึงอย่างไรจำเป็นต้องใช้เวลาและอาศัยเทคนิคการล้างยาฆ่าแมลงออก เช่นในกรณีการศึกษาของ Michael Eddleston และคณะ ได้ทำการศึกษาการใช้สารกลุ่ม nucleophile โดยใช้ สาร Oximes เพื่อให้พันธะระหว่างเอนไซม์กับยาฆ่าแมลงหลุดออกจากกัน ซึ่งทำให้เอนไซม์สามารถกลับมาใช้งานได้อีก แต่ทั้งนี้ ต้องใช้เวลาานมากกว่า 1 ชั่วโมง และอาจถึง 1 วัน [12]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุผลบางประการ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 ยาฆ่าแมลงคาร์บาริล

2.1.2.2 คุณสมบัติของคาร์บาริล

ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลมีความเสถียร เมื่ออยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 5 เมื่อละลายอยู่ในบัฟเฟอร์พีเอช 7 ครึ่งชีวิตของตัวยาอยู่ที่ 12 วัน และเมื่ออยู่ในบัฟเฟอร์พีเอช 9 จะมีครึ่งชีวิตอยู่ที่ 3.2 ชั่วโมง ในสภาวะอุณหภูมิห้อง (25°C) [13-14] หากโดนแสง เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวันแล้ว จะมีครึ่งชีวิตอยู่ที่ 12 วัน [15]

ความสามารถในการละลาย ยาฆ่าแมลงสามารถละลายในตัวทำละลายได้ดังนี้ [16]

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------|
| 1. น้ำ (25 องศาเซลเซียส) | 113 มิลลิกรัม/ลิตร |
| 2. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) | 24.26 กรัม/100 มิลลิลิตร |
| 3. เฮกเซน (Hexane) | 0.214 กรัม/ 100 มิลลิลิตร |
| 4. เมทานอล (Methanol) | 7.96 กรัม/ 100 มิลลิลิตร |

คาร์บาริลถูกใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช ผีเสื้อ ตัวง แมลงสาบ มด เห็บ และยุงชนิดต่าง ๆ ซึ่งผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงของคาร์บาริลนั้น อยู่ในรูปแบบต่าง ๆ ทั้งฝุ่น ละออง ผง สารละลายเหนียว รวมถึงชนิดเม็ด เพื่อการใช้งาน ส่วนในการเกษตรนั้นมีการใช้งานกับพืชผัก ผลไม้ รวมถึงใช้งานทั่วไป ทั้งสนามหญ้า แปลง สวน รวมถึงตามอาคารบ้านเรือนต่าง ๆ แต่การใช้งานยาฆ่าแมลงนั้น ย่อมมีผลกระทบต่อสัตว์ รวมถึงสิ่งมีชีวิต ๆ ที่ไม่ควรถูกกำจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เอนไซม์ (Enzyme)

เอนไซม์ เป็นสารกลุ่มสำคัญ ซึ่งถูกใช้เพื่อเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยและพัฒนางานวิจัยทางชีวเคมี ตั้งแต่ทศวรรษที่ 1940 เป็นต้นมา เอนไซม์ถูกจัดให้เป็นพื้นฐานการเรียนรู้สำหรับสาขาวิชาเคมีคลินิก ซึ่งในไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมาเอนไซม์ได้ถูกใช้ในการวินิจฉัยโรค และใช้ในงานมากมาย ซึ่งมีอยู่หลากหลายวิธีการที่ได้รับการรับรองและถูกตีพิมพ์ในวารสารวิชาการต่าง ๆ [17]

เอนไซม์ เป็นสารโปรตีน (Protein) ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งมีชีวิต ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ต่าง ๆ ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกิดขึ้นในเซลล์ ทำให้การทำงานของระบบต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต เนื้อเยื่อ ของเหลวและอวัยวะต่าง ๆ ทำงานได้อย่างปกติ เอนไซม์นั้นจะคอยย่อยสลายสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ จากขนาดใหญ่และให้มีขนาดเล็กลง ทำให้เซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายสามารถนำไปใช้ได้ง่าย หากร่างกายขาดเอนไซม์หรือปริมาณเอนไซม์ลดลงแล้ว จะทำให้การทำงานของระบบอวัยวะต่าง ๆ ภายในร่างกายเกิดอาการผิดปกติ

โดยทั่วไปผู้คนส่วนใหญ่จะรู้จักเอนไซม์เพียงกลุ่มเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบย่อยอาหาร เช่น เอนไซม์ อะไมเลส (Amylase) ที่ย่อยโมเลกุลของสตาร์ช (Starch) ให้เป็นน้ำตาล เอนไซม์โปรติเอส (Protease) ย่อยโปรตีน (Protein) ให้เป็นกรดอะมิโน (Amino acid) เป็นต้น

2.2.1 หลักการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme Mechanism)

เอนไซม์ เป็นสารโปรตีนอย่างหนึ่งที่ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวเคมี หรือเรียกได้ว่า ตัวคะตะลิสต์ (Catalyst) จะทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น และเมื่อปฏิกิริยาเสร็จสิ้น สารนั้นก็ยังคงคุณสมบัติเดิมอยู่และใช้ได้ต่อไป แต่สำหรับเอนไซม์นั้นจะมีความจำเพาะต่อการทำปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น โดยมีคุณสมบัติจำเพาะดังนี้

1. เอนไซม์สามารถ เร่งปฏิกิริยาได้เพียง 1 ปฏิกิริยาเท่านั้น (Absolute specificity)
2. เอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสาร หรือโมเลกุลที่มีกลุ่มฟังก์ชันนั้น ๆ เช่น กลุ่มอะมิโน กลุ่มฟอสเฟต และกลุ่มเมทิล (Group specificity)
3. เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยากับพันธะเคมี ณ ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง โดยจะไม่เข้าทำปฏิกิริยากับส่วนที่เหลือของโมเลกุล (Linkage specificity)
4. เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยาบนตำแหน่งเฉพาะ หรือส่วนที่เป็นออปติคัลไอโซเมอร์ (Stereochemical specificity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 เอนไซม์แอกทิวิตี้ (Enzyme Activity) [20]

การทดลองหรือการวิจัยต่าง ๆ ที่มีการใช้งานเอนไซม์นั้น จะไม่สามารถหาความเข้มข้นเอนไซม์ที่แท้จริงได้ ซึ่งก็ไม่สามารถบอกถึงความเข้มข้นเป็นโมลาร์ หรือความเข้มข้นอื่น ๆ ได้ ดังนั้นการใช้งานเอนไซม์จะต้องคำนวณจากค่าเอนไซม์แอกทิวิตี้ (Enzyme Activity) ซึ่งมีหน่วยมาตรฐานเรียกว่า ยูนิต (Unit, U) ดังนั้นค่าแอกทิวิตี้ เป็นค่าที่บ่งบอกถึง ปริมาณ (μmole or μg) ของซับสเตรทที่เปลี่ยนแปลงไป โดยปฏิกิริยาเฉพาะของเอนไซม์จำนวนหนึ่งภายในหนึ่งหน่วยเวลา (min or sec) เช่น 1 Unit คือ $1 \mu\text{g substrate/min}$

1 หน่วยสากล (International unit, I.U.) ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนให้ซับสเตรท 1 ไมโครโมล ไปเป็นผลิตภัณฑ์ในเวลา 1 นาที ที่ 25 องศาเซลเซียส หรือ 1 หน่วยคาทาล (katal) ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถเร่งให้ซับสเตรท 1 โมล เปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ 1 โมล ในเวลา 1 วินาที

ซึ่งความบริสุทธิ์ของเอนไซม์สามารถบอกได้จากค่าเอนไซม์แอกทิวิตี้ คือ หน่วยยูนิต ต่อ มิลลิกรัมโปรตีน (Unit/mg Protein) ยิ่งมีค่าสูง เอนไซม์ย่อมมีความบริสุทธิ์มาก

2.2.3 เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase; AChE)

เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส เป็นเอนไซม์ที่สามารถพบได้ในธรรมชาติ คือ สามารถพบได้ในส่วนระบบประสาทของสิ่งมีชีวิตจำพวกสัตว์ โดยเฉพาะมนุษย์ ที่คอยรักษากระบวนการไซเดียมโพแทสเซียมในระบบประสาท [21] ที่คอยให้การสนับสนุนในเรื่องการส่งสัญญาณข้อมูลต่าง ๆ ในระบบประสาทในสมอง

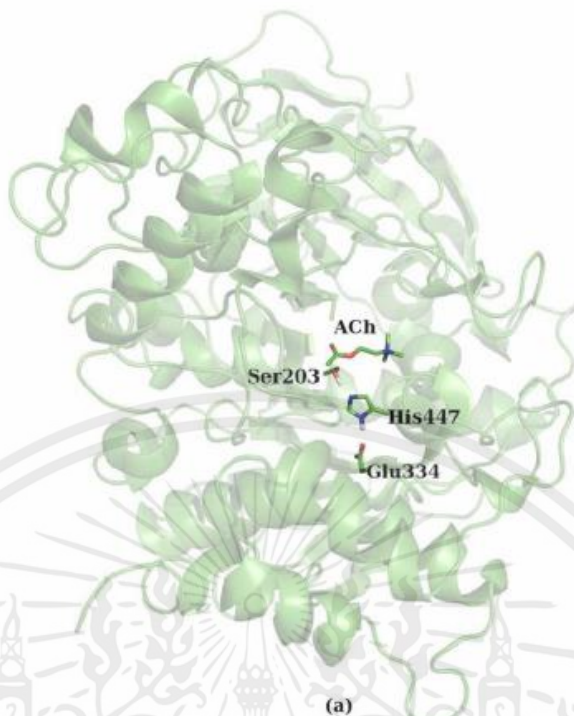
เอนไซม์ชนิดนี้เป็นเอนไซม์ที่สำคัญต่องานวิจัยพัฒนาเพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลง ในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มคาร์บาเมต เพราะกลุ่มยาฆ่าแมลงเหล่านี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ โดยที่จะสามารถเข้าไปจับที่ส่วนจับจำเพาะของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับคู่สารซับสเตรทของเอนไซม์ ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์จึงลดลง เมื่อยาฆ่าแมลงเหล่านี้เข้าสู่ร่างกายก็จะทำให้เอนไซม์ชนิดนี้ไม่สามารถทำงานได้จนกระทั่งเกิดผลเสียต่อสุขภาพต่อไป

2.2.3.1 ปฏิกิริยาเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส กับ คู่ซับสเตรท อะซีทิลโคลีน

คลอไรด์

เอนไซม์แต่ละชนิดนั้นจะมีสารที่เข้าคู่ทำปฏิกิริยากันได้ เหมือนกุญแจและแม่กุญแจ สำหรับเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสนี้จะมีคู่ซับสเตรทคือ สารอะซีทิลโคลีน โดยงานวิจัยชิ้นนี้จะใช้สารอะซีทิลโคลีน คลอไรด์ (Acetylthiocholine choride, AChCl) โดยที่เอนไซม์มีขนาด $45 \text{ \AA} : 60 \text{ \AA} : 65 \text{ \AA}$ โดยมีลักษณะเอนไซม์ดังรูปที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



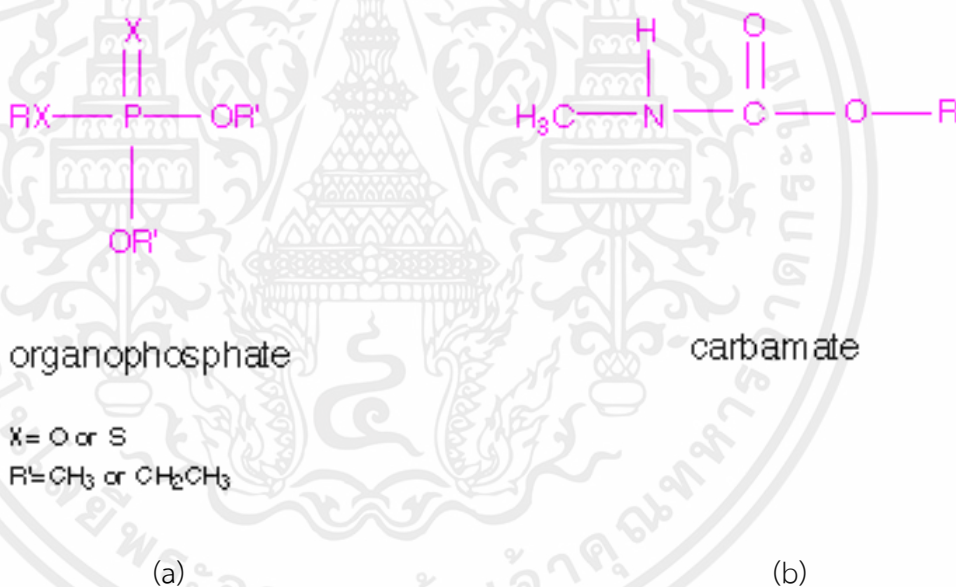
รูปที่ 2.4 รูป 3 มิติแสดงโครงสร้างของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส และส่วนของแอคทีฟไซต์ [22]

เมื่อสารซัสเตรท เข้ามาในบริเวณและตำแหน่งของช่องจับจำเพาะ หรือ ส่วนแอคทีฟไซต์ นั้น จากรูปที่ 2.5 แสดงให้เห็นลักษณะการเข้าจับทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และซัสเตรท สำหรับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนั้นจะเรียกว่า ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) โดยที่เอนไซม์ชนิดนี้จะมีส่วนจับจำเพาะอยู่ 2 ส่วนหลัก คือ ส่วน เอสเทอร์ริค (Esteric Site) และ ส่วนแอนไอออนิก (Anionic Site) โดยที่ตำแหน่ง serine ที่อยู่ในส่วนเอสเทอร์ริค นั้น จะมีออกซิเจนที่จะดึงดูและเข้าจับส่วนคาร์บอนที่ตำแหน่งอะซีทิลของสารละลายซัสเตรท ทำให้ออกซิเจนที่จับพันธะเดียวกับคาร์บอนฝั่งอะซีทิลนั้น หลุดออกจากกัน โดยที่ออกซิเจนไปจับกับไฮโดรเจน ด้วยแรงทางไฟฟ้า ส่วนแอนไอออนิก ซึ่งสุดท้ายแล้ว จะได้ผลิตภัณฑ์หลังทำปฏิกิริยาเป็น กรดอะซีติก (Acetic Acid) และ สารโคลีน (Choline) จากรูปที่ 2.6 ดังนั้นเมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยากับคู่สารซัสเตรท และได้ผลิตภัณฑ์ ทำให้สารละลายนั้นมีความเป็นกรดมากขึ้น จากปฏิกิริยาดังกล่าว จากรูปที่ XXX แสดงถึงกลไกการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และคู่สารซัสเตรทโดยละเอียดขึ้น ซึ่งจะกล่าวถึงตำแหน่ง ในเอนไซม์ ซึ่งประกอบด้วย Serine-203 Histidine-440 Glutamate-327

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

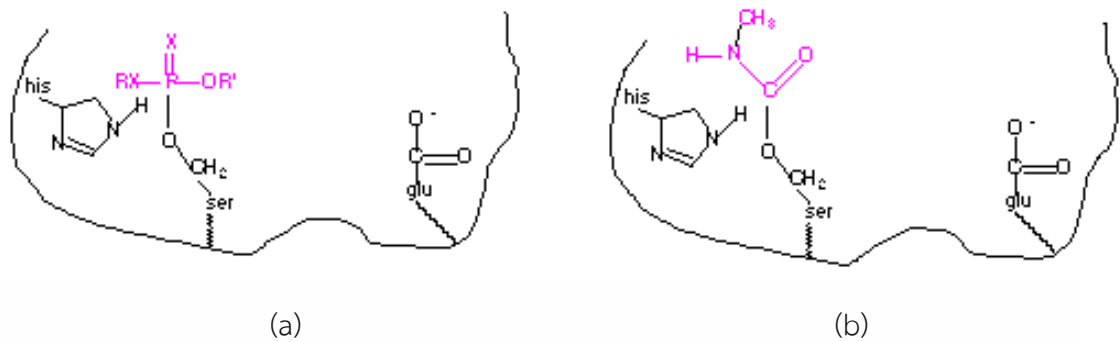
2.2.3.2 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส โดยยาฆ่าแมลง

ยาฆ่าแมลงที่มีการใช้งานปัจจุบันมีหลายกลุ่มด้วยกัน โดยกลุ่มยาฆ่าแมลงที่สำคัญต่อ คือ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มคาร์บาเมต โดยมีโครงสร้างและองค์ประกอบดังแสดงในรูปที่ 2.7 เพราะยาฆ่าแมลงทั้งสองกลุ่มนี้มีการใช้งานที่แพร่หลายในปัจจุบัน และสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส ดังนั้นเมื่อยาฆ่าแมลงกลุ่มนี้เข้าสู่ร่างกายระบบประสาทและการทำงานของสมองมนุษย์จะมีการเสื่อมประสิทธิภาพลง โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองกลุ่มยาฆ่าแมลง ดังแสดงในรูปที่ 2.8 กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตนั้น จะมีกลุ่มฟอสฟอรัสที่เป็นตัวสำคัญ โดยในตำแหน่งฟอสฟอรัสนั้นจะเข้าเกาะอย่างถาวรกับตำแหน่ง แอคทีฟไซต์ เซอร์รีน (Serine) ของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถใช้งานได้อีก จึงเป็นยาฆ่าแมลงกลุ่มที่เอนไซม์ไม่สามารถกลับมาใช้ใหม่ได้ (Irreversible Enzyme Inhibitor) แต่สำหรับยาฆ่าแมลงกลุ่มคาร์บาเมตนั้น เมื่อยาฆ่าแมลงกลุ่มนี้จับกับเอนไซม์แล้ว โดยคาร์บอนในโครงสร้าง เอสเทอร์ของยาฆ่าแมลงนั้น จะเข้าเกาะสร้างพันธะกับออกซิเจนในตำแหน่ง เซอร์รีน ที่แอคทีฟไซต์ของเอนไซม์ เอนไซม์สามารถปล่อยพันธะเหล่านั้นออกได้และเอนไซม์สามารถกลับมาใช้ได้อีกครั้ง (Reversible Enzyme Inhibitor)



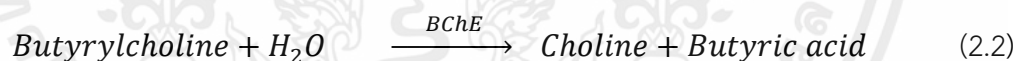
รูปที่ 2.7 ลักษณะองค์ประกอบของยาฆ่าแมลง (a) กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และ (b) คาร์บาเมต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 แผนภาพเอนไซม์ที่ถูกกลุ่มยาฆ่าแมลงเข้าจับที่ตำแหน่งของแอคทีฟไซต์ (a) โดยกลุ่มยาฆ่าแมลงออร์กาโนฟอสเฟต (b) และกลุ่มคาร์บาเมต [24]

สำหรับกระบวนการตรวจวัดยาฆ่าแมลง ด้วยการใช้เอนไซม์ โคลีนเอสเทอร์เรส (Colinesterase-based biosensor) เป็นเทคนิคหลักที่มีการใช้งานกันในระบบเอนไซม์ เพราะเอนไซม์นี้มียาฆ่าแมลง กลุ่ม ออร์กาโนฟอสเฟต และ คาร์บาเมต เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เป็นหลัก และ ทั้งสองกลุ่มนี้ก็มีการใช้งานกันมากในเชิงเกษตรอุตสาหกรรม โดยทั่วไปแล้วจะมีกลุ่มโคลีนเอสเทอร์เรสที่สำคัญ คือ อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase; AChE) และ บิวทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (Butyrylcholinesterase; BChE) โดยมีสมการการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และคู่ซับสเตรตดังนี้



จากสมการที่ 2.1 และ 2.2 แสดงให้เห็นว่าจะเกิดความแปรปรวนของค่า กรด-ด่าง (pH) ในสารละลายดังกล่าว ซึ่งเกิดจากผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา คือ สารที่มีความเป็นกรด จากตรงนี้สามารถใช้เทคนิคของ Potentiometric [25] มาทดสอบได้ หรือ การใช้งานอุปกรณ์ทดสอบค่าความเป็นกรดเบสของสารละลาย เช่น กระดาษทดสอบค่าพีเอช (pH-sensitive spectrophotometric indicators) [26-27] การทดสอบค่าพีเอชด้วยเทคนิคฉายแสงฟลูออเรสเซนส์ (pH sensitive fluorescence indicators) [28] นอกจากนี้จะใช้เอนไซม์เพียงชนิดเดียวที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาแล้ว ยังสามารถประยุกต์ใช้งานเอนไซม์ร่วม เพื่อให้ได้ผลที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยทั่วไปจะมีการใช้งานเอนไซม์โคลีนออกซิเดส (Choline oxidase; ChOD) [29] เพื่อทำให้สารโคลีนที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาเกิดการแตกตัวเพิ่มขึ้น เอนไซม์โคลีนออกซิเดสดังกล่าวนี้ จะเป็นตัวช่วยสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) จากโคลีน ซึ่งสามารถเกิดการออกซิไดซ์ (Oxidize) บนขั้วแพลททินัม (+ 0.7 V vs Ag/AgCl) ทำให้ได้การเปลี่ยนแปลงของค่า ออกซิเจนในระบบ ทำให้สามารถใช้ขั้วเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดออกซิเจนมาทดสอบได้

2.3 เซนเซอร์และไบโอเซนเซอร์ (Sensor and Biosensor)

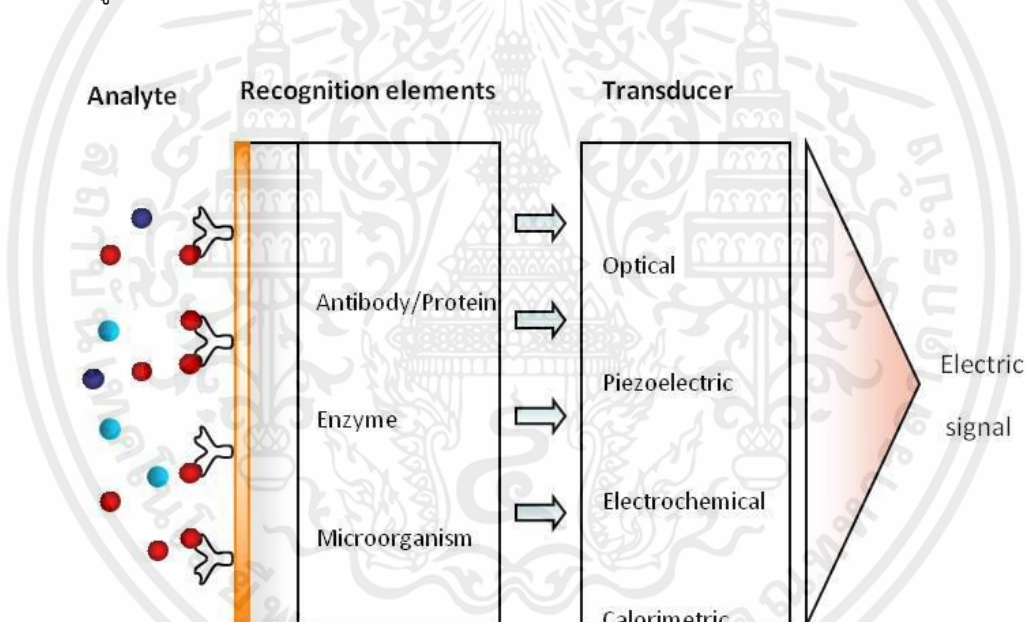
เซนเซอร์เป็นอุปกรณ์ที่สามารถใช้ในการตรวจวัดหรือตรวจจับ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมี เช่น มวล แสง แรงดัน อุณหภูมิ และอื่น ๆ รวมถึงการช่วยวิเคราะห์ข้อมูลได้อย่าง ทันทีหรือใกล้เคียงกับเวลาจริงที่เกิดขึ้น ซึ่งเซนเซอร์ที่สามารถเห็นได้ทั่วไป ยกตัวอย่างเช่น เซนเซอร์ตรวจวัดอุณหภูมิร่างกาย เซนเซอร์ตรวจจับการเคลื่อนไหว เซนเซอร์ประตูอัตโนมัติ อุปกรณ์ ตรวจวัดความชื้นในอากาศ อุปกรณ์วัดความเร็วลม อุปกรณ์วัดการนำไฟฟ้า และอื่น ๆ อีกมากมาย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเซนเซอร์หรืออุปกรณ์ตรวจจับนั้นมีอยู่ทุกที่ และพบเห็นได้ในชีวิตประจำวัน มือ ก็เปรียบได้กับเซนเซอร์ตรวจวัดทางกายภาพด้วยการสัมผัส รับรู้ถึงรูปทรง ลักษณะของสสาร ตา ก็เปรียบเสมือนเซนเซอร์แสง การรับภาพ ทำให้ประมวลลักษณะความเข้มแสง สี ต่าง ๆ หรือ ลิ้น ก็เป็น อีกหนึ่งตัวอย่างที่เป็นเซนเซอร์ตรวจจับรสชาติอาหาร และเครื่องดื่ม มีเอนไซม์ภายในปาก มีปุ่มรับ สัมผัสถึงความแตกต่างของรสชาติ และอีกหนึ่งสิ่งคือ จมูก สามารถเปรียบได้กับเซนเซอร์ตรวจวัดแก๊ส ที่สามารถระบุได้ว่าแต่ละกลิ่นนั้นเป็นกลิ่นอะไร

ในปัจจุบันได้มีการออกแบบเซนเซอร์มากมายเพื่ออำนวยความสะดวกแก่มนุษย์ และเพื่อ ใช้งานให้เกิดประโยชน์ในยุคของเทคโนโลยี ดังนั้นเซนเซอร์ที่ได้ถูกประดิษฐ์และคิดค้นขึ้นมานั้น หนึ่งใน คือการจำลองประสาทสัมผัสทั้งห้าของมนุษย์ เพื่อเป็นการใช้งานที่ทดแทนกัน ยกตัวอย่างเช่น เซนเซอร์ลิ้นอิเล็กทรอนิกส์ (E-tongue) เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพอาหาร หรือความอร่อย หรือใช้ งานเพื่อตรวจวัดคุณภาพของสารละลายต่าง ๆ เช่น ความสะอาดของแหล่งน้ำ ดังนั้นจึงเกิด ไบโอเซนเซอร์ขึ้นมาเพื่อตรวจวัดสารทางชีวภาพ

ไบโอเซนเซอร์ หรือ ตัวตรวจวัดทางชีวภาพ เป็นเครื่องมือตรวจวัดที่อาศัยการทำงานร่วมกัน ระหว่าง ส่วนรับรู้ (Bioreceptor) และ ทรานสดิวเซอร์ ที่ต่อเข้ากับส่วนประมวลผลข้อมูล นักวิทยาศาสตร์ได้พัฒนาไบโอเซนเซอร์ เพื่อประโยชน์หลายด้าน เช่น ทางด้านการแพทย์ ด้าน อุตสาหกรรม สำหรับวัสดุตอบสนองทางชีวโมเลกุล (Biological Sensing Element) หรือ ตัวรับ (Receptor) ที่อยู่บนพื้นผิวของเซนเซอร์ ซึ่งสามารถตรวจจับ และรับรู้การมีอยู่ของสารที่ต้องการ ตรวจวัด ทั้งสารชีวโมเลกุลหรือสารโครงสร้างทางเคมีในสารละลาย หรือ ในสิ่งแวดล้อม ซึ่งทาง ไบโอเซนเซอร์นั้น ตัวรับรู้ หรือตัวตรวจจับ หรือ ตัวรีเซพเตอร์ (Receptor) อาจเป็นแอนติบอดี (antibody) เอนไซม์ (enzyme) และ เซลล์ (cell) หรือสารที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่ เพื่อสารเหล่านี้จะมีความจำเพาะ ต่อสารที่ต้องการตรวจวัดเหมือนลักษณะ กุญแจและแม่กุญแจ เมื่อสารที่ต้องการ ตรวจวัดเข้ามาใกล้ สัมผัส ในบริเวณพื้นที่รับรู้หรือตัวตอบสนอง จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่มี เอกลักษณะเฉพาะ เช่น การเกิดไอออน อิเล็กตรอน สี แสง ความร้อน ซึ่งสิ่งที่เกิดขึ้นจะรับรู้ด้วยตัว อุปกรณ์ทรานสดิวเซอร์ ซึ่งสามารถวัดค่าออกมาเป็นสัญญาณทางไฟฟ้า และประมวลผลออกมาเป็น สัญญาณดิจิทัลผ่านส่วนประมวลผลข้อมูล ซึ่งทำให้สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่ ชัดเจน และการเปลี่ยนแปลงมากหรือน้อย ก็จะขึ้นกับปริมาณของสารที่ต้องการตรวจวัด รวมถึง สภาวะที่เหมาะสมต่อการใช้งานเซนเซอร์

2.3.1 หลักการทำงานของไบโอเซนเซอร์

ไบโอเซนเซอร์ มีความสำคัญต่อการใช้งานในปัจจุบันอย่างมาก โดยการพัฒนาส่วนสำคัญของอุปกรณ์ไบโอเซนเซอร์ คือส่วนตรวจจับหรือส่วนรับรู้ตอบสนอง (Bioreceptor) เพราะการเลือกใช้งานนั้นจะขึ้นอยู่กับสารอนาไลต์ (Analyte) เช่น แบคทีเรีย ไวรัส สารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ดังนั้นจึงต้องเลือกตัวตรวจจับที่มีความเหมาะสม หรือ มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการตรวจวัด (Specificity) เช่น แอนติบอดี เอนไซม์ แม่พิมพ์โมเลกุล เป็นต้น เมื่อตัวตรวจจับ เข้าจับสารที่เข้าคู่กัน จะเกิดปฏิกิริยา หรือการเปลี่ยนแปลง เช่น สัญญาณทางเคมี เสียง แสง แรง ความร้อน กรด-เบส ทรานดิวเซอร์ก็จะรับสิ่งเหล่านี้มาประมวลผล และเปลี่ยนเป็นสัญญาณ สัญญาณไฟฟ้า เพื่อจะนำไปวิเคราะห์ต่อไป ในส่วนประมวลผล วิเคราะห์สัญญาณที่ได้มาเพื่อให้ได้ค่าที่ถูกต้องและแปลออกมาในลักษณะของสัญญาณดิจิทัล ซึ่งจะได้แสดงออกมาดังที่ผู้ใช้ได้กำหนดขึ้น ให้สัญญาณออกมาในเชิงตัวเลข เช่น ค่าการนำไฟฟ้า ค่าความต่างศักย์ทางไฟฟ้า แผนภูมิกราฟ และรูปแบบต่าง ๆ เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 แสดงองค์ประกอบของไบโอเซนเซอร์ [30]

2.4 ชุดตรวจวัดยาฆ่าแมลง (Pesticide Sensor)

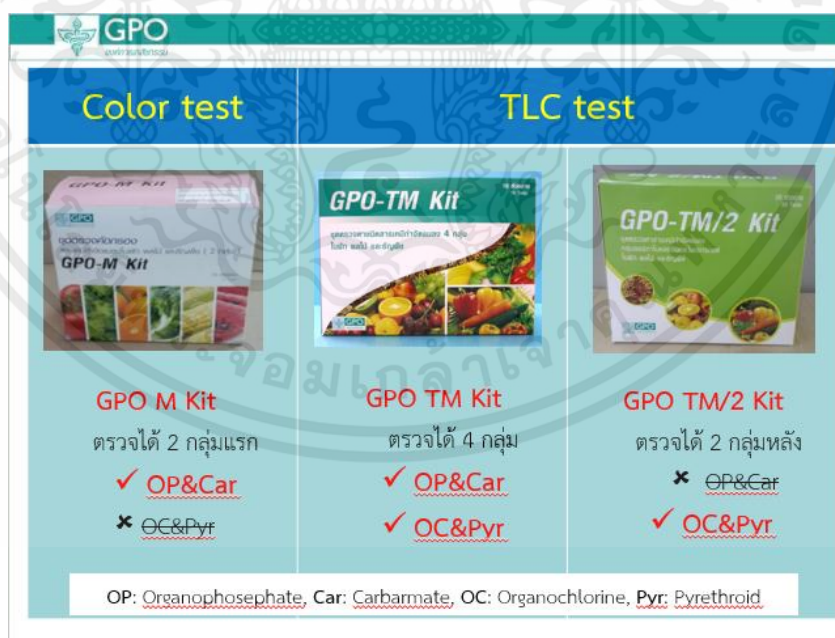
ในปัจจุบันผู้ผลิตจำนวนมากที่ผลิตอุปกรณ์ หรือชุดตรวจวัดสารยาฆ่าแมลงในพืชผัก ผลไม้ และในอาหาร ซึ่งมีทั้งชนิดที่เป็นชุดทดสอบกระดาษ ชุดทดสอบแบบสารละลาย การวิเคราะห์เชิงสัญลักษณ์ต่าง ๆ เช่น สี โดยชุดทดสอบเหล่านี้มีการใช้สารเคมีเพื่อใช้ทำปฏิกิริยาต่าง ๆ โดยแบ่งเป็น 2 แบบ คือ แบบแรกเป็นการใช้เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอร์เรส (AChE) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะกับกลุ่มยาฆ่าแมลงออการ์โนฟอสเฟส (Organophosphate Group) และกลุ่มยาฆ่า

แมลงคาร์บาเมต (Carbamate Group) และแบบที่สองจะเป็นชุดทดสอบแบบไม่ใช้เอนไซม์ คือ การใช้สารเคมีในการทำปฏิกิริยา ซึ่งสามารถใช้ทดสอบกับยาฆ่าแมลงในหลายกลุ่ม

2.4.1 ชุดทดสอบยาฆ่าแมลงโดยองค์การเภสัชกรรม

สำหรับชุดทดสอบยาฆ่าแมลงในพืช ผัก ผลไม้ และอาหาร ที่รับรองโดยองค์การเภสัชกรรม นั้น ได้รับการถ่ายทอดเทคโนโลยีจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งได้รับการจดสิทธิบัตร จากกรมทรัพย์สินทางปัญญา เลขที่คำขอ 0803001487 ชุดตรวจคัดกรองสารเคมีกำจัดแมลงในผัก ผลไม้ และธัญพืช และ เลขที่ 0903000482 ชุดตรวจชนิดสารเคมีกำจัดแมลง 4 กลุ่ม ในผัก ผลไม้ และธัญพืช

ชุดทดสอบยาฆ่าแมลงที่ทางองค์การเภสัชกรรมได้รับการถ่ายทอดเทคโนโลยีจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์นั้น มี 3 แบบ คือ GPO M kit, GPO TM Kit และ GPO TM/2 Kit ดังแสดงในรูปที่ 2.10 โดยชุดทดสอบ GPO M Kit จะใช้ทดสอบกับยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต ส่วน GPO TM KIT จะสามารถทดสอบได้ทั้ง 4 กลุ่มสารกำจัดแมลง ซึ่งรวมไปถึงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน และ ไพเรทรอยด์ และชุดทดสอบ GPO TM/2 Kit จะใช้ได้กับกลุ่มยาฆ่าแมลง 2 กลุ่มหลังเท่านั้น และสำหรับการวิเคราะห์ จะมี 2 แบบ คือ การวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงด้วยสี (Color test) และเทคนิคแยกสารด้วยแผ่นทดสอบโครมาโตกราฟี (TLC test, Thin Layer Chromatography)



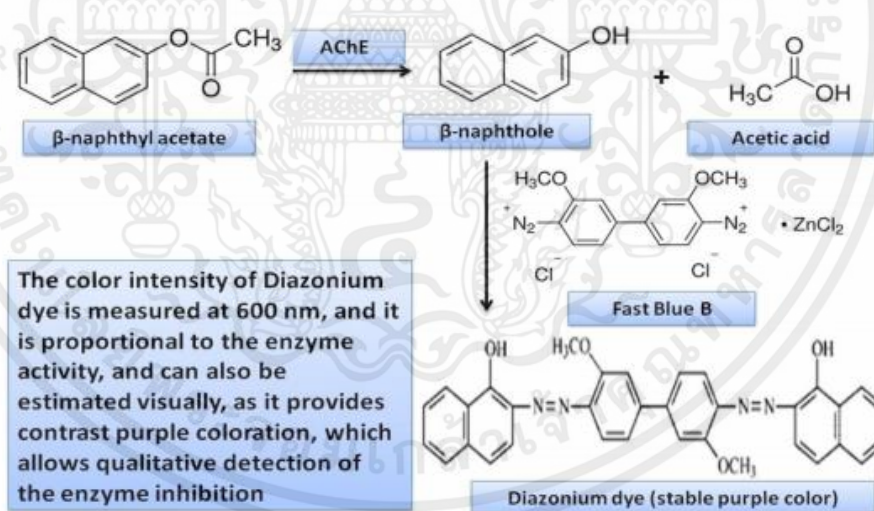
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น, ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
รูปที่ 2.10 แสดงตัวอย่างชุดทดสอบยาฆ่าแมลงที่รับรองโดยองค์การเภสัชกรรม
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้คัดแบบลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 การทดสอบยาฆ่าแมลงด้วยเทคนิคการวิเคราะห์สี (Color test)

จากเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยสีนั้นของสารละลายนั้น จะใช้กับยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต เพราะทั้ง 2 กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ หรือมีความจำเพาะ (Enzyme-Inhibitor) กับเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (AChE) ดังนั้นการทดสอบนี้ จะมีการใช้สารเคมีที่ประกอบด้วย

1. สารละลายเอนไซม์ อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (Acetylcholinesterase)
2. สารละลาย แนพทิล อะซีเตต (Naphthyl Acetate)
3. สารละลายฟาสบลูบีซอลท์ (Fast Blue B Salt)
4. สารละลายยาฆ่าแมลงที่จะทดสอบ

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของสารละลายเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส สารละลายแนพทิลอะซีเตต และ สารละลายฟาสบลูบีซอลท์ จะทำให้เกิดสีเป็นสีม่วง เมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสารแนพทิลอะซีเตตได้มาก จะทำให้ได้สีม่วงที่เข้ม แต่เมื่อเอนไซม์ถูกยับยั้งการทำงานด้วยยาฆ่าแมลงแล้ว จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยามีน้อยลง ซึ่งส่งผลให้สีที่เกิดขึ้นเป็นสีม่วงที่อ่อน ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นดังแสดงในรูปที่ 2.11 ซึ่งจากปฏิกิริยาดังกล่าวถูกใช้งานใน GPO M Kit ทำให้สามารถวิเคราะห์ถึงปริมาณของยาฆ่าแมลงได้ด้วยสี



รูปที่ 2.11 แผนภาพแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสกับแนพทิลอะซีเตตและฟาสบลูบีซอลท์ [31]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

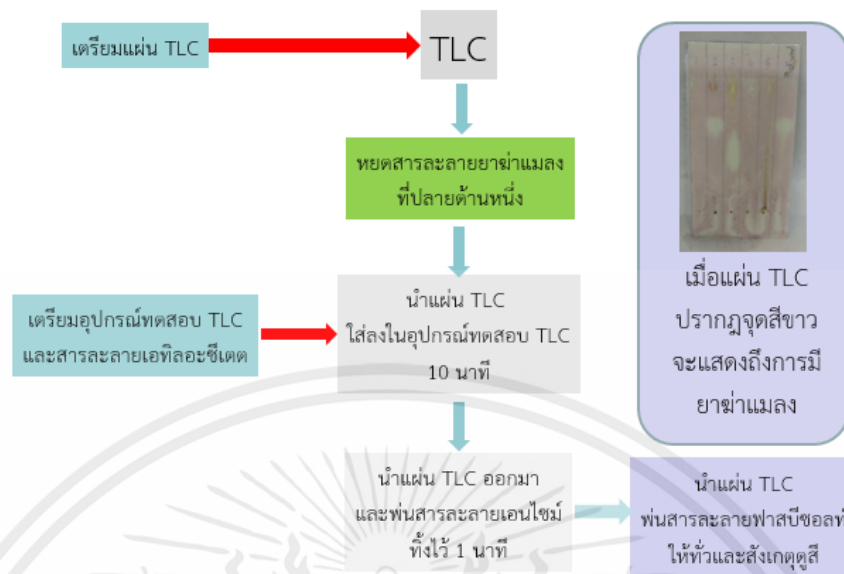
2.4.3 การทดสอบยาฆ่าแมลงด้วยเทคนิคการวิเคราะห์แผ่นโครมาโตกราฟี (Thin Layer Chromatography Test) [32]

ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (TLC) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบสารที่รวดเร็ว สะดวก และราคาไม่แพง นิยมใช้ในการตรวจการดำเนินไปของปฏิกิริยาเคมี ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร ระหว่างกระบวนการแยกสารในขั้นตอนต่าง ๆ ใช้ในการยืนยันชนิดของสาร และสามารถตรวจหาจำนวนองค์ประกอบในของผสม หลักการของ TLC นั้น คล้ายคลึงกับคอลัมน์โครมาโตกราฟี ต่างกันก็เพียงแต่ในกรณีของ TLC วัฏภาคนิ่งจะถูกเคลือบติดไว้ที่แผ่นกระจก แผ่นอลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติกบาง ๆ สารที่จะถูกแถมไว้ที่ใกล้ ๆ ปลายด้านหนึ่งของแผ่นโดยใช้หลอดแคปิลลารี จากนั้นจึงนำแผ่นดังกล่าวไปวางลงในภาชนะที่ใส่วัฏภาคเคลื่อนที่ไว้ตั้ง ๆ เมื่อตัวทำละลายถูกดูดซึมขึ้นไปตามตัวดูดซับด้วย Capillary ก็จะพาสารตัวอย่างขึ้นไปด้วย จึงเกิดการแยกของสารเกิดขึ้นด้วยหลักการเดียวกับคอลัมน์โครมาโตกราฟี ตัวอย่างเช่น หากใช้ซิลิกาเป็นวัฏภาคนิ่ง และใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ สารที่มีขั้วน้อยจะละลายได้ดีในวัฏภาคเคลื่อนที่แต่ถูกดูดซับด้วยวัฏภาคนิ่งได้น้อย จึงเคลื่อนที่ไปได้ดี ด้วยระยะที่มากกว่าสารที่มีขั้วสูง ซึ่งละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ได้น้อย แต่ดูดซับบนวัฏภาคนิ่งได้ดี

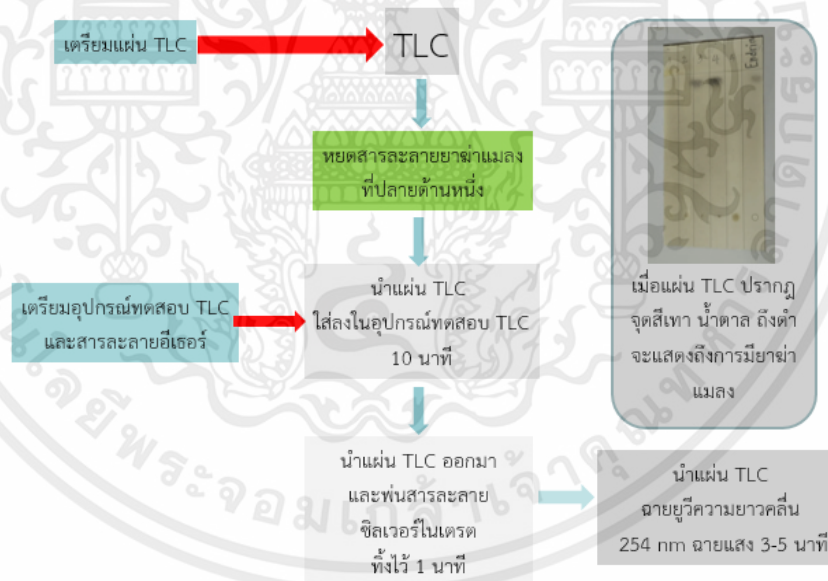
ชุดทดสอบ GPO TM Kit นี้ เป็นการทดสอบโดยใช้แผ่นที่แอลซีในการทดสอบ โดยแบ่งเป็นสองส่วนคือ ส่วนแรกการทดสอบกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต และส่วนที่สองคือกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและ ไพเรทรอยด์

1. GPO TM Kit สำหรับทดสอบยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต
การทดสอบกลุ่มนี้จะใช้สารละลายเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส สารละลาย แนนทิลอะซีเตต สารละลายบลูปีซอลท์ และสารละลายทำละลาย เช่น เอทิลอะซีเตต และแผ่นที่แอลซี โดยทำการทดสอบตามดังรูปที่ 2.12
2. GPO TM Kit สำหรับทดสอบยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและกลุ่มไพเรทรอยด์
การทดสอบยาฆ่าแมลงกลุ่มนี้จะไม่มีการใช้สารละลายเอนไซม์ แต่จะใช้สารละลาย ตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเธอร์ สารละลายอีเธอร์ ซิลเวอร์ไนเตรทเป็นสำคัญ และ จำเป็นต้องใช้เครื่องฉายยูวี 254นาโนเมตร ดังจะเห็นได้จากการทดสอบดังรูปที่ 2.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.12 แสดงการทดสอบแผ่น TLC กับ ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต [32]



รูปที่ 2.13 แสดงการทดสอบแผ่น TLC กับ ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนและไพเรทรอยด์ [32]

ชุดทดสอบยาฆ่าแมลงในประเทศไทยนั้นมีการใช้งานด้วยเทคนิค วิเคราะห์ด้วยสีของสารละลาย และการใช้เทคนิค TLC ซึ่งมีความแม่นยำในระดับหนึ่ง และการวิเคราะห์ด้วยสีของสารละลายนั้น ส่วนใหญ่แล้วจะสามารถบอกถึงระดับของอันตราย หรือปลอดภัยเท่านั้น ไม่สามารถระบุถึงปริมาณยาฆ่าแมลงที่ชัดเจนได้ และด้วยชุดอุปกรณ์ทั้งหมดนี้ จำเป็นที่จะต้องมียุทธศาสตร์ เช่น

หลอดทดลอง หลอดหยด สารเคมีที่จำเป็นต่อการแช่ตู้เย็น สารละลายต่าง ๆ รวมถึงกล่องน้ำอุ่น เทคโนโลยี กล่องรังสี UV ซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นการใช้งานเหล่านี้จึงเหมาะกับการใช้งานในระดับใหญ่ ทำเป็นจำนวนมาก เพื่อให้คุ้มกับค่าใช้จ่ายและต้นทุนที่ซื้ออุปกรณ์ โดยตัวอย่างของชุดทดสอบยาฆ่าแมลงแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ตารางแสดงรายการชุดทดสอบยาฆ่าแมลงที่มีการใช้งานจำหน่ายในประเทศไทย

รายการ	กลุ่มยาฆ่าแมลง				เทคนิค	ช่วงการตรวจวัด		หมายเหตุ
	O P	Ca r	O C	Pyr		ยาฆ่าแมลง	LOD	
GPO M Kit	/	/			Color Test (Solution)			*ชุด ทดสอบไม่ รวม อุปกรณ์ 520 บาท
GPO TM Kit	/	/	/	/	TLC Test	Methomyl Carbofuran Profenofos Dicrotophos Monocrotophos Chlorfenvinphos Chlopyrifos Dichlorvos Cypermethrin Permethrin Deltamethrin Endrin Endosulfan DDT	1.63 ppm 0.52 ppm 0.07 ppm 1.32 ppm 1.29 ppm 0.04 ppm 4.17 ppm 0.05 ppm 0.3 ppm 0.3 ppm 0.2 ppm 0.08 ppm 0.04 ppm 0.04 ppm	*ชุด ทดสอบไม่ รวม อุปกรณ์ 1,500 บาท
GPO TM/2 Kit			/	/				*ชุด ทดสอบไม่ รวม อุปกรณ์ 1,650 บาท
GT Kit	/	/					0.05mg/kg	1 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

								1,900 บาท
MJPK Kit	/	/			Color test (Solution)		0.05mg/kg	750B
PR1	/				TLC test	Chloropyrifos Dimethoate Triazophos Malathion	0.01ppM 0.1ppM 0.1ppM 0.1ppM	
PR2				/	TLC Test	Cyhalothrin Cypermethrin Permethrin Deltamethrin	0.2 ppm 0.2 ppm 0.1 ppm 0.05 ppm	
PR3		/			TLC Test	Methomyl Methamidophos	0.5 ppm 0.1 ppm	

ดังนั้นชุดอุปกรณ์ทดสอบยาฆ่าแมลงทั้งจากทางองค์การเภสัชกรรม หรือชุดทดสอบที่มีการวางจำหน่ายตามท้องตลาด จะใช้เทคนิคการดูสีที่เกิดขึ้นโดยอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์กับสารเคมีซับซ้อน และเทคนิค TLC ซึ่งเทคนิคเหล่านี้ จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์และเครื่องมือ เช่น อุปกรณ์ฉายแสงยูวี กล้องนำอุ่น ชุดอุปกรณ์หลอดทดลองภาชนะต่าง ๆ ที่มีราคาค่อนข้างสูง แต่เหมาะสำหรับการใช้งานระยะยาว และใช้เพื่อทดสอบตัวอย่างจำนวนมาก ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่เกี่ยวกับการพัฒนาระบบการวัดยาฆ่าแมลง เพื่อให้ใช้ได้สะดวกและง่ายต่อการใช้งานมากขึ้น

2.5 อุปกรณ์ไอส์เฟต (Ion Sensitive Field Effect Transistor, ISFET)

อุปกรณ์ไอส์เฟต หรือ Ion Sensitive Field Effect Transistor (ISFET) เป็นอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์แบบหนึ่ง ที่ถูกนำมาพัฒนาจากอุปกรณ์มอสเฟต (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor: MOSFET) โดยการเกิดจากการแยกชั้นขาเกตของโลหะออกจากอุปกรณ์มอสเฟตจากรูปที่ 2.14 เพื่อให้ชั้นฉนวนของออกไซด์ ได้สัมผัสโดยตรงกับสารละลาย และวัดสมบัติทางไฟฟ้า จะพบว่า ค่าศักย์ไฟฟ้า ณ บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นฉนวนกับสารละลาย และค่ากระแสในช่องทางเดินของกระแส (Channel) จะมีการเปลี่ยนแปลง โดยขึ้นกับค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย หรือค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน (H^+) ในระบบที่สัมผัสอยู่กับช่องกระแส นั้น ดังนั้นหลักการของการตอบสนองของต่อค่าความเป็นกรดต่าง สามารถอธิบายได้ด้วยโครงสร้าง MIS และ EIS ส่วนการทำงานของไอส์เฟตนั้นจะสามารถอธิบายได้โดยการดัดแปลงแบบจำลองทางไฟฟ้าของอุปกรณ์มอสเฟต

อีสเฟตนี้ เป็นอุปกรณ์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่างในสารละลาย ซึ่งในงานวิจัยชิ้นนี้ได้สนใจนำอุปกรณ์อีสเฟตมาประยุกต์ใช้งานสำหรับการตรวจวัดยาฆ่าแมลง ในกระบวนการที่มีความจำเพาะร่วมกับเอนไซม์

IEEE SENSOR CONFERENCE TORONTO, OCTOBER 2003

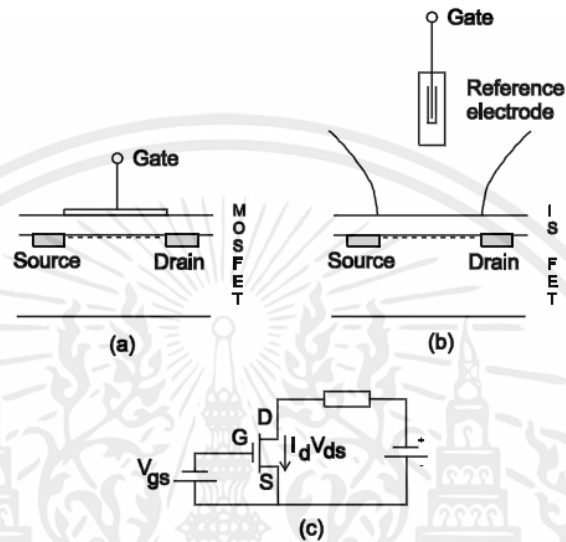


Fig. 2
(a) Schematic diagram of a MOSFET; (b) schematic diagram of an ISFET;
(c) schematic electrical diagram for both, MOSFET and ISFET.

รูปที่ 2.14 แผนภาพแสดงโครงสร้างของอุปกรณ์ a) MOSFET b) ISFET c) โครงสร้างทางไฟฟ้าของอุปกรณ์ MOSFET และ ISFET [5]

2.5.1 หลักการตอบสนองของอีสเฟตต่อค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายในระบบ [33]

1. โครงสร้าง MIS (Metal – Insulator - Semiconductor)

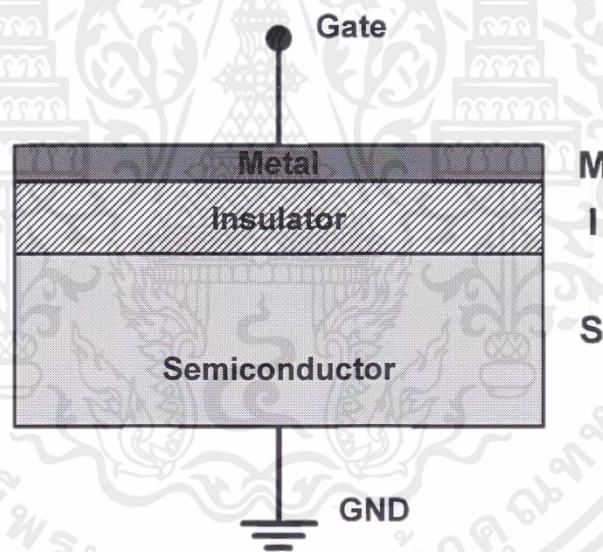
โครงสร้าง MIS เป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วยชั้นของโลหะ ฉนวน และสารกึ่งตัวนำ โดยชั้นของฉนวนอยู่ตรงกลางระหว่างชั้นของโลหะและสารของชั้นกึ่งตัวนำ โดยทั่วไปชั้นของโลหะ นิยมใช้เป็นอลูมิเนียม ชั้นของฉนวนสามารถใช้วัสดุฉนวนได้ทุกชนิด ส่วนชั้นของสารกึ่งตัวนำนิยมใช้ซิลิคอนซึ่งใช้ได้ทั้งซิลิคอนชนิดเอ็น (n-type) และชนิดพี (p-type)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้ง โครงสร้าง MIS อาจเรียกว่าโครงสร้าง MOS (Metal Oxide Semiconductor) เนื่องจากพื้นฐานฉนวนที่ใช้เป็นฟิล์มออกไซด์ ขั้วไฟฟ้าด้านโลหะถูกเรียกว่า เกต ขั้วไฟฟ้าด้าน

สารกึ่งตัวนำซึ่งเป็นฐานรอง มักจะทำหน้าที่เป็นกราวด์ ดังแสดงในรูปที่ 2.15 โครงสร้าง MIS ในอุดมคติมีลักษณะดังนี้

1. ชั้นโลหะมีความหนาเพียงพอเมื่อได้รับแรงดันไฟฟ้าจึงมีศักย์ไฟฟ้ากระจายอย่างสม่ำเสมอ ทำให้ความต้านทานภายในชั้นโลหะมีค่าเข้าใกล้ศูนย์
2. ชั้นฉนวน มีความเป็นฉนวนที่สมบูรณ์ ไม่มีกระแสไฟฟ้าไหลผ่านแม้ว่าจะได้รับแรงดันไฟฟ้า ชั้นฉนวนต้องมีความต้านทานสูงเป็นอนันต์
3. ชั้นสารกึ่งตัวนำถูกเติมสารเจืออย่างสม่ำเสมอ และมีความหนาเพียงพอที่จะทำให้เกิดบริเวณปลอดสนามไฟฟ้า
4. ไม่มีจุดไฟฟ้าใดๆสะสมอยู่ภายใต้ฉนวนหรือที่ผิวสัมผัสระหว่างฉนวนกับสารกึ่งตัวนำ
5. ประจุไฟฟ้าใดๆ ที่มี จะสะสมอยู่ที่สารกึ่งตัวนำบริเวณผิวสัมผัสระหว่างฉนวนกับสารกึ่งตัวนำ และที่โลหะ ด้านที่สัมผัสกับฉนวน
6. ขั้วไฟฟ้าทั้งสองด้านของโครงสร้างต้องมีสมบัติเป็นรอยสัมผัสแบบโอห์มิก
7. ในการวิเคราะห์จะพิจารณา 1 มิติ
8. ค่าฟังก์ชันงานโลหะและของสารกึ่งตัวนำถูกพิจารณาว่ามีค่าเท่ากัน

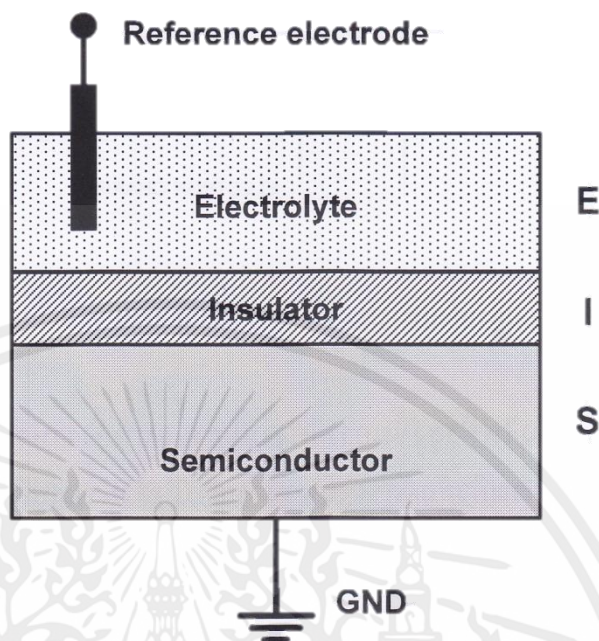


รูปที่ 2.15 โครงสร้าง MIS พื้นฐาน [33]

2. โครงสร้าง EIS

โครงสร้าง EIS เป็นโครงสร้างที่ปรับปรุงมาจากโครงสร้าง MIS โดโนโลหะจะถูกแทนที่ด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) รูปที่ 2.16 วัตถุประสงค์ของโครงสร้างนี้เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางไฟฟ้าของฉนวนกับสารละลาย

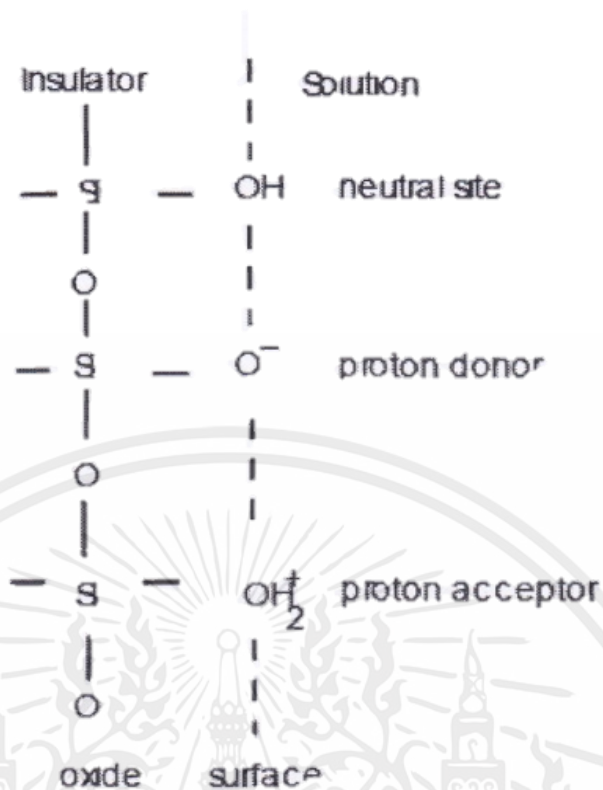
ซึ่งสามารถใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของประจุในกระบวนการเคมีและชีววิทยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 2.16 โครงสร้าง EIS พื้นฐาน [33]

ที่ผิวของฉนวนจะประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งโดยปกติจะมีความสมดุลทางเคมี เพราะจะจับกับไอออนของสารละลายที่มาสัมผัส ตัวอย่างเช่นในกรณีของฉนวนที่เป็นซิลิคอนไดออกไซด์จะมีหมู่ไฮดรอกซิลเป็น Si-OH โดยหมู่ไฮดรอกซิลที่รวมตัวกันที่รอยต่อของซิลิคอนไดออกไซด์กับสารละลาย และกลไกการตอบสนองของประจุออกไซด์ที่ผิวสามารถอธิบายได้จากสมดุลทางเคมีที่ผิวของ Si-OH ซึ่งเป็นได้ทั้งกรดและด่าง (Amphoteric) และไอออนของไฮโดรเจนในสารละลาย เมื่อฉนวนเชื่อมต่อกับสารละลาย การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของศักย์ไฟฟ้าที่ผิว ดังแสดงในรูปที่ 2.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.17 สมดุลระหว่างผิวที่เป็นได้ทั้งกรดและด่างของ Si-OH [33]

2.5.2 ทรานซิสเตอร์แบบมอส

มอสทรานซิสเตอร์ หรือ มอสเฟต เป็นทรานซิสเตอร์ที่นำเอาโครงสร้างมอส (Metal Oxide Semiconductor: MOS) มาประยุกต์ใช้งาน โดยใช้เป็นส่วนขาเกตของทรานซิสเตอร์ เพื่ออาศัยผลของสนามไฟฟ้าที่ขาเกตเหนี่ยวนำประจุในสารกึ่งตัวนำ ทำให้เกิดเป็นชั้นกลับ (Inversion layer) หรือที่เรียกว่า “แชนแนล” (Channel) ซึ่งเป็นช่องทางเดินมาในแชนแนล จะขึ้นกับแรงดันที่ขาเกต ดังนั้นแรงดันที่ขาเกตซึ่งเป็นแรงดันต้านอินพุต (input) จึงสามารถควบคุมการนำกระแสระหว่างขาซอส-ชาเดรน (Source-Drain) ซึ่งเป็นกระแสด้านเอาต์พุตได้ การทำงานของทรานซิสเตอร์นี้เกิดจากผลของสนามไฟฟ้าที่ขาเกตในแนวตั้ง (Vertical electric field) จะเหนี่ยวนำให้เกิดแชนแนล และผลของสนามไฟฟ้าระหว่างขาซอส - ชาเดรนในแนวนอน (Horizontal electric field) จะทำให้พาหะในแชนแนลมารวมกัน จึงทำให้ทรานซิสเตอร์ทำงานได้ ดังนั้นทรานซิสเตอร์ชนิดนี้จึงอาจถูกเรียกว่า “ทรานซิสเตอร์ผลของสนามไฟฟ้า” เรียกชื่อเต็ม ๆ ว่า MOSFET เพื่อให้รู้ว่าส่วนขาเกตมีโครงสร้างแบบมอสนั่นเอง และเนื่องจากส่วนของชั้นออกไซด์มีคุณสมบัติเป็นฉนวน

เมื่อพิจารณาจากลักษณะคุณสมบัติและโหมดการทำงาน สามารถจัดแบ่งมอสเฟตได้เป็นสองชนิด คือ

1. มอสเฟตชนิด เอ็นฮานซ์เมนต์ (Enhancement MOSFET) หรือมอสเฟตชนิดแชนแนล เกิดจากการเหนี่ยวนำ (Induced channel MOSFET) หมายถึง มอสทรานซิสเตอร์ซึ่งมีแรงดันที่

ขาเกตเป็นศูนย์โวลต์ จะไม่มีแชนแนลเกิดขึ้น กระแสขาเดรนไม่ไหล ทรานซิสเตอร์อยู่ในภาวะ OFF แต่เมื่อขาเกตได้รับแรงดันที่เหมาะสมและมากพอ สนามไฟฟ้าที่ขาเกตจะเหนี่ยวนำให้เกิดแชนแนลขึ้นที่ผิวของสารกึ่งตัวนำ ทำให้มีกระแสขาเดรนไหลได้

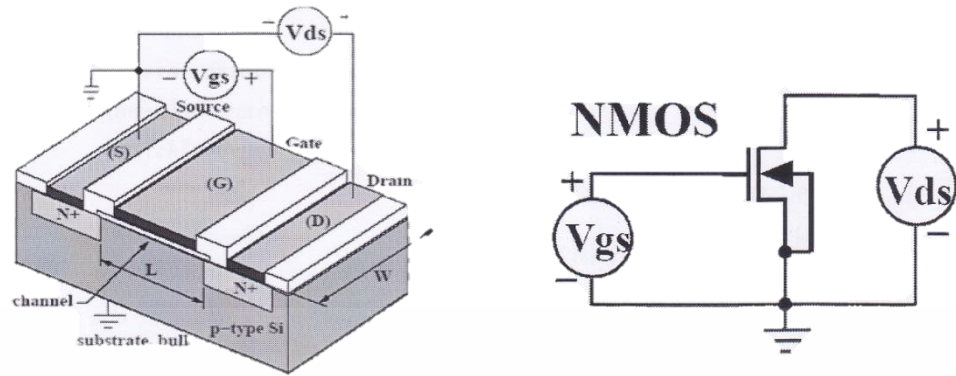
2. มอสเฟตชนิด ดีพลีชัน (Depletion MOSFET) หรือ มอสเฟตชนิดแชนแนลเกิดจากการแพร่สารเจือ หมายถึง มอสทรานซิสเตอร์ซึ่งแม่แรงดันที่ขาเกตเป็นศูนย์โวลต์ ก็มีแชนแนลเกิดขึ้นได้ ทั้งนี้เนื่องจากการแพร่อะตอมสารเจือเพื่อให้เกิดเป็นแชนแนล ดังนั้น กระแสขาเดรนสามารถไหลได้ แม่แรงดันที่ขาเกตเป็นศูนย์

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจากชนิดของพาหะที่นำกระแสในทรานซิสเตอร์ สามารถแบ่งมอสเฟตได้ 2 ชนิด คือ มอสเฟตชนิดเอ็มแชนแนล หรือ เอ็นมอส หมายถึง มอสทรานซิสเตอร์ซึ่งกระแสเกิดจากการนำไฟฟ้าของอิเล็กตรอนในแชนแนลชนิดเอ็น และ มอสเฟตชนิดพีแชนแนล หรือ พีมอส หมายถึงมอสทรานซิสเตอร์ ซึ่งกระแสเกิดจากการนำไฟฟ้าของโฮลในแชนแนลชนิดพี

เนื่องจากพื้นฐานของตัวอุปกรณ์อีเอสเฟต มีลักษณะโครงสร้างเหมือนกับมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ ชนิดเอ็นแชนแนล ดังนั้นในส่วนนี้จะขออธิบายเฉพาะมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ชนิดเอ็นแชนแนลเท่านั้น

ลักษณะโครงสร้างและสัญลักษณ์ของมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ชนิดเอ็นแชนแนลแสดงดังในรูปที่ 2.18 โดยมีโครงสร้างซึ่งประกอบด้วยชั้นฐานรอง (Substrate: SS) เป็นส่วนกึ่งตัวนำชนิดพี บางครั้งชั้นฐานรองนี้ถูกเรียกว่า “บอดี้” (Body : B) ส่วนขาซอส (source: S) และส่วนขาเดรน (drain: D) ถูกสร้างขึ้นด้วยการเติมอะตอมสารเจือชนิดเอ็นอย่างเข้มข้น (n+) เข้าไปในฐานรองชนิดพี ระยะห่างระหว่างขาซอสและขาเดรนถูกพิจารณาว่าเป็นความยาวของแชนแนล ส่วนขาเกตของทรานซิสเตอร์คือโครงสร้างมอส ซึ่งถูกสร้างขึ้นและอยู่ระหว่างขาซอสกับขาเดรน จากนั้นขั้วสัมผัสโอห์มมิคจะถูกสร้างขึ้นบนส่วนทั้งสามของทรานซิสเตอร์ ขั้วไฟฟ้าของมอสจึงมีสามขั้วคือ ขั้วขาซอส (source) ขาเกต (gate) และ ขาเดรน (drain)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



a. โครงสร้าง

b. สัญลักษณ์

รูปที่ 2.18 a) ลักษณะโครงสร้าง และ b) สัญลักษณ์ของมอสทรานซิสเตอร์ชนิดเอ็นแชนแนลแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ [33]

คุณสมบัติและการทำงานของมอสเฟต

ในกรณีที่พิจารณาว่าไม่มีสถานะผิว (surface state) ใด ๆ ปรากฏอยู่ที่ผิวสัมผัสระหว่าง Si - SiO₂ ดังนั้นที่แรงดันขากเกต $V_{GS} = 0V$ จึงไม่มีแชนแนลเกิดขึ้น และแม้จะมีแรงดันขาคเรน $V_{DS} > 0$ ก็ตาม กระแสขาคเรน $I_{DS} = 0$ ในภาวณี้ถือว่าทรานซิสเตอร์อยู่ในสภาวะ OFF แต่เมื่อได้รับแรงดันขากเกตเป็นบวก $V_{GS} = 0V$ และมากพอที่จะทำให้สนามไฟฟ้าที่ขึ้นออกไซด์สามารถเปลี่ยนเหนียวนาให้เกิดแชนแนลชนิดเอ็นได้ หรือ $V_{GS} > V_T$ แชนแนลที่เกิดขึ้นจะต่อเชื่อมระหว่างขาซอสและ ขาคเรน และเป็นช่องทางเดินของกระแสขาคเรน โดนกระแสขาคเรนจะเพิ่มขึ้นกับแรงดันขาคเรนในช่วงแรก และเมื่อแรงดันขาคเรนเพิ่มขึ้นในที่สุด จะถึงค่าแรงดันพินชออฟ (Pinch off voltage : V_p) หรือแรงดันอิ่มตัว และเขียนได้ว่า

$$(V_{GS} - V_{DS(sat)}) = V_T \quad (2.3)$$

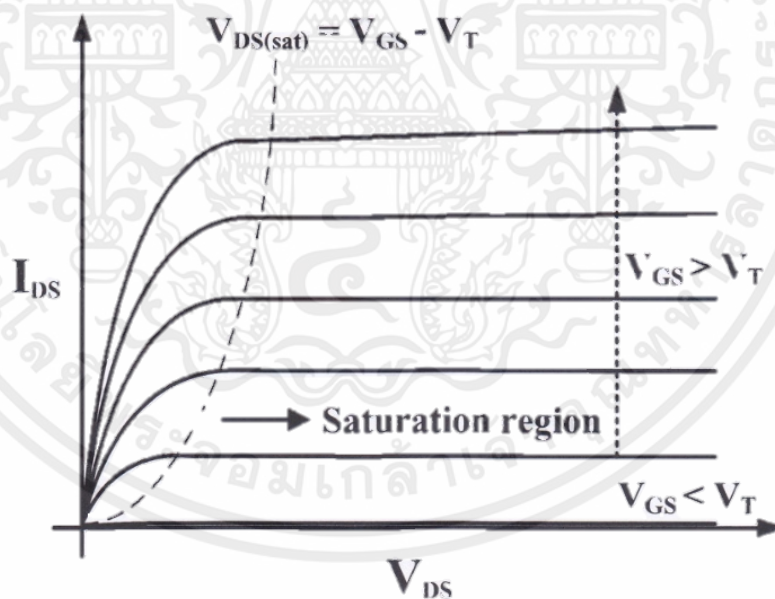
$$V_p = V_{DS(sat)} = (V_{GS} - V_T) \quad (2.4)$$

จากสมการที่ 2.4 แรงดันอิ่มตัว $V_{DS(sat)}$ จะแปรตามแรงดันขากเกต V_{GS} เมื่อแรงดันขากเกตเพิ่มขึ้นกระแสขาคเรนอิ่มตัวจะเพิ่มขึ้นด้วย และเป็นไปตามสมการที่ 2.5
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$I_{DS(sat)} = \frac{V_{DS(sat)}}{R_{eff(n-ch)}} = \frac{V_{GS} - V_T}{R_{eff(n-ch)}} \quad (2.5)$$

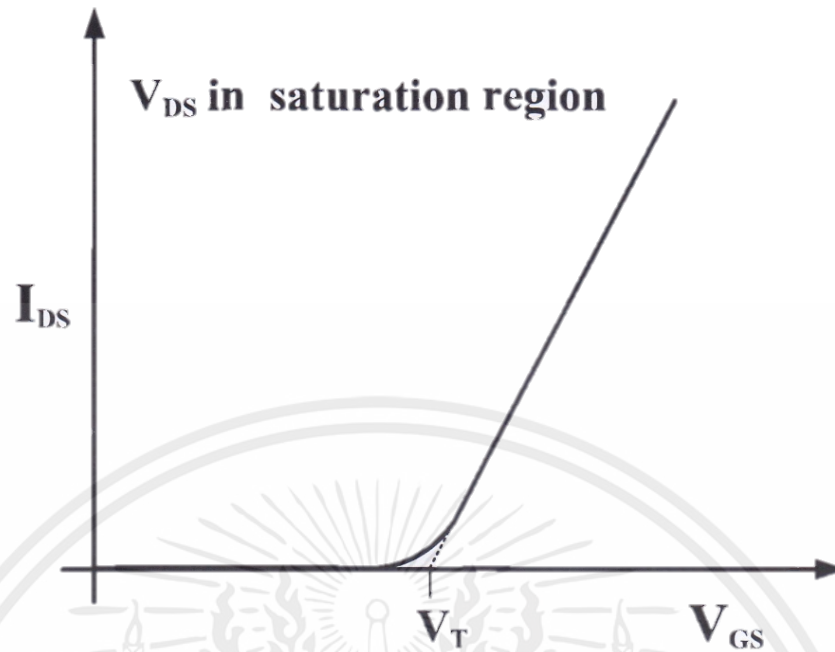
ดังนั้นคุณสมบัติ $I_{DS} - V_{DS}$ ของมอสเฟตแบบเอ็นฮานซ์เมนต์ชนิดเอ็นแชนแนล ที่แรงดันขาเกตคงที่ค่าต่าง ๆ จึงแสดงได้ดังในรูปที่ 2.19 และกราฟความสัมพันธ์ของ $I_{DS} - V_{DS}$ ในขณะที่ยู่ในย่านไม่อิ่มตัว แสดงได้ดังในรูปที่ 2.20

ซึ่งกราฟนี้สามารถแสดงค่าของแรงดันขีดเริ่ม V_T ได้ เนื่องจากแรงดันขาเกต V_{GS} ที่ต่ำกว่าแรงดันขีดเริ่ม V_T กระแสขาเดรน $I_{DS} \approx 0$ และเมื่อแรงดันขาเกต V_{GS} สูงกว่าแรงดันขีดเริ่ม V_T ทำให้มีกระแสขาเดรนอิ่มตัว $I_{DS(sat)}$ ค่าต่าง ๆ แรงดันขาเกต V_{GS} ทำให้กระแสขาเดรนเริ่มไหลได้ จึงถูกพิจารณาว่าเป็นแรงดันขีดเริ่ม (Threshold voltage: V_T) นอกจากนี้กราฟ $I_{DS} - V_{DS}$ ยังแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสขาเดรนซึ่งเป็นกระแสเอาต์พุตในวงจรของขาเดรน-ขาซอส กับแรงดันขาเกตซึ่งเป็นแรงดันอินพุต ซึ่งแรงดันขาเกตสามารถควบคุมหรือส่งเสริม สนับสนุนให้กระแสขาเดรนมีค่าเพิ่มขึ้นได้นั่นเอง



รูปที่ 2.19 คุณสมบัติ $I_{DS} - V_{DS}$ ที่แรงดัน V_{GS} คงที่ต่าง ๆ ของมอสเฟตชนิดเอ็นแชนแนล [33]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.20 คุณสมบัติ $I_{DS} - V_{DS}$ ในขณะที่ย่านไม่อิ่มตัวของมอสเฟสชนิดเอ็นแชนแนล [33]

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสชาเดรน I_{DS} แรงดันชาเดรน V_{DS} แรงดันชาเกต V_{GS} และแรงดันขีดเริ่ม V_T สามารถอธิบายได้ด้วยย่านการทำงานซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ย่าน คือ ย่านไม่อิ่มตัว (Non - saturation region) เมื่อแรงดัน $V_{DS} \leq V_{GS} - V_T$ อธิบายดังสมการที่ 2.6 และย่านอิ่มตัว (saturation region) เมื่อ $V_{DS} \geq V_{GS} - V_T$ แสดงดังสมการที่ 2.7

$$I_{DS} = \beta \left[(V_{GS} - V_T) V_{DS} - \frac{V_{DS}^2}{2} \right] \quad (2.6)$$

$$I_{DS} = \frac{\beta}{2} (V_{GS} - V_T)^2 \quad (2.7)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ β คือ “ พารามิเตอร์ของมอสเฟตมีค่าเท่ากัน ”

$$\beta = C_i \mu_n \frac{W}{L} \quad (2.8)$$

เมื่อ	μ_n	คือ สภาพคล่องของประจุพาหะ
	C_i	คือ ค่าความจุไฟฟ้าของชั้นฉนวนต่อพื้นที่
	W	คือ ความกว้างขาคเกต
	L	คือ ความขาคเกต
	V_T	คือ ค่าแรงดันขีดเริ่ม

ค่าพารามิเตอร์ที่สำคัญที่สุดอย่างหนึ่งของอุปกรณ์มอสเฟต คือค่าแรงดันขีดเริ่ม หมายถึง แรงดันไบอัสที่ขาคเกตค่าน้อยที่สุด ซึ่งทำให้เกิดภาวะ “ สตรองอินเวอร์ชัน ” กล่าวคือเป็นค่าแรงดันที่ทำให้อุปกรณ์มอสเฟตเริ่มทำงาน แสดงดังสมการที่ 2.9

$$V_T = V_{FB} - \frac{Q_{dm}}{C_i} + 2\psi_F \quad (2.9)$$

โดยที่ค่าแรงดันแถบเรียบของมอสเฟต หรือ Flat band voltage ซึ่งเราใช้สัญลักษณ์ย่อเป็น V_{FB} มีเท่ากับสมการที่ 2.10

$$V_{FB(MOSFET)} = \phi_m - \phi_s \quad (2.10)$$

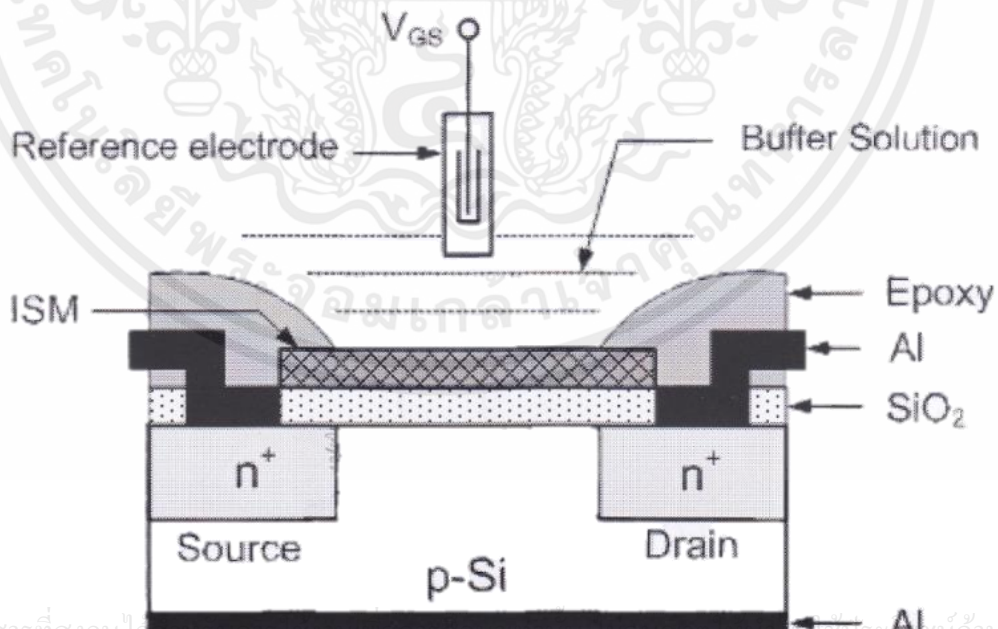
เมื่อ	ψ_F	คือ ศักย์เฟอร์มิ
	ϕ_m	คือ ฟังก์ชันงานของโลหะ
	ϕ_s	คือ ฟังก์ชันงานของสารกึ่งตัวนำ
	Q_{dm}	คือ ความหนาแน่นของประจุไฟฟ้าใน บริเวณปลอดพาหะของสารกึ่งตัวนำมี ค่าสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 อุปกรณ์ไอส์เฟต (ISFET)

1. โครงการสร้างอุปกรณ์ไอส์เฟต

โครงสร้างของอุปกรณ์ไอส์เฟต (Ion Sensitive Field Effect Transistor : ISFET) โดยพื้นฐานถูกพัฒนามาจากโครงสร้างของมอสทรานซิสเตอร์ หรือมอสเฟต แบบ เอ็นฮานซ์เมนท์ ชนิด เอ็นแซนแนล ซึ่งพัฒนาให้ตอบสนองต่อความเป็นกรด-ด่าง ได้โดยกรกำจัดขาคเกตโลหะออก เพื่อให้ชั้นขาคเกตออกไซด์ หรือชั้นฉนวนสัมผัสกับสารละลายโดยตรง และใช้ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงชนิด Ag/AgCl แทนขาคเกตโลหะ แสดงดังรูปที่ 2.21 โดยชั้นขาคเกตออกไซด์ หรือ ชั้นที่ไวต่อไอออน (Ion Sensing Membrane: ISM) เป็นส่วนสำคัญของโครงสร้างไอส์เฟต และมีการใช้โครงสร้างชั้นขาคเกตฉนวนมากกว่าหนึ่งชั้น สำหรับฉนวนที่สัมผัสกับฐานรองซิลิคอน นิยมใช้ฟิล์มซิลิคอนออกไซด์ที่ปลูกจากกระบวนการออกซิเดชันด้วยความร้อน เนื่องจากคุณสมบัติการอินเทอร์เฟตที่ดี ชั้นเมมเบรนที่ไวต่อไอออนบนซิลิคอนไดออกไซด์ มีความสำคัญมากสำหรับการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง เนื่องจากเป็นชั้นป้องกันไม่ให้ไอออนทะลุผ่านเข้าไปยังรอยสัมผัสของซิลิคอนไดออกไซด์ กับ ซิลิคอน กล่าวคือสามารถแสดงถึงการเลือก และความสามารถในการตอบสนองต่อความเป็นกรด-ด่าง หรือปริมาณไอออนในสารละลาย ตัวอย่างของชั้นเมมเบรนที่ไวต่อไอออนเหนือชั้นซิลิคอนไดออกไซด์ เช่น ซิลิคอนไนไตรด์ (Si_3N_4) อะลูมินา (Al_2O_3) ไทเทเนียมออกไซด์ (TiO_2) และแทนทาลัมเพนทอกไซด์ (Ta_2O_5) ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการออกแบบอุปกรณ์ไอส์เฟตอีกอย่างหนึ่งคือ การบรรจุภัณฑ์ที่ต้องการให้ชั้นเมมเบรนที่ไวต่อไอออนเท่านั้นที่สัมผัสกับสารละลาย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.21 แผนภาพโครงสร้างของอุปกรณ์ไอส์เฟต [33]

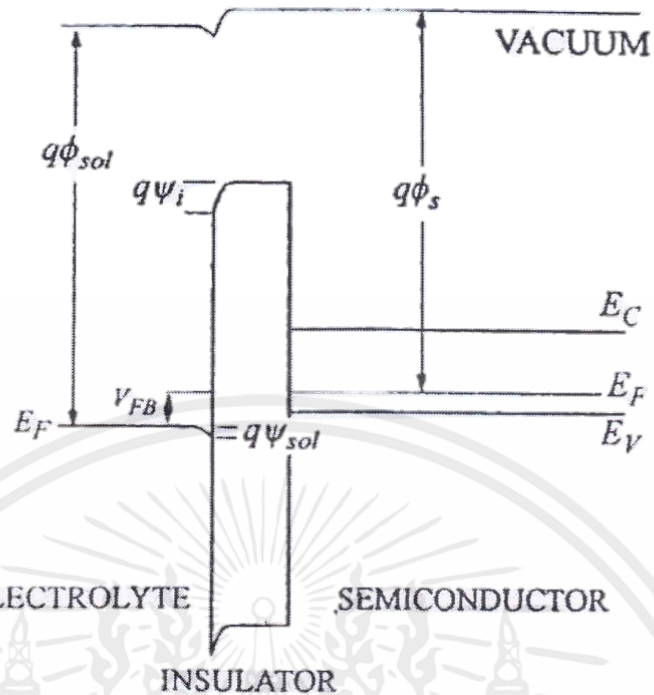
2. คุณสมบัติและการทำงานของอุปกรณ์อีเอสเฟต

หลักการทำงานของอุปกรณ์อีเอสเฟต ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ โครงสร้าง *EIS* สามารถอธิบายได้โดยการเปรียบเทียบกับอุปกรณ์มอสเฟต ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือโครงสร้าง *MIS* อุปกรณ์อีเอสเฟตเกิดจากอุปกรณ์มอสเฟตที่ถูกแยกขาเกตโลหะออกจากตัวอุปกรณ์เพื่อทำหน้าที่เป็นขั้วอ้างอิงแล้วนำไปจุ่มในสารละลาย โดยให้บริเวณชั้นฉนวนหรือเมมเบรนที่ไวต่อไอออนสัมผัสกับสารละลาย

การทำงานของอุปกรณ์ทั้งสองชนิดขณะที่อยู่ในช่วงไม่อิ่มตัว (*non-saturated*) ค่าของกระแส (I_{DS}) จะขึ้นอยู่กับ การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนในชั้นอินเวอร์ชัน (μ_n) ความจุไฟฟ้าของฉนวนและอัตราส่วนความกว้างต่อความยาวของช่องทางเดินของกระแส นอกจากนี้ยังขึ้นกับค่าแรงดันขีดเริ่ม (V_T) ซึ่งเป็นตัวแปรที่ขึ้นกับฟังก์ชันงานของวัสดุ (Φ)

ค่าแรงดันขีดเริ่มสำหรับอุปกรณ์มอสเฟตจะมีความคงที่ ส่งผลให้กระแส (I_{DS}) จะขึ้นกับแรงดันไฟฟ้าที่ขาเกต (V_{GS}) เพียงอย่างเดียว เมื่อแรงดันไฟฟาระหว่างขาเดรนกับขาซอส (V_{DS}) มีค่าคงที่สำหรับอุปกรณ์อีเอสเฟตค่าแรงดันขีดเริ่มไม่ได้เป็นค่าตัวแปรที่คงที่เปรียบเทียบกับจากศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นบริเวณรอยต่อระหว่างขั้วไฟฟ้าอ้างอิง-สารละลาย-ฉนวนซึ่งศักย์ไฟฟ้าบริเวณรอยต่อระหว่างชั้นฉนวนกับสารละลายจะเปลี่ยนแปลง เมื่อชั้นฉนวนสัมผัสกับสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง แตกต่างกัน ทำให้สามารถหาค่าการตอบสนองจากการพิจารณาค่าแรงดันขีดเริ่มได้ ดังนั้นระดับพลังงานต่าง ๆ สามารถอธิบายได้โดยอาศัยแผนภาพแถบพลังงานดังในรูปที่ 2.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



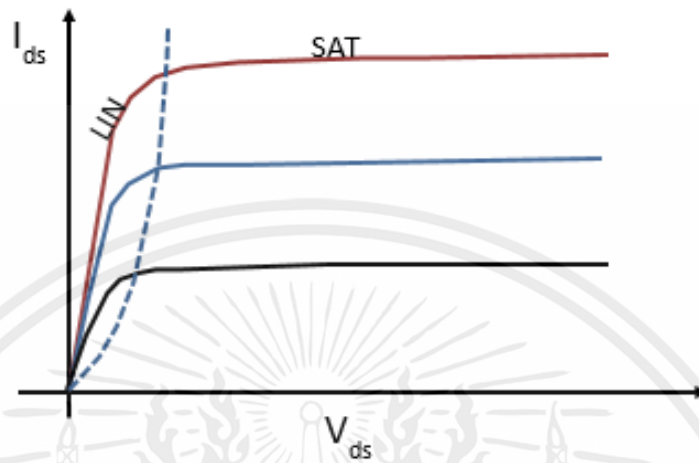
รูปที่ 2.22 ลักษณะแถบพลังงานของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ฉนวน และสารกึ่งตัวนำ [33]
 เมื่อพิจารณาลักษณะแถบพลังงานในรูปที่ 2.21 สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของค่า
 แรงดันแถบเรียบของอุปกรณ์ไอส์เฟตได้ดังสมการที่ 2.11

$$V_{FB(ISFET)} = \phi_{sol} - \psi_i + \psi_{sol} - \phi_s \quad (2.11)$$

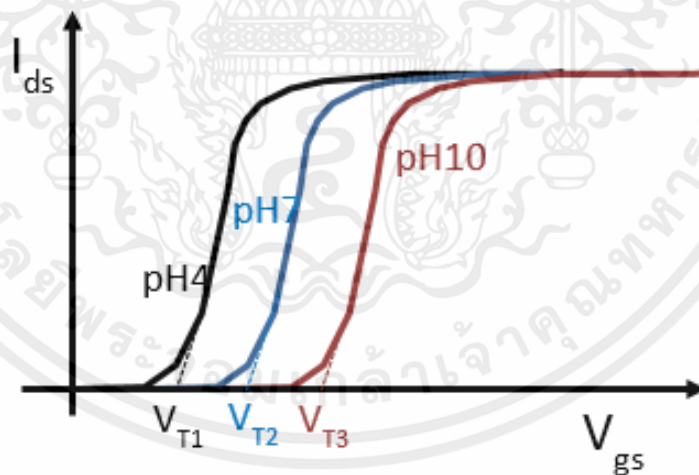
- เมื่อ ϕ_{sol} คือ ฟังก์ชันงานของสารละลาย
- ϕ_s คือ ฟังก์ชันงานของสารกึ่งตัวนำ
- ψ_i คือ ศักย์ไฟฟ้าบริเวณรอยต่อชั้นฉนวนกับ สารละลาย
- ψ_{sol} คือ ศักย์ไฟฟ้าที่ตกคร่อมด้านสารละลายแต่ละชนิด

นอกจากนี้ความเข้มข้นปริมาณไฮโดรเจนไอออนไม่ส่งผลต่อศักย์ไฟฟ้าที่ตกคร่อม
 ด้านสารละลายแต่ละชนิด แต่จะขึ้นอยู่กับศักย์ไฟฟ้าบริเวณรอยต่อชั้นฉนวนกับสารละลาย ผลของ
 การที่ไอออนสัมผัสผิวหน้าของชั้นฉนวน ส่งผลให้กระแสชาเตรนของอุปกรณ์ไอส์เฟต เกิดการ
 เอกสารนี้เป็นที่เปลี่ยนแปลง เนื่องจากค่าพารามิเตอร์ ψ_i ส่งผลให้แรงดัน V_{FB} และ V_T มีการเปลี่ยนแปลง
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งที่ คุณสมบัติกระแส - แรงดัน ($I_{DS} - V_{DS}$) ของอุปกรณ์ไอส์เฟต เมื่อแรงดันขาเกตหรือ
 แรงดันที่ป้อนให้กับขั้วไฟฟ้าอ้างอิงมีค่าคงที่ค่าต่าง ๆ แสดงดังในรูปที่ 2.23 และกราฟความสัมพันธ์

ระหว่างกระแสชาเตรนและแรงดันขาเกต ($I_{DS} - V_{GS}$) ในสารละลายค่า pH ต่างๆ แสดงดังในรูปที่ 2.24



รูปที่ 2.23 คุณสมบัติ $I_{DS} - V_{DS}$ ที่แรงดัน V_{GS} คงที่ค่าต่างๆ [33]



รูปที่ 2.24 คุณสมบัติ $I_{DS} - V_{GS}$ ในสารละลายตัวอย่างค่า pH 4, 7 และ 10 ที่ V_{DS} มีค่าคงที่

จากกราฟในรูปที่ 2.23 สามารถแสดงค่าของแรงดันขีดเริ่ม (V_T) ได้ เนื่องจากแรงดันขาเกต (V_{GS}) ที่ต่ำกว่าแรงดันขีดเริ่ม กระแสชาเตรนจะมีค่าประมาณศูนย์ และเมื่อแรงดันขาเกตสูงกว่าแรงดันขีดเริ่ม ทำให้มีกระแสค่าต่างๆ นอกจากนี้กราฟ $I_{DS} - V_{GS}$ ในรูปที่ 2.24 ยังแสดง

ความสัมพันธ์ระหว่างแรงดันขั้วต้วกับค่า pH ทำให้สามารถวิเคราะห์ผลการตอบสนองต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ได้เนื่องจากแรงดันขั้วต้วเริ่มจะแปรผันกับค่า pH หรือค่าความเป็นกรด-ด่าง นั้นเอง

สำหรับอุปกรณ์ อีสเฟต ที่ใช้ในการทดลองนี้ จะมีโครงสร้าง ตามรูปที่ 2.21 ซึ่งได้มาจาก ศูนย์วิจัยและพัฒนาอิเล็กทรอนิกส์แห่งชาติ (TMEC) ซึ่งวิธีการใช้อีสเฟตนั้น จะต้องจุ่มพื้นผิวของอีสเฟต หรือ sensing membrane พร้อมกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ลงไปพร้อมกันในสารละลายที่จะทำการตรวจวัด เมื่อสารละลายนั้นมีไอออนอยู่ จากทฤษฎีข้างต้น จะทำให้กระแสไหลจาก ขั้วขาเดรนไปขาซอส จะแตกต่างกันไป โดยที่ค่าสัญญาณการตอบสนองนั้น จะเป็นค่าความต่างศักย์ระหว่างขาเกตและขาซอส เมื่อมีประจุไอออน H^+ มาอยู่บริเวณพื้นที่ตอบสนอง กระแสไหลมากขึ้น ซึ่งจะผันกับค่าสัญญาณความต่างศักย์ที่ได้ออกมาจากตัวอุปกรณ์การวัด

อุปกรณ์อีสเฟต นอกจากที่จะมีขนาดเล็ก การวิเคราะห์และการใช้งานง่าย ไม่ยุ่งยาก ค่าสัญญาณที่แปลงออกมาให้ผู้ใช้นั้น คือค่า V_{gs} ซึ่งง่ายต่อการคำนวณและนำไปใช้งานต่อไป ดังนั้นด้วยคุณสมบัติของอีสเฟตที่สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงไอออนในสารละลายได้นั้น จึงเหมาะสมต่อการใช้งานการวัดยาฆ่าแมลงด้วยการประยุกต์ใช้ปฏิกิริยาของเอนไซม์กับคูซิปสเตอร์ แต่ถึงอย่างนั้น การผลิตเซนเซอร์ด้วยอีสเฟตนี้ยังมีค่าใช้จ่ายที่สูงและการขึ้นรูปที่ต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูง แม้ว่าจะสามารถหาซื้อชิ้นงานอีสเฟตได้ง่ายก็ตาม แต่เมื่อคำนึงการใช้งานแล้ว การตรวจวัดยาฆ่าแมลงอาศัยกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นั้นเซนเซอร์ควรมีการออกแบบที่ใช้แล้วทิ้ง เพราะเอนไซม์เมื่อถูกยับยั้งการทำงานด้วยยาฆ่าแมลงไปแล้ว ก็ไม่อาจคืนสภาพการทำงานได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทางผู้วิจัยจึงได้สนใจที่จะศึกษา ส่วนต่อขยายขาเกต หรือ อีจีเฟต (Extended – Gate Field Effect Transistor; EGFET) ที่พื้นที่ตอบสนองนั้นไม่ได้ติดอยู่ระหว่างขาเดรนกับขาซอสอย่างถาวร เช่นเดียวกับอีสเฟต ดังนั้นส่วนต่อขยายขาเกตนี้ จึงสามารถถอดเปลี่ยน หรือการใช้แล้วทิ้งได้ สำหรับตัวพื้นที่ตอบสนอง ซึ่งทางผู้วิจัยได้เล็งเห็นถึงประโยชน์ของกระจกนำไฟฟ้าซึ่งมีคุณสมบัติที่ดีต่อการนำไปประยุกต์ใช้งาน ราคาถูก ทางผู้วิจัยจึงได้ศึกษาการประยุกต์การใช้งานกระจกนำไฟฟ้า ไอทีโอ (ITO) เป็นส่วนพื้นที่ตอบสนองในอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต

2.6 หัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกตอีจีเฟต (Extended – Gate Field Effect Transistor; EGFET)

จากมอสเฟตสู่อีสเฟต ซึ่งมีการใช้งานอย่างแพร่หลายสำหรับเป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดค่าพีเอชในสารละลาย จากหลักการมอสเฟตนั้น ก็ถูกนำมาพัฒนาเป็นอีจีเฟต ซึ่งอีจีเฟตนั้นเป็นอุปกรณ์ที่มีการประยุกต์ใช้งานตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่างในสารละลายเช่นกัน โดยอีสเฟตมีความแตกต่างกับมอสเฟต ตรงที่ไม่มีชั้นของโลหะ เป็นขาเกตที่ติดกับขาเดรนและขาซอส แต่กระบวนการทำงานคล้ายกัน ตัวอีสเฟตที่มีส่วนพื้นที่ตอบสนองจะเป็นชั้นฉนวนซึ่งจะติดอยู่บนเซนเซอร์อยู่ระหว่างขาเดรนและขาซอส โดยทำหน้าที่รับและปล่อยไอออนต่าง ๆ ทำให้เป็นลักษณะการเปิดปิดการไหลของสัญญาณในตัวอุปกรณ์ แต่สำหรับส่วนต่อขยายขาเกตนั้น จะเป็นลักษณะอีกโครงสร้างหนึ่ง คือ ส่วนที่

เป็นพื้นที่ตอบสนองสัญญาณ (Sensing membrane) จะถูกต่อขยายออกมาจากตัวอุปกรณ์ โดยมีสายนำไฟฟ้าเชื่อมต่อกับขาเดรนและขาซอส ทำให้ส่วนต่อขยายขาเกต หรืออีจีเฟต สามารถใช้แล้วทิ้งได้ และนอกจากนั้นยังทำขึ้นจากวัสดุกระจกไอทีโอ (Indium Thin Oxide Glass; ITO-Glass) ซึ่งมีราคาถูกกว่าซิลิกอนที่ใช้ในอีสเฟต ทำให้ค่าใช้จ่ายในการผลิตถูกลง ทั้งยังเหมาะกับการนำไปใช้ในภาคสนาม ซึ่งเป็นข้อดีของ อีจีเฟตที่ผู้วิจัยต้องการศึกษาและทดสอบเบื้องต้นในการใช้ตรวจวัดยาฆ่าแมลง

2.6.1 หลักการทำงานของส่วนต่อขยายขาเกต

ส่วนต่อขยายขาเกต หรือ EGFET โดยทั่วไปแล้วจะเป็นอุปกรณ์เซนเซอร์ที่มีการใช้งานร่วมกับวงจรมอสเฟตที่มีจำหน่ายทั่วไป (Commercial MOSFET) โดยที่อีจีเฟตนี้จะมีคุณสมบัติมากกว่าอีสเฟตตรงที่ส่วนตอบสนอง นั้นจะถูกต่อออกมาจากขาเกตในวงจรมอสเฟต จึงเรียกว่า ส่วนต่อขยายขาเกต Extended-Gate (EG) ซึ่งทำให้การใช้งานในอุปกรณ์อีจีเฟตนี้สามารถถอดหรือเปลี่ยนส่วนตอบสนองนี้ได้ขึ้นอยู่กับการใช้งาน โดยที่ค่ากระแส หรือแรงดันทางไฟฟ้าในอุปกรณ์จะถูกตั้งค่าไว้ให้คงที่ ในขณะที่อีสเฟตนั้นขาเดรนและขาซอสนั้นจะถูกสร้างขึ้นเป็นชิ้นงานที่มีการติดส่วนตอบสนองไว้ตามโครงสร้างอีสเฟต นั้นทำให้ค่าแรงดันทางไฟฟ้าในตัวอุปกรณ์จะไม่เท่ากันซึ่งอยู่ลักษณะการสร้างของแต่ละชิ้นงาน ดังนั้นอีจีเฟตจึงให้มอสเฟตมาตรฐานเป็นตัวควบคุมปัจจัยเหล่านี้ จากรูปที่ 2.25 ส่วนตอบสนองจะถูกต่อออกมาจากขาเกตและจุ่มลงในสารละลายพร้อมกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง เมื่อสารละลายมีไอออน หรือสารที่ต้องการตรวจวัดอยู่ในบริเวณพื้นที่ตอบสนองนั้น แรงดันทางไฟฟ้าในบริเวณพื้นที่ตอบสนองหรือขาเกตนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งทำให้กระแสไฟฟ้าที่ไหลในมอสเฟตมาตรฐาน ระหว่างขาเดรนกับขาซอสก็มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งก็สัมพันธ์กับค่าความต่างศักย์ระหว่างขาเกตขั้วไฟฟ้าอ้างอิง กับขาซอส (V_{gs}) ซึ่งจะถูกนำไปใช้งานในการวิเคราะห์ต่อไป ในกรณีที่มอสเฟตเป็นชนิดพี P-type และพื้นที่ตอบสนองมีความจำเพาะต่อสารละลายไอออนไฮโดรเจน หรือโปรตอนนั้น เมื่อไอออนไฮโดรเจนมากจะมีแรงดันทางไฟฟ้าที่สูงขึ้น ซึ่งทำให้ไปเหนี่ยวนำการไหลของกระแสไฟฟ้าระหว่างขาเดรนกับขาซอสในมอสเฟตมีมากขึ้น ทำให้ค่าความต่างศักย์ (V_{gs}) มีค่าน้อยลง เนื่องจากไม่จำเป็นต้องให้แรงดันเข้าไปเพิ่มเพื่อที่จะได้มีกระแสไหล (I_d) ตามที่ได้ตั้งค่าไว้ให้ แล้วจึงบันทึกค่าสัญญาณที่แรงดัน V_g ซึ่งหลักการและทฤษฎีที่ใช้ในการอธิบายจะเหมือนในอุปกรณ์มอสเฟตและอีสเฟต ดังสมการ 2.6 ที่ตำแหน่งนั้น ๆ และส่วนพื้นที่ตอบสนองมีความสำคัญ แต่สำหรับพื้นที่ตอบสนองใน อีจีเฟตนั้นต้องใช้คุณสมบัติของวัสดุที่ต่างจากอุปกรณ์อีสเฟต คือในพื้นที่ตอบสนองของอุปกรณ์อีจีเฟต จะต้องเป็นวัสดุที่มีค่าการนำไฟฟ้าที่ดี โดยมีค่าความต้านทานรวมที่น้อย เช่น ZnO , SnO_2 , Nb_2O_5 , $IrOX$, TiO_2 , Ta_2O_5 , PtO_2 และ ITO [34] ซึ่งจะต่างจากวัสดุตอบสนองในอุปกรณ์อีสเฟต ที่ใช้วัสดุที่มีคุณสมบัติมีความต้านทานรวมที่สูงกว่า เช่น SiO_2 , Si_3N_4 , Al_2O_3 และ Ta_2O_5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

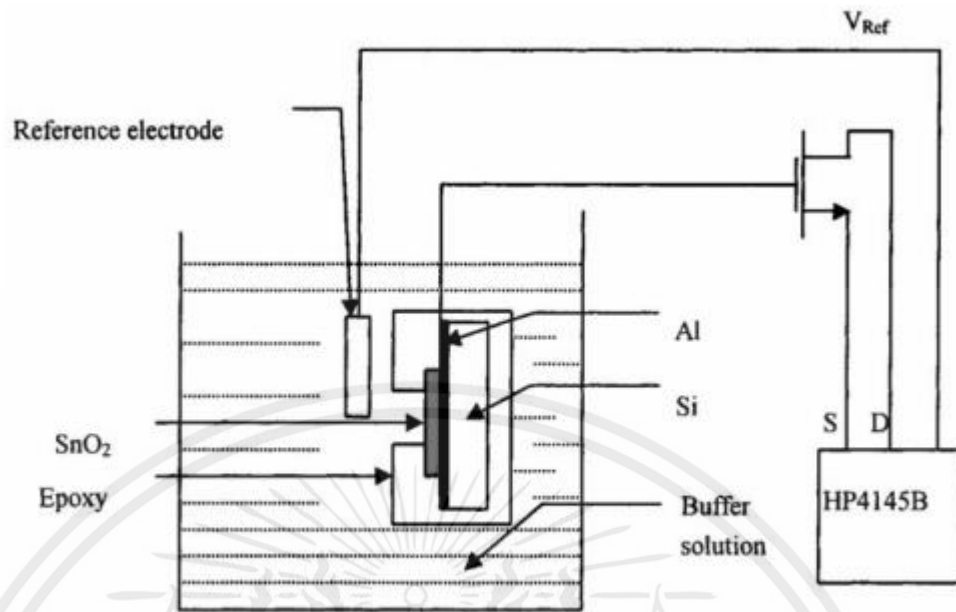


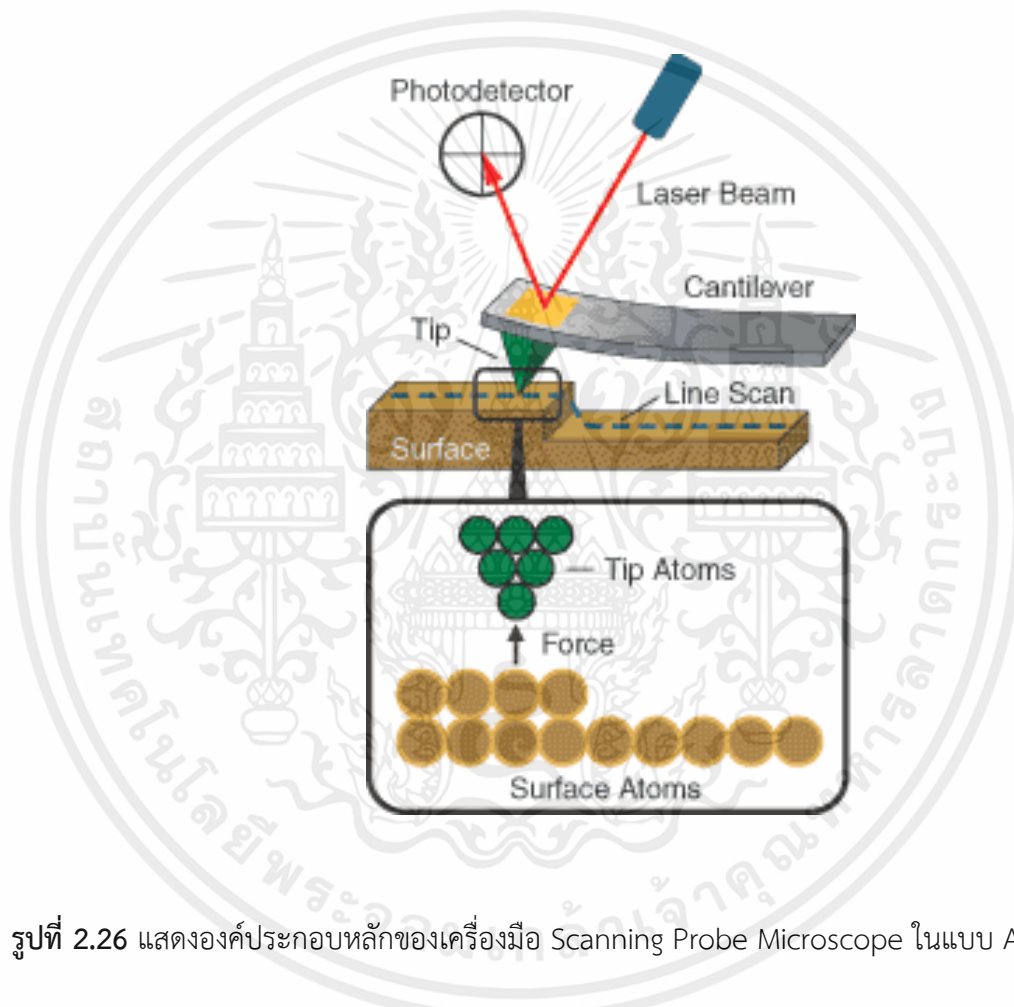
Fig. 2. EGFET measurement system.

รูปที่ 2.25 ภาพแสดงลักษณะของโครงสร้างของส่วนต่อขยายขาเกต อีจีเฟต (EGFET) [6]

2.7 เทคนิคการตรวจวัดพื้นผิวด้วยกล้องแรงอะตอม (Atomic Force Microscope)

เป็นที่ทราบกันดีว่าการศึกษาสภาพพื้นผิวของวัสดุต่าง ๆ นั้นเป็นประโยชน์มากในการที่จะใช้เป็นข้อมูลประกอบในการอธิบายพฤติกรรมและสมบัติของวัสดุนั้นๆ ซึ่งเทคนิควิธีการดูภาพของพื้นผิววัสดุที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน คือ การใช้กล้องจุลทรรศน์ (Optical Microscope) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope) ซึ่งอาศัยแสงและลำอิเล็กตรอนเป็นตัวที่จะมาตกกระทบกับวัสดุ และทำให้เกิดภาพตามลำดับ อย่างไรก็ตามภายหลังได้มีการค้นพบเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาภาพจากผิวของวัสดุขึ้นมาอีกเทคนิคหนึ่ง นั่นคือ Atomic Force Microscopy (AFM) ซึ่งเป็นการทำให้เกิดภาพของผิววัสดุโดยการวัดแรงกระทำระหว่างผิววัสดุกับตัวตรวจวัดที่ทำจากเข็มขนาดเล็ก (Probe tip) ซึ่งนับว่าเทคนิค AFM เป็นเทคนิคที่แปลกใหม่ และน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง และไม่นานนัก หลังจากที่ได้มีการค้นพบเทคนิค AFM นี้ (ในราวปี 1988) เทคนิค AFM ก็ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาสภาพผิวของวัสดุ พอลิเมอร์ชนิดต่างๆ

AFM เป็นเทคนิคประเภทหนึ่งในกลุ่มของ Scanning Probe Microscopy ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถใช้ในการดูสภาพพื้นผิวของวัสดุประเภทต่าง ๆ ได้ โดยมีหลักการพื้นฐาน คือ การใช้เข็มตรวจวัดขนาดเล็ก (Probe Tip) ที่ทำจากวัสดุ Silicon nitride (Si_3N_4) เคลื่อนที่สแกน (Scanning) ไปทั่วบริเวณต่าง ๆ ของผิววัสดุ โดยการควบคุมของตัว Piezoelectric Scanner ซึ่งสภาพผิวของวัสดุที่แตกต่างกันไป จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับเข็มตรวจวัด (Probe Tip) ต่างกัน (ตัวคานที่มีเข็มเกาะติดอยู่จะมีการโค้งงอ (Bending) เกิดขึ้น ซึ่งสามารถถูกตรวจวัดได้โดย ตัวตรวจวัดทางแสง photodetector ซึ่งทำให้ได้ภาพที่ออกมาสอดคล้องตามสภาพพื้นผิวในแต่ละบริเวณ ดังแสดงในรูปที่ 2.26



รูปที่ 2.26 แสดงองค์ประกอบหลักของเครื่องมือ Scanning Probe Microscope ในแบบ AFM [35]

สำหรับในเทคนิคแบบ AFM ที่จะกล่าวถึงในที่นี้ สิ่งที่ทำให้คานที่มีเข็มเกาะอยู่ เกิดการโค้งงอขึ้นก็คือ แรงกระทำระหว่างอะตอม ซึ่งอาจจะเป็นแรงดึงดูดหรือแรงผลัก ก็ได้ขึ้นอยู่กับระยะห่างระหว่างเข็มปลายแหลม (Tip) เทคนิค AFM จึงสามารถที่จะใช้ทำการศึกษได้หลายวิธี ซึ่งจะได้กล่าวถึงในหัวข้อต่อไป อย่างไรก็ตาม ไม่ว่าจะเป็นการใช้ AFM ในวิธีใด แรงกระทำที่เกิดขึ้น ก็จะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพรูปทรง Topography ของพื้นผิวงาน และทำให้ได้ภาพที่สอดคล้องกับสภาพผิวของวัสดุเช่นกัน

เครื่องมือ Atomic Force Microscope จะมีส่วนพื้นที่สำหรับวางชิ้นงาน ซึ่งอยู่บริเวณตรงกลาง และมีเข็มวัด (Probe Tip) วางอยู่ ส่วนที่บริเวณด้านบนของเครื่องมือจะมีกล้อง Video Microscope ติดตั้งไว้ เพื่อใช้สำหรับดูตำแหน่งของเข็มที่จะทำการวางลงบนบริเวณต่างๆ บนผิว ส่วน

ภาพที่เกิดขึ้นจากกล้องจะแสดงออกมาทางจอมอนิเตอร์ นอกจากนี้ยังมีแหล่งให้กำเนิดแสงเลเซอร์ที่จะใช้สำหรับเป็นตัวบอกตำแหน่งของเข็มที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการเคลื่อนที่

2.7.1 โหมดการใช้งานที่สำคัญของอุปกรณ์กล้องแรงอะตอม AFM ที่สำคัญดังนี้

1. Contact mode

เป็นการวัดรูปทรงของสภาพผิวชิ้นงาน (Topography) โดยการขยับให้เข็มโกลด์ (Slide) ไปบนผิวงานซึ่งจะทำให้มีแรงผลักรวมเกิดขึ้น เนื่องจากว่า เข็มกับผิวงานจะอยู่ใกล้กันมาก (ประมาณ 1-2 อังสตรอม) ซึ่งแรงผลักรวมดังกล่าวนี้จะเปลี่ยนแปลงไปตามรูปทรงของผิวงาน ซึ่งจะทำให้มีการโค้งงอ (Deflection) ของคาน (Cantilever) ที่มีเข็มยึดเกาะอยู่ที่ปลาย โดยมีขนาดของการเปลี่ยนแปลงสอดคล้องเป็นไปตามลักษณะรูปทรงของผิวงาน

อย่างไรก็ตาม เทคนิคแบบ Contact Mode นี้จะมีข้อเสีย คือ ในการที่จะลากให้เข็มตรวจวัดเคลื่อนที่ไกลข้ามไปยังบริเวณต่าง ๆ บนผิวงาน อาจจะทำให้เกิดตำหนิ หรือสภาพพื้นผิววัสดุที่ต่างไปจากสภาพเดิมที่แท้จริง (Artifact) และความเสียหายเกิดขึ้นแก่ผิวงานได้ ยกตัวอย่างเช่น ภายใต้อากาศที่ซึ่งมีอากาศและความชื้นในอากาศ จะเกิดหยดน้ำหรือสิ่งสกปรกติดอยู่บนผิวงาน ซึ่งเมื่อเกิดการเคลื่อนที่สแกนของเข็มวัดไปสัมผัสกับผิวที่มีชั้นบาง ๆ ของหยดน้ำ และสิ่งสกปรกดังกล่าวเกาะอยู่ จะทำให้มีแรงดึง (แรงไฟฟ้าสถิตย์ และแรงตึงผิว) ดึงให้ตัวคานที่มีเข็มยึดอยู่ที่ปลายเคลื่อนที่ลงมาสัมผัสกับชั้นดังกล่าว ทำให้ผลต่อค่าแรงระหว่างเข็มกับผิวงานที่เกิดขึ้นโดยรวมเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ยังทำให้ผิวงานถูกทำลาย เช่น การฉีกขาดจากการลากเข็มไปบนผิวงาน

2. Non-Contact mode

เพื่อที่จะหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวข้างต้น จึงได้มีการพัฒนาเทคนิคแบบ Non-Contact mode ขึ้นมา โดยในที่นี้ ตัวเข็มปลายแหลม จะถูกยกขึ้นมาให้มีระยะห่างเหนือผิวงานสูงมากขึ้น คือ ประมาณ 10-100 อังสตรอม จึงไม่มีปัญหาเรื่องการทำลายโครงสร้างผิวงาน โดยในกรณีนี้แรงกระทำระหว่างตัวคานที่มีเข็มปลายแหลมยึดเกาะอยู่กับผิวงาน จะเป็นลักษณะแรงดึงดูด ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงไปตามรูปทรงของสภาพผิวงาน เช่นเดียวกัน

อย่างไรก็ตาม วิธีนี้จะมีข้อจำกัดที่เกี่ยวกับความละเอียดของภาพที่เกิดขึ้น นั่นคือ แรงดึงดูดประเภทแวนเดอร์วาล (Van der Waals) ที่เกิดขึ้นระหว่างเข็มกับพื้นผิว ในกรณีนี้จะเป็นแรงที่อ่อนกว่าเมื่อเทียบกับแรงผลักรวมที่เกิดขึ้นในกรณีของ Contact Mode (ปกติอยู่ที่ประมาณ 10-12 นิวตัน) ดังนั้น สัญญาณการเปลี่ยนแปลงจึงอาจจะไว (Sensitive) ต่อสิ่งแปลกปลอมที่อยู่บนผิวงาน อย่างเช่น หยดน้ำที่เกาะอยู่บนผิว

3. Tapping Mode

Tapping Mode เป็นเทคนิคที่รวมเอาลักษณะของการวัดทั้งในแบบของ Contact mode และ Non-Contact mode เข้าด้วยกัน กล่าวคือ ยังคงให้มีการสัมผัสกันระหว่างเข็มกับผิวงานในระยะที่ใกล้กันมาก เหมือนกับกรณีของ Contact Mode เพื่อให้ได้ภาพที่ชัดเจน ในขณะที่เดียวกัน ก็ยังมีการสั่นหรือขยับเข็มปลายแหลมให้เคลื่อนที่ขึ้นลงไปพร้อม ๆ กับการเคลื่อนที่สแกนไปยังบริเวณ

ต่าง ๆ บนผิวงาน ดังนั้น จึงเป็นการหลีกเลี่ยงปัญหาการลากไถลซึ่งมีผลทำให้เกิดการทำลายสภาพของผิวงานได้ ดังที่เคยเป็นปัญหาใน Contact Mode

2.8 การทบทวนวรรณกรรม (Literature Review)

ยาฆ่าแมลงเป็นสารที่อันตราย หากมีการสัมผัส บริโภค หรือถูกดูดซับเข้าร่างกายแล้วผลสุดท้ายอาจจะถึงแก่ความตายได้ ทำให้มีงานวิจัยออกมามากมายเพื่อตรวจวัด ตรวจจับ ตรวจหายาฆ่าแมลงในน้ำ ในพืชผลทางการเกษตร เพื่อเป็นการลดความเสี่ยงจากการบริโภค

2.8.1 เซนเซอร์ที่มีการใช้งานเอนไซม์ (Enzymatic system) : เทคนิคการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibition assay)

เทคนิคนี้เป็นการใช้สารอีกกลุ่มหนึ่ง ซึ่งสามารถเข้าไปจับส่วนที่เรียกว่า แอคทีฟไซต์ (Active site/ Binding site) ของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับคู่ซับสเตรทของเอนไซม์เองได้ ทำให้ ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจากเอนไซม์และคู่ซับสเตรทลดลง จึงส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไอออนในสารละลาย หรือสารละลายนั้น ๆ มีการเปลี่ยนแปลงไป โดยนักวิจัย นำสิ่งที่เปลี่ยนแปลงไปจากของเดิม คือการทำงานของเอนไซม์ แบบ 100 เปอร์เซ็นต์มาเทียบว่าเปลี่ยนไปเท่าไร

จากการศึกษาเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลงนั้น ส่วนใหญ่แล้วได้มีการใช้งานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส เนื่องจากมีความจำเพาะเจาะจงต่อการทำปฏิกิริยากับคู่ซับสเตรท และยังจำเพาะกับยาฆ่าแมลงในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต จากปฏิกิริยาข้างต้นจะเห็นว่าผลลัพธ์จากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์กับคู่ซับสเตรท จะเกิดการเปลี่ยนค่าพีเอชในระบบ หรือมีการเปลี่ยนไอออนที่เกิดขึ้นในสารละลาย ดังนั้นในระบบตรวจจับ หรือเซนเซอร์ การใช้ตัววิเคราะห์และประมวลผลต่าง ๆ เช่น Cyclic Voltammetry, Amperometry, Differential Pulse Voltammetry, Fluorescence เป็นต้น ดังตารางที่ 2.4

ซึ่งในปี ค.ศ. 2006 Fabiana Arduini และคณะ ได้มีการออกแบบเซนเซอร์สำหรับทดสอบยาฆ่าแมลงพาราอ็อกซอน (Paraoxon) โดยการออกแบบปรับปรุงพื้นผิวของขั้วทำงาน (Working Electrode) ที่เป็นขั้ว Carbon Screen printed Electrode (SPEs) ปรับปรุงด้วยสาร Prussian Blue และ Cobalt Phthalocyanine และติดเอนไซม์ลงไปด้วยการเชื่อมพันธะทางเคมี (Cross-Linking) ด้วยสารกลูทาร์ลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) เมื่อนำไปทดสอบกับยาฆ่าแมลงร่วมกับสารละลายซับสเตรทแล้ว จะดูการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า (Amperometry) ได้ค่าต่ำสุดที่สามารถทดสอบได้อยู่ที่ 7.3×10^{-9} โมลาร์ ของยาฆ่าแมลง [36] นั้น ไม่นานนักก็นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ในปี ค.ศ. 2010 Alina C Ion และคณะ ได้ทำการออกแบบตัวตอบสนองโดยใช้กราฟีน (Exfoliated Graphite Nano platelets) เป็นวัสดุสำหรับการติดเอนไซม์ ร่วมกับสารกลูทาร์ลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) ที่เชื่อมพันธะกับสารไคโตซาน (Chitosan) บนขั้วคาร์บอน (Glassy Carbon

Electrode) ด้วยการติดด้วยพันธะโควาเลนต์ ซึ่งทำให้มีการยึดเกาะได้ดี และทดสอบด้วยการวัดการเปลี่ยนแปลงของกระแสเมื่อเพิ่มและลดค่าความต่างศักย์ (Oxidation/Reduction by Cyclic Voltametry) เมื่อทำการทดสอบกับยาฆ่าแมลงดังกล่าวแล้วพบว่า สามารถตรวจสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาฆ่าแมลง ที่ 1.58×10^{-10} โมลาร์ [37]

ต่อมาในปี ค.ศ. 2011 Nidhi Chauhan และคณะ ได้มีการออกแบบเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลงคลอโรไพริฟอส (Chloropyrifos) โดยการทดสอบค่าการนำไฟฟ้าของขั้ว โดยใช้ เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสต่อพันธะโควาเลนต์ ที่ถูกปรับปรุงพื้นผิวด้วย EDC/NHS Agent binding ลงบนอนุภาคซิงค์ออกไซด์ (ZnS Nanoparticle) ที่มี Indole-5-Carboxylic acid [38] ที่อยู่บนขั้วทอง (Au Electrode)

ใน ค.ศ. 2008 Atsushi Ishii และคณะ ได้ทำการออกแบบคาร์บอนนาโนทิวเพท (Carbon Nano Tube- Field Effect Transistor) และทำการติดเอนไซม์ ด้วยการใส่สารไซเลน (3-Mercaptopropyltriethoxysilane) ร่วมกับ N-[5-(3-Maleimidopropylamido)-1-carboxypentyl]iminodiacetic acid เพื่อการติดเอนไซม์ แบบ Affinity กับเอนไซม์ที่ติดแทคในตำแหน่ง Histidine-AChE ทำให้ตำแหน่งแอคทีฟไซต์สามารถสัมผัสกับสารที่ต้องการตรวจวัดได้ดีขึ้น โดยเทคนิคนี้สามารถวัดยาฆ่าแมลง อะเซฟเทต (Acephate) ที่ 5.45×10^{-14} โมลาร์ [39]

สำหรับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงในกลุ่มคาร์บาเมต เช่น คาร์บาริล (Carbaryl) นั้น ในปี ค.ศ. 2008 Dan Du และคณะ ได้ใช้ขั้วคาร์บอน (Carbon Glassy Electrode) ที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยไคโตซาน อนุภาคทอง และ อนุภาคควอนตัมดอทแคดเมียมเทลลูไรด์ (Cadmium Telluride-Quantum Dot) และตรึงเอนไซม์ติดเข้าไปเข้ากับอนุภาคดังกล่าวด้วยพันธะโควาเลนต์ และเมื่อทำการทดสอบยาฆ่าแมลงนี้ ก็ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้อยู่ที่ 3×10^{-9} โมลาร์ [40] และในปียุ่เดียวกันนั้น Shu Ping Zhang และคณะได้ทำการออกแบบปรับปรุงขั้วคาร์บอน (Glassy Carbon Electrode) ด้วย Multi-walled carbon nanotubes (MWNTs) และ poly(diallyldimethylammonium chloride) (PDDA) บนผิวหน้าของขั้ว และทำการตรึงเอนไซม์ลงไปโดยตรงด้วยกระบวนการดูดซับ (Adsorption) และใช้เทคนิคตรวจวัดกระแสไฟฟ้า Amperometry ซึ่งพบว่าสามารถตรวจวัดคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 5×10^{-15} โมลาร์ [41] ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีการตรึงเอนไซม์ลงบนขั้วเซนเซอร์ที่ง่าย

และในปี ค.ศ.2008 เช่นกันนั้น Gabriela Valdés-Ramírez พร้อมคณะ ได้มีการออกแบบขั้วเงินที่มีการเคลือบสาร พอลิเมอร์ Photocrosslinkable poly(vinyl alcohol) (azideunit pendant water-soluble photopolymer, PVA-AWP) กับ สาร Cobalt Phthalocyanine (CoPc) เอนไซม์ตรึง (Entrapment) ในวัสดุดังกล่าวได้เลย และเมื่อนำไปวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล พบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้อยู่ที่ 1.6×10^{-7} โมลาร์ และสามารถวัดยาฆ่าแมลงคาร์โบฟูรัล (Carbofuran) ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ที่ 4.5×10^{-9} โมลาร์ [42]

ซึ่งในปี ค.ศ.2010 Yunhe Qu และคณะ ได้ทำการออกแบบเซนเซอร์ด้วยขั้วคาร์บอน (Glassy Carbon Electrode) ร่วมกับปรับปรุงพื้นผิวด้วยอนุภาคทองและ พอลิเมอร์ และท่อคาร์บอนนาโน Dendrimers polyamidoamine (PAMAM) - Au/Carbon nanotubes (CNTs) ซึ่งถูกติดลงบนพื้นผิวแบบชั้นต่อชั้น (Layer by Layer ; Self-Assembly) และเอนไซม์ถูกตรึงติดด้วยการดูดซับในชั้นสารดังกล่าว เมื่อขั้วถูกเตรียมเสร็จและทดสอบด้วยเทคนิค Differential Pulse

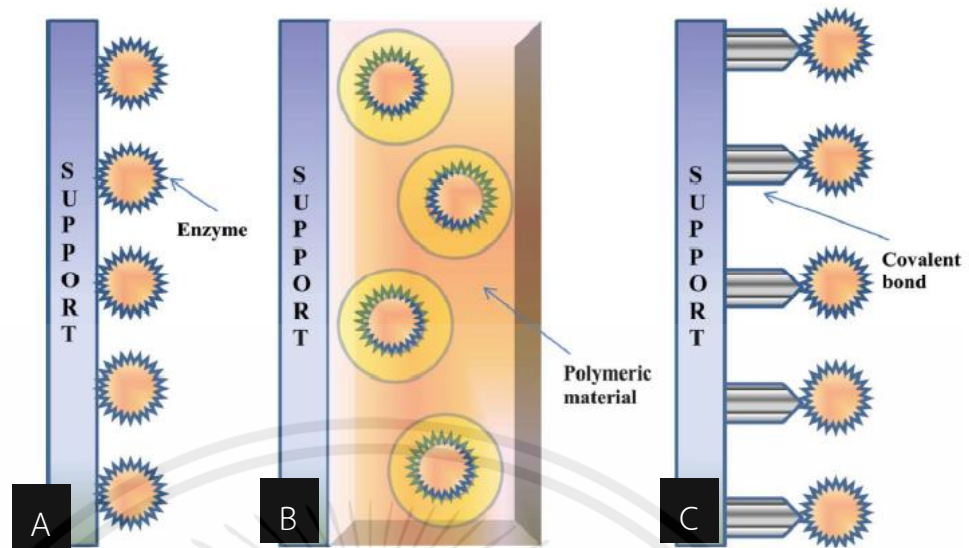
Voltammetry และทดสอบกับยาฆ่าแมลงคาร์โบฟูรอล (Carbofuran) ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้อยู่ที่ 4×10^{-8} โมลาร์ [43]

ตารางที่ 2.4 ตารางแสดง ลักษณะเซนเซอร์ที่ใช้เอนไซม์กลุ่มโคลีนเอสเทอเรสสำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลง

Pesticide target	Detection Technique	Enzyme Immobilized Technique	Sensing (Electroactive) Materials	Limit of Dtection (LOD) [M]	Reference
Organophosphate Pesticide Group (OP)					
Chloropyrifos	Amperometry	Covalence	ZnS NPs	1.5×10^{-9}	38
	Cyclic Voltammetry	Covalent binding	Exfoliated graphite nanoplatelets	1.58×10^{-10}	37
Paroxon	Amperometry	Cross-linking	CoPc-Prussian blue	7.3×10^{-9}	36
Acephate	FET	Affinity	CNT	5.45×10^{-14}	39
Carbamate Pesticide Group (Car)					
Carbaryl	Amperometry	Covalent binding	QDs	3×10^{-9}	40
	Amperometry	Adsorption	MWCNT	5×10^{-15}	41
	Amperometry	Entrapment	CoPc	1.6×10^{-7}	42
Carbofuran	DPV	Adsorption	CNTs-AuNPs	4×10^{-8}	43
	Amperometry	Entrapment	CoPc	4.5×10^{-9}	42

โดยเซนเซอร์ตรวจวัดยาฆ่าแมลงที่มีการใช้งานเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสนั้น จะมีการติดเอนไซม์ลงบนส่วนขั้ว โดยแบ่งออกเป็น 3 วิธีหลัก ๆ ด้วยกันคือ ติดด้วยการดูดซับทางกายภาพ (Physic adsorption), การติดลงในวัสดุขี้ดหุ่่น (Entrapment), และการยึดติดเอนไซม์ด้วยแรง และพันธะโควาเลนต์ (Covalence attachment/ Cross-linking) จากรูปที่ 2.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.27 การตรึงเอนไซม์ลงบนอุปกรณ์เซนเซอร์ทั่วไป A.การตรึงติดด้วยการดูดซับทางกายภาพ B. การติดลงในวัสดุยึดหยุ่น C.การยึดติดเอนไซม์ด้วยแรง และพันธะโควาเลนต์ [44]

จากตัวอย่างงานวิจัยที่กล่าวมานี้สามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 2.4 ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่แล้วมีการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีโควาเลนต์ ซึ่งเป็นการตรึงเอนไซม์ที่ดี ทำให้เอนไซม์ติดเกาะกับตัวตอบสนองได้เป็นอย่างดี แต่วิธีดังกล่าวนี้ เป็นวิธีการติดเอนไซม์ที่ต้องใช้เวลานาน ยุ่งยาก ใช้สารเคมีที่หลากหลาย และมีความซับซ้อนต่อการเตรียม แต่สำหรับวิธีการเตรียมเอนไซม์สำหรับงานวิจัยชิ้นนี้จะใช้วิธีการติดลงในวัสดุยึดหยุ่น (Entrapment) โดยการให้เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส ตรึงลงในเจลอากาโรส ด้วยเจลอากาโรสเป็นวัสดุพอรุนสามารถดูดซับและติดเอนไซม์ลงในรูพรุนดังกล่าว และเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ เตรียมง่าย และไม่มีพิษหรือเป็นสารเคมีอันตราย จึงง่ายต่อการตรึงเอนไซม์ไว้บนวัสดุส่วนตอบสนองของเซนเซอร์ต่าง ๆ ได้ดี

ซึ่งสำหรับงานวิจัยชิ้นนี้เป็นการศึกษาการใช้งานอีสเฟต โดยการปรับปรุงพื้นผิวส่วนตอบสนอง (Sensing Membrane) ที่เป็นวัสดุซิลิคอนไนไตรด์ (Si_3N_4) ที่มีความจำเพาะต่อการตรวจจับไอออนไฮโดรเจนในสารละลายซึ่งสามารถบอกการเปลี่ยนแปลงของค่ากรดเบส หรือค่าพีเอช เมื่อปรับปรุงพื้นผิวดังกล่าวด้วยเจลที่มีการตรึงด้วยเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส จะสามารถตรวจวัดสารละลายซัสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ได้ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากเอนไซม์และซัสเตรทนั้นจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช และประยุกต์ใช้งานการตรวจวัดยาฆ่าแมลงต่อไปได้ ซึ่งยาฆ่าแมลงสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ค่าพีเอชในสารละลายจึงเปลี่ยนไปเมื่อเซนเซอร์ถูกตรวจวัดในสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2 เซนเซอร์เซอร์ที่ไม่มีการใช้งานเอนไซม์ (Non-Enzymatic system) : เซนเซอร์แบบแม่พิมพ์โมเลกุล (Molecular Imprinted Polymer)

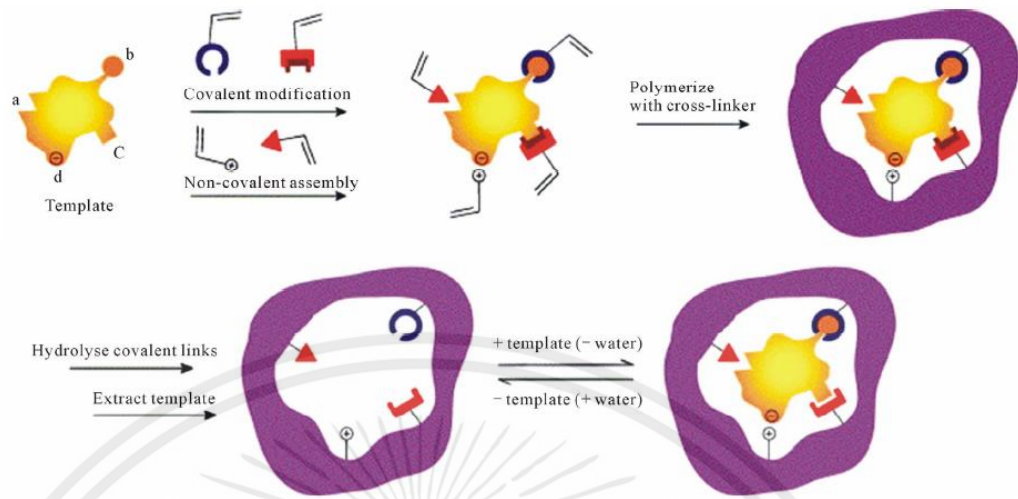
การใช้งานเอนไซม์ แม้ว่าจะมีความจำเพาะเจาะจงกับคู่ซัสเตรท และตัวที่จะมายับยั้งการทำงานของเอนไซม์แล้ว ด้วยเอนไซม์เป็นสารชีวโมเลกุล สารโปรตีนกลุ่มหนึ่ง ซึ่งสามารถเสื่อมประสิทธิภาพตามเวลา อุณหภูมิ ความร้อน ค่าความเป็นกรดต่าง ที่ใช้ในระบบ ทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ลดลง และการใช้งานในการทดสอบจริงนั้นไม่สามารถใช้งานซ้ำได้ ดังนั้นจึงมีวิธีการอื่น ๆ ที่ไม่ต้องใช้เอนไซม์ มาใช้เป็นตัวช่วยในการตรวจทดสอบยาฆ่าแมลงในสารละลายต่าง ๆ

เซนเซอร์แบบแม่พิมพ์โมเลกุล (Molecular Imprinted Polymer) เป็นเทคนิคที่สามารถใช้งานได้นาน และใช้ซ้ำได้ดี เนื่องจากไม่มีผลของการเสื่อมสภาพของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ โดยหลักการเตรียมแม่พิมพ์โมเลกุลนี้ จะใช้ยาฆ่าแมลงที่ต้องการตรวจวัดเป็นแม่พิมพ์ (ตัวที่ต้องการตรวจวัด, Molecular Target) เพื่อสร้างตัวรับเฉพาะสังเคราะห์ (Synthetic receptor site) ซึ่งภายในวัสดุโพลีเมอร์จะมีโครงสร้างที่ซับซ้อน (high cross-linked) ซึ่งจะมีคุณสมบัติ ต่อความจำเพาะกับสารที่ต้องการตรวจทดสอบที่ดี

2.8.2.1 การเตรียมแม่พิมพ์โมเลกุล พอลิเมอร์ (MIPs)

แม่พิมพ์โมเลกุล พอลิเมอร์ (MIPs) ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจาก กระบวนการ Radical Co-Polymerization ด้วยการทำฟังก์ชันระหว่าง โมโนเมอร์ (Monomer) และการเชื่อมขวาง (Cross-linkers) ในตัวทำละลายโพรเจน (Porogenic Solvent) ซึ่งงานวิจัยการพัฒนาระบบแม่พิมพ์พอลิเมอร์นี้ จะมีวิธีการสำคัญ 2 อย่างคือ การทำให้แม่พิมพ์ต้นแบบนั้น เกิดปฏิกิริยาแบบไม่ทำพันธะโควาเลนต์ (Non-Covalent) และแบบการทำพันธะกับหมู่ฟังก์ชันที่เหมาะสม (Covalent) แต่สำหรับการพัฒนางานวิจัยส่วนใหญ่ จะใช้เทคนิคแบบ Non-Covalent หรือ Self-Assembly คือจะมีการเติมตัวสารเริ่มต้น (Innitiator) และทำการให้ความร้อน/ฉายแสง เพื่อให้เกิดกระบวนการ พอลิเมอร์ไรเซชัน (Polymerization) แม่พิมพ์ต้นแบบจะถูกล้างออก ทำให้เนื้อวัสดุโพลีเมอร์นั้นมีลักษณะเป็นโพรง และมีแขนที่มีความจำเพาะต่อรูปร่างของสารที่ต้องการตรวจทดสอบ ในลักษณะ 3 มิติ ดูโครงสร้างตัวอย่างจากรูปที่ 2.28 ตัวอย่างของโมโนเมอร์ที่เหมาะสม ได้แก่ Methacrylic acid และอนุพันธ์ของมัน, 2- หรือ 4- Vinyl Pyridine และ acrylamide ส่วน cross-linkers ที่นิยมนำมาใช้คือ Ethylene glycol Dimethacrylate, Divinylbenzene และ Trimethylolpropane trimethacrylate ซึ่งถ้า cross-linker มีความแข็งแรงสูง จะทำให้มันใจได้ว่า MIPs มีโครงสร้างที่แข็งแรงสูง [45-46]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.28 ภาพตัวอย่างแสดงการสร้างแม่พิมพ์ พอลิเมอร์ แบบ Covalent binding และ แบบ Non-covalent/Self-assembly [47]

การประยุกต์ใช้งาน แม่พิมพ์พอลิเมอร์ ตรวจวัดยาฆ่าแมลงในสารละลาย โดยการตรึง พอลิเมอร์ ลงบนท่อไฟเบอร์ (Fiber optic) [48] เพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลง chlorpyrifos, diazinon และ glyphosate โดยไม่อาศัยกระบวนการ ไฮโดรไลซิส ของปฏิกิริยาเอนไซม์, luminescent lanthanide (europium) ถูกใช้เป็นหัวโพรบสำหรับตรวจวัดเชิงแสง (spectroscopic probe) เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของแสงสเปกตรัมของแลนทาไนด์เมื่อยาฆ่าแมลงเข้าสู่ระบบทดสอบ เมื่อยาฆ่าแมลง สูงขึ้นในระบบทดสอบ จะทำให้เพิ่มขึ้นของความเข้มแสง (luminescence intensity of the spectra) และงานวิจัย อื่น ๆ ที่มีการใช้งานสำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลง โดยใช้เทคนิคแม่พิมพ์โมเลกุล ดังอ้างอิง [49-50]

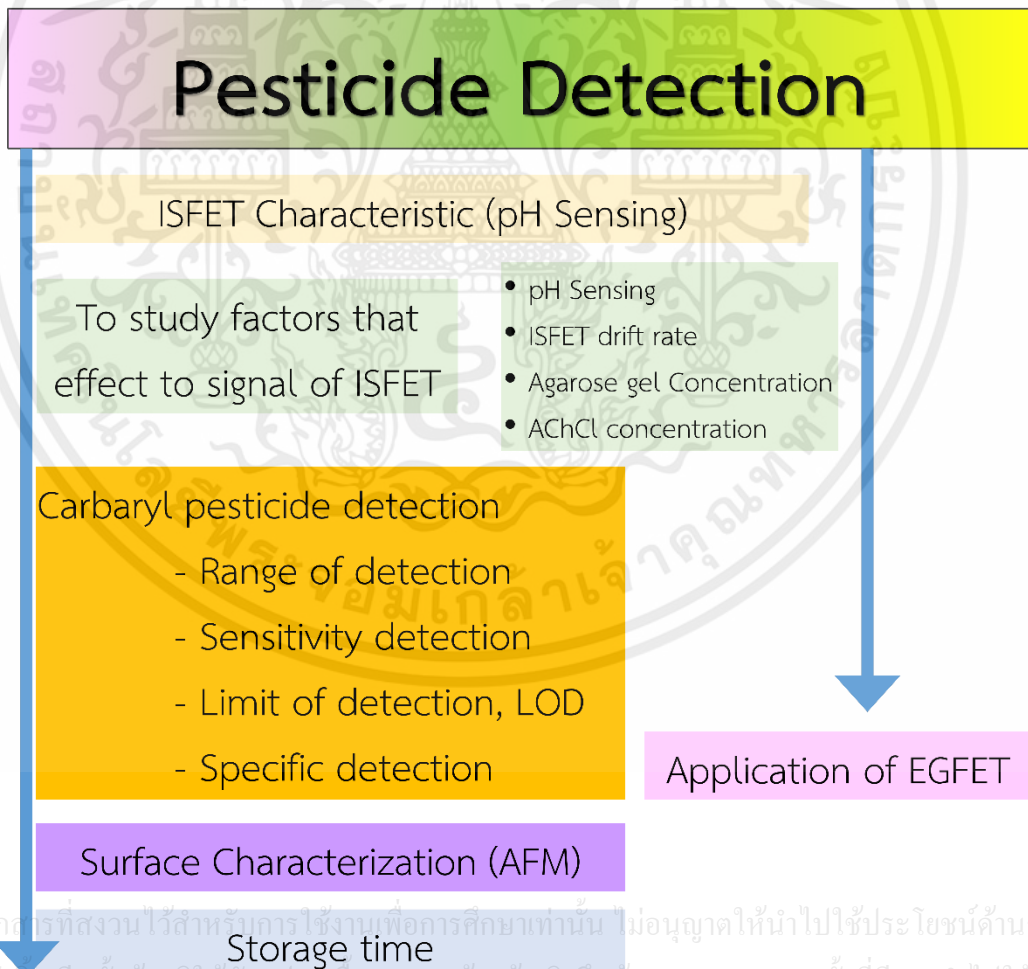
จากงานวิจัยข้างต้นนั้น จะเห็นว่าการใช้งานกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จะถูก ใช้เป็นมาตรฐานของการตรวจวัดสัญญาณของยาฆ่าแมลงในสารละลาย โดยมีเทคนิคที่ใช้ในการ ตรวจวัดมากมาย ทั้งเทคนิค เช่น Cyclic Voltammetry, Amperometry, Differential Pulse Voltammetry, Fluorescence ดังที่กล่าวไปข้างต้น และที่สำคัญยังมีประสิทธิภาพสามารถตรวจวัด ยาฆ่าแมลงในปริมาณน้อยได้ดี แต่กระบวนการวัดด้วยเทคนิคเหล่านี้จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคา แพง และห้องแลปปฏิบัติการ และผู้ชำนาญการในการวิเคราะห์ข้อมูล

จากการศึกษากระบวนการทำงานของเอนไซม์กับคู่ซับสเตรท พบว่าจากปฏิกิริยานี้จะทำให้ ได้การเปลี่ยนแปลงปริมาณไอออนในสารละลาย คือ เกิดกรดในสารละลาย หรือ เกิดไอออน ไฮโดรเจนที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นจากผลข้างต้นงานวิจัยและอุปกรณ์ฮีสเฟตนี้ สามารถตรวจวัดไฮโดรเจนใน สารละลายได้ คือสามารถตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่างได้นั่นเอง และเครื่องมือนี้ยังเป็นอุปกรณ์ที่ สามารถใช้งานได้ พกพาได้สะดวก ง่ายต่อการวิเคราะห์ข้อมูล ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้สนใจที่จะใช้อุปกรณ์ ฮีสเฟตมาประยุกต์ใช้งาน ร่วมกับกระบวนการเอนไซม์ต่อไป

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ ทางผู้วิจัยได้ศึกษาการประยุกต์ใช้งานไอส์เฟต และส่วนต่อขยาย ขาเกต หรืออีจีเฟต เพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลง โดยยาฆ่าแมลงที่นำมาทดลองเป็นยาฆ่าแมลงในกลุ่ม คาร์บาเมต คือ ยาฆ่าแมลงคาร์บาริว จากรูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย โดยมีการศึกษาการใช้งานไอส์เฟต การทดสอบเพื่อหาเงื่อนไขการเตรียมเซนเซอร์ที่ดีที่สุดเพื่อการตรวจวัดยา ฆ่าแมลงในสารละลาย ตั้งแต่การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ สารละลายเอนไซม์ หาความเข้มข้นของ ซับสเตรทและเจลอากาโรสที่เหมาะสม ช่วงความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงที่เซนเซอร์สามารถตรวจวัดได้ ความไวของเซนเซอร์ รวมทั้งศึกษาวิธีการเก็บรักษาเซนเซอร์เพื่อการใช้งานในระยะเวลาที่นานขึ้น นอกจากนี้ยังศึกษาเบื้องต้นถึงการใช้งานส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลง เพื่อลดค่าใช้จ่ายและทำให้เซนเซอร์สามารถใช้แล้วทิ้งได้ ซึ่งเหมาะสมต่อการใช้งานภาคสนามต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนและรายละเอียดการดำเนินการวิจัยหลัก

3.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer Solution, PBS) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ถูกใช้เป็นตัวทำละลายซัสเพนเดชัน (AChCl), เอนไซม์ (AChE) และยาฆ่าแมลง โดยมีส่วนผสมของสารเป็นดังตารางที่ 3.1 ในสารละลายน้ำไร้ประจุทั้งหมด 1 ลิตร และทำการปรับค่าความเป็นกรดต่างตามต้องการ โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมของสารต่างๆ ในการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 5 mM	
รายการสารเคมี	น้ำหนัก (กรัม)
NaCl	4
Na ₂ HPO ₄	1.45
KH ₂ PO ₄	0.1
KCl	0.1

3.2 การเตรียมสารละลายเอนไซม์

สารละลายเอนไซม์เป็นส่วนสำคัญในงานวิจัยนี้ โดยเอนไซม์ที่ใช้คืออะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส หรือ Acetylcholinesterase (AChE) from *Electrophorus electricus* (electric eel), Type VI-S, lyophilized powder, 200-1,000 units/mg protein ซื้อมาจาก Sigma-Aldrich การเตรียมเอนไซม์เพื่อใช้งาน โดยละลายเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ ค่า pH 7 เมื่อทำการละลายแล้ว จะทำการแบ่งเก็บสารละลายเอนไซม์ไว้ในไมโครทูบ หลอดละ 10 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในการใช้งานจะนำออกมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาทีก่อนการใช้งาน ซึ่งการใช้งานเอนไซม์ในอุปกรณ์เซนเซอร์เป็นดัง ตารางที่ 3.2

ตาราง 3.2 ตารางแสดงการใช้งานสารละลายเอนไซม์ ในอุปกรณ์เซนเซอร์

การใช้สารละลายเอนไซม์ในอุปกรณ์เซนเซอร์		
รายการอุปกรณ์เซนเซอร์	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ปริมาตร
อีส์เฟต (ISFET)	0.1	2 ไมโครลิตร
ส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET)	0.5	

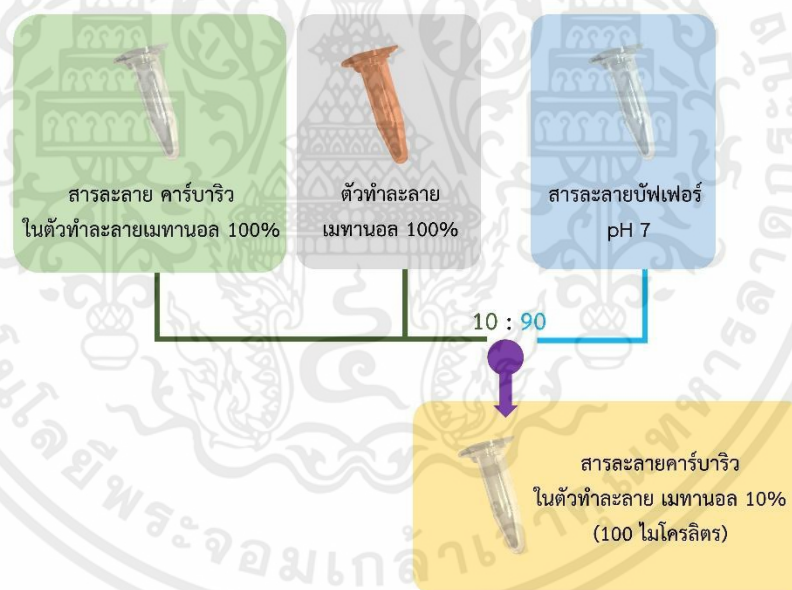
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การเตรียมสารละลายซีสเตรท

สารละลายซีสเตรท หรือ สารละลายอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ หรือ Acetylcholine chloride โดยซื้อมาจาก Sigma-Aldrich ในการทดลองมีการเตรียมสารละลายซีสเตรทในช่วงความเข้มข้น ตั้งแต่ 1 ไมโครโมลาร์ จนถึง 0.01 โมลาร์ เพื่อใช้สำหรับทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการใช้งาน โดยเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ให้สัญญาณการตรวจวัดที่สูง

3.4 การเตรียมสารละลายยาฆ่าแมลง

ยาฆ่าแมลงที่ใช้ คือ คาร์บาริว หรือ Carbaryl pestanal โดยซื้อจาก Sigma-Aldrich ซึ่งใช้ เมทานอล (Methanol 100%) เป็นตัวทำละลาย แล้วทำการเจือจางเพื่อให้ได้ยาฆ่าแมลงที่มีความเข้มข้น ต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 นาโนโมลาร์ จนถึง 0.01 โมลาร์ ในตัวทำละลายเมทานอล 10 เปอร์เซ็นต์ในพีบีเอส บัฟเฟอร์ ดังแสดงใน รูปที่ 3.2 และวิธีการเดียวกันนั้นจะถูกเตรียมกับยาฆ่าแมลงเมทโรมิล (Methimyl) เมทิลพาราไทออน (Methyl-Parathion) และอิมิดาโคลพริด (Imidacloprid) ซึ่งยาฆ่าแมลงเหล่านี้จะถูกทดสอบในส่วนของ การทดลองหาความจำเพาะเจาะจง (specific) ต่อยาฆ่าแมลง



รูปที่ 3.2 แสดงสัดส่วนการเตรียมสารละลายยาฆ่าแมลง

3.5 การเตรียมสารละลายน้ำผัก

ในการประยุกต์ใช้งานเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลงได้จริง จำเป็นต้องมีการทดสอบ การตรวจวัดยาฆ่าแมลงในน้ำผัก ซึ่งทางผู้วิจัยจะทำการเตรียมน้ำผักที่ไม่มีสารยาฆ่าแมลง และใช้ในการ เจือด้วยยาฆ่าแมลงที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ และนำไปทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงกับเซนเซอร์ที่ เตรียมขึ้น โดยผักที่ทางผู้วิจัยได้เลือกใช้นั้น คือ ผักกวางตุ้งได้ห้วน เนื่องจากผักกวางตุ้งได้ห้วนถูกนำมา

ประกอบอาหารเป็นจำนวนมาก ซึ่งในกรณีผักตัวอย่างนี้ เป็นผักที่ให้น้ำค่อนข้างสูง ซึ่งมีวิธีการเตรียม สกัดน้ำผักได้ตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. นำผักล้างตักได้ห้วนมา 50 กรัม หั่นผักให้มีความละเอียด
2. นำผักที่หั่นละเอียดแล้วมาใส่ในถุงซิปล็อค และทำการบดผักที่อยู่ภายในให้ละเอียดมากขึ้น
3. พอบดละเอียดได้ที่แล้ว ผักที่เตรียมไว้นั้นจะมีน้ำออกมา ซึ่งนำน้ำผักนั้นออกเก็บไว้ โดย ผัก ในปริมาณ 50 กรัม จะให้น้ำผักออกมาประมาณ 25 มิลลิลิตร
4. นำสารละลายน้ำผักที่ได้ แบ่งเก็บใส่ภาชนะ
5. ทำการคำนวณสัดส่วน ยาฆ่าแมลงและปริมาณที่ใช้ โดยวิธีการเตรียมดังแสดงในรูปที่ 3.2 แต่จะเปลี่ยนจากสารละลายบัฟเฟอร์เป็นสารละลายน้ำผัก
6. นำสารละลายที่ได้ขึ้นไปทดสอบ โดยการหยดลงบนส่วนตอบสนองของเซนเซอร์ ใน ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ตามขั้นตอนการทดลองต่อไป

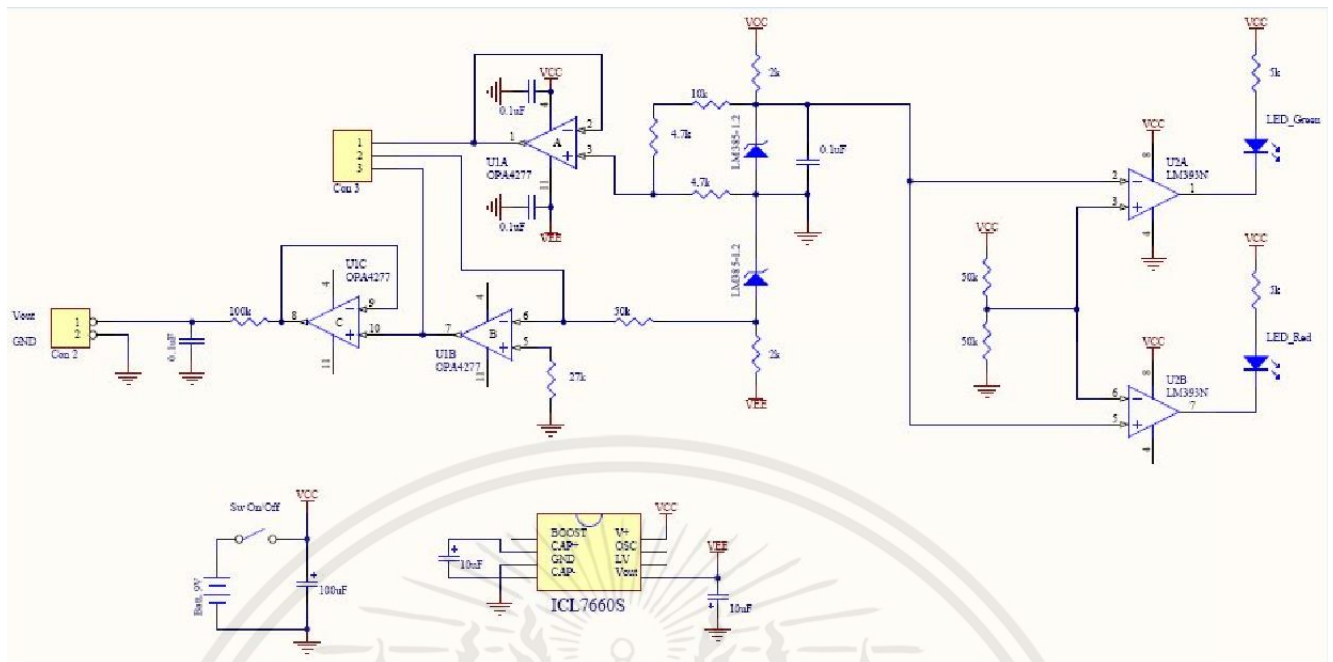
3.6 การเตรียมและการทดลองการประยุกต์ใช้งานอีสเฟต (ISFET)

3.6.1 อีสเฟต

อีสเฟตเป็นอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์สนามไฟฟ้าที่มีการใช้งานซึ่งประกอบด้วยขาเกต ขาเดรน ขาซอส โดยมีสนามไฟฟ้าคอยควบคุมหรือเป็นตัวเปิดปิดให้มีกระแสไฟฟ้าไหลผ่าน เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของไอออนในสารละลาย โดยงานวิจัยชิ้นนี้ได้รับความอนุเคราะห์อีสเฟต มาจาก ศูนย์ เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (Thai Microelectronics Center, TMEC)

อีสเฟตดังกล่าวข้างต้น ได้ถูกกำหนดให้จ่ายความต่างศักย์ (V_{DS}) ที่ 300 มิลลิโวลต์ และวงจร อ่านค่ากระแส (I_D) ที่ 30 ไมโครแอมแปร์ เป็นค่าคงที่ในระบบ ดังนั้นตามทฤษฎี พื้นที่ตอบสนองของ อีสเฟตนั้นคือซิลิกอนไนไตรด์ เมื่อมีไอออนไฮโดรเจนเข้ามาอยู่ที่หน้าพื้นผิวของส่วนตอบสนองมาก ๆ แล้ว กระแสไฟฟ้าจะเกิดการไหลจากขาเดรนไปขาซอสได้มาก ซึ่งทำให้ค่าความต่างศักย์ที่แสดงผล ออกมาระหว่างขาเกตกับขาซอส (V_{GS}) นั้นมีค่าลดลง ซึ่งจะเกิดขึ้นกับการตรวจวัดสารละลายที่เป็น กรดมากขึ้น แต่ในกรณีที่สารละลายเป็นเบสมากขึ้นนั้น ไอออนไฮโดรเจนบริเวณหน้าพื้นที่ตอบสนอง ลดลง ทำให้กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างขาเดรนกับขาซอสไหลได้น้อย ทำให้ค่าความต่างศักย์ ระหว่างขาเกตกับขาซอสมีค่ามากขึ้น สำหรับแผนภาพวงจรขั้วกระแสของอุปกรณ์อีสเฟตได้แสดงใน รูปที่ 3.3 โดยที่อีสเฟตและขั้วไฟฟ้าอ้างอิงนั้น จะถูกต่อเข้าในวงจรที่ตำแหน่ง com 3 โดยตำแหน่งที่ 1 2 และ 3 เป็นส่วนของขาเดรน ขาซอส และ ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 แผนภาพแสดงวงจรขับเคลื่อนกระแสของอุปกรณ์อิเล็กโทรด

3.6.2 การทดสอบคุณสมบัติของอุปกรณ์ ด้วยการทดสอบการตอบสนองของค่าพีเอชในสารละลาย

ก่อนการใช้งานอุปกรณ์อิเล็กโทรดนั้น จะต้องทำการทดสอบคุณสมบัติของอิเล็กโทรดที่จะสามารถตรวจวัดไอออนไฮโดรเจนในสารละลายใด ๆ ได้ โดยทำการทดสอบใน สารละลายมาตรฐานพีเอชบัฟเฟอร์พีเอช 4 7 และ 10 ซึ่งซื้อมาจาก บริษัท Carlo Erba Reagents group ตามรายละเอียด ดังนี้ สารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ Buffer solution RPE pH 4.00 ± 0.02 (20°C) for analysis, Buffer solution RPE pH 7.00 ± 0.02 (20°C) for analysis และ Buffer solution RPE pH 10.00 ± 0.02 (20°C) for analysis

โดวิธีการทดสอบ คือ

1. เตรียมสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ต่าง ๆ ไว้ในถ้วยปิกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร โดยมีปริมาตรของสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตร
2. ทำการตรวจวัดสัญญาณ โดยใช้โปรแกรมอ่านค่าที่ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อวัดสัญญาณ V_{gs} ที่เกิดขึ้น ต่ออุปกรณ์อิเล็กโทรดเข้ากับตัววงจรอ่านค่า และต่อขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl (ใน KCl 3M) และจุ่มลงในสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์
3. ทำการตรวจวัดสัญญาณที่เกิดขึ้นตั้งแต่พีเอช 7 เป็นเวลา 60 วินาที
4. เสร็จแล้วทำการล้างด้วยน้ำไร้ประจุ
5. ทำการบันทึกสัญญาณต่อในสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ 10 เป็นเวลา 60 วินาที
6. เสร็จแล้วทำการล้างด้วยน้ำไร้ประจุ
7. ทำการบันทึกสัญญาณต่อในสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ 4 เป็นเวลา 60 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่หรือใช้ข้อมูลใดๆของโรงเรียนของเราไปใช้

8. เสร็จแล้วทำการล้างด้วยน้ำไร้ประจุ
9. ทำการบันทึกสัญญาณ พีเอชบัฟเฟอร์ 7 10 และ 4 จำนวนอย่างน้อย 3 รอบ

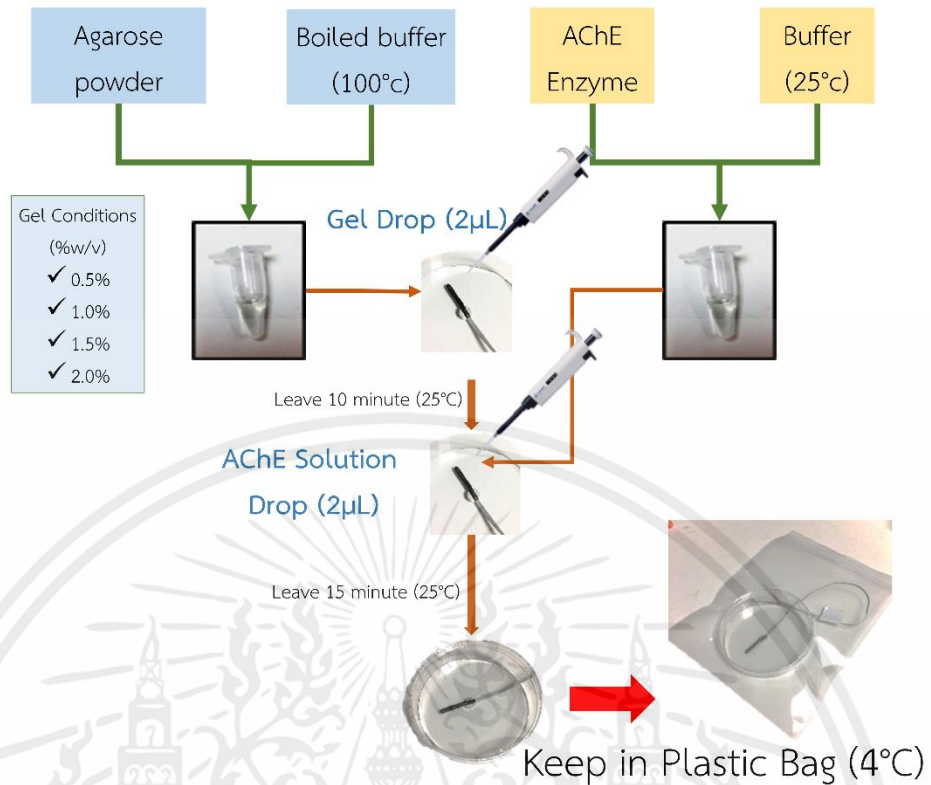
เมื่อได้ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวแล้ว ค่าความต่างศักย์ V_{gs} ที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาท้ายของสัญญาณ จะถูกนำมาเฉลี่ย จากทั้ง 3 รอบการทดลอง และจะถูกนำไปวาดกราฟ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกับการเปลี่ยนแปลงของพีเอชของสารละลาย โดยทางผู้วิจัยจะทำการเปรียบเทียบค่าความไวของการตรวจวัด (Slope/Sensitivity, mV/pH) โดยฮีสเพดที่สามารถใช้งานได้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ควรมีค่าความไวอยู่ที่ 45-55 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช

และทำการศึกษารูปการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเมื่อทำการทดสอบ โดยการจุ่มฮีสเพดลงในสารละลายเป็นระยะเวลาสั้นๆ โดยทำการทดสอบเก็บค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงของสารละลายพีเอชบัฟเฟอร์ พีเอช 7 เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วดูลักษณะการ drift ของสัญญาณ (response drift rate) ที่เกิดขึ้น

3.6.3 การเตรียมพื้นผิวเซ็นเซอร์ฮีสเพดด้วยเจลอากาโรสและเอนไซม์

เซ็นเซอร์ตรวจวัดยาฆ่าแมลงด้วยการประยุกต์ใช้งานฮีสเพดนั้น จะทำการปรับปรุงพื้นผิวซิลิคอนไนไตรด์ (Si_3N_4) บนอุปกรณ์ฮีสเพด โดยใช้เจลอากาโรสติดลงบนพื้นผิว เพื่อให้เป็นวัสดุดูดซับตลอดจนสามารถกักเก็บหรือติดเอนไซม์ไว้บนอุปกรณ์ฮีสเพดได้ โดยการเตรียมสารละลายเจลอากาโรสในน้ำอุ่นตามความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นหยดลงบนพื้นผิวฮีสเพด และทำการหยดสารละลายเอนไซม์ลงไป ตามความเข้มข้นที่ต้องการบนพื้นผิว ปล่อยให้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จึงเก็บเข้าตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส ก่อนการนำไปใช้งาน ภาพแสดงการเตรียมพื้นผิวเซ็นเซอร์แสดงในรูปที่ 3.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

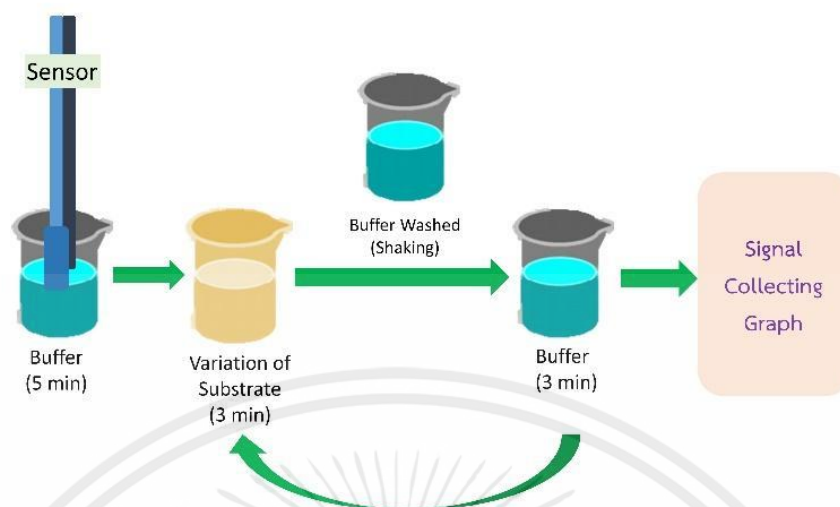


รูปที่ 3.4 แผนภาพแสดงการเตรียมเซนเซอร์ ด้วยการประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์ออสเฟต

3.6.4 การตรวจวัดสารละลายซีสเตรทความเข้มข้นต่าง ๆ

การตรวจวัดสารละลายซีสเตรทนั้น จะทำการทดสอบสารละลายซีสเตรทที่ความเข้มข้น 1×10^{-5} , 5×10^{-5} , 1×10^{-4} , 5×10^{-4} , 1×10^{-3} , 2×10^{-3} , 5×10^{-3} , 7×10^{-3} และ 1×10^{-2} โมลาร์ โดยการเตรียมออสเฟตที่มีการหยดเจลอากาศโรสเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยการทดสอบจะทำการตรวจวัดที่ละความเข้มข้น โดยเรียงลำดับการตรวจวัดสาร ดังแสดงในรูปที่ 3.5 คือ ทำการวัดสารละลายบัฟเฟอร์เป็นค่าสัญญาณมาตรฐานอ้างอิงก่อน จากนั้นจึงจุ่มอุปกรณ์เซนเซอร์ลงในสารละลายซีสเตรทเพื่อวัดสัญญาณ เป็นเวลา 3 นาที สลับกับการล้างโดยการแกว่งเซนเซอร์ในสารละลายบัฟเฟอร์ และวัดค่าสัญญาณจากสารละลายบัฟเฟอร์ ซึ่งจะวัดค่าสัญญาณที่เกิดขึ้นโดยเรียงความเข้มข้นของซีสเตรท จากน้อยไปมาก ตามเงื่อนไขที่กำหนดไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.5 แสดงขั้นตอนการทดสอบสารละลายซับสเตรท

3.6.5 การเตรียมและตรวจหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเจลอากาโรสต่อการกักเก็บเอนไซม์

เจลอากาโรสจะถูกเตรียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งความเข้มข้นของเจลอากาโรสนั้นมีผลต่อการกักเก็บเอนไซม์ หรือสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ สามารถเกาะตรึงอยู่ภายในได้ โดยงานวิจัยชิ้นได้ประยุกต์ใช้งานเจลอากาโรสสำหรับตรึงเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส และติดลงบนส่วนตอบสนองของอุปกรณ์ออสเฟส

เจลอากาโรสนั้น เป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) หรือสารจำพวกแป้ง ซึ่งซื้อมาจากบริษัท Ajax Finechem Rty Ltd โดยชื่อทางการค้าคือ AGAR, coarse powder ซึ่งมีค่าความแข็งของเจล (Gel strength) 800 กรัมต่อมิลลิเมตร ค่าความชื้น (Moisture) 22 เปอร์เซ็นต์ ค่าการละลายน้ำในน้ำเดือดอยู่ที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร การใช้งานจะถูกเตรียมดังตารางที่ 3.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 ตารางการเตรียมเจลอากาศโรสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

Agarose gel concentration (%w/v)	Weight (g)	Boiling water (100 °C) volume (µl)
0.5	0.001	
1.0	0.002	200
1.5	0.003	
2.0	0.004	

โดยวิธีการทดสอบนั้น จะเตรียมฮีสเฟตด้วยการหยดสารละลายเจลอากาศโรสความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 2 ไมโครลิตร และ สารละลายเอนไซม์ที่ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 0.1 ยูนิต และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังขั้นตอนในรูปที่ 3.3 ซึ่งจะเตรียมเซนเซอร์ดังกล่าว จำนวน 3 ชิ้นงาน ต่อเงื่อนไขความเข้มข้นของเจลอากาศโรส และเซนเซอร์จะถูกนำไปทดสอบกับสารละลายซัลเตรทที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และบันทึกหาค่าเฉลี่ยของสัญญาณที่เกิดขึ้นของสารละลายซัลเตรทเทียบกับสัญญาณจากพีบีเอสบัฟเฟอร์

3.6.6 การเตรียมสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ สำหรับการทดสอบความเหมาะสมของค่าพีเอชต่อการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์และซัลเตรท

การเตรียมสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ นั้น จะเตรียมพีบีเอส ตามหัวข้อที่ 3.1 และค่าพีเอชของสารละลายจะถูกปรับ ให้เป็นกรด โดยการใส่สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ หรือ เบส โดยการใส่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 โมลาร์ เพื่อปรับค่าพีเอชของสารละลาย ให้มีค่าพีเอช 5.0 6.0 7.0 8.0 และ 9.0 และนำสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ดังกล่าวมาละลายสารซัลเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ ให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

สำหรับการทดสอบหาความเหมาะสมของค่าพีเอชของสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ จะทำการทดสอบด้วยเซนเซอร์ที่ทำการเตรียมจากฮีสเฟต โดยใช้เงื่อนไขความเข้มข้นของเจลอากาศโรสที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ร่วมกับเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส 0.1 ยูนิต เมื่อเตรียมเซนเซอร์พร้อมแล้วจะทำการทดสอบสารละลายซัลเตรทที่ละลายในพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ตามข้างต้น โดยการบันทึกค่าสัญญาณที่เกิดขึ้น ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงระหว่างสัญญาณบัฟเฟอร์และสัญญาณจากซัลเตรท และทำการทดสอบสารละลายดังกล่าวด้วยเซนเซอร์ฮีสเฟตที่ไม่มีการปรับปรุงพื้นผิวด้วยเจลหรือเอนไซม์ใด ๆ เพื่อใช้เป็นเงื่อนไขเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต หากมีข้อผิดพลาดประการใด ขออภัยเป็นอย่างสูงและต้องอภัยถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

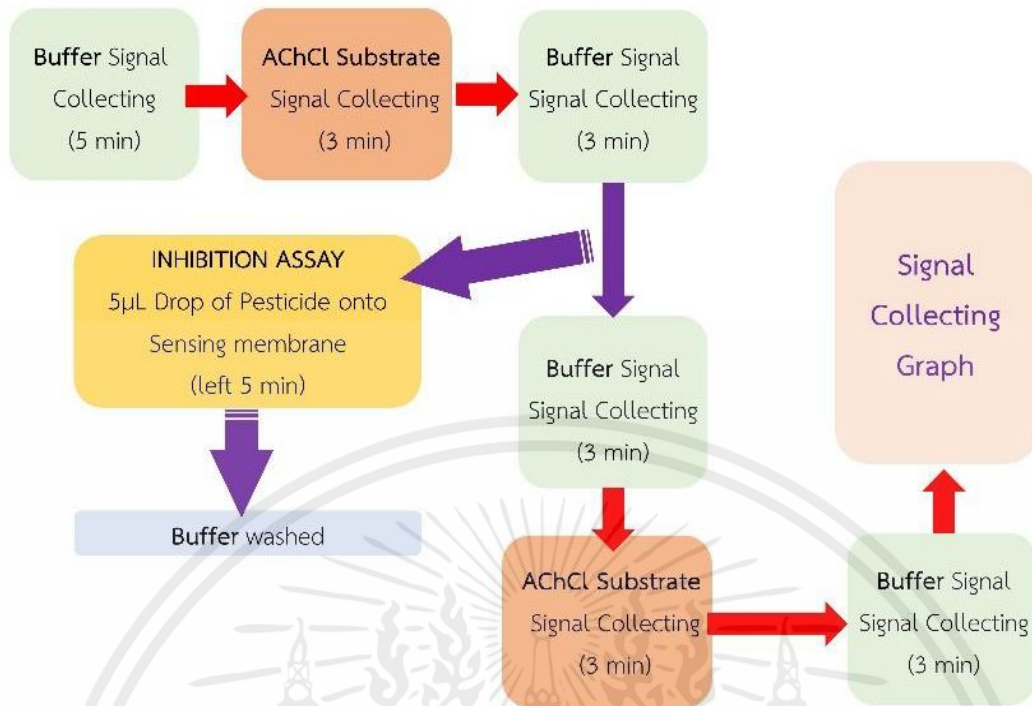
3.6.7 การทดสอบการวัดค่าสัญญาณซ้ำของอุปกรณ์ฮีสเฟต (Repeatability)

การทดสอบในหัวข้อนี้จะดูการเปลี่ยนแปลง การตอบสนองของเซนเซอร์ เพื่อดูความแม่นยำของอุปกรณ์ฮีสเฟต ต่อการตรวจวัดค่าสัญญาณของสารละลายซัสเตรท ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ โดยการตรวจวัด ซ้ำๆ จำนวน 20 ครั้ง ด้วยเซนเซอร์ฮีสเฟตที่ทำการปรับปรุงพื้นผิวด้วยเจลอากาศโรสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสที่ 0.1 ยูนิต โดยการวัดในสารละลายพีอีเอสบีเฟออร์และตามด้วยสารละลายซัสเตรท และหาค่าความต่างของสัญญาณที่เกิดขึ้น ทำการวัดซ้ำแบบนี้วนไปจนครบ 20 รอบ

3.6.8 การทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงในสารละลายพีอีเอสบีเฟออร์

การตรวจวัดยาฆ่าแมลงจะทำการตรวจวัดสารละลายยาฆ่าแมลงคาร์บาริว ตั้งแต่ความเข้มข้นน้อยไปความเข้มข้นมาก โดยก่อนที่จะทดสอบสารละลายยาฆ่าแมลงนั้น จะต้องทำการทดสอบเพื่อหาค่าสัญญาณที่ได้จากสารละลายซัสเตรทเบื้องต้นก่อน เพื่อเป็นข้อมูลในการอ้างอิงสัญญาณเริ่มต้น คือ สัญญาณที่เกิดขึ้นจากการที่ไม่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในการทดสอบกับสารละลายยาฆ่าแมลง ดังจะแสดงให้เห็นขั้นตอนการวัดยาฆ่าแมลง จากรูปที่ 3.6 เมื่อวัดสัญญาณของบีฟเฟออร์เริ่มต้นแล้ว วัดค่าสัญญาณของซัสเตรทมาตรฐานที่เลือกมาเพื่อใช้ในการอ้างอิงสัญญาณที่ไม่ถูกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ คิดเป็นสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นวัดค่าสัญญาณจากบีฟเฟออร์ และจากนั้นเป็นขั้นตอนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งจะนำเซนเซอร์ฮีสเฟตออกมาวางหงายให้ส่วนพื้นที่ตอบสนองอยู่ด้านบน ชับน้ำส่วนเกินบริเวณโดยรอบของพื้นที่ตอบสนอง จากนั้นจึงหยดยาฆ่าแมลงที่เตรียมไว้ลงไป รอเวลา 5 นาที ทำการซับ และล้างด้วยการจุ่มแช่สลับกันในบีฟเฟออร์ จากนั้นจึงวัดค่าสัญญาณบีฟเฟออร์ และค่าสัญญาณจากซัสเตรท ซึ่งสัญญาณที่ได้จะเป็นสัญญาณของปฏิกิริยาระหว่างซัสเตรทกับเอนไซม์ที่ถูกการยับยั้งการทำงานไป จากนั้นทำตามขั้นตอนเดิม เรียงลำดับการทดสอบยาฆ่าแมลงจากความเข้มข้นน้อยไปมาก ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.6 แผนภาพแสดงขั้นตอนการตรวจวัดยาฆ่าแมลง

3.6.9 การทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงที่เจือในสารละลายน้ำผัก

การเตรียมสารละลายจากตัวอย่างผักผลไม้จริงโดยวิธีการสกัด ทำโดยใช้ผักวางตั้ง มาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น แล้วสกัดน้ำผักออกมาตามขั้นตอนที่ 3.5 แล้วนำสารละลายน้ำผักที่ได้มาเจือด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริลความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 1×10^{-8} ถึง 1×10^{-4} โมลาร์ โดยวิธีการเตรียมเหมือนในหัวข้อที่ 3.4 แต่เป็นการใช้สารละลายน้ำผักแทนสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ และทำการทดสอบตามวิธีทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลงในหัวข้อที่ 3.6.8

3.6.10 การทดสอบการเก็บรักษาเซนเซอร์

การเก็บรักษาอุปกรณ์เซนเซอร์ที่มีเอนไซม์ก่อนนำไปใช้งานนั้น จะทำการทดสอบเป็นสองเงื่อนไข คือ เงื่อนไขแรก จะเป็นการเก็บ แบบไม่มีสารช่วยคงสภาพของเอนไซม์ (Stabilizer) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ เงื่อนไขที่สอง แบบที่มีสารช่วยคงสภาพ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยจะทำการทดลอง เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ถึง 28 วัน (ไม่มีสารคงสภาพ) สำหรับเซนเซอร์ที่เก็บในอุณหภูมิห้อง จะถูกเก็บเป็นเวลา 1 ถึง 7 วัน (มีสารคงสภาพ) และจะทำการทดสอบกับอีสเพตเอนไซม์ที่เก็บในอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) โดยไม่ใช้สารคงสภาพเป็นเงื่อนไขเปรียบเทียบ โดยมีขั้นตอนการเตรียมการทดลองดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เตรียมเซนเซอร์อีสเฟต (ที่มีเจลอากาศโรสและเอนไซม์) และวางอยู่ในอุณหภูมิห้อง 10 นาที
 2. ทำการหยดสารละลายคงสภาพ ในปริมาณ 2 ไมโครลิตร
 3. วางทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง โดยเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่มีการปิดผนึก
 4. เมื่อครบกำหนดเวลาก็นำมาทดลอง
 5. ก่อนการต่อเข้ากับอุปกรณ์เก็บสัญญาณ ให้ทำการแช่ ในสารละลายบัฟเฟอร์ เป็นเวลา 5 นาที
 6. นำเซ็นเซอร์จุ่มขึ้นลงๆ และแกว่ง ในสารละลายบัฟเฟอร์ประมาณ 10 ครั้ง
 7. นำเซ็นเซอร์ ต่อเข้ากับอุปกรณ์ตรวจวัดสัญญาณ และทำการวัดสัญญาณต่อไป โดยวัดสัญญาณที่เกิดขึ้นจาก สารละลายซัสเตรท จำนวน 5 ครั้ง
- *กระบวนการนี้จะทดสอบกับอุปกรณ์เซ็นเซอร์อีสเฟต ที่มีสารคงสภาพและไม่มีสารคงสภาพ และสำหรับสารคงสภาพนั้นเป็นสาร Stabil®Coat immunoassay stabilizer

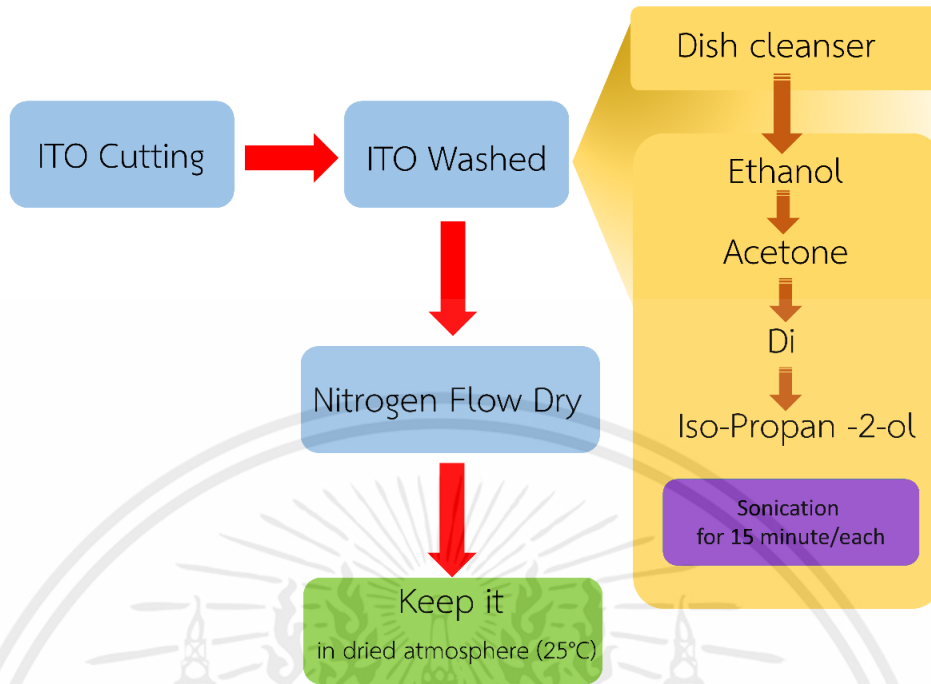
3.7 การเตรียมและการทดลอง การประยุกต์ใช้งาน ส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET)

อุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกตนั้นสามารถใช้จุดวงจรเดียวกับอีสเฟตได้ คือ ให้ค่าแรงดันกระแสค่าความต่างศักย์ (V_{DS}) 300 มิลลิโวลต์ และ ค่ากระแสคงที่ (I_D) 100 ไมโครแอมป์ ซึ่งจากรูปที่ 3.3 นั้น ขาซอส ในตำแหน่งที่ com 3 ขาที่ 2 จะผ่านตัวต้านทาน จากอีสเฟตที่เป็น 50 กิโลโอห์ม แต่อีจีเฟตใช้ 15 กิโลโอห์ม และใช้ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคือ ขั้ว Ag/AgCl แต่ส่วนที่เป็นเซนเซอร์นั้น จะใช้ MOSFET FDV N303 ซึ่งในอีสเฟตนั้นอีสเฟตที่ได้มาจะมีส่วนสารกึ่งตัวนำและวงจรขับภายในอยู่ในอุปกรณ์อีสเฟตมาตั้งแต่การสร้างขึ้นมา ส่วนลักษณะสัญญาณและการนำไฟฟ้านั้น เหมือนกับการใช้งานอีสเฟต โดยแผนภาพของอุปกรณ์อีจีเฟตแสดงในรูปที่ 3.8 (b)

3.7.1 การเตรียมกระจกนำไฟฟ้า (ITO) เพื่อเป็นส่วนต่อขยายขาเกต

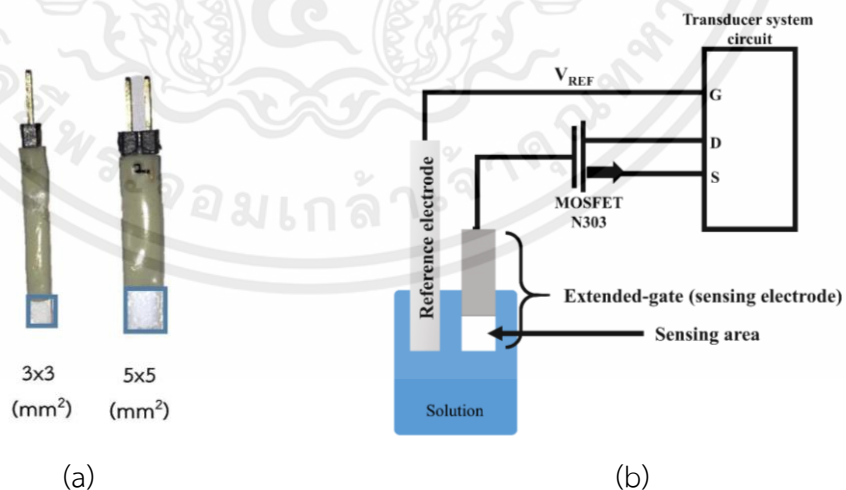
ส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) หรือ ส่วนที่ทางผู้วิจัยจะพัฒนาพื้นที่ตรวจจับ และตรวจวัดสารเคมีที่ต้องการ โดยส่วนนี้จะเตรียมจาก กระจกนำไฟฟ้าไอทีโอ (Indium Tin Oxide, ITO) ซึ่งซื้อ ITO Coated on Glass (XY15S) มาจากบริษัท Xin Yan Technology (China) โดยมีค่าความต้านทาน ($ITO\ sheet\ resistance$) $\leq 15\ ohm/sq$ (10-13 ohm/sq) ค่าการทะลุผ่าน (Transparency) ที่ 550 นาโนเมตร อยู่ที่ ≤ 85 เปอร์เซ็นต์ फिल्मไอทีโอมีความหนา 155 ± 20 นาโนเมตร และกระจกมีความหนา 1.1 มิลลิเมตร ซึ่งวัสดุไอทีโอ มีค่า work function 4.8-4.9 eV โดยการเตรียมกระจกนำไฟฟ้างี้ รูปที่ 3.7 นำกระจกไอทีโอมาตัดตามขนาดที่ต้องการ ทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน และนำไป sonicate ด้วย อะซิโตน เอทานอล น้ำ DI และ ไอโซโพรพานอล อย่างละ 15 นาที จึงนำไปเป่าแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน และเก็บที่อุณหภูมิห้อง ไม่นาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.7 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมกระจกนำไฟฟ้า

การออกแบบการทดลอง ขนาดของพื้นที่สัมผัสต่อการแปลงค่าสัญญาณ โดยออกแบบขนาดของพื้นที่สัมผัส ให้มีขนาด 3x3 และ 5x5 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 3.7 โดยทำการติดขั้วไฟฟ้าลงบนชิ้นงานกระจกไอทีโอด้วยกาวเงิน (silver plate) อบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการกำหนดพื้นที่โดยใช้ เทปคาร์บอน ทาปิดทับบริเวณที่ไม่ต้องการ รอเวลา 3 ชั่วโมง จนสารแห้ง จึงนำขั้วที่ได้ไปใช้งาน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
รูปที่ 3.8 ภาพชิ้นงานของกระจกนำไฟฟ้า ITO ที่ใช้ในการทดลอง (a) และแผนภาพแสดงส่วนประกอบของอุปกรณ์อีจีเฟต (b)

3.7.2 การหาขนาดที่เหมาะสมของกระจกไอทีโอ และปริมาตรของเจลอากาศาโรส

การทดสอบส่วนต่อขยายขาเกตที่ทางผู้วิจัยได้ออกแบบมาโดยจะทำการศึกษาหาขนาดที่เหมาะสมต่อการใช้งานในระบบ โดยจะได้ทดสอบกับส่วนต่อขยายขาเกต หรือส่วนตบสนองที่มีขนาดพื้นที่ตบสนองอยู่ที่ 3x3 และ 5x5 ตารางมิลลิเมตร และหยุดเจลอากาศาโรสที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ปริมาตร 2 3 และ 5 ลงบนพื้นที่ตบสนองที่ตั้งกล่าว โดยจะทำการทดสอบด้วยการเปรียบเทียบค่าความว่องไว (sensitivity) ที่เกิดขึ้นเมื่อทดสอบกับสารละลายพีเอสบีเพอร์ฟี่เอช 4.0 7.0 และ 10.0

3.7.3 ตรวจสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของเจลอากาศาโรสต่อการกักเก็บเอนไซม์

การเตรียมเจลอากาศาโรสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และการทดสอบจะเป็นไปตามหัวข้อที่ 3.6.4 แต่จะทำเตรียมส่วนต่อขยายขาเกตด้วยการหยุดเจลอากาศาโรสที่ปริมาตร 3 ไมโครลิตร และ ใช้เอนไซม์ที่ปริมาณ 0.5 ยูนิต ซึ่งจะต่างจากกรณีของอีสเฟด โดยที่ส่วนต่อขยายขาเกต เมื่อเตรียมตามเงื่อนไขของเจลอากาศาโรสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ก็จะถูกทดสอบตรวจหาค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงเมื่อทดสอบกับสารละลายซัสเตรทที่ 5 มิลลิโมลาร์ โดยที่ส่วนตบสนองจะใช้กระจกไอทีโอขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร

3.7.4 การหาปริมาณเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสที่เหมาะสมที่กักอยู่ในเจลบนพื้นผิวของเซนเซอร์

ปริมาณเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสที่จะใช้ทดสอบนั้น จะมีอยู่ด้วยกัน 4 เงื่อนไข คือ 0.01 0.25 0.50 และ 0.75 ยูนิต โดยทำการหยุดเอนไซม์ตามเงื่อนไขต่อไปนี้ลงบนเจลอากาศาโรสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (3 ไมโครลิตร) โดยที่ส่วนตบสนองจะใช้กระจกไอทีโอขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร ในการทดสอบ และทำการตรวจวัดค่าสัญญาณของสารละลายซัสเตรทเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่เกิดขึ้น บันทึกค่าสัญญาณเทียบกับละลายพีเอสบีเพอร์ และทำการเปรียบเทียบสัญญาณที่แสดงผลออกมา

3.7.5 การทดสอบการตรวจวัดยาฆ่าแมลง

การตรวจวัดยาฆ่าแมลง ได้ทำการทดสอบค่าความเข้มข้นต่าง ๆ โดยถอดอุปกรณ์ส่วนพื้นที่ตบสนอง (ITO) ออกมา วางในแนวระนาบ หงายด้านหน้าขึ้น เพื่อทำการหยุดสารละลายยาฆ่าแมลงลงไป 5 ไมโครลิตร รอเวลากระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5 นาที กระบวนการและวิธีการวัดเป็นไปตาม รูปที่ 3.5 โดยกระบวนการของอุปกรณ์อีจีเฟดนี้จะทำการทดสอบกับสารละลายยาฆ่าแมลง 3 ชนิด คือ คาร์บาริล เมธิลพาราไทออน และ อิมิดาโคลพริด ซึ่งป็นตัวแทนของยาฆ่าแมลงจาก 3 กลุ่ม คือ คาร์บาเมต ออร์กาโรฟอสเฟต และ นิโอนิโคทินอยด์ โดยทดสอบกับสารละลายยาฆ่าแมลงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 นาโนโมลาร์ จนถึง 1 มิลลิโมลาร์

3.8 การทำเส้นมาตรฐาน

เส้นมาตรฐาน หรือ Calibration curve ทางผู้วิจัยจะได้ทำการสร้างเส้นมาตรฐานจากข้อมูลที่เป็น semi-log plot ซึ่งจะได้กราฟลักษณะเป็นรูปตัวเอส (S Curve) ซึ่งเป็นกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณที่ตรวจวัดได้ในแกน y (linear scale) และค่าความเข้มข้นของสารละลายที่ตรวจวัดในแกน x (log scale) โดยการใช้งานโปรแกรม Origin Pro 9.0 64-bit ซึ่งใช้สมการ Five-Parameter logistic (5PL) ในการ fit ข้อมูล สมการที่ได้เป็นไปดังสมการ 3.1

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

เมื่อ :

a = จุดตัดแกน y หรือ เมื่อ x = 0

b = ค่าความชัน

c = ค่าสัญญาณ ณ ตำแหน่งกึ่งกลางช่วง (C50)

d = ค่าการตอบสนองของสัญญาณที่ความเข้มข้นอนันต์

g = ค่าปัจจัยไม่สมดุล

จากการพลอตกราฟแบบ semi-log plot จะทำให้ได้ช่วงของการวัดที่กว้าง ซึ่งตรงกลางของข้อมูลจะเป็นช่วงเส้นตรงที่มีความชันมาก แต่ส่วนตอนต้นกับตอนปลายของข้อมูลสัญญาณจะมีความชันน้อยแทบคงที่ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการเทียบความชันเฉพาะช่วงกลางของกราฟ semi-log plot ด้วยเช่นกัน ซึ่งความสัมพันธ์ของข้อมูลในช่วงกลางแสดงในสมการเส้นตรง ดังสมการที่ 3.2

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

เมื่อ :

m = ค่าความชันเส้นตรง

c = ค่าจุดตัดแกน y หรือ เมื่อ x = 0

โดยค่าในช่วงของฟังก์ชันแกน y จะเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (%Inhibition) สามารถคำนวณได้จากสมการ 3.2 และในช่วงแกน x จะเป็นความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงความเข้มข้นต่าง ๆ (log M) ที่ใช้ในงานวิจัย

3.9 การวิเคราะห์ข้อมูลค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ในการวิเคราะห์ และการนำเสนอข้อมูล ทางผู้วิจัยจะพิจารณา ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (%Inhibition) ซึ่งจะใช้ผลต่างของสัญญาณที่เกิดขึ้นระหว่าง สารละลายบัฟเฟอร์กับ

สารละลายซิปสเตอร์ท ก่อนและหลังการถูกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ คำนวณได้ดังสมการ 3.3 และดูตามแผนภาพประกอบ รูปภาพ 3.9

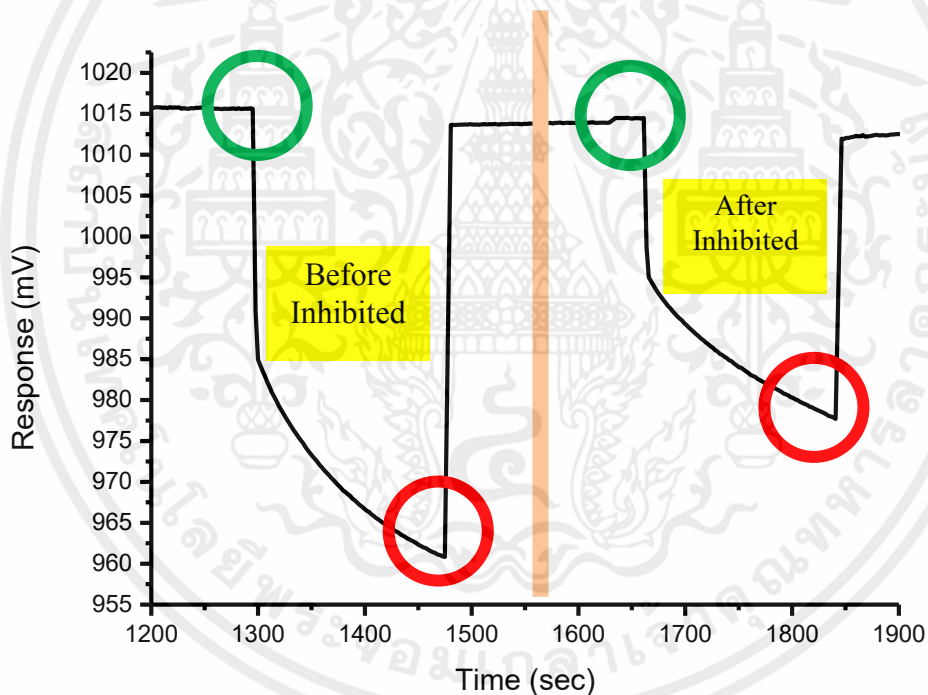
$$y = \frac{b-a}{a} \times 100 \quad (3.3)$$

เมื่อ :


Y = เปอร์เซ็นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เทียบกับความเข้มข้นยาฆ่าแมลง

a = ค่าความแตกต่างของสัญญาณบัพเฟอร์ กับสัญญาณของสารละลายซิปสเตอร์ท ก่อนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

b = ค่าความแตกต่างของสัญญาณบัพเฟอร์ กับสัญญาณของสารละลายซิปสเตอร์ท หลังการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์



 PBS buffer (base signal)

 AChCl solution (AChCl signal)

รูปที่ 3.9 แผนภาพแสดงตำแหน่งของสัญญาณ ที่ใช้ในการคิดคำนวณค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ เอนไซม์ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญาคให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 3.8 แสดงตำแหน่งของสัญญาณที่ใช้ในการคำนวณการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยค่าสัญญาณที่ใช้จะแบ่งเป็นสองช่วง คือ ช่วง a คือ ผลต่างระหว่างค่าสัญญาณของสารละลาย

บัฟเฟอร์ หรือ Base line ในวงกลมสีเขียว กับ ค่าสัญญาณที่ได้จากสารละลายซัสเพนเดท หรือ Substrate (AChCl) ในวงกลมสีแดง ส่วนช่วง b คือ ผลต่างของสัญญาณเช่นกัน แต่จะเป็นค่าผลต่างของสัญญาณที่เกิดขึ้น หลังจากการทำการกระบวนกรยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่ง ค่า a และ b สามารถนำไปใช้คำนวณในสมการที่ 3.3 ได้

3.10 การทดสอบวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของเจลอากาศาโรสด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Atomic Force Microscope, AFM)

การศึกษาลักษณะพื้นผิวของเจลอากาศาโรส จะทำการศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม โดยการเตรียมเจลอากาศาโรส 4 ความเข้มข้น คือ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการหยดลงบนแผ่นซิลิคอน (Silicon wafer) ขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร และทำการหยดสารละลายเจลอากาศาโรส ลงบนพื้นผิวของแผ่นซิลิคอนปริมาตร 5 ไมโครลิตร และนำไปเก็บไว้ในภาชนะที่บรรจุซิลิกาเจล หรือสารดูดความชื้น เป็นเวลา อย่างน้อย 3 วันก่อนการนำไปตรวจสอบวิเคราะห์พื้นผิวกับเครื่องดังกล่าว สำหรับการทดสอบนี้จะทำการศึกษาผลของค่าความขรุขระ Ra (Roughness) และค่า Rms (Root mean square) ที่ปรากฏในโปรแกรมวิเคราะห์ของเครื่องมือ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

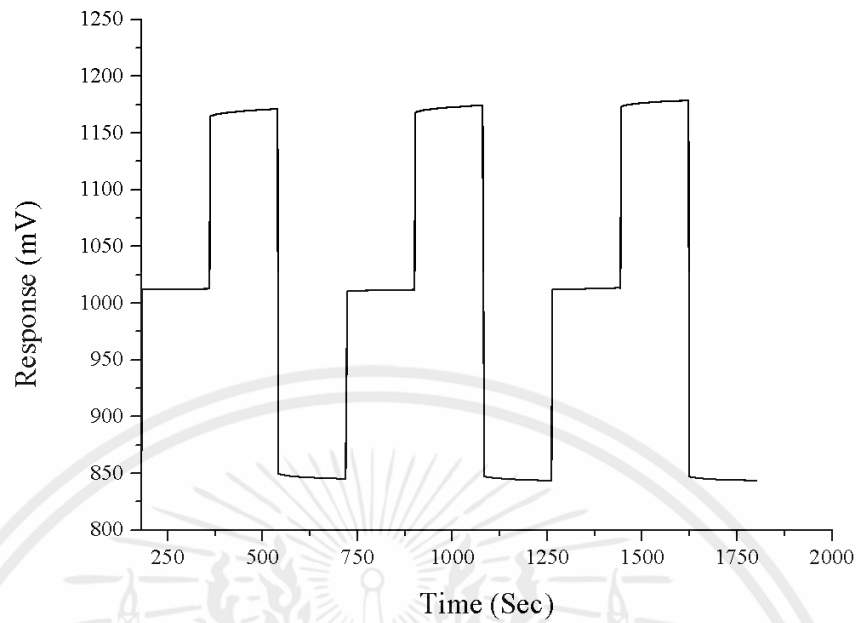
ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะสัญญาณการตอบสนองของอุปกรณ์ฮีสเฟต ต่อสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่พีเอชต่าง ๆ

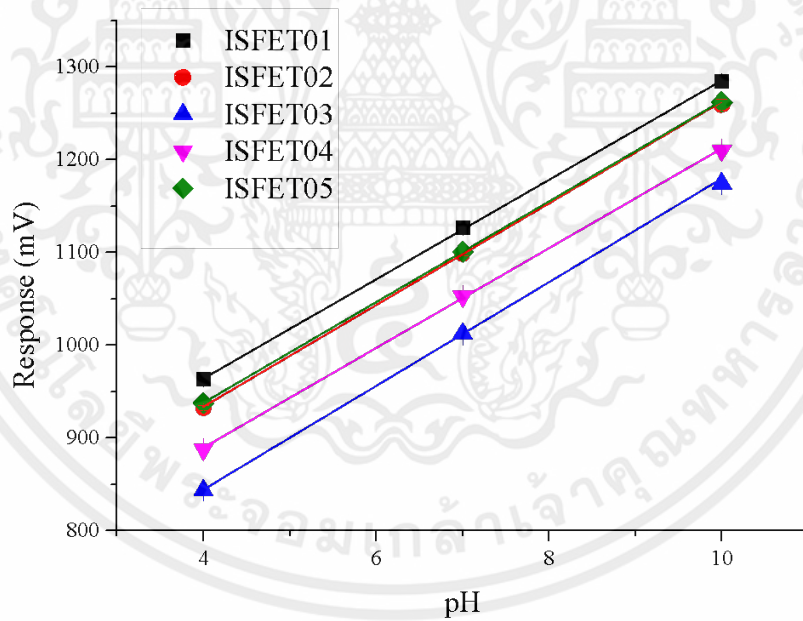
ก่อนการใช้งานอุปกรณ์ฮีสเฟต ต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพหรือความไว (sensitivity) ของฮีสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างหรือค่าพีเอชในสารละลาย โดยการทดสอบกับสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชแตกต่างกัน คือ สารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์พีเอช 4 7 และ 10 ซึ่งในการทดลองจะใช้เซนเซอร์ฮีสเฟตที่มีค่าความไวอยู่ในช่วง 45 – 55 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช (mV/pH) ของสารละลาย [51] ซึ่งถือเป็นค่ามาตรฐานและเหมาะสมต่อการใช้งานตามการออกแบบเซนเซอร์ฮีสเฟต ของทางศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC) จากการทดลองได้ทำการทดสอบวัดสัญญาณการตอบสนองของฮีสเฟตที่สารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ โดยใช้ ฮีสเฟตจำนวน 5 ชิ้นงาน ซึ่งสัญญาณการตอบสนองแสดงดังรูปที่ 4.1

จากรูปที่ 4.1(a) แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ของสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ โดยสัญญาณการตอบสนองจะแสดงออกมาในลักษณะของสัญญาณความต่างศักย์ที่ตกคร่อมระหว่างขาคัดและขอส (Vgs) เทียบกับเวลา โดยสารละลายที่มีค่าพีเอชต่ำจะให้สัญญาณการตอบสนองมีค่าต่ำ และเมื่อสารละลายมีค่าพีเอชสูงขึ้นจะมีค่าการตอบสนองที่สูงขึ้น เนื่องจากในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชต่ำ หรือมีความเป็นกรดสูง จึงมีการแตกตัวของประจุไอออนไฮโดรเจน (H^+) ในสารละลายอยู่มาก ทำให้เกิดการรวมกันของประจุที่ผิวหน้าบริเวณรอยต่อของชั้นซิลิกอนไนไตรด์และสารละลาย ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนในชั้นเซมิคอนดักเตอร์ขึ้นมาที่ผิวหน้า เกิดเป็นช่องทางการไหลของกระแสไฟฟ้าเกิดขึ้นระหว่างขั้วเดรนและขอส ทำให้มีกระแสไฟฟ้า (I_{ds}) ไหลในวงจร และมีผลทำให้ค่าความต่างศักย์ (Vgs) มีค่าต่ำ ในทางตรงกันข้ามเมื่อสารละลายที่เป็นเบสสูง มีไอออนไฮโดรเจนปริมาณน้อย ค่าความต่างศักย์ (Vgs) จึงมีค่าเพิ่มสูงขึ้น จากตัวอย่างในรูปที่ 4.1(a) สารละลายพีเอช 7.0 จะมีค่าสัญญาณตอบสนองอยู่ที่ประมาณ 1000 มิลลิโวลต์ พีเอช 10.0 จะมีค่าสัญญาณตอบสนองที่สูงขึ้น ที่ประมาณ 1,150 มิลลิโวลต์ และที่สารละลายพีเอชต่ำ เช่น พีเอช 4.0 จากตัวอย่าง จะได้ค่าอยู่ที่ ประมาณ 850 มิลลิโวลต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a)



(b)

รูปที่ 4.1 สัญญาณการตอบสนองของไอสเฟตต่อสารละลายพีเอสบีเฟออร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ โดย (a) กราฟแสดงค่าสัญญาณไฟฟ้า (V_{gs}) เทียบกับเวลา และ (b) ค่าสัญญาณไฟฟ้าของสารละลายที่มีค่า พีเอชต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ซึ่งนอกจากการรายงานผลการเปลี่ยนแปลงสัญญาณเทียบกับเวลาแล้ว สามารถที่จะนำค่าสัญญาณความต่างศักย์ (V_{gs}) ที่ได้ มาพลอตเทียบกับค่าพีเอชของสารละลายเพื่อหาค่าความไว (sensitivity) ของไอสเฟตได้ ซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.1(b) โดยจากกราฟจะเห็นว่าสัญญาณการตอบสนองมี

ลักษณะเป็นเส้นตรง เมื่อเพิ่มค่าพีเอชของสารละลาย ค่าสัญญาณ V_{gs} มีค่าเพิ่มขึ้น จากผลการทดสอบอีสเฟต 5 ชิ้นงาน จะพบว่าแต่ละชิ้นงานให้ค่าสัญญาณ V_{gs} เริ่มต้นไม่เท่ากันเมื่อเทียบที่สารละลายพีเอชเดียวกัน (pH 4) ซึ่งเป็นปกติของสัญญาณที่เกิดขึ้นจากอีสเฟตคนละชิ้นงานกัน ดังนั้นจึงต้องทำการตรวจสอบหาค่าความว่องไวของอีสเฟตในแต่ละชิ้นงานให้มีค่าใกล้เคียงกันและยอมรับได้ที่ประมาณ 45-55 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช ซึ่งค่าความว่องไวของอีสเฟตหาได้จากค่าความชัน (slope) ที่ได้จากการเส้นตรงที่บอกความสัมพันธ์เชิงเส้นของกราฟที่พลอตระหว่าง ค่าสัญญาณ V_{gs} และค่าพีเอช ของสารละลาย

จากการทดสอบนี้พบว่า อีสเฟตที่นำมาใช้งานมีค่าความว่องไวอยู่ที่ประมาณ 54.45 มิลลิโวลต์ ต่อพีเอช โดยค่าความว่องไวของอีสเฟตตัวอย่างแต่ละชิ้นงานแสดงในตารางที่ 4.1 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้สำหรับการประยุกต์ใช้งานของอุปกรณ์ในขั้นต่อไป

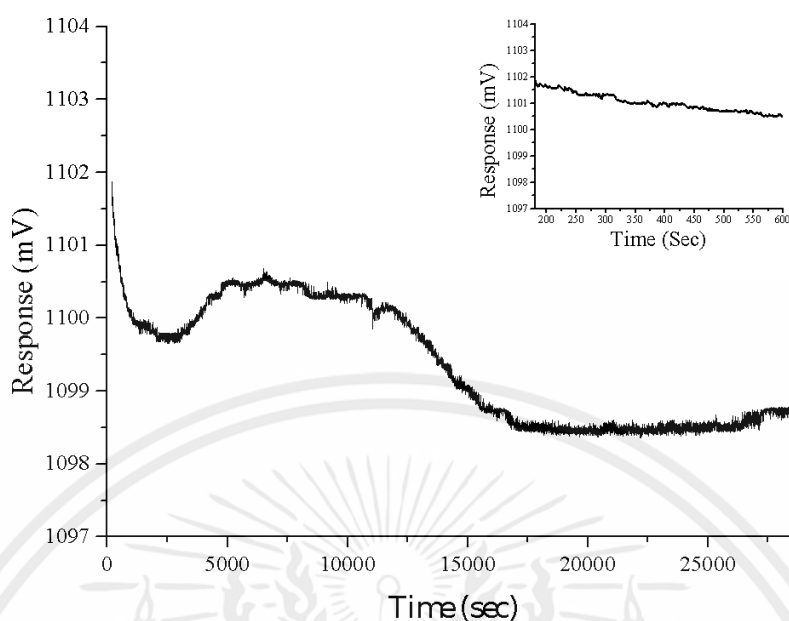
ตารางที่ 4.1 แสดงค่าความว่องไวของอุปกรณ์อีสเฟต ของตัวอย่างแต่ละชิ้นงาน

ISFET number	Sensitivity (mV/pH)	R^2
01	53.57	0.999
02	54.80	0.999
03	55.89	0.999
04	53.76	0.999
05	54.24	0.999

4.2 ทดสอบการ Drift ของสัญญาณอีสเฟต

ก่อนการใช้งานอุปกรณ์อีสเฟตนอกจากต้องวัดค่าสัญญาณของพีเอชเพื่อดูค่าความว่องไวต่อการตรวจวัดแล้ว การทดลองนี้ต้องการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของค่าสัญญาณตามเวลาที่เปลี่ยนไปเมื่อจุ่มอยู่ในสารละลายเป็นระยะเวลาสั้นๆ จากการศึกษางานวิจัยของ Hyun-June Jang และคณะ [52] ได้ทำการทดสอบการ Drift ของสัญญาณอีสเฟตที่วัดในสารละลายพีเอช 7 เป็นเวลา 12 ชั่วโมงพบว่าให้ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลง (Response Drift Rate) อยู่ที่ 1.47 มิลลิโวลต์ต่อชั่วโมง (mV/H) มีค่า Error ของสัญญาณ น้อยกว่า 5.67 %RSD โดยเทียบจากสัญญาณที่ 12 ชั่วโมง และสัญญาณเริ่มต้น

จากการทดสอบในงานวิจัยนี้ได้ทำการจุ่มอีสเฟตในสารละลายพีเอช 7 เพื่อวัดสัญญาณการเปลี่ยนแปลงแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 4.2 ซึ่งพบว่าในช่วงเริ่มต้นมีการตอบสนองของสัญญาณ V_{gs} อยู่ที่ 1,104 มิลลิโวลต์ จากนั้นสัญญาณมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในวินาทีที่ 2 เนื่องมาจากอุปกรณ์อีสเฟตเริ่มต้นถูกเก็บในสถานะแห้งเมื่อทดสอบกับสารละลายเริ่มต้นส่วนตอบสนองเริ่มที่จะสัมพันธ์กับสารละลาย จึงค่อย ๆ แลกเปลี่ยนไอออน ไฮโดรเจน สัญญาณจึงมีการเปลี่ยนแปลงลดลงจากรูปดังกล่าว และคงที่จนเมื่อเวลาผ่านไป 900 วินาที สัญญาณค่อย ๆ drift ขึ้น ประมาณ 0.47 มิลลิโวลต์ และคงที่ จากนั้นที่เวลา 10,800 วินาที สัญญาณค่อย ๆ drift ลงเรื่อย ๆ จนมีค่าประมาณ 1098.5 มิลลิโวลต์ และคงที่ไปเรื่อย ๆ ตั้งแต่วินาทีที่ 17,000 วินาที จนครบ 8 ชั่วโมง



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของอีสเฟตในสารละลายพีบีเอสบัพเฟอร์พีเอช 7 เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

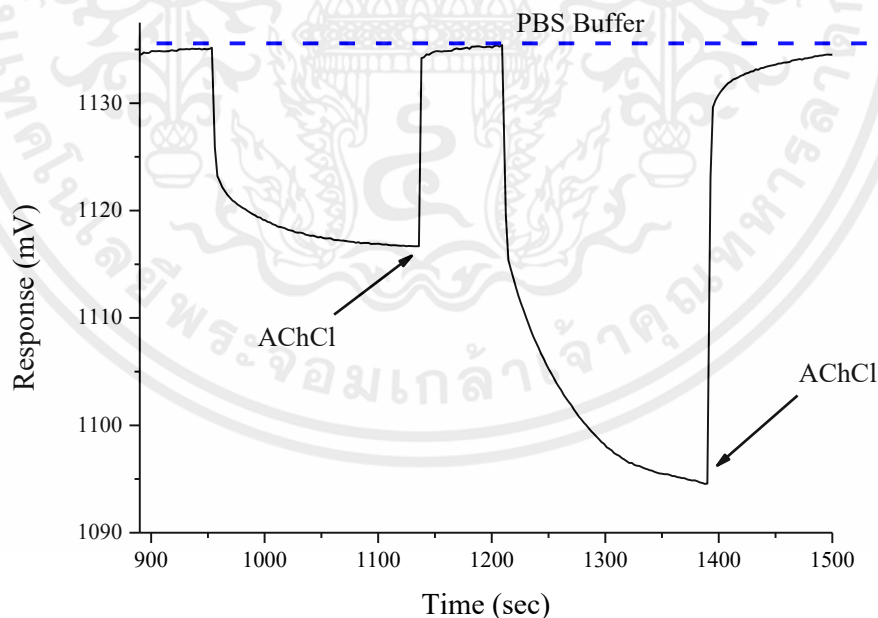
จากผลการทดสอบพบว่าเมื่อมีการใช้งานอุปกรณ์อีสเฟตนาน ๆ จะมีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเกิดขึ้น จากการทดสอบในสารละลายพีบีเอสบัพเฟอร์ พีเอช 7 เป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าสัญญาณมีค่าลดลง 0.285 มิลลิโวลต์ต่อชั่วโมง (mV/h) โดยมีค่าเฉลี่ยของสัญญาณอยู่ที่ 1,099.379 มิลลิโวลต์ และ ค่า Error สูงสุดตลอด 8 ชั่วโมง น้อยกว่า 0.284 %RSD (คิดจากค่าสัญญาณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานต่อค่าเฉลี่ยของสัญญาณทั้งช่วงคูณด้วย 100 เพื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์)ซึ่งถือว่าค่าสัญญาณมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเนื่องจากมีค่า %RSD ต่ำ ดังนั้นจากการทดลองอุปกรณ์อีสเฟตที่ระยะเวลาสั้น จะมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณเนื่องจากตัวอุปกรณ์เองน้อยมาก และหากพิจารณาช่วงเวลาแคบลง ช่วงเวลาที่ 180 วินาที เป็นช่วงที่จะเริ่มทำการตรวจวัดสารละลายใด ๆ จนถึง 600 วินาที ซึ่งจะสามารถสังเกตจากกราฟภายใน รูปที่ 4.2 จะเห็นว่ามี การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณน้อยมาก ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.121 เปอร์เซ็นต์ (%RSD) ซึ่งไม่เป็นปัญหาต่อการใช้งานและการทดลองต่อไป

4.3 ผลของความเข้มข้นของสารละลายซีสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ (Acetylthiocholine Chloride; AChCl)

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ การใช้งานอีสเฟตเพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในงานวิจัยนี้ อาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (AChE) และคู่ซีสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ (AChCl) การทดลองนี้ทำการทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายซีสเตรทที่เหมาะสมสำหรับการใช้งาน เพื่อทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณที่มากที่สุด โดยเมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสารละลายซีสเตรทแล้ว

จะได้ผลิตภัณฑ์ส่วนหนึ่งออกมาเป็นกรดอะซีติก ซึ่งสามารถแตกตัวให้อิออนไฮโดรเจนได้ และจะส่งผลต่ออีสเพทที่มีซิลิกอนไนไตรต์เป็นชั้นตรวจจับ (Sensing Membrane) ที่สามารถตรวจจับอิออนไฮโดรเจนได้ โดยในการทดลองได้เตรียมอีสเพทที่มีการเคลือบผิวส่วนตอบสนองด้วยเจลอากาศาโรสที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลายเอนไซม์ที่มีเอนไซม์ 0.1 ยูนิต โดยการหยดสารละลายเอนไซม์ที่ลงไปบนเจลอากาศาโรสและเก็บไว้ในสภาวะ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบ ช่วงความเข้มข้นสารละลายซัสเตรท ที่ใช้ทดสอบคือ 0.00001 โมลาร์ จนถึง 0.01 โมลาร์

โดยขั้นแรกจุ่มเซนเซอร์อีสเพทที่มีเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสลงในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์พีเอช 7 เพื่อเก็บสัญญาณตั้งต้น จากนั้นจุ่มเซนเซอร์ลงในสารละลายซัสเตรท ที่ความเข้มข้นค่าหนึ่ง เป็นเวลา 3 นาที ซึ่งสัญญาณ V_{gs} จะเปลี่ยนแปลงโดยมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับพีบีเอสบัฟเฟอร์เริ่มต้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายซัสเตรท ค่าการเปลี่ยนแปลงของ V_{gs} จะยิ่งลดลงมากขึ้นด้วย โดยตัวอย่างสัญญาณเมื่อจุ่มเซนเซอร์ในสารละลายซัสเตรท แสดงดังรูปที่ 4.3 ดังนั้นค่าสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงจะคิดจากการเปรียบเทียบกับสัญญาณของพีบีเอสบัฟเฟอร์ก่อนหน้าที่จะจุ่มในสารละลายซัสเตรท โดยในขณะที่จุ่มเซนเซอร์ลงในสารละลาย และบันทึกค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงนั้นจะเห็นว่าค่าสัญญาณ V_{gs} จะค่อยๆลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากการที่เอนไซม์สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายซัสเตรทซึ่งให้ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเป็นอิออนไฮโดรเจน ซึ่งไปส่งผลให้เซนเซอร์สามารถตรวจวัดได้ สัญญาณที่เกิดขึ้นจะมีค่าลดลงจนถึงช่วงหนึ่งคือจุดอิ่มตัวของการเกิดปฏิกิริยา โดยจุดที่ทางผู้วิจัยได้ใช้ใช้งานนั้นคือจุดที่มีค่าสัญญาณที่เวลา 180 วินาที หรือ 3 นาที



รูปที่ 4.3 กราฟการเปลี่ยนแปลงสัญญาณเทียบกับเวลา ของสารละลายซัสเตรท AChCl ที่ความเข้มข้น 0.001 และ 0.005 โมลาร์

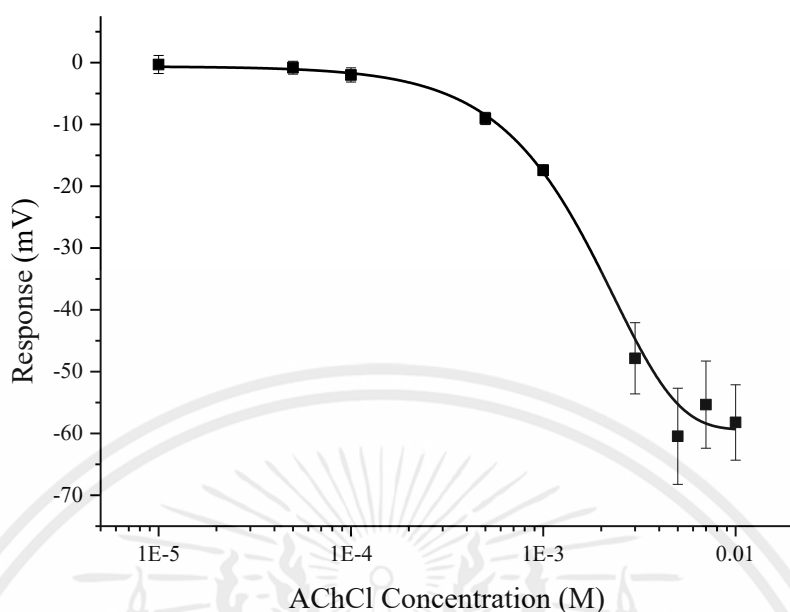
เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับครู ใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังสงวนลิขสิทธิ์ของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.3 เมื่อนำค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงของ AChCl มาพลอตเทียบกับความเข้มข้น จะได้เป็นกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 4.4 จะพบว่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงมีค่าเพิ่มมากขึ้นในด้านลบ ซึ่งหมายความว่า ค่าสัญญาณ V_{gs} หลังจากจุ่มในสารละลาย AChCl มีค่าน้อยกว่าสัญญาณ V_{gs} ของพีอีเอสบัพเฟอร์ก่อนหน้า ดังนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายซีสเตรท AChCl จะทำให้ค่า V_{gs} มีค่าลดลงมากขึ้นเรื่อย ๆ จนเริ่มคงที่ที่ความเข้มข้นของ AChCl ประมาณ 5 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ของสารละลาย AChCl ที่ 0.00001 0.00005 และ 0.0001 โมลาร์ จะพบการเปลี่ยนแปลงสัญญาณมีค่าน้อยมาก ซึ่งเป็นเพราะมีปริมาณของซีสเตรทที่เข้าทำปฏิกิริยากับ เอนไซม์น้อยเกินไป จึงทำให้เกิดไอออนไฮโดรเจนปริมาณน้อยเช่นกัน ทำให้สัญญาณการเปลี่ยนแปลงมีค่าต่ำมาก ซึ่งในขณะที่ความเข้มข้นของซีสเตรทมีค่ามาก ทำให้ปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ และซีสเตรทเกิดได้ดี มีปริมาณของไอออนไฮโดรเจนในระบบมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณไฟฟ้าลดลงมากขึ้น

โดยจากผลการทดลองข้างต้นพบว่า ความเข้มข้นซีสเตรทที่ 5 มิลลิโมลาร์ แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่มาก โดยให้ค่าการตอบสนองอยู่ที่ประมาณ 60 มิลลิโวลต์ จากงานวิจัยของ Pamula Raghu และคณะ [53] ได้เตรียมขั้วคาร์บอน (Carbon paste electrode) เป็นฐานรองรับ และใช้เทคนิค Sol-gel ของสาร TEOS เป็นตัวที่สามารถยึดเกาะเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส สำหรับตรวจวัดยาฆ่าแมลง โดยมีการใช้งานเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส 0.1 โมลาร์ และทดสอบหาความเข้มข้นซีสเตรทที่เหมาะสมสำหรับการใช้งาน พบว่าความเข้มข้นที่ 2 มิลลิโมลาร์ เป็นจุดความเข้มข้นของซีสเตรทที่มีค่าน้อยที่สุดที่ให้ค่าการตอบสนองที่มากและเริ่มคงที่ (Saturation Point) จากการทดลองของงานวิจัยชิ้นนี้ ความเข้มข้นของซีสเตรทที่ 5 มิลลิโมลาร์ จึงอยู่ในช่วงที่สอดคล้องกับงานวิจัยตามการอ้างอิงข้างต้น ที่เหมาะสมต่อการใช้งาน

ความเข้มข้นของสารละลายซีสเตรทที่ 5 มิลลิโมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการใช้งาน เพราะเป็นจุดที่เมื่อทดสอบแล้วเป็นค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ให้ค่าการตอบสนองการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่สูงที่สุดที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.1 ยูนิต และสำหรับการทดลองทั้งหมดนั้น จะใช้เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสที่ความเข้มข้นที่ 0.1 ยูนิต เนื่องจากเป็นผลมาจากการทดลองเบื้องต้นที่เคยทดสอบสารละลายซีสเตรท 5 มิลลิโมลาร์ ด้วยความเข้มข้นเอนไซม์ 0.1 และ 0.5 ยูนิต ซึ่งได้ค่าการตอบสนองของสัญญาณที่มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเอนไซม์มากขึ้น โดยทางผู้วิจัยจึงเลือกใช้เอนไซม์ความเข้มข้นที่ 0.1 ยูนิต เนื่องจากเป็นความเข้มข้นน้อยกว่า แต่ให้ค่าการตอบสนองที่สูง ทั้งนี้ทางผู้วิจัยจะได้ทำการศึกษาถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ที่มีการใช้งานต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงกราฟมาตรฐานของสัญญาณไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงของสารละลายซีสเตรท AChCl ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเซนเซอร์อีสเฟต

4.4 ผลของความเข้มข้นเจลอากาศโรสที่ใช้กักเก็บเอนไซม์

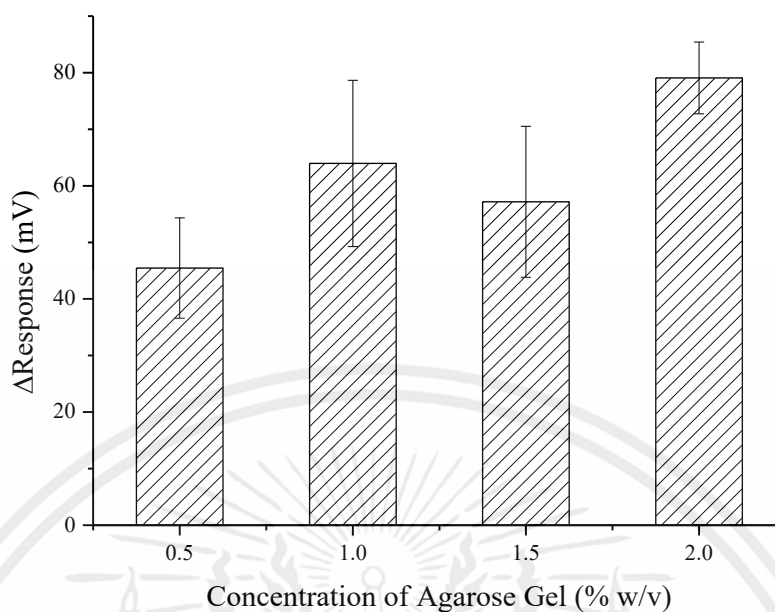
เจลอากาศโรสมีส่วนสำคัญต่อการตรึงเอนไซม์ลงบนพื้นผิวตรวจจับบนอีสเฟต เนื่องจากเจลอากาศโรสมีลักษณะของความเป็นรูพรุนที่สามารถใช้ดูดซับหรือกักเก็บเอนไซม์ไว้ภายใน จากการทดลองได้ทำการเคลือบเจลอากาศโรสลงบนพื้นผิวอีสเฟตพร้อมกับใส่เอนไซม์ลงไป เมื่อจุ่มเซนเซอร์ลงในสารละลายซีสเตรท จะทำให้ซีสเตรทนั้นเข้าไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่อยู่ภายใน และเกิดผลิตภัณฑ์เป็นไอออนไฮโดรเจนขึ้นในบริเวณผิวหน้าของเกต ทำให้เซนเซอร์สามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้

จากการเตรียมเจลอากาศโรสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 0.5 1 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v) เคลือบลงบนพื้นผิวอีสเฟต โดยใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.5 ยูนิตเท่ากับทุกเงื่อนไขของเจลอากาศโรส เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำมาทดสอบกับสารละลายซีสเตรท 5 มิลลิโมลาร์ เพื่อเปรียบเทียบสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังจากที่ซีสเตรทเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ซึ่งสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นแสดงดังรูปที่ 4.5 จากรูปจะเห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเจลอากาศโรส จะทำให้ได้ค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่สูงขึ้น โดยความเข้มข้นที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นั้นให้ค่าสัญญาณสูงที่สุด ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่สูงที่สุดที่เจลอากาศโรสสามารถละลายได้ เนื่องจากเงื่อนไขของเจลอากาศโรสเองมีความสามารถในการละลายในน้ำเดือดอยู่ที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

จากผลการทดลองข้างต้นสามารถอธิบายผลได้ โดยเนื่องมาจากเจลอากาศโรสนั้นเป็นวัสดุรูพรุนชนิดหนึ่งที่สามารถใช้เป็นตัวดูดซับกักเก็บเอนไซม์ไว้ได้ และเมื่อเอนไซม์ได้ทำปฏิกิริยากับซีสเตรท จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีไอออนไฮโดรเจนเกิดขึ้นดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงทำให้เกิด

การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ โดยที่ความเข้มข้นเจลอากาศที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร คาดว่ามีขนาดรูพรุนของเจลที่เล็กมากขึ้น จึงทำให้กักเก็บเอนไซม์ไว้ดีขึ้น เอนไซม์หลุดออกจากพื้นผิว ได้ยากขึ้น จึงมีโอกาที่สปีสเตรทเข้าทำปฏิกิริยาและเกิดผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น โดยเมื่อเทียบกับการใช้ เจลอากาศที่ความเข้มข้นต่ำลง ซึ่งคาดว่าจะมีขนาดของรูพรุนที่ใหญ่ขึ้น ความหนาแน่นของเจลน้อย ทำให้เอนไซม์อาจจะมีการหลุดออกจากพื้นผิวได้เมื่อจุ่มในสารละลาย ทำให้โอกาที่สปีสเตรทจะเข้า ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์มีน้อยลงด้วยเช่นกัน และจากการค้นคว้างานวิจัยของ Nadine Pernodet และคณะ โดยได้ศึกษาขนาดของรูพรุนที่ได้จากสภาพพื้นผิวของเจลอากาศ ซึ่งได้เตรียมเจล อากาศด้วยความเข้มข้นต่าง ๆ ไว้ และศึกษาสภาพพื้นผิวดังกล่าวด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Atomic Force Microscope, AFM) โดยทำการเตรียมความเข้มข้นของเจลอากาศ ตั้งแต่ 2 - 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าเจลที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ขนาดรูพรุนที่ปรากฏบนพื้นผิวจะมีขนาดที่เล็กลง เช่นในกรณีเข้มข้นที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรมีขนาดรูพรุนอยู่ที่ประมาณ 364 นาโนเมตร และที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่ามีขนาดรูพรุนอยู่ที่ ประมาณ 201 นาโนเมตร [54-56] ซึ่งในงานวิจัยนี้จึงคาดว่า การใช้เจลอากาศที่ความเข้มข้นมากขึ้น จะส่งผลให้ขนาดของรูพรุนเล็กลง ซึ่งช่วยให้เอนไซม์นั้นถูกกักไว้ภายในเจลได้มาก มีโอกาที่จะ อยู่ใกล้พื้นผิวตอบสนองของอีสเฟตมากขึ้น และจะมีการหลุดออกจากเจลได้ยากเมื่อถูกจุ่มใน สารละลาย ซึ่งทำให้เอนไซม์ในสภาวะที่ถูกกักในเจลที่อยู่บริเวณพื้นผิวของอุปกรณ์อีสเฟตทำงานได้ดี และเกิดการส่งสัญญาณการเปลี่ยนแปลงไอออนที่มากและรวดเร็วกว่าในกรณีที่เจลมีความเข้มข้นต่ำ โดยคาดว่าที่เจลความเข้มข้นต่ำ เจลจะมีรูพรุนที่ใหญ่ ทำให้เอนไซม์ถูกกักในเจลได้น้อยกว่า และอาจ หลุดออกได้ง่ายเมื่อถูกจุ่มในสารละลาย แม้ว่าเอนไซม์จะยังทำงานได้ปกติ แต่โอกาที่จะอยู่ใกล้พื้นผิว อีสเฟตมีน้อย และเนื่องจากระยะที่อุปกรณ์เซนเซอร์สามารถตรวจวัดได้อยู่ในระดับพื้นผิวซึ่งค่อนข้าง ต่ำ [52] จึงทำให้การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากเอนไซม์บริเวณผิวหน้าอีสเฟตนั้นมีค่าน้อย อย่างไรก็ตาม ขนาดของเอนไซม์นั้นมีขนาดเล็กมากอยู่ในระดับ 1-10 นาโนเมตร และตามการอ้างอิงข้างต้น ขนาดรูพรุนของเจลอากาศที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีค่า 364 นาโนเมตร ซึ่งใหญ่กว่า ขนาดของเอนไซม์อยู่มาก แต่คาดว่า การมีขนาดรูพรุนยังเล็ก จะเหมาะสมต่อการเป็นวัสดุช่วยกัก เอนไซม์ไว้ภายในได้ดีกว่ารูพรุนขนาดใหญ่ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ว่าเจลอากาศที่ความ เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรนั้นสามารถติดเอนไซม์และให้ค่าการตอบสนองที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แผนภูมิแท่งแสดงค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลง เมื่อเตรียมเซนเซอร์ด้วยความเข้มข้นต่าง ๆ ของเจลอะกาโรส ตั้งแต่ 0.5 1 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v) ที่ เอนไซม์ความเข้มข้น 0.5 ยูนิต และตรวจวัดซัสเตรทความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

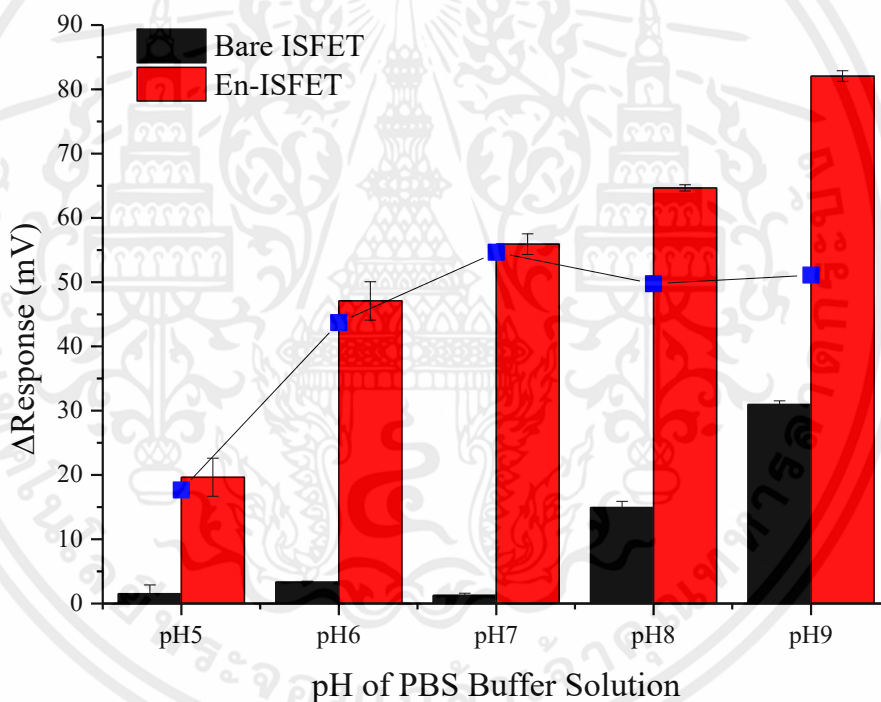
จากการทดลองข้างต้นนี้ ขณะทำการหยดเจลลงบนพื้นผิวตอบสนองของอุปกรณ์อิเล็กโทรดที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเจล ต้องใช้เวลาในการหยดที่รวดเร็ว ในขณะที่ยังร้อนอยู่ เพราะเจลอะกาโรส จะเย็นตัวลงและจับตัวเป็นก้อน โดยที่เจล 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่ามีประสิทธิภาพ เกาะติดกับพื้นผิวได้ดี หลุดออกจากพื้นผิวได้ยาก เมื่อเปรียบเทียบกับเจลที่ความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นจาก การทดลองนี้จะเลือกใช้เจลอะกาโรสที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อใช้ทำการเตรียม เซนเซอร์อิเล็กโทรดในการตรวจวัดยาฆ่าแมลง

การเลือกใช้เจลที่ความเข้มข้นสูงนั้น เนื่องจากเรื่องขนาดของรูพรุนแล้ว นอกจากนั้นหาก พิจารณาที่เจลอะกาโรส ซึ่งเป็นวัสดุที่ไม่มีขั้วจึงไม่ได้ช่วยในเรื่องของการนำไฟฟ้าสำหรับขั้ว แต่จะ เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของไอออนที่อยู่ในสารละลาย หากรูพรุนของเจลมีขนาดใหญ่ ไอออนจะเกิด การเคลื่อนที่เข้าไปได้ดี สามารถเกิดสัญญาณได้รวดเร็ว แต่ผู้วิจัยคาดว่าความเข้มข้นของเจลอะกาโรส ไม่ส่งผลต่อค่าสัญญาณที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของไอออนในสารละลาย แม้ว่าความเข้มข้นของเจล ที่เพิ่มขึ้นนั้นจะส่งผลต่อขนาดของรูพรุนที่ทำให้การเคลื่อนที่ของไอออนในสารละลายในเจลอะกาโรส นั้นช้าลง[64] เพราะปัจจัยหลักคือเซนเซอร์ โดยเฉพาะส่วนตอบสนองถูกอยู่แช่อยู่ในสารละลายที่ ต้องการตรวจวัดซึ่งมีปริมาตรสูง ซึ่งส่งผลให้เจลมีความชุ่มน้ำ ไอออนจึงมีการเคลื่อนที่เข้าไปบริเวณ พื้นที่ส่วนตอบสนองได้ดี โดยเฉพาะไอออนไฮโดรเจนที่เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ติดอยู่บริเวณ ผิวหน้าของส่วนตอบสนอง โดยอยู่ในระยะที่เซนเซอร์สามารถตรวจจับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการทดสอบค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการใช้งานในระบบ

เอนไซม์เป็นสารชีวโมเลกุล การใช้งานนั้นจึงควรอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อการใช้งานในระบบเซนเซอร์ ซึ่งค่าความเป็นกรดหรือพีเอชของสารละลายจึงมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ ในการทดลองนี้ต้องการทดสอบความเหมาะสมของพีเอชของสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่ใช้ทำการทดลอง จากการศึกษาข้อมูล L. Barenghi และคณะ พบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีในช่วงพีเอชประมาณ 8 [57] ทางผู้วิจัยได้ทำการเตรียมสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่พีเอชระหว่าง 5-9 เพื่อใช้เป็นตัวทำละลายซิปสเตอร์ทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ และใช้เป็นบัฟเฟอร์มาตรฐานตลอดการทดลองตรวจวัด เซนเซอร์ที่ถูกเตรียมด้วยเจลอากาโรส 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์ 0.1 ยูนิต ซึ่งทำการทดสอบกับซิปสเตอร์ทที่ละลายในบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แผนภูมิแท่งแสดงค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงจากการวัดสารละลายซิปสเตอร์ทที่ละลายในบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ ด้วยอิเล็กโทรดเปล่า (bare ISFET) และอิเล็กโทรดที่เคลือบเอนไซม์ (En-ISFET) และค่าความต่างของสัญญาณที่ได้จาก En-ISFET และ bare ISFET ที่บัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ (จุดสีน้ำเงิน)

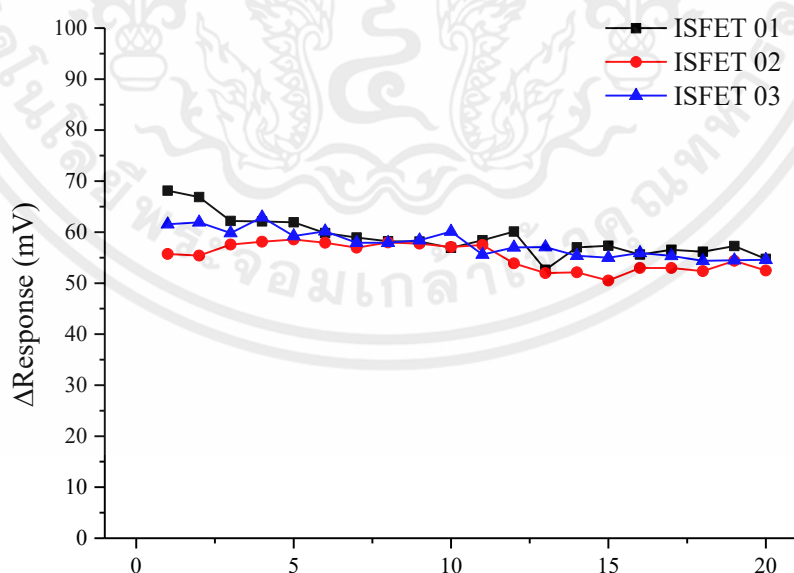
จากรูปที่ 4.6 แสดงผลการทดลองเปรียบเทียบกันระหว่างเซนเซอร์อิเล็กโทรดที่มีการตรึงเอนไซม์ (En-ISFET) โดยแสดงในแผนภูมิแท่งสีแดง และอิเล็กโทรดเปล่า (bare ISFET) แสดงโดยแผนภูมิแท่งสีดำ โดยทั้งสองเงื่อนไขนี้จะทำการทดสอบและบันทึกค่าสัญญาณที่ได้จากการจุ่มลงในสารละลายซิปสเตอร์ทที่ละลายในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ จากแผนภูมิข้างต้นพบว่าเมื่อเพิ่มค่าพีเอชของสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ ค่าการตอบสนองนั้นมีค่าเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มค่าพีเอชใน

สารละลาย จากพีเอช 5 ถึง 9 โดยเซนเซอร์ที่มีการตรึงเอนไซม์นั้นให้ค่าสัญญาณที่สูงสุดเมื่อใช้สารละลายพีเอสบัฟเฟอร์พีเอช 9 แต่เมื่อพิจารณาส่วนอีสเฟตเปล่าที่ไม่มีการตรึงเอนไซม์นั้น พบว่าเซนเซอร์มีการตอบสนองต่อสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ที่ละลายซัสเตรท โดยเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนที่พีเอช 8 และ 9 เช่นกัน ดังนั้นจึงพิจารณาสัญญาณที่ได้จากเซนเซอร์ที่ตรึงเอนไซม์หักลบกับสัญญาณที่ได้จากเซนเซอร์ที่ไม่ตรึงเอนไซม์ที่สารละลายพีเอสบัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ ซึ่งแสดงในเส้นต่อจุดสีน้ำเงิน พบว่าที่สารละลายพีเอสบัฟเฟอร์พีเอช 7 ให้ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pamula Raghunadhra และคณะ [53] ที่ได้ทดสอบขั้วคาร์บอน ที่มีการปรับปรุงด้วย TEOS กับ เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส และทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้า ซึ่งพบว่าพีเอช 7 ให้ค่าสภาพการนำไฟฟ้าสูงสุด

ดังนั้น ทางผู้วิจัยได้เลือกสารละลายพีเอสบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 7 เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากเซนเซอร์ที่มีการปรับปรุงพื้นผิวแล้วทดสอบกับสารละลายซัสเตรทที่พีเอช 7 ให้ค่าการตอบสนองของสัญญาณสูงสุด ซึ่งในขณะเดียวกันเซนเซอร์อีสเฟตเปล่าทดสอบแล้วมีสัญญาณรบกวนน้อยที่สุด ดังที่แสดงค่าสัญญาณในรูปข้างต้น

4.6 ผลการทดลองวัดค่าสัญญาณซ้ำ (Repeatability) ของเซนเซอร์อีสเฟต

สำหรับการทดลองวัดยามาแมลงในขั้นตอนถัดไปนั้น จะต้องมีการตรวจวัดสารละลายยามาแมลงและสารละลายซัสเตรทในหลายครั้ง ในการทดลองนี้จึงทำการทดสอบการวัดสัญญาณของซัสเตรทซ้ำ ๆ ในความเข้มข้นเดิมที่ 5 มิลลิโมลาร์ จำนวน 20 ครั้ง โดยใช้เซนเซอร์อีสเฟตที่เตรียมด้วยเจลอากาศโรสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์ 0.1 ยูนิท และทำแห้งในสภาวะ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดสอบ ซึ่งให้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.7



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อ

ไม่ว่ากรณีใดก็ตาม อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.7 กราฟแสดงค่าสัญญาณการวัดซ้ำ (repeatability) ของซัสเตรท AChCl ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ จากอีสเฟตจำนวน 3 ชิ้นงาน

จากรูปที่ 4.7 แสดงค่าสัญญาณจากการวัดสารละลายซัลเฟอร์ที่ทำการทดสอบ 20 ครั้ง ครั้งละ 180 วินาที สลับกับการวัดค่าสัญญาณของบัฟเฟอร์พีเอช 7 โดยทำการทดลองโดยใช้ อิเล็กโทรดจำนวน 3 ชิ้นงาน ซึ่งผลการทดลอง ในรอบที่ 1 และ 2 ของเซนเซอร์ทั้ง 3 ชิ้นพบว่ามีการกระจายของข้อมูลมาก และตั้งแต่รอบที่ 3 ไปนั้น พบว่า สัญญาณที่เกิดขึ้นเริ่มคงที่ โดยแสดงค่าเฉลี่ยของสัญญาณการตอบสนองของซัลเฟอร์ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าความแม่นยำ (%RSD) ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของสัญญาณการตอบสนอง ค่า SD และ %RSD ของอิเล็กโทรด แต่ละชิ้นงาน (โดยคิดจากค่าสัญญาณการวัดซ้ำ 20 รอบ)

Sensor	Δ Response (mV)	SD (Standard Deviation)	%RSD
ISFET 01	58.95	3.71	6.29
ISFET 02	55.20	2.53	4.59
ISFET 03	57.73	2.61	4.53

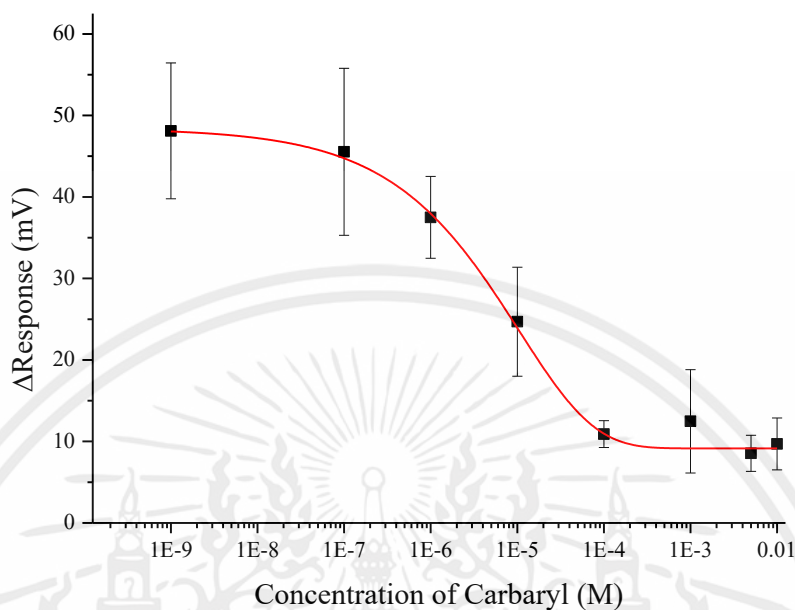
ซึ่งในช่วง 2 รอบแรกนั้นที่เกิดการเบี่ยงเบนสูงเกิดจากเอนไซม์ที่อยู่ภายในแบบการดูดซับทางกายภาพยังมีปริมาณมากและทำปฏิกิริยากับซัลเฟอร์ที่ได้ดี แต่หลังจากรอบที่ 3 ไปแล้วที่ได้ค่าเบี่ยงเบนลดลง อาจเกิดจากการที่เอนไซม์บางส่วนที่มากเกินไป ที่เกาะหรือถูกตรึงแบบหลวม ๆ ได้หลุดออกไปเมื่อถูกจุ่มในสารละลาย ทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนผิวหน้าตัวตรวจจับของอุปกรณ์มีจำนวนที่น้อยลง ทำให้สัญญาณที่ปรากฏมีค่าคงที่มากขึ้น และจากผลทดลองดังกล่าวนี้พบว่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณลดลงคิดเป็น 0.638 เปอร์เซ็นต์ มิลลิโวลต์ต่อครั้งของการทดสอบ (mV/cycle)

ดังนั้นในการทดสอบยาฆ่าแมลง หรือการทดสอบอื่น ๆ ในกระบวนการที่ต้องใช้สัญญาณของสารละลายซัลเฟอร์นั้น จะต้องทำการวัดสารละลายซัลเฟอร์ อย่างน้อย 3 ครั้งก่อนการทดสอบเพื่อเป็นการล้างเอาเอนไซม์ส่วนเกินหรือที่เกาะบนพื้นผิวแบบหลวม ๆ ออกจากพื้นผิว และทำให้สัญญาณที่ตรวจวัดนิ่งมากขึ้น โดยการทดสอบเพื่อยืนยันการหลุดออกของเอนไซม์ในเซนเซอร์ทางผู้วิจัยจะได้ทำการศึกษาต่อไป

4.7 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ละลายในสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ ด้วยกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสาร การทดลองนี้ทำการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้เซนเซอร์อิเล็กโทรดที่เตรียมขึ้นด้วยเจลอากาศโรสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์ 0.1 ยูนิต ซึ่งช่วงความเข้มข้นของคาร์บาริลที่ใช้ตรวจวัดคือ 1×10^{-9} ถึง 1×10^{-2} โมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นช่วงกว้าง เพื่อทดสอบในเบื้องต้นว่าเซนเซอร์อิเล็กโทรดที่เตรียมขึ้นจะให้ค่าสัญญาณการตอบสนองของ

การตรวจวัดคาร์บาริลที่ความเข้มข้นช่วงใด ซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงค่าการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของสารละลายซีสเตรทเทียบกับสัญญาณบัพเฟอร์ เมื่อเซนเซอร์ถูกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 1×10^{-9} ถึง 1×10^{-2} โมลาร์

กราฟสัญญาณที่ได้จากรูปที่ 4.8 นี้ เป็นการพลอตระหว่างความเข้มข้นของคาร์บาริล (แกน X) ซึ่งพลอตในรูปของ \log_{10} scale และค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้า V_{gs} (แกน y) เมื่อทำการ Fit Curve หาความสัมพันธ์ของข้อมูลแบบ Logistic 5 Parameter fitting ตามสมการที่ 3.1 ซึ่งการทำการพลาตรฐานด้วยความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้ ส่วนมากใช้สำหรับงานวิจัยเซนเซอร์ทางชีวภาพ ซึ่งกราฟพลาตรฐานนี้เป็นลักษณะ S-Curve สามารถตรวจวัดได้ในช่วงกว้าง จะแสดงให้เห็นการตรวจวัดทั้งช่วงก่อนและหลังการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น จนการเปลี่ยนแปลงหรือปฏิกิริยาดำเนินไปถึงจุดอิ่มตัว อีกทั้งจากข้อมูลดังกล่าวยังสามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของตัวที่ต้องการตรวจวัดได้ หรือค่า Limit of Detection (LOD) ซึ่งเส้นกราฟพลาตรฐานแสดงด้วยเส้นสีแดงในรูป ซึ่งได้ความสัมพันธ์ดังสมการที่ 4.1 และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.988

$$y = (9.15) + \frac{39.277}{(1 + (\frac{42.32}{x})^{-0.498})^{1.955.06}} \quad (4.1)$$

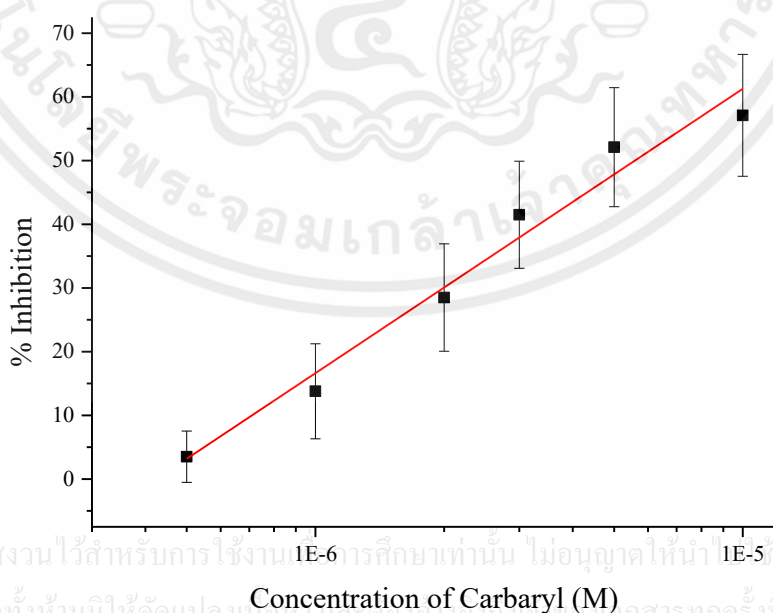
จากกราฟแสดงให้เห็นว่ามีความการเปลี่ยนแปลงอยู่ 3 ช่วง ช่วงแรกคือช่วงความเข้มข้นต่ำของคาร์บาริล (10^{-9} ถึง 10^{-7} โมลาร์) สัญญาณที่เกิดขึ้นมีการเปลี่ยนแปลงประมาณ 45-50 มิลลิโวลต์ ซึ่งใกล้เคียงกับสัญญาณของซีสเตรทที่วัดได้ก่อนที่จะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยคาร์บาริล เมื่อความเข้มข้นของคาร์บาริลเพิ่มขึ้นจนเข้าสู่การเปลี่ยนแปลงช่วงที่สอง (10^{-7} ถึง 10^{-4} โมลาร์) ซึ่งมีค่าความชันของการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากมีปริมาณของยาฆ่า

แมลงที่มากเพียงพอที่จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ซึ่งส่งผลให้ออออนไฮโดรเจนในระบบลดลง จนตรวจวัดสัญญาณได้ชัดเจน จนกระทั่งเข้าสู่ช่วงที่สาม (10^{-4} ถึง 10^{-2} โมลาร์) ซึ่งเป็นช่วงที่มีความเข้มข้นของสัญญาณน้อยจนเริ่มคงที่ เนื่องจากมีปริมาณของยาฆ่าแมลงมากเกินไปซึ่งไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้สัญญาณไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงถึงแม้จะมีความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงมากขึ้นแล้วก็ตาม

จากข้อมูลนี้ยังสามารถบอกได้ว่า ช่วงความเข้มข้นของคาร์บาริลที่เซนเซอร์ฮีสเพตนี้แสดงความไวในการตรวจวัดที่ดี ซึ่งดูได้จากช่วงที่มีความชันของกราฟมาก จะอยู่ที่ประมาณ 10^{-6} ถึง 10^{-4} โมลาร์ และมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ตรวจวัดได้อยู่ที่ 1×10^{-7} โมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นของคาร์บาริลที่ให้สัญญาณการเปลี่ยนแปลงมากกว่า 3 เท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่เกิดจากบัพเพอร์ปกติ (Base line noise) ซึ่งมีค่าประมาณ 0.5 มิลลิโวลต์

ทางผู้วิจัยได้ทำการศึกษาต่อโดยเจาะจงในช่วงความเข้มข้นที่ให้ค่าการเปลี่ยนแปลงชัดเจนดังกล่าว และนำค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เทียบกับความเข้มข้นของคาร์บาริลที่ตรวจวัด เนื่องจากเซนเซอร์แต่ละชิ้นงานนั้นมีค่าเริ่มต้นจากการวัด โดยบันทึกค่าสัญญาณของซีสเตรท 5 มิลลิโมลาร์ครั้งแรก ซึ่งให้ค่าที่มีความแตกต่างกันของชิ้นงาน เมื่อเอนไซม์ถูกยับยั้งการทำงานด้วยยาฆ่าแมลงแล้ว และนำไปทดสอบสารละลายซีสเตรท จะพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่าๆหนึ่ง แต่ก็ไม่สามารถบอกได้ว่าเปลี่ยนแปลงไปมากหรือน้อย เมื่อเทียบค่าสัญญาณเริ่มต้น ดังนั้นการนำเสนอค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะถูกนำเสนอเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เทียบกับค่าความเข้มข้นของยาฆ่าแมลง ซึ่งวัดค่าสัญญาณได้จากสารละลายซีสเตรทที่เซนเซอร์นั้นๆสามารถวัดได้

จากการทดลอง พบว่าคาร์บาริลในช่วงความเข้มข้น 5×10^{-7} โมลาร์ จนถึง 1×10^{-5} โมลาร์ ให้ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่เป็นเส้นตรงจากการพลอตกราฟแบบ Semi-log Scale ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ที่ช่วงความเข้มข้น 5×10^{-7} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์

เมื่อทำการ fit curve หาความสัมพันธ์เชิงเส้นของข้อมูลในรูปที่ 4.9 จะแสดงได้ดังสมการที่ 4.2 โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.981

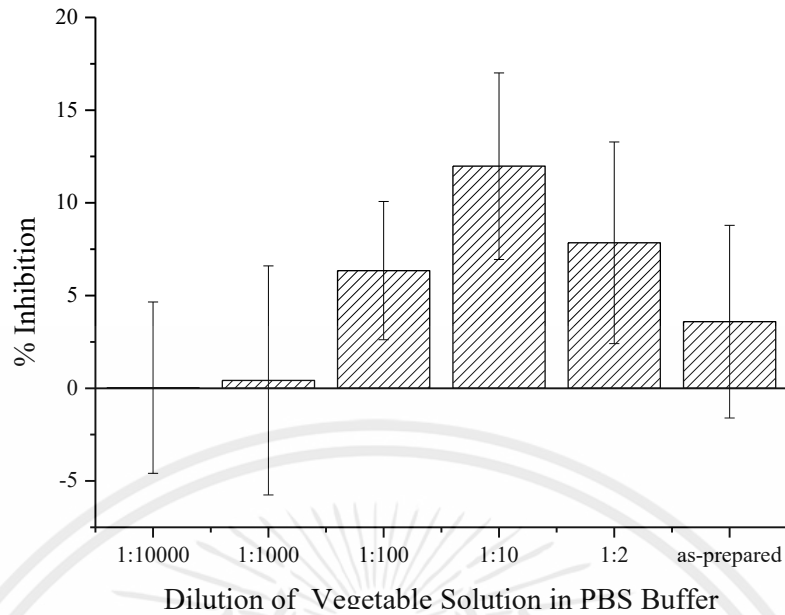
$$y = 44.64 \log(x) + 284.49 \quad (4.2)$$

จากสมการที่ 4.2 มีค่าความชันหรือความว่องไวในการตรวจวัดอยู่ที่ 44.64 %Inhibition / $\log_{10} M$) และช่วงความเข้มข้นดังกล่าว (5×10^{-7} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์) อยู่ในช่วงที่ใช้ในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลจริงที่มีอยู่ในผักในกลุ่ม Brassica Vegetable ที่มีค่า ไม่เกิน 5 ppm หรือประมาณ 2.5×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานตามการส่งออกของประเทศไทย [9]

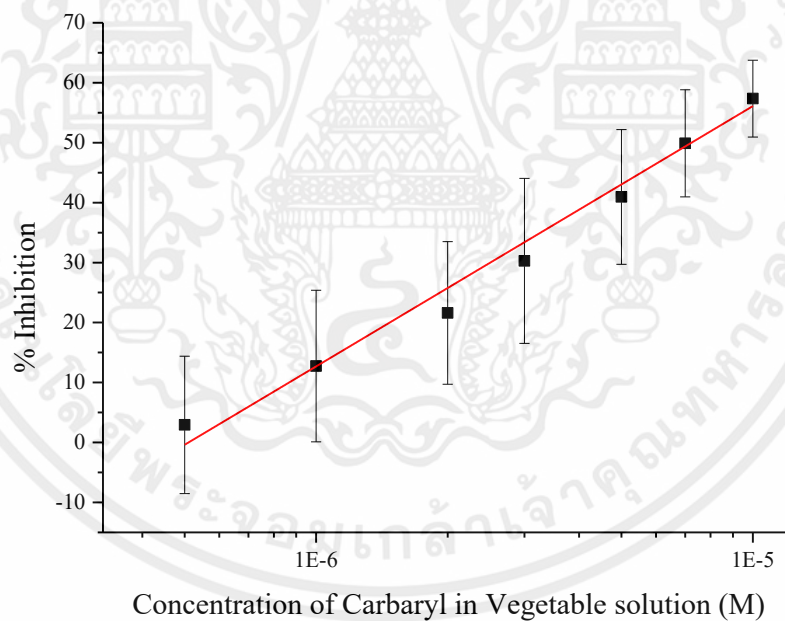
4.8 การตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ละลายในน้ำผัก ด้วยกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

การทดลองนี้ทำการทดสอบผลของความเข้มข้นของสารละลายน้ำผักต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสัญญาณที่ได้จากเซนเซอร์ฮีสเฟต เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการใช้งานจริงในภาคครัวเรือน หลังจากที่ได้ทำการเตรียมเซนเซอร์ฮีสเฟตที่เคลือบเจลอากาศโรส 2 เพอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์ 0.1 ยูนิต และทำให้แห้งในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำมาทดสอบกับสารละลายน้ำผัก โดยการใช้ผักวางตุ้งไต้หวัน ซึ่งเป็นผักในกลุ่ม Brassica Vegetables โดยเลือกผักที่มีร่องรอยของหนอน หรือแมลงเจาะกินผัก และน้ำผักวางตุ้งนั้นจะถูกเจือจางด้วยฟิซีเอสบัฟเฟอร์ 1:10000 1:1000 1:100 1:10 1:2 เท่า และน้ำผักที่ไม่ได้ถูกเจือจาง จากรูปที่ 4.10 แสดงให้เห็นว่า ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายน้ำผักนั้น ให้ค่าการตอบสนองต่อสัญญาณเซนเซอร์ฮีสเฟต เมื่อดูจากค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่สารละลายน้ำผักที่เจือจางมาก ที่ 1:1000 เท่า จะให้ค่าไม่ต่างจากค่าสัญญาณซัสเตรทเริ่มต้น ก่อนที่จะทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยน้ำผัก และเมื่อทดสอบน้ำผักที่ถูกเจือจางน้อยจนถึงระดับที่ไม่มีการเจือจาง พบว่าที่สารละลายน้ำผักเข้มข้น (ไม่เจือจาง) ให้ค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อยู่ในระดับน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงระดับค่าสัญญาณในช่วงนี้อยู่ในระดับที่เป็นการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่เกิดจากฮีสเฟตปกติซึ่งสามารถใช้งานได้ ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการทดลองต่อยกยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่มีการเจือลงในสารละลายน้ำผักที่ไม่มีการเจือจาง ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แผนภูมิแท่งแสดงผลการทดสอบการรบกวนของน้ำผักที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเซนเซอร์อัสเฟตที่มีเอนไซม์ 0.1 ยูนิต



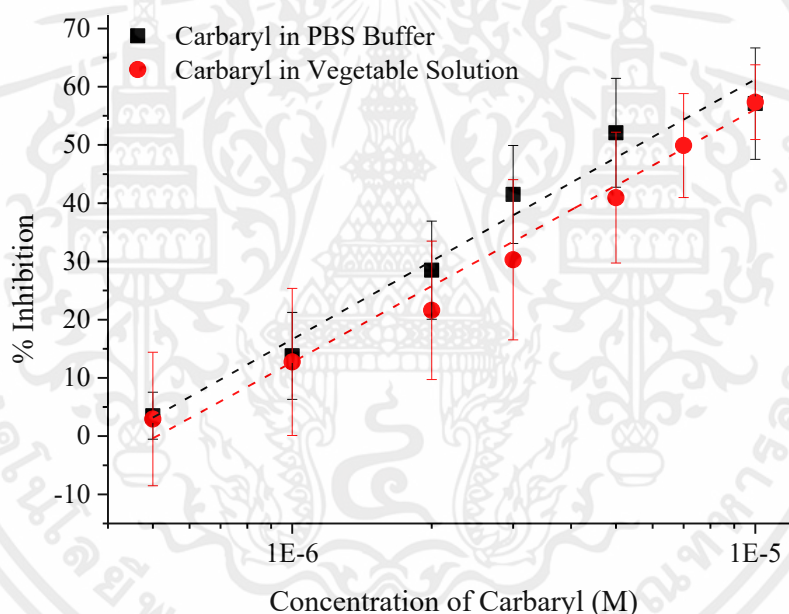
รูปที่ 4.11 แสดงค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลงคาร์บาริลความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ละลายในสารละลายน้ำผัก

จากรูปที่ 4.11 ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 5×10^{-7} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์ ถูกเจือเข้าไปในสารละลายน้ำผัก เสมือนการเลียนแบบการใช้งานจริงที่ต้องนำน้ำผักมาทดสอบหาฆ่าแมลง สารละลายน้ำผักที่เจือยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่เตรียมขึ้นนั้นถูกนำมาทดสอบด้วยเซนเซอร์อัสเฟต จากกราฟพบว่าค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของคาร์บาริลในน้ำ

ผัก เมื่อทำการ Fit curve หาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นคาร์บาริลในน้ำผักและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ดังแสดงในสมการที่ 4.3 ซึ่งให้ค่าความชันอยู่ที่ 43.17 %Inhibition / \log_{10} M และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.987

$$y = 43.17 \ln(x) + 272 \quad (4.3)$$

เมื่อนำผลการทดลองการวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายฟิโอสบัพเฟอร์และน้ำผักมาเปรียบเทียบกันในช่วงค่าสัญญาณเส้นตรง ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นของคาร์บาริลที่ 5×10^{-7} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์ ดังแสดงในรูปที่ 4.12 สามารถเห็นได้ว่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จากคาร์บาริลที่ละลายในบัพเฟอร์และน้ำผัก ให้ค่าความเป็นเชิงเส้นอยู่ในช่วงความเข้มข้นเดียวกัน และมีค่าความไวในการตรวจวัด (Sensitivity) ที่ใกล้เคียงกันมาก โดยสมการเส้นตรงและค่าความไวจากเซนเซอร์ออปติคัลที่ตรวจวัดคาร์บาริลในสารละลายฟิโอสบัพเฟอร์และน้ำผัก แสดงในตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยคาร์บาริลความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ละลายในสารละลายฟิโอสบัพเฟอร์ (เส้นสีดำ) และน้ำผัก (เส้นสีแดง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นคาร์บาริล (หน่วย log M) และค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (%Inhibition) ค่าความไว และค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ จากการตรวจวัดด้วยเซนเซอร์อัสเฟต

เงื่อนไข	สมการเส้นตรง	ค่าความไว (Sensitivity) (%Inhibition / log ₁₀ M)	ค่าสัมประสิทธิ์ ของการ ตัดสินใจ (R ²)
คาร์บาริล ในสารละลาย พีอีเอสบีพีเฟอร์	$y = 44.64 \ln(x) + 284.49$	44.64	0.984
คาร์บาริล ในน้ำผัก	$y = 43.41 \ln(x) + 273.18$	43.41	0.981

จากผลทดสอบนี้บอกได้ว่าการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้หาความเข้มข้นของคาร์บาริลทั้งที่ถูกเจือจางอยู่ในสารละลายพีอีเอสบีพีเฟอร์และสารละลายน้ำผักจริงนั้น ให้ค่าการตรวจวัดที่ไม่แตกต่างกันมาก สามารถนำกราฟมาตรฐานที่สร้างโดยการเจือจางคาร์บาริลในสารละลายมาใช้คำนวณหาความเข้มข้นคาร์บาริลจากสารตัวอย่างน้ำผักจริงได้ เนื่องจากผลการทดสอบวัดคาร์บาริลที่ถูกเจือจางในน้ำผักนั้น มีการรบกวนสัญญาณจากน้ำผักเองน้อยมาก (น้อยกว่า 5%) จากรูปที่ 4.10 ซึ่งบ่งบอกว่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นอันเนื่องมาจากยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ทำการเจือจางเข้าไป โดยสังเกตจากกราฟมาตรฐานที่ได้เกือบทับกับเส้นกราฟมาตรฐานจากการทดลองที่ละลายคาร์บาริลในสารละลายพีอีเอสบีพีเฟอร์ (รูปที่ 4.12)

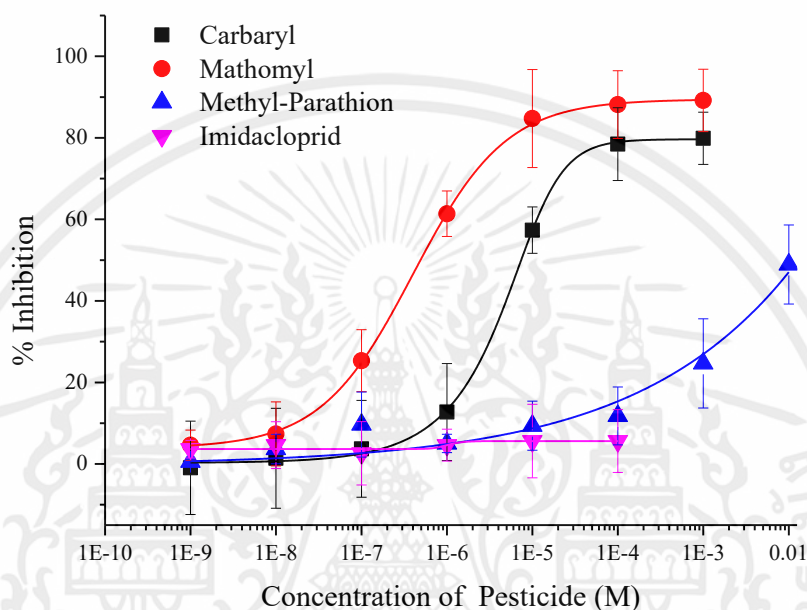
ดังนั้นเซนเซอร์อัสเฟตสามารถนำมาประยุกต์ใช้งานเพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงได้ และมีแนวโน้มที่สามารถตรวจวัดคาร์บาริลจากสารตัวอย่างน้ำผักจริง ดังการจำลองให้เห็นจากผลการทดสอบวัดคาร์บาริลที่ละลายในน้ำผักที่ไม่มีการเจือจาง (ผักวางตั้งได้ทุกวัน) ซึ่งจากค่ามาตรฐาน MRLs ของ ผักวางตั้ง หรือ ผักที่อยู่ในตระกูล Brassica Vegetables มีค่าอยู่ที่ 5 ppm (mg/kg) [9] ซึ่งจากการทดลองกราฟมาตรฐานสามารถตรวจวัดคาร์บาริลได้ในช่วงความเข้มข้น 5×10^{-7} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งสามารถตรวจวัดคาร์บาริลที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 5 ppm หรือ 2.5×10^{-5} โมลาร์ ได้

4.9 ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์ โดยการตรวจวัดกับยาฆ่าแมลง ในกลุ่มต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ยาฆ่าแมลงนั้นมีอยู่ด้วยกันหลายกลุ่มซึ่งแบ่งตามส่วนประกอบของสารเคมี ซึ่งยาฆ่าแมลงแต่ละกลุ่มมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันออกไป การทดลองนี้จึงทำการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์อัสเฟตที่ทำการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล โดยลองทดสอบการตรวจวัดกับยาฆ่า

แมลงตัวอื่นที่อยู่ในกลุ่มอื่น ๆ ซึ่งยาฆ่าแมลงที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ คาร์บาริล (Carbaryl) และ เมทโธมิล (Methomyl) เป็นตัวแทนยาฆ่าแมลงกลุ่ม คาร์บาเมต (Carbamate Group) เมธิลพาราไทออน (Methyl-Parathion) จากกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate Group) และ อิมิดาโคลพริด (Imidacloprid) จากกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoid Group) ซึ่งได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาฆ่าแมลง คาร์บาริล เมทโธมิล เมธิลพาราไทออน และอิมิดาโคลพริด

จากผลการทดลองพบว่า ยาฆ่าแมลงคาร์บาริล เมทโธมิล และ เมธิลพาราไทออน ส่งผลต่อค่าสัญญาณของเซนเซอร์ฮีสเฟตที่เตรียมขึ้น อันเนื่องมาจาก ยาฆ่าแมลงเหล่านี้ที่อยู่ในกลุ่มคาร์บาเมต และ ออร์กาโนฟอสเฟต ซึ่งมีตัวรับ (Receptor) คือ เอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Cholinesterase) ซึ่งยาฆ่าแมลงกลุ่มดังกล่าวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้ และสำหรับงานวิจัยชิ้นนี้ได้ ออกแบบอุปกรณ์ที่ใช้เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase, AChE) โดยยาฆ่าแมลงทั้ง 3 ชนิดข้างต้น สามารถทำปฏิกิริยายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ และยังเห็นได้ว่ายาฆ่าแมลงแต่ละชนิด มีช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่แตกต่างกันออกไป โดยยาฆ่าแมลงคาร์บาริลมีช่วงเส้นตรง อยู่ที่ 1×10^{-6} - 1×10^{-5} โมลาร์ ยาฆ่าแมลงเมทโธมิล มีช่วงเส้นตรง อยู่ที่ 1×10^{-7} - 1×10^{-6} โมลาร์ ส่วนยาฆ่าแมลงเมธิลพาราไทออน ยังไม่สามารถบอกได้ถึงช่วงเส้นตรง ซึ่งค่าความสัมพันธ์ที่แสดงในรูปดังกล่าวนี้ยังไม่ครบในช่วงของ S-Curve ที่จะสามารถเห็นจุด Saturation-point ด้านบน ส่วนยาฆ่าแมลงอิมิดาโคลพริด ไม่เกิดการตอบสนองต่อเซนเซอร์ หรือไม่เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากกลุ่มยาฆ่าแมลงนีโอนิโคตินอยด์นี้ จำเพาะต่อตัวรับอีกชนิดหนึ่ง คือ Nicotinic Acetylcholine Receptor (nAChRs) ดังนั้นจึงไม่เกิดปฏิกิริยาต่อเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส จากข้อมูลข้างต้นสามารถบอกได้ว่าเซนเซอร์ฮีสเฟตที่เคลือบด้วย

เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสมีความจำเพาะต่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลง 2 กลุ่ม คือ ออร์กาโนฟอสเฟต และ คาร์บาเมต โดยยาฆ่าแมลงแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ไม่เท่ากัน ดังเห็นได้จากการที่มีช่วงความเข้มข้นในการตรวจวัดที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการทดสอบดังกล่าว จะได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาฆ่าแมลงที่เซนเซอร์สามารถวัดได้ (Limit of Detection, LOD) และมีค่าความชัน หรือค่าความว่องไว (Slope/Sensitivity) ของเซนเซอร์ต่อยาฆ่าแมลงแต่ละตัวเมื่อทำการ Fit Curve ด้วย สมการของ Logistic 5 Parameter ด้วยการดูค่า ตัวแปร b (Hill's Slope factor) ตามสมการที่ 3.1 ของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล และเมทโรมิล ค่าดังกล่าวได้ถูกแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงช่วงความเข้มข้นและค่าความเข้มข้นต่ำสุด (LOD) ของยาฆ่าแมลงที่ตรวจวัดได้ และค่าความว่องไวของเซนเซอร์อีสเฟต

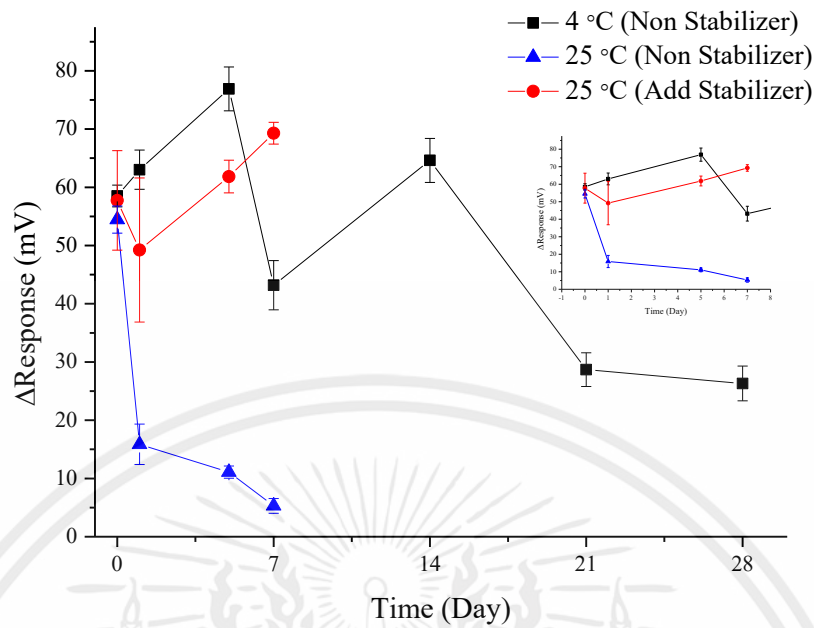
ยาฆ่าแมลง	ช่วงของเส้นตรง (Linear Range) (M)	LOD (M)	Sensitivity (%Inhibition / $\log_{10}M$)
คาร์บาริล	$1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-5}$	1×10^{-7}	1.749
เมทโรมิล	$1 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-6}$	1×10^{-8}	0.800
เมธิลพาราไทออน	N/A	1×10^{-5}	N/A

*N/A ตามการทดลองยังไม่สามารถหาค่าดังกล่าวได้

4.10 การเก็บรักษาเซนเซอร์เพื่อการใช้งานตามระยะเวลาต่างๆ โดยเก็บในสถานะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ไม่มีสารคงสภาพ) และ 25 องศาเซลเซียส (มีสารคงสภาพ)

เอนไซม์นั้นเป็นสารชีวโมเลกุลมีการเสื่อมสภาพตามเวลา อีกทั้งยังสามารถเสื่อมประสิทธิภาพจากการเก็บในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม [58] ดังนั้นจึงนับเป็นปัญหาต่อการนำเซนเซอร์ไปใช้งานจริง เนื่องจากจะเกิดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์บนเซนเซอร์ได้ ในการทดลองนี้จึงต้องการทดสอบการเก็บรักษาเซนเซอร์หลังจากที่เคลือบเอนไซม์แล้ว และดูผลของสัญญาณเมื่อนำไปใช้งานในระยะเวลาที่นานขึ้น โดยหลังจากเตรียมเซนเซอร์ด้วยเอนไซม์แล้ว จะนำเซนเซอร์เก็บไว้ในสถานะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยที่ไม่มีสารคงสภาพ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ คือ 1 5 7 14 21 และ 28 วัน แล้วนำเซนเซอร์เงื่อนไขต่าง ๆ ไปทดสอบวัดกับสารละลายซิปสเตรทที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ซึ่งผลการทดสอบแสดงดังรูปที่ 4.14 (เส้นสีดำ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 กราฟแสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของเซนเซอร์อีสเฟตต่อการตรวจวัดสารละลายซัสเตรท โดยใช้อีสเฟตที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ไม่มีสารคงสภาพ (เส้นสีดำ) อีสเฟตที่เก็บในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ไม่มีสารคงสภาพ (เส้นสีน้ำเงิน) และอีสเฟตที่เก็บในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีสารคงสภาพ เก็บตามระยะเวลาต่าง ๆ ก่อนนำมาทดสอบ

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเซนเซอร์ถูกเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาและคงสภาพของเอนไซม์ได้ดีในช่วงระยะเวลา 14 วัน ซึ่งได้ค่าสัญญาณการตอบสนองเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบสัญญาณที่ได้จากบัฟเฟอร์และสารละลายซัสเตรทที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ (Vgs) อยู่ที่ประมาณ 55 มิลลิโวลต์ ซึ่งหลังจาก 14 วัน จนถึงระยะเวลา 28 วัน ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลง เพราะสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่วัดได้จากการทำปฏิกิริยากับซัสเตรทมีค่าน้อยลง (ต่ำกว่า 60 มิลลิโวลต์ ซึ่งเป็นค่าการเปลี่ยนแปลงในสภาวะเอนไซม์ปกติ) คิดเป็นปริมาณการลดลงถึง 57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่าการเปลี่ยนแปลงลดลงที่ค่อนข้างมากเกินครึ่งของค่าการตรวจวัดปกติ และจากสัญญาณข้างต้นนี้จะเห็นว่า การทดสอบที่วันต่าง ๆ นั้นจะมีการแกว่งของสัญญาณ เช่น ในกรณีของอีสเฟตที่ถูกเก็บไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน สามารถทดสอบสารละลายซัสเตรทและให้ค่าสัญญาณอยู่ที่ 75 มิลลิโวลต์ ที่ 7 วันได้ค่าสัญญาณประมาณ 43 มิลลิโวลต์ และเมื่อทดสอบที่ 14 วัน พบว่าได้ค่าสัญญาณอยู่ที่ 65 มิลลิโวลต์ โดยการแกว่งหรือการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณช่วงนี้ สามารถเกิดจากการใช้เซนเซอร์อีสเฟตซ้ำ โดยผ่านการล้างทำความสะอาดเอาเจลอากาศโรสออก ก่อนที่จะนำมาเตรียมพื้นผิวเพื่อทดสอบในเงื่อนไขใหม่และใช้งาน และการเตรียมพื้นผิวบนอีสเฟตโดยใช้เอนไซม์ต่างชุดกัน สามารถทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนต่อสัญญาณการตรวจวัดกับซัสเตรทได้ แต่โดยรวมแล้ว อีสเฟตยังสามารถตอบสนองได้ดีในช่วง 14 วัน

ดังนั้นการเก็บรักษาเซนเซอร์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ช่วยยืดอายุการทำงานของเอนไซม์ได้ที่ประมาณ 14 วัน หลังจากนั้นประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลงเกินครึ่ง ซึ่งคิดว่ายังไม่

เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเซนเซอร์เอนไซม์นี้ โดยเมื่อเทียบกับการเตรียมเซนเซอร์ และเก็บในอุณหภูมิห้อง ที่ 25 องศาเซลเซียส ไม่มีสารคงสภาพ จากรูปที่ 4.14 (เส้นสีน้ำเงิน) ค่าสัญญาณที่เกิดขึ้นหลังจากเก็บไว้ ที่เวลา 1 วัน ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ก็ลดลงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ งานวิจัยชิ้นนี้เซนเซอร์อัสเพตได้ถูกเตรียมด้วยเจลอากาศโรสและเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส และทำการเคลือบสารคงสภาพด้วยวิธีการหยดสารทับลงไป ทั้งให้แห้งและเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 15 และ 7 วัน และนำไปทำการทดสอบตรวจวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณซัสเตรท เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ตามเวลาดังกล่าว ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.14 (เส้นสีแดง)

จากผลการทดลองจะเห็นว่า สารคงสภาพสามารถรักษาประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ [63] ได้ เนื่องจากได้ค่าการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการตอบสนองเหมือนกับกรณีเริ่มต้นที่เตรียมเซนเซอร์ด้วยการเก็บทำให้แห้ง ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีค่าการตอบสนอง 55 มิลลิโวลต์ ซึ่งในขณะที่เซนเซอร์ที่เก็บในอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) โดยไม่มีสารคงสภาพ เมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน ประสิทธิภาพของชิ้นงานต่อการตรวจวัดซัสเตรท ก็ลดลงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์

อุณหภูมิจึงมีผลต่อการเก็บรักษาเอนไซม์ที่อยู่บนเซนเซอร์ เมื่อเซนเซอร์อยู่ในอุณหภูมิห้องหรือความร้อนภายนอกจะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลง และเมื่อเก็บอยู่ในอุณหภูมิที่เย็นขึ้น อุณหภูมินี้จะไปช่วยหยุดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์ ซึ่งทำให้สามารถเก็บรักษาได้ โดยเงื่อนไขทั่วไปก่อนการใช้งานเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสนั้น จะถูกเก็บที่อุณหภูมิ -18 ถึง -20 องศาเซลเซียส [59] ดังนั้นการเก็บอุปกรณ์เซนเซอร์ที่มีเอนไซม์นั้นสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้เก็บรักษาประสิทธิภาพของเซนเซอร์ได้ดี และการเก็บในอุณหภูมิห้อง ด้วยการใส่สารคงสภาพ ก็สามารถช่วยรักษาประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ได้ดีเช่นกัน จากเงื่อนไขดังกล่าวนี้การเก็บรักษาเซนเซอร์ในอุณหภูมิห้อง ด้วยการใส่สารคงสภาพนั้น จะเป็นแนวทางในการพัฒนาการเก็บรักษาเซนเซอร์ที่สะดวก เหมาะต่อการใช้งานภาคสนาม ในสภาวะที่ไม่มีผู้ทำความเย็น ซึ่งจากการทดลองจะสามารถเก็บได้ 7 วันก่อนการนำไปใช้งาน

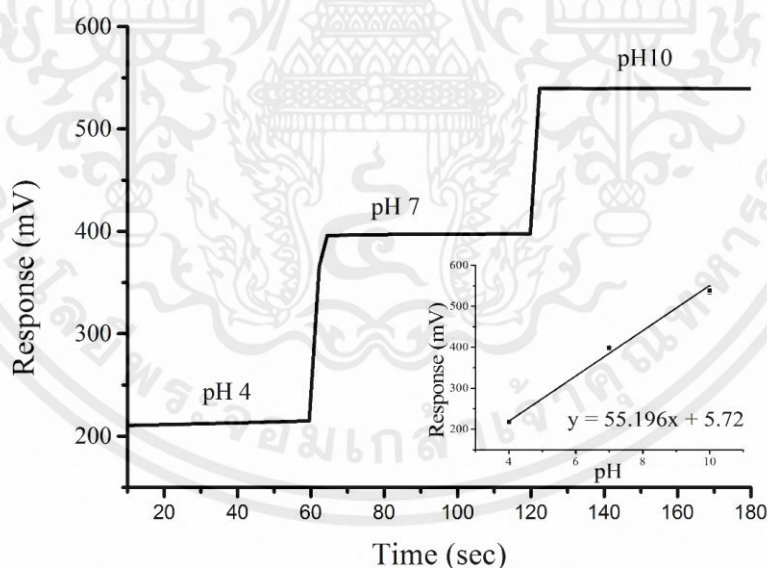
4.11 ผลการทดลองการประยุกต์ใช้งานเซนเซอร์แบบส่วนต่อขยายขาเกต (Extended-Gate Field Effect Transistor, EGFET)

การประยุกต์ใช้งานอุปกรณ์อัสเพตยังมีข้อจำกัดในเรื่องของราคา หากต้องการพัฒนาให้เซนเซอร์สามารถใช้งานการตรวจวัดได้จริงและแพร่หลาย เนื่องจากต้องอาศัยเทคโนโลยีของการสร้างวัสดุซิลิกอน เมื่อคำนึงถึงการใช้งานเพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงนั้น เซนเซอร์ควรเป็นแบบใช้แล้วทิ้ง เนื่องจากเซนเซอร์เมื่อมีการปรับปรุงพื้นผิวด้วยเอนไซม์และสัมผัสกับยาฆ่าแมลงแล้ว เอนไซม์และลักษณะพื้นผิวของอุปกรณ์อัสเพตจะเกิดการเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งยากต่อการนำกลับมาใช้ใหม่ และที่สำคัญยาฆ่าแมลงส่วนใหญ่ที่มีการใช้งานในอุตสาหกรรมเกษตรนี้ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จึงทำให้ไม่สามารถใช้เซนเซอร์ซ้ำได้ด้วยเรื่องต้นทุนของอัสเพตที่มีราคาค่อนข้างสูง ทางผู้วิจัยจึงได้ทดลองการใช้งานหัววัดแบบส่วนต่อขยายขาเกต หรือ อีจีเฟต ที่เตรียมได้จากกระจกไอทีโอ (Indium Thin Oxide, ITO) กระจกนำไฟฟ้าเป็นส่วนตอบสนอง (Sensing Membrane) และจะถูกต่อเข้ากับวงจรมอสเฟตการค้ำ MOSFET 303N และวงจรมอสเฟตการค้ำ และประมวลผลต่างๆ เพื่อ

การลดต้นทุนและสามารถใช้แล้วทิ้งได้ โดยที่ระบบบีสเฟตนั้นส่วนตอบสนองจะอยู่ติดกับขาเดรนและขาซอส ซึ่งต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูงในการสร้างชิ้นงานที่มีประสิทธิภาพและมีขนาดเล็กจึงมีราคาแพง หากมีการใช้ในลักษณะใช้แล้วทิ้งต่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงนั้นจะเป็นการสิ้นเปลืองมาก แต่สำหรับอุปกรณ์อีจีเฟต เนื่องจากใช้มอสเฟตมาตรฐานทางการค้า ซึ่งทำให้การใช้งานในลักษณะใช้แล้วทิ้งสามารถทำได้ โดยการเปลี่ยนแค่ส่วนตอบสนองเท่านั้น เพราะวงจรอื่น ๆ ขาเดรน ขาซอสสำหรับอุปกรณ์ทรานซิสเตอร์ถูกต่ออยู่ภายนอกแยกส่วนกันกับส่วนตอบสนอง และการทำงานของส่วนตอบสนองด้วยกระแสจกนำไฟฟ้าไอทีโอนี้ สามารถใช้งานสำหรับอุปกรณ์อีจีเฟตได้ ด้วยคุณสมบัติที่นำไฟฟ้า โปร่งแสง และมีราคาถูก [60] โดยผลการทดสอบที่จะรายงานนี้เป็นผลเบื้องต้นเพื่อเป็นแนวทางในการนำไปพัฒนาให้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดยาฆ่าแมลงที่สามารถพกพาและใช้แล้วทิ้งได้ต่อไป

4.11.1 ลักษณะสัญญาณการตอบสนองของอุปกรณ์อีจีเฟต ต่อสารละลายพีบีเอส บัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ

การทดลองโดยการวัดประสิทธิภาพการใช้งานทดสอบคุณสมบัติของการเป็นเซนเซอร์ตรวจวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เหมือนอุปกรณ์อีจีเฟต โดยการทดลอง สารละลายพีบีเอส บัฟเฟอร์ พีเอช 4 7 และ 10 ได้ผลการทดลองตัวอย่าง ดังแสดงในรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 กราฟเส้นแสดงค่าสัญญาณการตอบสนองตามเวลาของอีจีเฟตในสารละลายพีบีเอส บัฟเฟอร์พีเอชต่าง ๆ

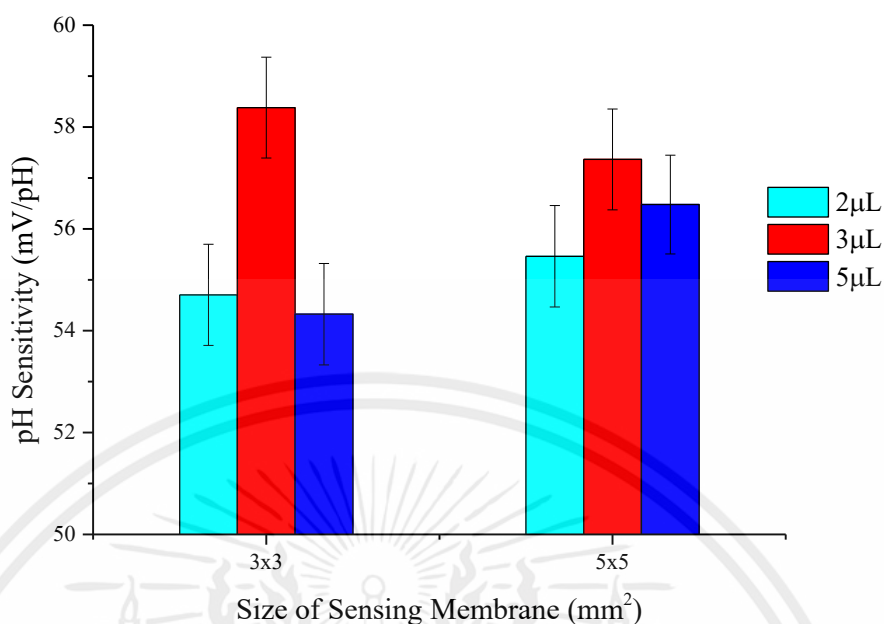
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น จากรูปที่ 4.15 แสดงให้เห็นถึงค่าสัญญาณการตอบสนองต่อสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่พีเอชต่าง ๆ โดยอีจีเฟต ดังรูปให้ค่าสัญญาณบัฟเฟอร์พีเอช 4 อยู่ที่ 224 มิลลิโวลต์ พีเอช 7 อยู่ที่ 397 มิลลิโวลต์ และ พีเอช 10 อยู่ที่ 547 มิลลิโวลต์ โดยมีเส้นมาตรฐานดังแสดงภายในรูปที่ 4.15 พบว่ามี

ค่าความไวต่อการตรวจวัด อยู่ที่ 55.196 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช (mV/pH) จากผลการทดลองข้างต้น การใช้งานอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกิดด้วยการใช้กระจกนำไฟฟ้าไอทีโอ (ITO glass) ซึ่งต่อเข้ากับ วงจรมอสเฟต พบว่าสามารถใช้งานได้เหมือนกับการใช้งานฮีสเฟต ซึ่งมีการตอบสนองต่อการ เปลี่ยนแปลงไอออนไฮโดรเจนในสารละลาย โดยการใช้ฮีเฟตนี้ ส่วนต่อขยายขาเกิดทำขึ้นจากวัสดุ กระจกนำไฟฟ้าไอทีโอ ซึ่งมีสารอินเดียมทินออกไซด์ (InSnO_2) เคลือบที่ผิวหน้า ซึ่งตามโครงสร้างแล้ว สารตัวนี้มีคุณสมบัติการนำไฟฟ้า และมีค่าอิมพีแดนซ์ต่ำ (low impedance) และเป็นชั้น ไดอิเล็กทริกซ์ที่มีส่วนของออกไซด์ ที่สามารถจับการเปลี่ยนแปลงของไอออนไฮโดรเจนได้ ซึ่ง เหมาะสมต่อการใช้เป็นส่วนต่อขยายขาเกิดที่ต่อเข้ากับวงจรมอสเฟต [6] ดังนั้นกระจกไอทีโอจึง สามารถประยุกต์ใช้งานในการทำหน้าที่ของส่วนตอบสนองสัญญาณ (Sensing Membrane Electrode)

4.11.2 ผลการทดสอบการหาขนาดของส่วนตอบสนองที่เหมาะสมของกระจก นำไฟฟ้าไอทีโอ (ITO)

สำหรับการใช้งานส่วนต่อขยายขาเกิด (ฮีเฟต) แทนการใช้งานฮีสเฟต ในเบื้องต้น ได้ทำการ ทดลองเงื่อนไขเพื่อหาความเหมาะสมต่อการใช้งาน เพื่อสามารถตรวจวัดยาฆ่าแมลงในสารละลายได้ โดยเงื่อนไขที่ทดสอบ คือ ขนาดของส่วนตอบสนอง และ ปริมาตรของเจลอากาศาโรสที่หยดลงบนส่วน ต่อขยายขาเกิด สำหรับตรึงเอนไซม์ไว้ภายใน โดยการทดสอบกับสารละลายพีอีเอสบีเฟออร์ที่ค่าพีเอช ต่าง ๆ เพื่อดูลักษณะสัญญาณการตอบสนองของส่วนต่อขยายขาเกิดที่ทำขึ้น ซึ่งจะนำค่าความไว (sensitivity) ในการตรวจวัดสารละลายพีเอชต่าง ๆ จากแต่ละเงื่อนไขมาเปรียบเทียบกัน จากรูปที่ 4.16 เป็นแผนภูมิแสดงค่าความไวต่อการตรวจวัดไอออนไฮโดรเจนของส่วนต่อขยายขาเกิดที่ ส่วน ตอบสนองขนาด 3x3 ตารางมิลลิเมตร และ ส่วนตอบสนองขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร ที่ทำการหยด สารละลายเจลอากาศาโรสเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ลงบนส่วนตอบสนอง เป็น ปริมาตร 2 3 และ 5 ไมโครลิตร ซึ่งแทนด้วยสีฟ้า สีแดง และสีน้ำตาลตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 แผนภูมิแท่งแสดงค่าความไวต่อการตอบสนองสัญญาณค่าพีเอช จากอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) ด้วยพื้นที่ส่วนตอบสนองขนาด 3x3 และ 5x5 ตารางมิลลิเมตร บนพื้นผิวมีเจลอากาศโรสในปริมาตร 2 3 และ 5 ไมโครลิตร

จากผลการทดลองพบว่าปริมาตรเจลอากาศโรสที่เหมาะสมต่อการใช้งาน คือ 3 ไมโครลิตร เนื่องจากให้ค่าความไวในการตรวจวัดสูงทั้งในกรณีของขนาด 3x3 และ 5x5 ตารางมิลลิเมตร เนื่องจากจากที่เจลอากาศโรสปริมาตร 3 ไมโครลิตร มีการกระจายตัวบนพื้นผิวส่วนตอบสนองได้ดี โดยที่เมื่อแห้งแล้ว จะไม่หนาจนเกินไปซึ่งส่งผลให้ออออนในสารละลายสามารถเข้าถึงบริเวณผิวหน้าของส่วนตอบสนองได้ แต่ในกรณีของเจลที่ปริมาตร 5 ไมโครลิตร อาจมีความหนาของเจลมากเกินไปทำให้การส่งสัญญาณได้น้อยลง และในกรณีที่เจลปริมาตร 2 ไมโครลิตรนั้น เมื่อแห้งแล้วมีความบางจนเกินไปอาจทำให้เจลอากาศโรสที่ติดอยู่หลุดออกไปได้ง่าย และบางครั้งสำหรับการเตรียมเจลอากาศโรสปริมาตรที่ 2 ไมโครลิตรไม่สามารถครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมดของส่วนตอบสนองได้ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความไวที่ได้ ส่วนตอบสนอง พื้นที่ขนาด 3x3 และ 5x5 ตารางมิลลิเมตร นั้นมีค่าใกล้เคียงกันโดยมีค่าเฉลี่ย อยู่ที่ 57 มิลลิโวลต์ต่อพีเอช

แต่จากผลการทดลองดังกล่าว เมื่อเทียบอัตราส่วนของค่าความไวต่อการตรวจวัด ต่อขนาดของพื้นที่ส่วนตอบสนองนั้น พบว่าที่ขนาด 3x3 และ 5x5 ตารางมิลลิเมตรให้ค่าดังกล่าวอยู่ที่ 6.359 และ 2.341 ค่าความไวต่อ 1 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ขนาด 3x3 ตารางมิลลิเมตรนั้นมีความไวต่อการตรวจวัดไฮโดรเจนที่สูงเมื่อเทียบกับพื้นที่ส่วนตอบสนองที่ต่ำ

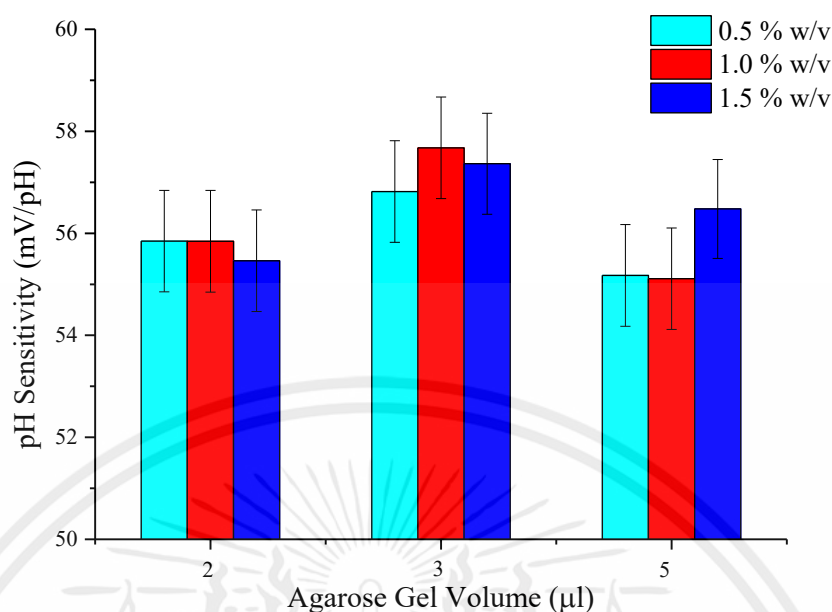
ดังนั้นการทดสอบเบื้องต้นของการตรวจวัดยาฆ่าแมลงในชั้นถัดไป ทางผู้วิจัยจึงเลือกใช้กระจกนำไฟฟ้าไอทีโอที่มีพื้นผิวสัมผัสขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร และ ปริมาตรเจลที่ 3 ไมโครลิตร เพราะให้ค่าความไวต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในสารละลายที่ดี และอยู่ในเกณฑ์ปกติที่ใช้งานกันโดยทั่วไป (45-55 mV/pH) และที่สำคัญที่ขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร เป็นการเตรียมชิ้นงานกระจกไอทีโอที่ง่ายกว่าขนาด 3x3 ตารางมิลลิเมตร เนื่องจากมีขนาดใหญ่กว่า เพราะการทดลองนี้ใช้

วิธีการตัดชิ้นงานไอทีโอโดยการตัดด้วยมือ ดังนั้นยิ่งขนาดเล็กจะทำได้ยากกว่า และอาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของการวัดสัญญาณได้

อย่างไรก็ตามในการพัฒนาต่อไปสามารถเลือกใช้ชิ้นงานที่มีขนาด 3x3 ตารางมิลลิเมตร ในการทำเป็นส่วนต่อขยายขาเกต เนื่องจากถ้าพิจารณาความว่องไวในการตรวจวัดสัญญาณต่อพื้นที่แล้ว จะให้ค่าที่สูงกว่าชิ้นงานที่มีขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตรดังที่ได้กล่าวไปข้างต้น และนอกจากนั้น ยังช่วยลดปริมาณการใช้สารชีวโมเลกุลลงอีกด้วย แต่ต้องอาศัยวิธีการตัดชิ้นงานที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นโดยใช้เครื่องมืออัตโนมัติ

การศึกษาถัดไปต้องการทดสอบว่าเจลอากาโรสที่เคลือบบนพื้นผิวมีผลต่อค่าความว่องไวต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเซนเซอร์หรือไม่ โดยทำการทดลองโดยการเตรียมกระจกนำไฟฟ้าไอทีโอขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร ทำการหยดสารละลายเจลอากาโรสที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และทำการหยดสารละลายเจลอากาโรสโดยใช้ปริมาตรแตกต่างกันที่ 2 3 และ 5 ไมโครลิตร และนำส่วนต่อขยายขาเกตดังกล่าวไปทดสอบกับสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4 7 และ 10 เพื่อศึกษาถึงความว่องไวต่อการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของสารละลาย จากรูปที่ 4.17 แผนภูมิแท่งสีฟ้า สีแดง และสีน้ำเงิน แสดงความเข้มข้นเจลอากาโรสที่ 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ พบว่าค่าความว่องไวที่เกิดขึ้นนั้น มีค่าใกล้เคียงกันอยู่ที่ประมาณ 55-58 มิลลิโวลต์ ในทุกความเข้มข้นของเจลอากาโรส และปริมาตรการหยด ซึ่งค่าความว่องไวนี้มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับอีจีพีทีเปล่าที่ไม่ถูกเคลือบด้วยเจลอากาโรส ดังผลที่แสดงในรูปที่ 4.15 ดังนั้นจากการทดลองอาจบอกได้ว่า ความเข้มข้นของเจลอากาโรสนั้น ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการตอบสนองเมื่อสารละลายมีค่าพีเอชเปลี่ยนไป หรือกล่าวคือ ไม่มีผลต่อความไวในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของไอออนไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นในสารละลาย นั่นทำให้เจลอากาโรสเป็นวัสดุอุดซับที่สามารถติดเอนไซม์ลงบนพื้นผิวของส่วนตอบสนองได้ แต่ทั้งนี้แล้วสิ่งที่คาดว่าจะมีผลต่อการตรวจวัดไอออนไฮโดรเจนนั้น คือ ความหนาของเจลที่เกิดขึ้น เพราะเนื่องจากความหนาของเจลอาจทำให้สนามไฟฟ้าของไอออนไฮโดรเจน เข้าถึงบริเวณหน้าพื้นผิวของส่วนตอบสนองได้ยากขึ้น นั่นทำให้ไอออนไฮโดรเจนนั้นไม่สามารถเปลี่ยนแปลงค่าแรงดันที่ส่วนตอบสนองซึ่งจะส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของกระแสไฟฟ้าจากขาเตรนไปยังขาซอส เมื่อเจลมีความหนามากเกินไปซึ่งอาจทำให้ส่วนตอบสนองนั้นไม่สามารถตรวจจับไฮโดรเจนไอออนได้ ซึ่งเจลอาจไปทำให้ระยะที่เครื่องมือจะสามารถตรวจจับไอออนไฮโดรเจนมีช่วงมีแคบลง แต่ถึงอย่างไรแล้ว การที่มีเจลบนพื้นผิวตอบสนองนั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณต่าง ๆ ในปริมาณที่น้อยเพราะเจลอากาโรสนั้นสามารถอุดซับสารละลายไว้ภายในได้ นั่นทำให้สารที่ต้องการตรวจวัดก็สามารถถูกอุดซับและเข้าไปใกล้บริเวณพื้นที่ตอบสนองได้ ซึ่งระยะดังกล่าวนี้จะเรียกว่า Debye length [52] และขนาดของรูพรุนนั้นจะส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของไอออนในเจล เมื่อเจลมีขนาดรูพรุนที่เล็ก ไอออนจะเคลื่อนที่ยาก แต่ถ้ามีสารละลายในปริมาตรที่สูง ถึงแม้จะมีขนาดของรูพรุนที่เล็ก ไอออนในเจลก็สามารถเกิดการเคลื่อนที่ได้ดี [64]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

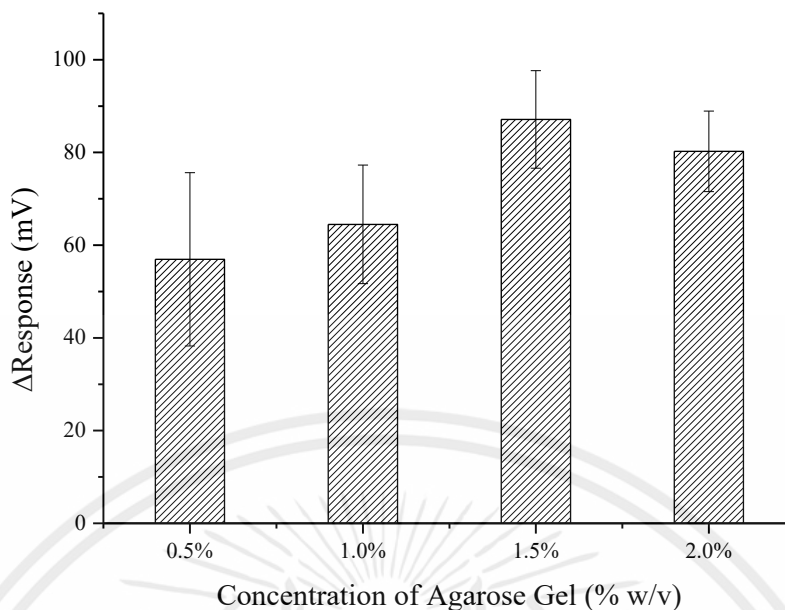


รูปที่ 4.17 แผนภูมิแท่งแสดงค่าความไวต่อการตอบสนองของสัญญาณค่าพีเอช จากอุปกรณ์ส่วนต่อขยายขาเกต (EGFET) ด้วยพื้นที่ส่วนตอบสนองขนาด 5x5 ตารางมิลลิเมตร บนพื้นผิวมีเจลอากาโรส ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยใช้ปริมาตรการหยดบนพื้นผิวที่ 2 3 และ 5 ไมโครลิตร

4.11.3 ผลของความเข้มข้นเจลอากาโรสที่ใช้กับเก็บเอนไซม์

จากผลการทดลอง ข้อที่ 4.11.2 ทำให้ทราบเงื่อนไขของขนาดชิ้นงานส่วนต่อขยายขาเขต และ ปริมาตรของเจลอากาโรสที่ใช้หยดลงบนพื้นผิวแล้ว การทดลองนี้จึงต้องการหาค่าความเข้มข้นของเจลอากาโรสที่เหมาะสมต่อการตรึงเอนไซม์ โดยการเตรียมเจลอากาโรสที่ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%m/v) และตรึงเอนไซม์ 0.5 ยูนิตลงไป ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



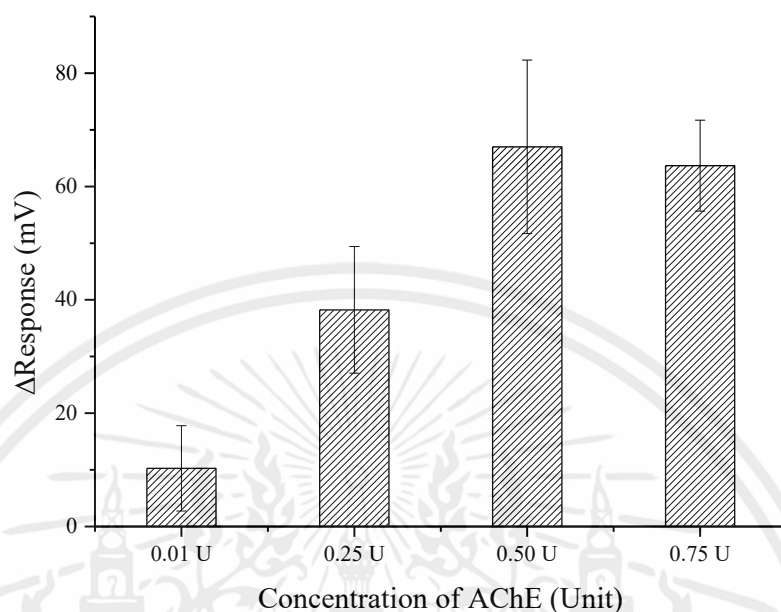
รูปที่ 4.18 แผนภูมิแท่งแสดงค่าสัญญาณการตอบสนองต่อสารละลายซิปสเตอร์ท 5 มิลลิโมลาร์ ของการใช้งานส่วนต่อขยายขาเกต ที่มีเอนไซม์ 0.5 ยูนิต ในเจลอากาโรสที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าความเข้มข้นของเจลที่ 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ค่าการตอบสนองสัญญาณที่ดี คือ มีค่าสัญญาณจากเซนเซอร์ความเข้มข้นเจลทั้ง 2 ความเข้มข้น และจากการทดสอบสารละลายซิปสเตอร์ทที่ 5 มิลลิโมลาร์ ได้ค่าประมาณ 78.32 มิลลิโวลต์ ซึ่งทางผู้วิจัยได้เลือก เจลอากาโรส ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นของเจลน้อยสุดที่ทำให้ได้ค่าการตอบสนองที่สูงที่สุด ในขณะที่เจลที่มีความเข้มข้นน้อยกว่านั้นให้ค่าสัญญาณการตอบสนองที่ต่ำกว่า เพราะลักษณะรูพรุนของเจล ดังที่อธิบายไปในการทดลองของฮีสเฟด ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของเจลมากขึ้นจะทำให้ได้ขนาดรูพรุนเล็กลง ซึ่งสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการตรึงเอนไซม์ภายในเจลอากาโรสดังที่ได้กล่าวมาแล้วในส่วนการทดลองของฮีสเฟด ส่วนความเข้มข้นที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรนั้น ให้ค่าสัญญาณใกล้เคียงกับความเข้มข้นที่ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จึงได้เลือกความเข้มข้นที่ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพราะเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยที่เป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ทำให้เซนเซอร์สามารถตรวจวัดค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงได้มากที่สุด

4.11.4 ผลของปริมาณเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรสที่ใช้ตรึงในเจลอากาโรสบนพื้นผิวเซนเซอร์

การใช้งานเอนไซมนั้น จำเป็นที่จะต้องใช้งานในปริมาณที่เหมาะสม เพราะเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์มีราคาค่อนข้างสูง และต้องให้เหมาะสมกับความเข้มข้นเจลอากาโรส โดยการทดสอบด้วยการติดเอนไซม์ในปริมาณต่าง ๆ ลงในเจลอากาโรสที่อยู่บนพื้นผิวของส่วนตอบสนอง และทำการตรวจวัดสัญญาณที่เกิดขึ้นจากการทดสอบสารละลายซิปสเตอร์ท ในการทดลองที่ผ่านมีการใช้งานเอนไซม์ที่ 0.5 ยูนิต โดยการทดลองส่วนนี้จะทำการทดสอบกับปริมาณเอนไซม์ค่าต่าง ๆ คือ 0.1 0.25

0.5 และ 0.75 หน่วย เพื่อหาปริมาณเอนไซม์ที่น้อยที่สุดที่ทำให้ได้ค่าการตอบสนองของสัญญาณที่สูงที่สุด ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.18

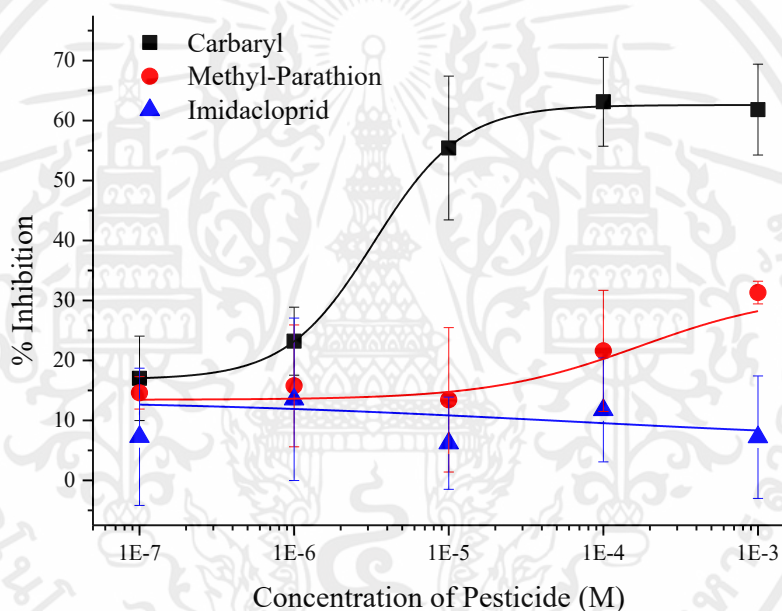


รูปที่ 4.19 แผนภูมิแท่งแสดงค่าสัญญาณการตอบสนองของสารละลายซีสเตรท 5 มิลลิโมลาร์ ของการใช้งานส่วนต่อขยายขาเกต โดยใช้เอนไซม์ที่ปริมาณ 0.01 0.25 0.5 และ 0.75 หน่วย

จากรูปที่ 4.19 แผนภูมิแท่งแสดงค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลง (Δ response) ระหว่างค่าสัญญาณที่ทดสอบความเข้มข้นของสารละลายซีสเตรทเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์กับสัญญาณของสารละลายพีไอเอสซีพีเอฟเออร์ เมื่อเตรียมเซนเซอร์อีจีพีเอตโดยใช้เอนไซม์ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งผลปรากฏว่า ค่าสัญญาณการตอบสนองจะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ และสัญญาณเริ่มคงที่ ที่ปริมาณ 0.5 และ 0.75 หน่วย ซึ่งให้ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยรวมที่สูงถึง 61.46 มิลลิโวลต์ และในเซนเซอร์ที่มีปริมาณเอนไซม์น้อย ที่ 0.01 และ 0.25 หน่วย ให้ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่มีค่าต่ำ ซึ่งผลการทดลองนี้เป็นผลมาจากการใช้เจลอากาโรสที่มีความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งคาดว่าปริมาณรูพรุนอยู่จำนวนหนึ่ง และมีขนาดของรูพรุนที่เหมาะสม ดังนั้น เมื่อเติมเอนไซม์ที่ปริมาณใด ๆ แล้ว เอนไซม์จะตรึงติดอยู่ภายในเจลได้จนถึงจุดอิ่มตัว จากการทดลอง คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ 0.5 หน่วย และที่ 0.75 หน่วย คือปริมาณที่มากเกินไป ทำให้ผลของสัญญาณการเปลี่ยนแปลงในรูปดังกล่าวนี้ มีค่าของสัญญาณที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นค่าสูงสุดที่การเตรียมเซนเซอร์ด้วยเจลอากาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ทำได้ และที่การทดสอบเซนเซอร์ที่เอนไซม์ปริมาณ 0.01 หน่วย พบว่าให้ค่าสัญญาณการเปลี่ยนแปลงที่ต่ำ อยู่ที่ประมาณ 10.21 มิลลิโวลต์ และ 0.25 หน่วย ให้ค่าสัญญาณอยู่ที่ประมาณ 37.64 มิลลิโวลต์ ซึ่งเป็นไปตามการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอนไซม์ในระบบ และปริมาณเอนไซม์ที่ 0.5 หน่วยนั้น เหมาะสมต่อการใช้งานในการทดลองต่อไป เพราะจากการออกแบบเซนเซอร์ในการใช้งาน ควรที่จะให้ค่าสัญญาณตอบสนองที่สูงและใช้สารในปริมาณที่ไม่มาก

4.11.5 ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงในกลุ่มต่าง ๆ

งานวิจัยการพัฒนาเซนเซอร์ส่วนต่อขยายขาเกดนี้ เป็นผลวิจัยเบื้องต้น โดยออกแบบเซนเซอร์ให้สามารถตรวจวัดยาฆ่าแมลง โดยเฉพาะยาฆ่าแมลงคาร์บาริล ซึ่งมีการเตรียมเซนเซอร์ด้วยเงื่อนไขที่เหมาะสมด้วยการใช้กระจกนำไฟฟ้าไอทีโอเป็นฐานรองรับ เป็นส่วนตอบสนอง และทำการตรึงเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส 0.5 ยูนิต ในเจลอากาโรสเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ติดอยู่บนกระจกนำไฟฟ้าไอทีโอ และนอกจากจะทดสอบกับยาฆ่าแมลงคาร์บาริลแล้ว จะทดสอบกับยาฆ่าแมลงเมธิลพาราไทออน และอิมิดาโคลพริด ซึ่งเป็นตัวแทนของยาฆ่าแมลงในแต่ละกลุ่มหลักของการใช้งานในปัจจุบัน เพื่อดูลักษณะการตอบสนอง และความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์ต่อการใช้งานเพื่อตรวจวัดยาฆ่าแมลงต่าง ๆ ในสารละลาย



รูปที่ 4.20 กราฟแสดงค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาฆ่าแมลงคาร์บาริล เมธิลพาราไทออน และ อิมิดาโคลพริด

เมื่อเซนเซอร์ถูกเตรียมขึ้น ได้ทำการทดสอบกับยาฆ่าแมลงคาร์บาริล (กลุ่มคาร์บาเมต) ตั้งแต่ความเข้มข้น 1×10^{-7} โมลาร์ จนถึงความเข้มข้นที่ 1×10^{-3} โมลาร์ จากรูปที่ 4.20 แสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาฆ่าแมลง จากผลการทดลองจะเห็นว่า ยาฆ่าแมลงคาร์บาริลสามารถตรวจวัดในสารละลายโดยมีช่วงเส้นตรงอยู่ที่ 1×10^{-6} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์ และมีค่า LOD ของยาฆ่าแมลงอยู่ที่ 1×10^{-6} โมลาร์ ซึ่งเป็นช่วงเดียวกับการใช้เซนเซอร์อัสเฟตที่มีการปรับปรุงพื้นผิวด้วยเจลอากาโรสและเอนไซม์ในการตรวจวัดเช่นกัน

เมื่อทดสอบความจำเพาะต่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงของเซนเซอร์ส่วนต่อขยายขาเกด โดยการทดสอบกับเมธิลพาราไทออน (กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต) พบว่ามีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเหมือนในอุปกรณ์อัสเฟต โดยมีค่า LOD ความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงอยู่ที่ 1×10^{-5} โมลาร์

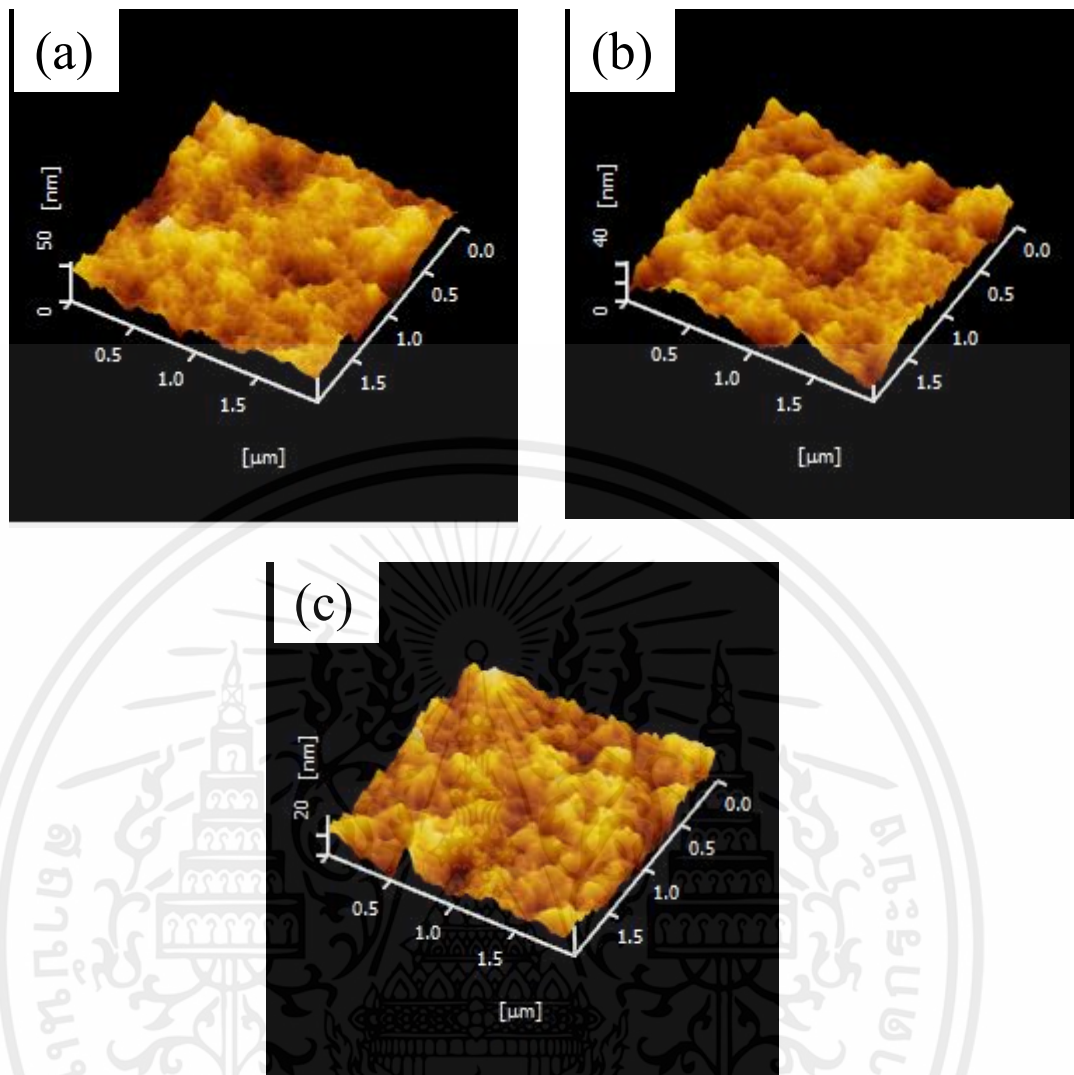
และ เมื่อทดสอบกับยาฆ่าแมลงอิมิดาโคลพริด (กลุ่มนีโอนิโคตินอยด์) พบว่าเซนเซอร์ไม่มีการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของยาฆ่าแมลงกลุ่มดังกล่าว เช่นเดียวกับผลที่เกิดขึ้นกับเซนเซอร์อีสเพต

ดังนั้นการทดลองการใช้งานส่วนต่อขยายขาเกต ด้วยการใช้กระจกนำไฟฟ้าไอทีโอร่วมกับเจลอากาศที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส ปริมาณ 0.5 ยูนิต ซึ่งต่อเข้ากับมอสเฟตมาตรฐาน พบว่าสามารถใช้งานการตรวจวัดค่าพีเอชในสารละลาย และประยุกต์ใช้งานตรวจวัดยาฆ่าแมลงในสารละลายได้ดี โดยดูได้จากค่า LOD และช่วงเส้นตรงของการตรวจวัดยาฆ่าแมลงแต่ละชนิด ด้วยเหตุนี้ ส่วนต่อขยายขาเกตจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมต่อการใช้แบบใช้แล้วทิ้ง ซึ่งมีราคาถูก และเตรียมได้ง่าย และไม่ต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูงในการผลิต

4.12 ผลการวิเคราะห์พื้นผิวเจลอากาศด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Atomic Force Microscope, AFM)

การศึกษาพื้นผิวของเจลอากาศ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม โดยการเตรียมพื้นผิวของเจลอากาศ ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งถูกใช้เป็นเงื่อนไขในการทดลองต่างๆ จะถูกนำมาทดสอบลักษณะสภาพพื้นผิว

จากการทดสอบสภาพพื้นผิวของเจลแต่ละเงื่อนไข จะใช้ค่าที่แสดงถึงความขรุขระของพื้นผิว อยู่สองค่าด้วยกัน คือ ค่าเฉลี่ยความสูง Ra (Roughness) และค่าความสูงต่ำของพื้นผิวโดยรวม Rms (Root mean square) ซึ่งทั้ง 2 ค่าจะถูกคำนวณมาด้วยตัวแปรเดียวกัน [61] และค่าRms มักถูกใช้ในการบอกความขรุขระของพื้นผิว จากรูปที่ 4.21 เป็นรูปจากกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม โดยที่รูป (a) เป็นลักษณะพื้นผิวของเจลอากาศความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (b) 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ (c) 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อดูจากความสูงของแนวแกน y ในภาพจะพบว่า เมื่อความเข้มข้นของเจลอากาศสูงขึ้น จะทำให้เกิดลักษณะของพื้นผิวที่มีความสูงโดดลดลง โดยสามารถดูจากค่าความขรุขระ Ra และ Rms ในตารางที่ 4.5



รูปที่ 4.21 รูปภาพ 3 มิติ จากเทคนิคการถ่ายภาพแรงอะตอม (AFM) ของพื้นผิวเจลอากาโรส ที่ความเข้มข้น (a) 1.0 (b) 1.5 และ (c) 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงค่าความขรุขระของพื้นผิวของเจลอากาโรสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น เจลอากาโรส (%w/v)	0.5	1.0	1.5	2.0
Ra (nm) (Roughness average)	9.57	6.00	5.42	4.27
Rms (nm) (Root Mean Square roughness)	11.91	7.71	6.81	5.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานานับไม่จบลดให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบค่า Rms ดังตารางที่ 4.5 พบว่าที่ความเข้มข้นของเจลอากาศโรสที่สูงขึ้น ค่าความขรุขระของพื้นผิวจะน้อยลง ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าเจลอากาศโรสเมื่อมีความเข้มข้นที่สูงขึ้นนั้น ความหนาแน่น และการเรียงตัวของเส้นใยภายในจะเรียงตัวได้สนิทกันมากขึ้น ทำให้พื้นผิวสัมผัสลดลง และคาดว่าขนาดรูพรุนที่จะเกิดขึ้นในวัสดุเจลอากาศโรสก็ลดลง โดยจากการศึกษาของ Mounir Maaloum และคณะ ได้รายงานผลถึงขนาดรูพรุนของเจลอากาศโรสที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม โดยการศึกษา ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.7 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยมีขนาดรูพรุนเฉลี่ยอยู่ที่ 530 ± 185 , 509 ± 90 , 364 ± 84 , 289 ± 66 , 243 ± 46 , และ 201 ± 36 นาโนเมตรตามลำดับ [55] และขนาดของรูพรุนมีผลต่อการเคลื่อนที่ของสาร เช่นการใช้งานเจลอากาศโรสสำหรับการแยก DNA ด้วยวิธี Electrophoresis เพราะเมื่อเจลอากาศโรสมีขนาดเล็กลง จะทำให้ DNA เคลื่อนที่โดยใช้เวลานานขึ้น ทั้งนี้ขนาดของรูพรุนดังกล่าวจะเป็นตัวคัดกรองขนาดของ DNA ซึ่ง Pei Yun Lee และคณะได้ศึกษาไว้ [62]

ดังนั้นการใช้งานเจลอากาศโรสที่ความเข้มข้นสูงจะสามารถทำให้เอนไซม์ ถูกกักอยู่ภายในเจลอากาศโรสที่ติดอยู่บนพื้นผิวของส่วนตอบสนองได้ดี จากการประยุกต์ใช้งานอัสเฟต ทางผู้วิจัยได้เลือกความเข้มข้นของเจลอากาศโรสที่ 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพราะจากการทดสอบสามารถติดเอนไซม์ปริมาณ 0.1 ยูนิตได้ดี โดยที่มีสัญญาณการตอบสนองเมื่อวัดกับสารละลายซิปสเตอร์ที่ได้คงที่เมื่อทำการวัดซ้ำ และสำหรับงานศึกษาวิจัยเบื้องต้นของส่วนต่อขยายขาเกต จะใช้ความเข้มข้นของเจลอากาศโรสที่ 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งเหมาะสมสำหรับเอนไซม์ปริมาณ 0.5 ยูนิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

อุปกรณ์ออสเฟตสามารถประยุกต์ใช้เป็นเซนเซอร์เพื่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลได้ โดยเงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับเตรียมเซนเซอร์ คือ การเคลือบพื้นผิวออสเฟตด้วยเจลอากาศโรสที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตรการหยดที่ 2 ไมโครลิตร และใช้เอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอร์เรส (AChE) ปริมาณ 0.1 ยูนิต โดยใช้สารละลายซีสเตรทอะซีทิลโคลีนคลอไรด์ (AChCl) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่ละลายในสารละลายฟิเอสบัฟเฟอร์พีเอช 7 เป็นสารทำปฏิกิริยาตั้งต้นกับเอนไซม์

เซนเซอร์ออสเฟตที่ถูกเตรียมขึ้นจากเงื่อนไขที่เหมาะสมข้างต้น สามารถนำไปตรวจวัดความเข้มข้นของสารละลายยาฆ่าแมลงคาร์บาริลได้โดยวิธีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ด้วยวิธีการหยดสารละลายยาฆ่าแมลงลงบนพื้นผิวสัมผัสของเซนเซอร์ในปริมาตร 5 ไมโครลิตร เป็นเวลา 5 นาที ค่าสัญญาณการตอบสนองที่ได้จากสารละลายซีสเตรทก่อนและหลังกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยยาฆ่าแมลง ถูกนำมารายงานโดยคิดเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ จากผลการวิจัยพบว่า เซนเซอร์สามารถตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริล (กลุ่มคาร์บาเมต) ในสารละลายฟิเอสบัฟเฟอร์ได้ใน 5×10^{-7} ถึง 1×10^{-5} โมลาร์ มีความไว (sensitivity) ในการตรวจวัดอยู่ที่ 44.64 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่อความเข้มข้นยาฆ่าแมลง (%Inhibition / log M) และค่าความเข้มข้นน้อยสุดที่ตรวจวัดได้ (limit of detection; LOD) อยู่ที่ 1×10^{-7} โมลาร์ เซนเซอร์ออสเฟตนี้มีความจำเพาะต่อการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลและ เมโทโรมิล (กลุ่มคาร์บาเมต) มากกว่า เมธิพาราไทออน (กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต) ซึ่งมีช่วงความเข้มข้นในการตรวจวัดได้ที่แตกต่างกัน โดยมีความไวในการตรวจวัดสัญญาณของยาฆ่าแมลงเมโทโรมิลอยู่ที่ 36 %Inhibition / log M (จากช่วงเส้นตรง 1×10^{-7} ถึง 1×10^{-6} โมลาร์) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้เท่ากับ 1×10^{-8} โมลาร์

เซนเซอร์ออสเฟตที่เตรียมขึ้น สามารถใช้ทดสอบยาฆ่าแมลงคาร์บาริลที่ถูกเจือในสารละลายน้ำผักกวางตุ้งได้ทันทีที่ไม่ได้มีการเจือจาง ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกันกับการตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายฟิเอสบัฟเฟอร์ พบว่ามีค่าความไวต่อการตรวจวัดอยู่ที่ 43.42 (%Inhibition / log M) และพบว่าสารละลายน้ำผักกวางตุ้งได้ทันทีไม่มีผลรบกวนต่อสัญญาณการตรวจวัดด้วยเซนเซอร์ออสเฟต

เซนเซอร์เอนไซม์ที่เตรียมขึ้นสามารถเก็บรักษาสภาพก่อนการนำไปใช้งานได้ โดยเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 14 วัน ซึ่งสามารถให้ประสิทธิภาพการทำงานได้มากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์ แต่สัญญาณจะเปลี่ยนแปลงไปมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเซนเซอร์ถูกเก็บนานกว่า 21 วันขึ้นไป และนอกจากนั้นสามารถเก็บรักษาเซนเซอร์ไว้ในอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ได้ โดยการเคลือบด้วยสารคงสภาพ ซึ่งสามารถรักษาประสิทธิภาพเซนเซอร์ได้สูงสุด 7 วัน ตามการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับเซนเซอร์ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องแต่ไม่ได้เคลือบสารคงสภาพ ซึ่งประสิทธิภาพการทำงานของเซนเซอร์จะลดลงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บไว้ 1 วันก่อนการทดลอง

ถึงแม้ว่าเซนเซอร์ออสเฟตสามารถใช้ตรวจวัดยาฆ่าแมลงในสารละลายฟิเอสบัฟเฟอร์และสารละลายน้ำผักได้ โดยให้ผลแทบไม่แตกต่างกัน แต่การใช้งานอุปกรณ์ออสเฟตนั้นยังมีข้อจำกัดเรื่อง

ราคาที่สูง งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาเบื้องต้นถึงการใช้งานส่วนต่อขยายขาเกต หรือ อีจีเพต มาทดแทนในลักษณะการใช้แล้วทิ้ง

ส่วนต่อขยายขาเกตของอีจีเพตถูกสร้างขึ้นโดยการตัดกระจกนำไฟฟ้าไอทีโอ (ITO glass) ที่มีขนาดของส่วนสัมผัสต่อบสนองอยู่ที่ 5x5 ตารางมิลลิเมตร โดยใช้เจลอากาศโรสที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตรการหยด 3 ไมโครลิตร ปริมาณเอนไซม์ 0.5 ยูนิต และสารละลายซิปสเตอร์ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นสารทำปฏิกิริยาตั้งต้นกับเอนไซม์

จากการทดสอบวัดยาฆ่าแมลงเบื้องต้น พบว่าสามารถใช้ตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลได้ โดยมีค่าความชันของสัญญาณการตรวจวัดที่มากกว่าเมธิลพาราไทออน ซึ่งให้ค่า LOD ที่ 1×10^{-6} โมลาร์ สำหรับยาฆ่าแมลงคาร์บาริลและ 1×10^{-5} โมลาร์ สำหรับยาฆ่าแมลงเมธิลพาราไทออน

เพราะฉะนั้นการประยุกต์ใช้งานอีจีเพต สามารถตรวจวัดยาฆ่าแมลงคาร์บาริลในสารละลายน้ำผักได้เป็นอย่างดี และในเบื้องต้นมีแนวโน้มในการพัฒนาเซนเซอร์เพื่อให้ใช้งานได้แบบใช้แล้วทิ้ง และมีต้นทุนที่ถูกลง โดยการใช้งานอุปกรณ์อีจีเพต ซึ่งให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกับอุปกรณ์อีจีเพต ทั้งยังมีการใช้งานที่ง่าย สามารถพัฒนาเป็นอุปกรณ์พกพาได้สะดวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] T. Matsuo, M. Esashi, “Methods of ISFET fabrication”, *Sensors and Actuators*, 1981, 77-96.
- [2] M. Yuqing, G. Jianguo, and C. Jianrong , “Ion sensitive field effect transducer-based biosensors”, *Biotechnology Advances* 21, 2003 : 527 – 534
- [3] Simonis A, Krings T, Lu`th H, Wang J, Scho`ning MJ. “A hybrid thin-film pH sensor with integrated thick-film reference”. *Sensors*, 2001 : 1183 – 92.
- [4] Y. Qin, H. Kwon, M. R. Howlader and M. J. Deen, “Microfabricated electrochemical pH and free chlorine sensors for water quality” , *RSC Adv.*, 2015(5) : 69086–69109
- [5] P. Bergveld, “ISFET, Theory and Practice”, *IEEE Sensor conference*, Toronto, 2003
- [6] L. Chi, J. Chou, W. Chung, T. Sun, S. Hsiung, “Study on extended gate field effect transistor with tin oxide sensing membrane”, *Materials Chemistry and Physics* 63 , 2000 : 19–23
- [7] Allsop, M, Huxdorff, C, Johnston, P. Santillo, D., Thompson, K, “ Pesticides and our Health A GROWING CONCERN”, *Greenpeace*, 2015
- [8] H. Köhler, and R. Triebskorn, “Wildlife Ecotoxicology of Pesticides: Can We Track Effects to the Population Level and Beyond?”, *Science*, 2013(6147) : 759-765
- [9] Thai Agricultural standard TAS 9002-2556, “Pesticide residues : Maximum residue limits”, *The National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards*, 2014
- [10] Ramet K., Pimjai P., “The study comparing the effectiveness of washing method to eliminate pesticide residues in fresh vegetables”, *FDA journals*, 2016; 23(1) January-April
- [11] WHO, “The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009”, 2009
- [12] Michael Eddleston, Ladislaus Szinicz, Peter Eyer, and Nick Buckley, “Oximes in Acute Organophosphate Pesticide Poisoning: a Systematic Review of Clinical Trials”, *QJM*. 2002, 95(5): , 275–283.
- [13] FAO, WHO, “Pesticide residues in food 2002”, ISSN 0259-2517
- [14] Carpenter, M. 1990. “Hydrolysis of 14C-Carbaryl in aqueous solutions buffered at pH 5, 7 and 9”, *Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA*, 169-218
- [15] Sue Xu, “Environmental fate of carbaryl , *Environmental Monitoring & Pest Management*”. *Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA*, 95814-3510
- [16] R&P (Rhône-Poulenc Ag Company). “Data Sheet for Carbaryl”, *Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA*, 1988, 169-177

- [17] Worthington Biochemical Corporation, "Introduction to Enzymes", 2017(1972)
- [18] PMG Biological, "Enzymes: understanding for iGCSE Biology", 2014
- [19] P. Mäntsälä and J. Niem, "The Biological Catalysts of life", Physiology and maintenance – Vol. II
- [20] P. Piriyaengkul, "Enzyme and Cofactor, Division of Biochemistry of the Department of Science", Kasetsart university
- [21] Mirjana B., Danijela Z. K., Tamara D. L., Aleksandra M. B. and Vesna M. V. , "Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology, Current Neuropharmacology", 2013(11) : 315-335
- [22] Y. Zhou, S. Wang, and Y. Zhang , "Catalytic Reaction Mechanism of Acetylcholinesterase Determined by Born-Oppenheimer ab initio QM/MM Molecular Dynamics Simulations", J Phys Chem B. 2010; 114(26) : 8817–8825
- [23] Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2008, "Case Studies in Environmental Medicine Cholinesterase Inhibitors: Including Pesticides and Chemical Warfare Nerve Agents", <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/csem.asp?csem=11&po=5> (accessed July 2017)
- [24] J. Wasilewski, University of Scranton, "A New Chemical Family of Insecticides Exemplified by CONFIRM Selective Caterpillar Control Agent and the Related Selective Control Agents MACH 2 and INTREPID offers a "Green" Alternative to Some of the More Conventionally Used Insecticides", <http://www.scranton.edu/faculty/cannm/greenchemistry/english/biochemistrymodule.shtml> (accessed July 2017)
- [25] B. Liu, Y.-H. Yang, Z.-Y. Wu, H. Wang, G.-L. Shen and R.-Q. Yu, "A Potentiometric Acetylcholinesterase Bio- sensor Based on Plasma-Polymerized Film", Sensors and Actuators B, 2005; 104(2) : 186-190.
- [26] V. G. Andreou and Y. D. Clonis, "A Portable Fiber-Optic Pesticide Biosensor Based On Immobilized Cholinesterase and Sol-Gel Entrapped Bromocresol Purple for In-Field Use", Biosensors and Bioelectronics, 2002; 17(1-2) : 61-69.
- [27] F. C. Wong, M. Ahmad, L. Y. Heng and L. B. Peng, "An Optical Biosensor for Dichlovos Using Stacked Sol-Gel Films Containing Acetylcholinesterase and a Lipophilic Chromoionophore," Talanta, 2006; 69(4) ; 888-893.
- [28] H. C. Tsai and R. A. Doong, "Simultaneous Determination of Ph, Urea, Acetylcholine and Heavy Metals Using Array-Based Enzymatic Optical Biosensor," Biosensors and Bioelectronics, 2005; 20(9) :1796-1804

- [29] D. R. Thévenot, K. Toth, R. A. Durst and G. S. Wilson, “Electrochemical Biosensors : Recommended Definitions and Classification,” *Pure Applied Chemistry*, 1999; 71(12) : 2333-2348
- [30] Buerk, D. G. “Biosensors: Theory and applications”. Crc Press, 1995.
- [31] M. Saleem, Ali-Shtayeh Rana Majed Jamous, S. Yousef Abu Zaitoun, and I. Basem Qasem, “In-vitro screening of acetylcholinesterase inhibitory activity of extracts from Palestinian indigenous flora in relation to the treatment of Alzheimer’s disease”, *Functional Foods in Health and Disease*, 2014; 4(9):381-400
- [32] The Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, “Chapter 9 Chromatography, 2302275” (Org Chem Lab I), 2015
- [33] A. Srisuwan, “Silicon microsensor for pH and Temperature monitoring”, 31stElectrical Engineering Conference (EECON-31), 2008; 2: 1039-1042
- [34] Y. Wu, S. Wu, and C. Lin, “High Performance EGFET-Based pH Sensor Utilizing Low-Cost Industrial-Grade Touch Panel Film as the Gate Structure”, *IEEE*, 2015; 15(11) : 6279-6285
- [35] Basics of Atomic Force Microscope (AFM), http://www.eng.utah.edu/~ljang/images/Lecture_10_AFM.pdf (accessed July 2017)
- [36] F. Arduini, F. Ricci, C. Tuta, D. Moscone, A. Amine, G. Palleschi, “Detection of carbamic and organophosphorous pesticides in water samples using a cholinesterase biosensor based on Prussian Blue-modified screen-printed electrode”, *Analytica Chimica Acta* 580, 2006 :155–162
- [37] A. C. Ion, I. Ion, A. Culetu, D. Gherase, C. A. Moldovan, R. Iosub and A. Dinescu, “Acetylcholinesterase Voltam- metric Biosensors Based on Carbon Nanostructure-Chi- tosan Composite Material for Organophosphate Pesticides,” *Materials Science and Engineering*, 2010; 30(6) : 817-821.
- [38] N. Chauhan, J. Narang and C. S. Pundir, “Immobilization of Rat Brain Acetylcholinesterase on ZnS and Poly(In- dole-5-carboxylic acid) Modified Au Electrode for Detec- tion of Organophosphorus Insecticides,” *Biosensors and Bioelectronics*, 2011; 29(1) : 82-88.
- [39] A. Ishii, S. Takeda, S. Hattori, K. Sueoka and K. Mukasa, “Ultrasensitive Detection of Organophosphate Insecticides by Carbon Field-Effect Transistor,” *Colloids and Surfaces A*, Vol. 313-314, 2008; 313-314 : 456-460.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [40] D. Du, S. Chen, D. Song, H. Li and X. Chen, “Development of Acetylcholinesterase Biosensor Based on CdTe Quantum Dots/Gold Nanoparticles Modified Chitosan Microspheres Interface,” *Biosensors and Bioelectronics*, 2008; 24(3) : 475-479.
- [41] S. P. Zhang, L. G. Shan, Z. R. Tian, Y. Zheng, L. Y. Shi and D. S. Zhang, “Study of Enzyme Biosensor Based on Carbon Nanotubes Modified Electrode for Detection of Pesticides Residue,” *Chinese Chemical Letters*, 2008; 19(5): 592-594.
- [42] G. Valdes-Ramirez, M. Cortina, M. T. Ramirez-Silva and J. L. Marty, “Acetylcholinesterase-Based Biosensors for Quantification of Carbofuran, Methylparaoxon, and Dichlorvos in 5% Acetonitrile,” *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008; 392(4) : 699-707.
- [43] Y. Qu, Q. Sun, F. Xiao, G. Shi and L. Jin, “Layer-by-Layer Self-Assembled Acetylcholinesterase/PAMAM-Au on CNTs Modified Electrode for Sensing Pesticides,” *Bioelectrochemistry*, 2010; 77(2) : 139-144
- [44] Spahn C, Minter SD. “Enzyme immobilization in biotechnology”, *Recent Pat Eng*. 2008; 2 : 195-200
- [45] A. Tuchlenski, P. Uchytel and A. Seidel-Morgenstern, “An experimental study of combined gas phase and surface diffusion in porous glass”, *Journal of Membrane Science*, 1998; 140(2) :165-184
- [46] A. Seebach, A. Seidel-Morgenstern, “Enantio separation on molecularly imprinted monoliths—Preparation and adsorption isotherms”, *Analytica Chimica Acta*, 2007; 591 : 57-62.
- [47] A. G. Mayes and M. J. Whitcombe, “Synthetic Strategies for the Generation of Molecularly Imprinted Organic Polymers,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005; 57(12) : 1742-1778.
- [48] A. L. Jenkins, R. Yin and J. L. Jensen, “Molecularly Imprinted Polymer Sensors for Pesticide and Insecticide Detection in Water,” *Analyst*, 2001; 126 : 798- 802.
- [49] C. Xie, S. Gao, Q. Guo and K. Xu, “Electrochemical Sensor for 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid Using Molecularly Imprinted Polypyrrole Membrane as Recognition Element,” *Microchimica Acta*, 2010; 169(1) : 145- 152.
- [50] C. Pellicer, A. Gomez-Caballero, N. Unceta, M. A. Goicolea and R. J. Barrio, “Using a Portable Device Based on Screen-Printed Sensor Modified with a Molecularly Imprinted Polymer for the Determination of the Insecticide Fenitrothion in Forest Samples,” *Analytical Methods*, 2010; 2(9) : 1280-1285.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [51] Thai Microelectronic Center, “Ion sensitive Field Effect Transistor (ISFET),” <http://tmec.nectec.or.th/products/detail/id/8b8c7ba1f0025bdc1ca5d43a0cfde125/lang/th,2013>, (accessed july 2017)
- [52] H. Jang, J. Ahn, M. GonKim, Y. BeomShin, MinhongJeun, Won-JuCho, KwanHyiLee, “Electrical signaling of enzyme-linked immunosorbent assays with an ion-sensitive field-effect transistor”, *Biosensors and Bioelectronics*, 2015; 64 : 318–323
- [53] Pamula R. , Matti M. R., Tukiakula M. R., Bahaddurghatta E. K. S. and Kasetty R., “Development of Sol–Gel Immobilized Electrochemical Biosensor for the Monitoring of Organophosphorous Pesticides: A Voltammetric Method”, *Anal. Bioanal. Electrochem*, 2013; 5(2) : 139 – 153
- [54] N. Pernodet, M.r Maaloum, B. Tinland, “Pore size of agarose gels by atomic force microscopy”, *Electrophoresis* 1997(18) : 55-58
- [55] M. Maaloum, N. Pernodet, B. Tinland, “Agarose gel structure using atomic force microscopy: Gel concentration and ionic strength effects”, *Electrophoresis* 1998 (19) : 1606-1610
- [56] L. Jiang and St. Granick, “Real-Space, in Situ Maps of Hydrogel Pores”, *ACS Nano* 2017(11) : 204–212
- [57] L. Barengi, F. Ceriotti, M. Luzzana, M. Ripamonti, A. Mosca and P. A. Bonin, “Measurement of erythrocyte acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activity by a differential pH technique”, *Ann Clin Biochem* 1986(23) : 538-545
- [58] A. Poyai a , E. Ratanaudomphisut, J. Supadech, N. Klunngien, C. Hruanan and S. Sophitpan , “Improving Sensitivity of p-n Junction Temperature Sensor by Carrier Lifetime Modification”, *Advanced Materials Research*, 2008; 55-57 : 517-520
- [59] Sigma-Aldrich, “Acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus* (electric eel) Type VI-S, lyophilized powder, 200-1,000 units/mgprotein”, <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c3389?lang=en®ion=TH> (accessed july 2017)
- [60] Xinyan technology Ltd, “ITO Glass”, <http://www.xinyan.hk/content/?97.html>, (accessed july 2017)
- [61] Alpha-Omega Power Technologies LLC, Trelleborg Sealing Solution, 2008, “Surface Finish (Measurement Methods)”, [http://www.alphaomegapt.com/Surface %20Finish %20Definitions.pdf](http://www.alphaomegapt.com/Surface%20Finish%20Definitions.pdf) (accessed july 2017)
- [62] Lee, P.Y., Costumbrado, J., Hsu, C.Y., Kim, Y.H. “Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments”. *J. Vis. Exp.* (62), e3923

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [63] Peunghum P., “Implicated factors and optimal condition for antigenic ABO blood typing by surface plasmon resonance technique”, Master of Science (Physics). Bangkok: Mahidol University, 2012
- [64] Adriana L. Vega, H. Yao, and W. Y. Gu, “Effect of ionic strength and porosity on ion diffusion in agarose gels”, 2003 Summer Bioengineering Conference, 2003



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fabrication of Disposable Gate for Field Effect Transistor (FET) for Pesticide Detection

Supanat Sasipongpana^{1*}, Nongluck Houngkamhang², Darinee Promyothin³, Yossawat Rayanasukha⁴, Seerong Prichanont⁵, Chanchana Thanachayanont⁶

^{1, 2, 3, 4} College of Nanotechnology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand

³Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

⁶National Metal and Materials Technology Center, Thailand Science Park, Pathumthani 12120, Thailand

Abstract

The extended gate field effect transistor (EGFET) fabricated by indium tin oxide (ITO) substrate was used as a sensor for pesticide detection. The size of sensing area on ITO substrate was varied to obtain the highest signal change which depended on the amount of hydrogen ion in the solution. The organophosphate and carbamate groups of pesticide were measured by this fabricated EGFET based on enzyme inhibition assay. The carbaryl pesticide solution was incubated on the sensing area of ITO which has 0.5 unit of acetylcholinesterase enzyme coated on the surface. The carbaryl pesticides can inhibit the enzyme function resulting in the decreasing of hydrogen ions producing in the solution which can be detected by EGFET. This fabricated EGFET for detection carbaryl pesticide was demonstrated in the detection range 10^{-7} to 10^{-3} M with the sensitivity at 1.53 %Inhibition/M. This EGFET provided a low-cost and ease of fabrication which can be used as a disposable sensing gate for field effect transistor sensor applied in a field work.

Keywords— EGFET, Pesticide Detection, Enzyme Inhibition, Acetylcholinesterase

Introduction

Pesticide or insecticide is the chemical reagent to kill pests or insect which can disturb and harmful to the human and agricultural product. Pesticides have numerous beneficial effects. These include crop protection, preservation of food and materials and prevention of vector-borne diseases.

Since 2006, the population has increased dramatically while farming and the area of agriculture increased in 10 percent, and the price of agricultural products was forced down by market mechanism. The agricultural area began to deteriorate. So in agriculture, farmers have accelerated production including the addition of external substances to get enough output. The use of chemicals, fertilizers, and pesticides are increasing factors affecting the increasing of agricultural product. But one thing that farmers do not care about is the dangers of using those chemicals. Synthetic insecticide is widely used. In the 1950s agro-industrial era, there was widespread use of pesticides, chemicals, pesticides were distributed in the environment which harmful to life [1]. Some pesticide group take longer to degrade as shown in DDT that harmful to environment and wildlife. The resulting pesticide studying and research has increased as in the past thirty years.

At present, pesticides are widely used in the agricultural industry in each country. Pesticides are classified by use and chemical structure including four major groups are Organophosphate (OP), Carbamate (Car), Organochlorine (OC), and Pyrethroids (Pyr) [2]. Organophosphate and carbamate groups are main agents used to get rid of insects in farm lands, and they also become important parts in almost all Thailand agriculture. By the way, organochlorine is no longer used because of its high risk effect on mammals and humans. Meanwhile, pyrethroid is reasonable to use for eliminating household insects. The pesticide level remaining on food product samples were monitored through the use of Maximum Residue Limits (MRLs) which published by Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). For carbaryl pesticide has MRLs value at 20 ppm [3]. Thus there are many researchers developing sensors to detect the carbaryl pesticide. Normally, the analysis of pesticides based on spectrophotometry, liquid and gas chromatography or mass spectrometry [4-7] and there are commercially pesticide test kits are available [8-9] which are required expensive equipment, more experience staff, laborious complex sample treatment, and time consuming. From above, an enzyme biosensor is the most appreciated technique for organophosphate and carbamate pesticide

*All correspondence related to this article should be directed to Supanat Sasipongpana, College of Nanotechnology, Kingmongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand

Email: nongluck.hkh@gmail.com

© 2017 The Authors. Published by Academic Fora. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Peer-review under responsibility of the Scientific & Review committee of ECBA-2017.

detection due to the efficacy of these pesticide groups which have direct effect on the reaction of enzyme-substrate complex [10-16]. The reaction of Acetylcholinesterase (AChE) with Acetylcholine Chloride (AChCl) and pesticide inhibition method is shown in fig. 1. The product of reaction provides acetylated enzyme and choline that can be hydrolysed to acetic acid or hydrogen ion occur in solution. When inhibited-AChE enzyme react to the substrate, the reaction product is decreased which mean that the hydrogen ions will decrease in the solution. The AChE enzyme which is inhibited by pesticides may be reversible or irreversible depended on the type of pesticide inhibitor.

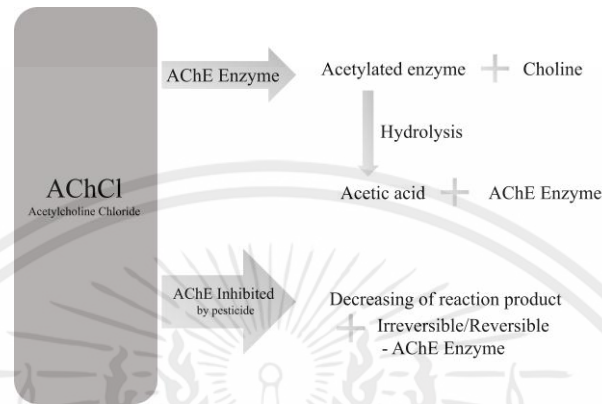


Figure 1: Reaction of acetylcholine chloride substrate with acetylcholinesterase and inhibition of acetylcholinesterase by pesticide

Field Effect Transistor (FET) is widely used as the transducer sensor part [17-18]. Common FET used for pH sensing can be applied to detect pesticide in solution by using the enzyme reaction which produces the ions change and sense to FET technique [19-20]. The Extended-gate Field Effect Transistor (EGFET) technique is interested which sense ion in solution depend on sensing membrane. Indium tin oxide (ITO) is commonly applied for pH sensing membrane. ITO is a solid solution composed 90 %wt indium(III)oxide (In_2O_3) and 10 %wt tin(IV)oxide (SnO_2), which is one of the most used transparent conductivity oxides ion sensitive field effect sensor. The schematic of EGFET device is shown in fig. 2. EGFET is a device that consists of two main parts; conventional ion sensing membrane electrode and MOSFET circuit part, which can be applied to the measurement of ion content in a solution. When the purpose ion of receptor come closer near to the receptor as sensing membrane, the charge on the surface has changed that effect to the electron moving from drain to source electrode and the electric field between reference gate and the other electrode in transistor device (FET). ITO sensing electrode can sense with the changing of hydrogen ion which appears in solution. Ion sensitive field effect transistor (ISFET) is a pH sensor that the sensing membrane is attached to drain and source electrode with is in a whole part of sensor device. For EGFET technique, ITO-extended gate (ITO-EG) sensing membrane is extended out from a FET circuit which is use wired conductor cable to the sensor circuit for collecting signal. So, the ITO-EG acts as a disposable electrode.

In this study, EGFET which is fabricated electrode from indium tin oxide (ITO) glass was applied for pesticide detection. The fabricated ITO-extended gate was used as the substrate which can be modified the surface by using AChE enzyme entrapped in an agarose gel coating on the substrate. The optimization conditions for a drop volume, the concentration of agarose gel, and the enzyme concentration are investigated in order to fabricate the carbaryl sensor. Carbaryl was detected at various concentrations and compare with the organophosphate group of pesticide. The carbaryl can inhibit the enzyme reaction resulting in the decreasing of hydrogen ion in solution which EGFET can detect in the lower change of signal between AChE enzyme and AChCl substrate.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

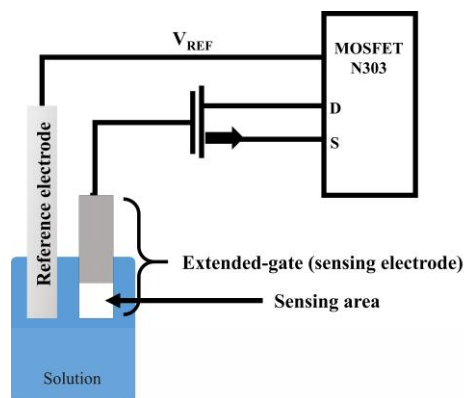


Figure 2: Schematic of Extended-gate Field Effect Transistor (EGFET) device

Experimental

Materials and Instruments

Indium-tin-oxide glass (ITO) was purchased from Xin Yan Technology, China, with resistant of 15 ohm/sq. Agarose powder with a gel strength of 800 g/mL was purchased from LABCHEM, Ajax Finches Pty Ltd. Acetylcholinesterase (AChE) from electric eel, 200-400 units/mg protein and acetylcholine chloride (AChCl), carbaryl, methyl-parathion and imidacloprid were obtained from Sigma-Aldrich. The 5mM phosphate buffer saline (PBS; pH 7) was prepared by using sodium chloride (NaCl), di-sodium hydrogen orthophosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) and potassium chloride (KCl) were purchased from Sigma-Aldrich.

Preparation of ITO-Extended gate (ITO-EG)

ITO-Extended gate (ITO-EG) was prepared by cutting ITO glass into 3 sizes including 3x20, 5x20, and 10x20 mm^2 . The cleaning process of ITO, start by washing with dishwashing liquid, sonication in deionized water, ethanol, acetone, and isopropyl alcohol (IPA) for 15 minutes, respectively. Then, ITO-EG were dried with nitrogen gas and keep away from moisture at 25 °C (room temperature). An electrode was stuck on top of the surface of dried ITO-EG glass by using a silver plate as adhesion material and dried at 120°C for 5 minutes. Surface sensing area at 3x3, 5x5 and 10x10 mm^2 was constructed by using epoxy encapsulation and left at room temperature for 3 hours before used in each experiment.

AChE enzyme entrapment in agarose gel

The agarose was drop casting on ITO-extended gate (ITO-EG) surface and left at room temperature for 10 minutes. The 0.01 to 0.75 unit of AChE solution were prepared by dissolving in PBS buffer. AChE solution was dropped into agarose gel that casting on the ITO-EG surface. AChE/Agarose gel/ITO-EG was left at room temperature for 5 minutes and kept at 4 °C before used.

Enzyme inhibition method

Pesticide solution was prepared at concentration range from 10^{-7} to 10^{-3} molar (M) in 10% methanol in PBS buffer. Signals measurement step, first, the AChE/Agarose gel/ITO-EG was used to measure the baseline signal (PBS buffer) then measure the AChCl substrate signals for 3 minutes. AChE/Agarose gel/ITO-EG incubated in a carbaryl solution for 5 minutes subsequently collected PBS buffer signals and measured with the AChCl substrate again. Repeat this process for the next concentration of pesticide. The signal will be analyzed and reported as %inhibition which was calculated by differentiating of the AChCl substrate signal before and after inhibition by pesticide.

EGFET data measure ment

The output signals, voltage between gate and source (V_{gs}), were measured by EGFET setup equipped with MOSFET N303, constant drain current, $I_D = 30 \mu\text{A}$ and constant drain-source voltage, $V_{ds} = 300 \text{ mV}$ and Ag/AgCl in saturated KCl was used as a reference electrode. The V_{gs} signals would be increased when hydrogen ion (H^+) is decreased whereas the lower V_{gs} response occurred when increasing of hydrogen ion. The data were collected by using Lab-view (Pesticide data collecting) programs which developed in the Biosensor Research Laboratory, College of Nanotechnology, and KMITL.

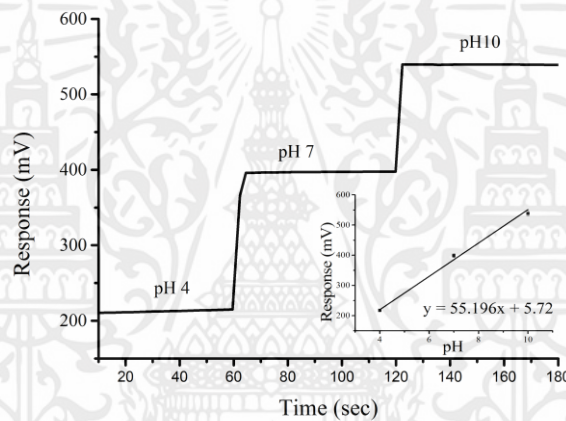
Results and Discussion

pH sensitivity test

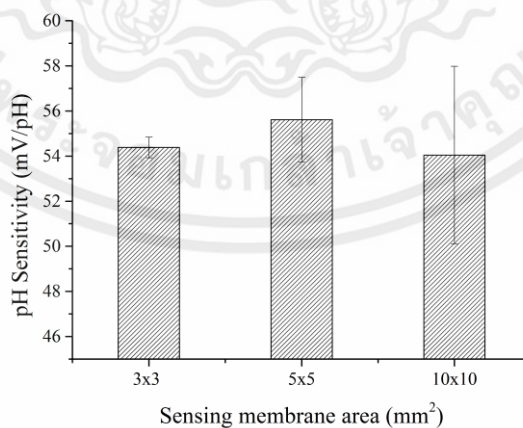
Bare ITO-EG at different sensing area (3x3, 5x5, 10x10 mm^2) were used to measure pH buffer solution (pH 4, 7, and 10) to find the sensitivity of each sensor. The bare ITO-EG was connected to the sensor device or the MOSFET circuit and immersed in pH buffer solution while the real time signal was recorded as shown in fig. 3(a). The inset

graph shows the plot of signal response against pH which can be found the sensitivity by the slope of the plot. From fig. 3(b), the average of pH sensitivity which calculated from bare ITO-EG (3 pieces) in different sensing area was shown. The sensitivity of each condition was seemed to be similar at about 54-56 mV/pH. From this result can be noted that the sensing area of ITO-EG has not much effect on the measurement signal. However, the larger sensing area may cause the unstable signal more than the smaller area which can be seen from the higher standard deviation (SD) value. The SD of each ITO-EG are ± 3.78 of 3×3 mm², ± 6.86 of 5×5 mm² and 9.34 of 10×10 mm² size of ITO-EG. This might be due to the process of manual encapsulation for constructing sensing area by using epoxy encapsulation that quite difficult to obtain the precise area which can cause the variation in the signal.

The volume of agarose gel that was drop casting on the ITO-EG surface was studied to obtain the highest sensitivity for fabricating the sensor. A drop volume of agarose gel (2, 3, and 5 μ L) at various concentration were tested in 2 sizes of ITO-EG sensing area (3×3 and 5×5 mm²). Three pieces of agarose gel/ITO-EG for each condition were measured in pH buffer solution and calculated the sensitivity. The pH sensitivity of agarose gel/ITO-EG with different drop volume and gel concentration at sensing area 3×3 mm² and 5×5 mm² were shown in fig. 4a and 4b, respectively. From the results found that drop volume of agarose gel at 3 μ L was the optimum volume that showed the highest sensitivity at all gel concentration. The ITO-EG with sensing area 5×5 mm² and 3 μ L drop volume of agarose gel was chosen for fabrication of pesticide sensor. Due to the 3×3 mm² of ITO-EG was a smaller size that quite difficult to fabricate and the 10×10 mm² of ITO-EG was larger sensing area which agarose gel could not disperse to cover all the surface because it was fast rigid.



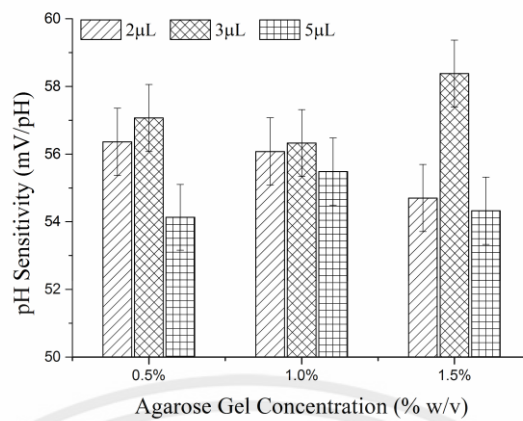
(a)



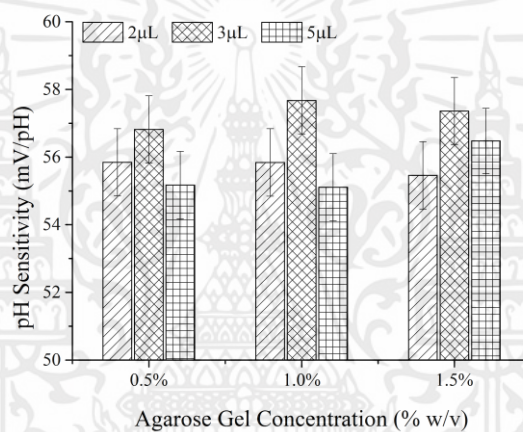
(b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Figure 3 Characteristic of bare ITO-EG, real time pH buffer signals (a) and the sensitivity from different sensing area of ITO-EG (b)



(a)



(b)

Figure 4: pH sensitivity of 3x3 mm² (a) and 5x5 mm² (b) sensing area of ITO-EG

Effect of agarose gel concentration

The ITO-EG sensing area 5x5 mm² was prepared with drop casting 3 μL of agarose gel by varying concentration from 0.5 to 2.0 %w/v. The 0.5 unit of AChE enzyme were entrapped in all agarose gel concentration to react with the 5mM AChCl substrate. The measurement signal of AChCl substrate that reacts to the entrapped enzyme on the ITO-EG is shown in fig. 5. From the experiment, when AChCl substrate react with AChE enzyme the hydrogen ions were produced in the solution which the reaction was shown in fig. 1. The response signal increased when increasing agarose gel concentration due to more hydrogen ions production and reached a plateau at 1.5 %w/v of agarose gel. Increasing of gel concentration can give the small pore size of gel [21] which enzyme can strongly entrapped in the gel and react with substrate to get a high response where as low concentration provide larger pore size which biomolecule could be leak out after washed. This can be noted that the enzymes were tightly entrapped into the gel at 1.5-2.0 %w/v. However, at 1.5 %w/v of agarose gel was chosen to use in the next experiment because the gel concentration at 2.0 %w/v was fast rigid when drop casting.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

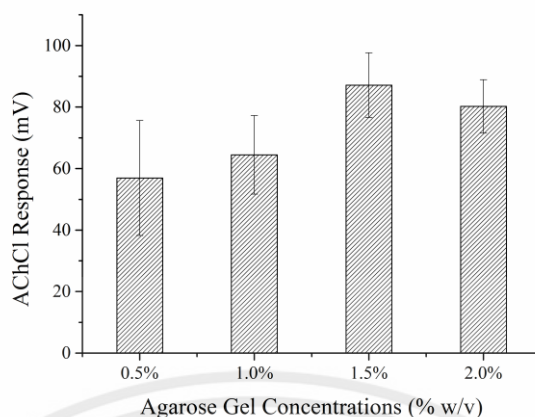


Figure 5: The AChCl response at different agarose gel concentration (0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 %w/v)

Effect of AChE concentration

The enzyme concentration was varied at 0.01, 0.25, 0.50 and 0.75 unit which was entrapped into 1.5 %w/v of agarose gel. 3 μ L of each condition was dropped on 5x5 mm² ITO-EG surface. The sensor was prepared about 5 pieces in each condition and AChCl substrate was measured. Increasing of the enzyme can provide more product of reaction [22]. The signal response is shown in fig. 6 that the concentration of AChE at 0.5 and 0.75 unit gave a high response when presented in AChCl solution. From the experiment, AChE enzyme at 0.5 unit was suitable for making a pesticide sensor which was the lowest concentration to give a high response as 0.75 unit of AChE. The response about 67 mV was presented when using 0.5 unit of enzyme meanwhile at 0.25 unit of enzyme provided a response about 38 mV. Moreover, we found that using a low concentration of enzyme can be used for pesticide detection but it provided a narrower detection range than that using higher enzyme concentration.

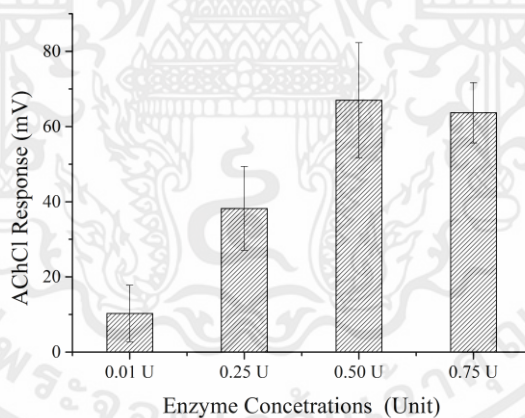


Figure 6: The ratio of AChCl response at different AChE concentration (0.01, 0.25, 0.50 and 0.75 unit)

A. Pesticide detection

The 0.5 unit of AChE entrapped in 1.5 %w/v of agarose gel was dropped at 3 μ L on the ITO-EG surface as an EGFET pesticide sensor. Three types of the pesticide including carbaryl, methyl-parathion, and imidacloprid which represent the carbamate, organophosphate and neonicotinoid pesticide group were measured in this experiment. Only carbamate and organophosphate pesticide group can inhibit AChE enzyme except for neonicotinoid group [13-15] which was seen from the result in fig. 7. From the graph showed the calibration curve that was a semi-log plotted between %inhibition and concentration of pesticide. The prepared EGFET sensor was suitable to detect carbaryl in the range of 10^{-7} to 10^{-3} M with showed the linear range between 10^{-6} to 10^{-5} M. This EGFET sensor can detect carbaryl pesticide in the micromolar level that was in the Maximum Residue Limits (MRLs) [3]

On the other hand, this fabricated EGFET sensor was not sensed to the imidacloprid pesticide due to it cannot inhibit the AChE reaction with their substrate. However, this sensor had a very low signal for detection of methyl-parathion in spite of it is in the organophosphate pesticide group that can inhibit the AChE enzyme. This might be due to the concentration range of methyl-parathion was not suitable to be detected by this fabricated EGFET. The

previous research [23] was demonstrated to use an ion-selective field-effect transistor and phosphotriesterase enzyme (PTE) to detect methyl parathion at a low concentration of 0.5 μM which is lower concentration than our EGFET method. The optimization condition needs to be evaluated to fabricate EGFET sensor for each pesticide. This EGFET sensor can be used to detect carbaryl pesticide with sensitivity at 1.53 %Inhibition/M.

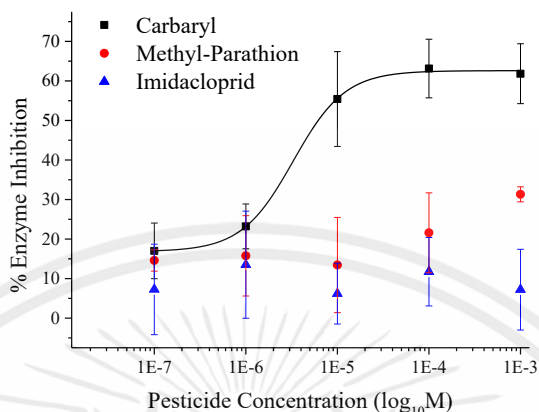


Figure 7: Calibration curve of pesticide which detected by using fabricated EGFET sensor

Conclusions

The low-cost extended gate sensing membrane can be fabricated by using ITO glass which provided a pH sensing ability and can be used as a pesticide sensor based on enzyme inhibition assay. This sensor could detect carbaryl pesticide and provided a good response in a linear range of 10^{-6} to 10^{-5} M which is in a micro molar level with sensitivity 1.53 %Inhibition/M. This ITO-extended gate (ITO-EG) is easy to fabricate and can be used as a disposable gate FET for a field work of pesticide detection.

Acknowledgment

This work has partially been supported by National Research Council of Thailand, Thailand Research Fund and the National Nanotechnology Center (NANOTEC), NSTDA, Ministry of Science and Technology, Thailand, through its program of Center of Excellence Network.

References

- [1] Köhler, H. R., & Triebkorn, R. (2013). How pesticides change the environment. *Science*. Retrieved from <https://phys.org/news/2013-08-pesticides-environment.html>
- [2] International Program on Chemical Safety, Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals, & World Health Organization. (2010). *WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009*. World Health Organization.
- [3] Thai agricultural standard TAS 9002-2556. (2014). *Pesticide residues: Maximum residue limits*. Bangkok, Thailand: The National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards.
- [4] Fillion, J., Sauve, F., & Selwyn, J. (2000). Multiresidue method for the determination of residues of 251 pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of AOAC International*, 83(3), 698-713.
- [5] Pedrosa, V. A., Caetano, J., Machado, S. A., & Bertotti, M. (2008). Determination of parathion and carbaryl pesticides in water and food samples using a self assembled monolayer/acetylcholinesterase electrochemical biosensor. *Sensors*, 8(8), 4600-4610.
- [6] Ali-Shtayeh, M. S., Jamous, R. M., Zaitoun, S. Y. A., & Qasem, I. B. (2014). In-vitro screening of acetylcholinesterase inhibitory activity of extracts from Palestinian indigenous flora in relation to the treatment of Alzheimer's disease. *Functional Foods in Health and Disease*, 4(9), 381-400.
- [7] Anonymus (2009). *Chapter 9 Chromatography, 2302275 (Org Chem Lab I)*. The Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University

- [8] Leuprasert, L. (2008). *Thaipatent No. 6995*. Bangkok, Thailand: Department of Intellectual Property
- [9] Leuprasert, L. (2008). *Thaipatent No. 7554*. Bangkok, Thailand: Department of Intellectual Property
- [10] Chauhan, N., Narang, J., & Pundir, C. S. (2011). Immobilization of rat brain acetylcholinesterase on ZnS and poly (indole-5-carboxylic acid) modified Au electrode for detection of organophosphorus insecticides. *Biosensors and Bioelectronics*, 29(1), 82-88.
- [11] Ion, A. C., Ion, I., Culetu, A., Gherase, D., Moldovan, C. A., Iosub, R., & Dinescu, A. (2010). Acetylcholinesterase voltammetric biosensors based on carbon nanostructure-chitosan composite material for organophosphate pesticides. *Materials Science and Engineering: C*, 30(6), 817-821.
- [12] Ishii, A., Takeda, S., Hattori, S., Sueoka, K., & Mukasa, K. (2008). Ultrasensitive detection of organophosphate insecticides by carbon nanotube field-effect transistor. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313, 456-460.
- [13] Du, D., Chen, S., Song, D., Li, H., & Chen, X. (2008). Development of acetylcholinesterase biosensor based on CdTe quantum dots/gold nanoparticles modified chitosan microspheres interface. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(3), 475-479.
- [14] Zhang, S. P., Shan, L. G., Tian, Z. R., Zheng, Y., Shi, L. Y., & Zhang, D. S. (2008). Study of enzyme biosensor based on carbon nanotubes modified electrode for detection of pesticides residue. *Chinese Chemical Letters*, 19(5), 592-594.
- [15] Valdés-Ramírez, G., Cortina, M., Ramírez-Silva, M. T., & Marty, J. L. (2008). Acetylcholinesterase-based biosensors for quantification of carbofuran, carbaryl, methylparaoxon, and dichlorvos in 5% acetonitrile. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 392(4), 699-707.
- [16] Qu, Y., Sun, Q., Xiao, F., Shi, G., & Jin, L. (2010). Layer-by-Layer self-assembled acetylcholinesterase/PAMAM-Au on CNTs modified electrode for sensing pesticides. *Bioelectrochemistry*, 77(2), 139-144.
- [17] Lee, C. S., Kim, S. K., & Kim, M. (2009). Ion-sensitive field-effect transistor for biological sensing. *Sensors*, 9(9), 7111-7131.
- [18] Batista, P. D., & Mulato, M. (2005). ZnO extended-gate field-effect transistors as p H sensors. *Applied Physics Letters*, 87(14), 143508.
- [19] Duroux, P. H., Emde, C., Bauerfeind, P., Francis, C., Grisel, A., Thybaud, L., ... & Blum, A. L. (1991). The ion sensitive field effect transistor (ISFET) pH electrode: a new sensor for long term ambulatory pH monitoring. *Gut*, 32(3), 240-245.
- [20] Nguyen, T. N. T., Seol, Y. G., & Lee, N. E. (2011). Organic field-effect transistor with extended indium tin oxide gate structure for selective pH sensing. *Organic Electronics*, 12(11), 1815-1821.
- [21] Narayanan, J., Xiong, J. Y., & Liu, X. Y. (2006). Determination of agarose gel pore size: Absorbance measurements vis a vis other techniques. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 28, No. 1, p. 83). IOP Publishing.
- [22] Purich D. L. (ed.). (1999). *Advances in Enzymology and related areas of Molecular Biology: Mechanism of Enzyme Action*, Part A, Volume 73-74.
- [23] Andrianova, M. S., Gubanova, O. V., Komarova, N. V., Kuznetsov, E. V., & Kuznetsov, A. E. (2016). Development of a Biosensor Based on Phosphotriesterase and n-Channel ISFET for Detection of Pesticides. *Electroanalysis*, 28, 1311-1321

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



STEMa2016

Extended–gate field effect transistor (EGFET) for carbaryl pesticide detection based on enzyme inhibition assay

Supanat Sasipongpana^a, Yossawat Rayanasukha^a, Seeroong Prichanont^b,
Chanchana Thanachayanont^c, Supanit Porntheeraphat^{d,e},
Nongluck Hounkhamhang^{a,*}

^aCollege of Nanotechnology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520 Thailand

^bDepartment of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

^cNational Metal and Materials Technology Center, Thailand Science Park, Pathumthani 12120, Thailand

^dNanotec-KMITL Center of Excellence on Nanoelectronic Devices, Ladkrabang, Bangkok, Thailand

^ePhotonic Technology Laboratory, National Electronics and Computer Technology Center, Pathumthani 12120, Thailand

Abstract

An extended – gate field effect transistor (EGFET) is a device which can be applied to chemical sensing devices. In this study, EGFET was constructed by using an indium tin oxide (ITO) glass substrate. The small piece ITO with sensing area around 3x3 mm² was used as carbaryl pesticide sensor based on enzyme inhibition assay. The prepared ITO-EGFET sensors were tested with pH solutions to obtain sensitivity compared with commercial ion sensitive field effect transistor (ISFET). Preparation of ITO substrate for enzyme inhibition assay by dropped acetylcholinesterase enzyme at 0.5 Unit which were trapped in an agarose gel matrix onto substrates. This prepared ITO acts as extended gate sensing membrane for EGFET. The amounts of drop volume of enzyme were varied to obtain the highest signal for reaction with acetylcholine substrate. Carbaryl can inhibit enzyme function resulting in the decreasing signal of interaction between enzyme and acetylcholine substrate. This ITO-EGFET can be used to detect carbaryl in concentration range 0.001 – 1 mM by using the ITO-EGFET without enzyme as control condition. This work shows possibility of ITO-EGFET for application in pesticide detection with an easy substrate preparation, low cost and can be applied in field used with others pesticides.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Selection and Peer-review under responsibility of International Conference on Science and Technology of the Emerging Materials.

Keywords: EGFET; carbaryl sensor; pesticide detection; enzyme inhibition

* Corresponding author. Tel.: +66-86-349-5570.

E-mail address: Nongluck.hkh@gmail.com

1. Introduction

A Pesticide is a chemical or biological substance which restrains, incapacitates, destroys, or else deprives pests [1]. Objective pests include plant pathogens, weeds, animals, and especially, insects. In agricultural industries, pesticides are used as insecticides that often treat with plant protection products in order to protect crops or produce desirable or useful plants [2]. In general, insecticides can be classified into four major groups including organochlorine, organophosphase, carbamate, and pyrethroid. Organochlorine is no longer used because of its high risk effect on mammals and humans. Meanwhile, pyrethroid is suitable to use for killing household insects. In addition, organophosphase and carbamate groups are important agents used for getting rid of insects in farm lands, and they also become important parts in almost all Thailand agriculture [3]. The pesticide level remaining on food product samples were monitored through the use of Maximum Residue Limits (MRLs) which published by Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). For carbaryl pesticide has MRLs value at 20 ppm [4] when exporting crops to EU countries. Thus there are many researchers developing sensors to detect the carbaryl pesticide. Normally, the analysis of pesticides based on spectrophotometry, liquid and gas chromatography or mass spectrometry [5-7] which are required expensive equipment, more experience staff, laborious complex sample treatment, and time consuming. The development methods for pesticide residues detection such as electrochemical electrode is also a widely study in the field of sensors [8-10]. An enzyme biosensor is the most appropriate method for detection of organophosphase and carbamate pesticide groups due to the ability of these pesticide groups which have direct effect to the reaction of enzyme-substrate complex. The acetylcholinesterase is a catalysis enzyme in the hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine and can be found in the insects. The inhibition of acetylcholinesterase interrupts the transmission of nerve impulses [11]. Carbaryl is a pesticide in carbamate group which can inhibit the activity of acetylcholinesterase, the structure of carbaryl pesticide is shown in Fig.1.

By using enzyme inhibition assay, the interaction of acetylcholinesterase (AChE) with their substrate; acetylcholine chloride (AChCl), were monitored as show in Fig. 2. Acetylcholine chloride substrate reacts with AChE which can produce acetylated enzyme and choline. The acetylated enzyme can be hydrolyzed to form acetic acid or hydrogen ions (H⁺) occur in the system [12].

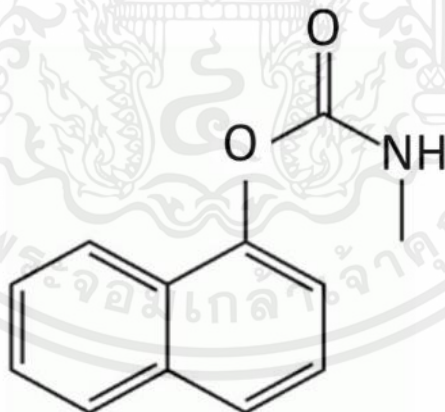


Fig. 1. Carbaryl pesticide structure

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

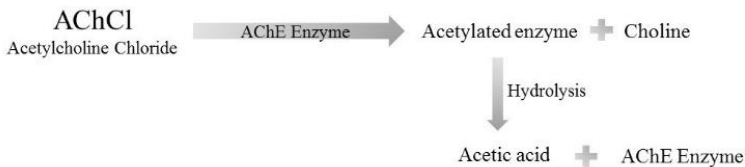


Fig. 2. Reaction of AChE with AChCl

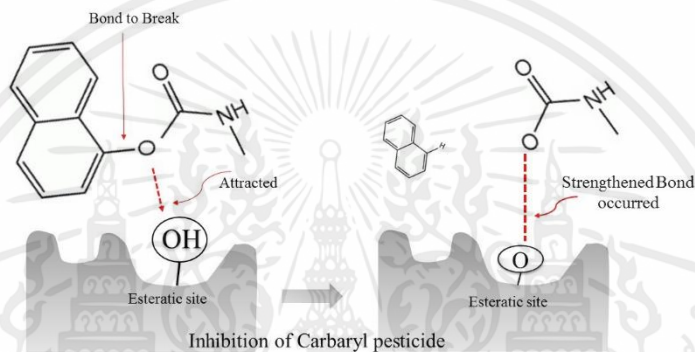


Fig. 3. The inhibition method of carbaryl pesticide

The mechanism of enzyme inhibition by carbaryl is shown in Fig. 3, carbarmic acid ester part of carbaryl attract to oxygen, a partially electronegative serine which is an active site of enzyme. It covalently binds to the esteratic site of enzyme called Carbaryl-AChE by the carbamylation of enzyme method, in other words, carbaryl attached to AChE.

Extended gate field-effect transistor (EGFET) is a device composed of conventional ion-sensitive membrane (ISM) and a metal-oxide-semiconductor field-effect transistor (MOSFET), which can be applied to the measurement of ion content in a solution and chemical sensor. In this study, applied EGFET for pesticide detection, which is fabricated electrode from indium tin oxide (ITO) glass. ITO is a solid solution composed 90 %wt indium(III)oxide (In₂O₃) and 10 %wt tin(IV)oxide (SnO₂), which is one of the most used transparent conductivity oxides ion sensitive field effect sensor. This work fabricate ITO-EGFET sensor for specific detection of carbaryl based on enzyme inhibition assay. AChE enzyme are trapped in an agarose gel matrix and coated on ITO glass substrate with an optimal condition for enzyme concentration, substrate concentration and amount of enzyme drop volume are investigated. This ITO-EGFET was used to detect carbaryl at various concentrations. By the assumption that at higher pesticide, the decreasing signals will be observed due to the pesticide inhibit enzyme reaction which can reduce the production of hydrogen ion which is an important ion sensing to the EGFET sensor resulting in a lower signal.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Experimental

2.1. Materials

Indium Tin Oxide glass (ITO) used as a sensing substrate was purchased from Xin Yan Technology, China, with resistant of 15 ohm/sq. Commercial ISFET were obtained from Thai Microelectronics Center, TMEC, Thailand. Agarose powder with a gel strength of 800 g/mL was purchased from LABCHEM, Ajax Finches Pty Ltd. Acetylcholinesterase (AChE) from electric eel, 200-400 units/mg protein and acetylcholine chloride (AChCl) and carbaryl were obtained from Sigma-Aldrich. Prepared phosphate buffer (PS), 5mM (pH 6.3) by using sodium dihydrogen orthophosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$, 0.1M) and di-sodium hydrogen orthophosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12\text{H}_2\text{O}$, 0.01M) which were purchased from Sigma-Aldrich.

2.2. Preparation of ITO-EGFET

Extended-gate Field Effect Transistor (EGFET) was prepared by cutting ITO glass into 1x2 cm² in diameter. To clean surface of ITO, start washing with dishwashing liquid, sonicated the substrate in deionized water, ethanol, acetone, and isopropyl alcohol (IPA) for 15 minutes, respectively. Then dry with nitrogen gas and keep in room temperature before attaching electrode on its surface. Electrode stick was attached on top of ITO by using silver plate as adhesion material. Then, dry it at 120 °C for 5 minutes before encapsulation by using epoxy to make a sensing channel. After that, keep it in room temperature for at least 3 hours before used in a next step. The process is shown in Fig. 4.

2.3. AChE/Agarose gel entrapment

The AChE was dissolved in boiled agarose gel and then 0.5 Unit of AChE was dropped on the ITO substrate which acts as an AChE/agarose gel extended-gate (AChE-EG) sensing part. After that, the prepared membrane of EG was dried at room temperature for 15 minutes and kept at 4 °C before used in this experiment.

2.4. Enzyme Inhibition assays

The carbaryl solutions were prepared in concentration ranging from 10^{-6} to 10^{-3} molar (M) in 10% methanol in PS buffer. For measurement step, firstly, the AChE-EGFET was used to measure the baseline signal, PS buffer, then measure the AChCl substrate signals for 3 minutes. Incubate AChE-EGFET in a carbaryl solution for 5 minutes subsequently collected PS buffer signals and measured with the AChCl substrate again. Repeat this process for the next samples. The signal will be analyzed as %inhibition which was calculated by differentiating of the AChCl substrate signal before and after inhibition by pesticide.

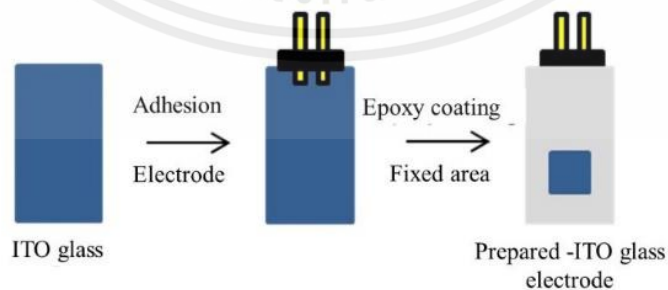


Fig. 4. ITO-EGFET preparation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

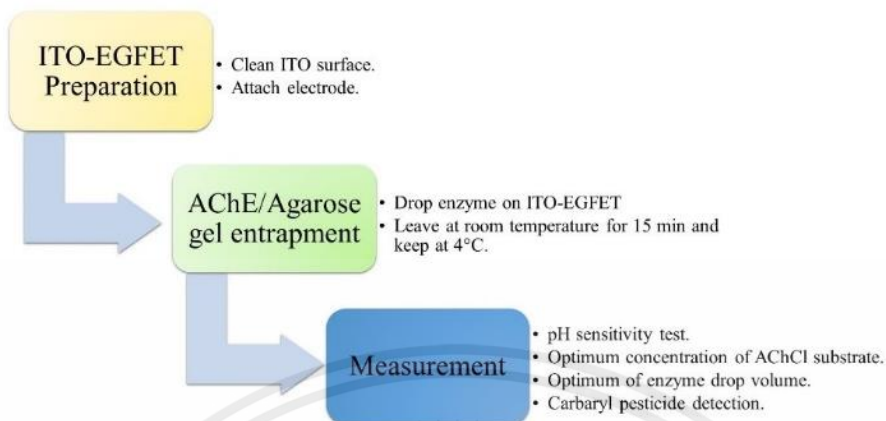


Fig. 5. Diagram of experimental set up

2.5. EGFET data measurement

The output signals, voltage between gate and source (V_{gs}), were measured by EGFET setup equipped with constant drain current, $I_D = 30 \mu\text{A}$ and constant drain-source voltage, $V_{ds} = 300 \text{ mV}$ and Ag/AgCl in saturated KCL was used as a reference electrode. The V_{gs} signals would be lower when hydrogen ions or protons were increased in the solution. Whereas, higher V_{gs} responses occurred when decrease of hydrogen ions in the solution. The data were collected by using Lab-view (Pesticide data collecting) programs which developed in the biosensor research laboratory, College of Nanotechnology, KMITL.

In the experiment, the ITO-EGFET was tested for pH sensitivity compare with commercial ISFET. The concentrations of AChCl substrate and drop volumes of enzyme were optimized for using in carbaryl pesticide detection. The diagram of experimental set up is shown in Fig. 5.

3. Results and discussion

3.1. pH measurement

To measure the voltage, gate to source, characteristic the ITO-EGFET was tested with pH solution including pH of 4, 7, and 10 by dipping ITO-EGFET electrode and commercial Ag/AgCl as reference electrode in PS buffer. The pH sensitivity of ITO-EGFET compare with standard ISFET is shown in Fig. 6. By using 3 pieces of ISFET and 3 electrodes of ITO-EGFET measured pH solution then obtained the average signal with SD value. The signal increases to higher voltage when testing with the higher pH buffer solution, which can be explained by the Site-Binding theory [13-14]. The ITO-EGFET shows sensitivity about 45.27 mV/pH which is close to the commercial ISFET that is about 50 mV/ pH. This result indicated that the ITO-EGFET that prepared in this experiment can be use for pesticide detection in the next part with good sensitivity.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

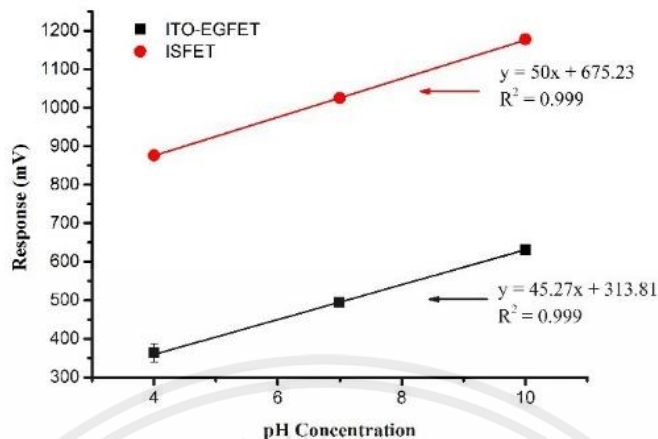


Fig. 6. Characteristic curve of ISFET (●) and ITO-EGFET (■) by pH measurement.

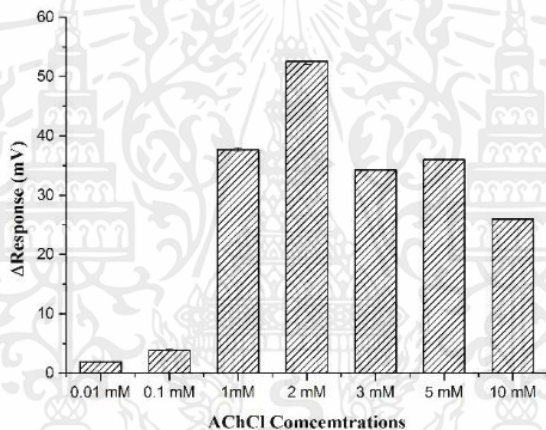


Fig. 7. The measurement of acetylcholine chloride by AChE-ISFET in range 0.01 mM to 10 mM

3.2. Substrate monitoring

The concentration of AChCl substrate was optimized by measuring AChCl at various concentrations which were in the range of 1×10^{-6} , 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-3} , 2×10^{-3} , 3×10^{-3} , 5×10^{-3} , and 1×10^{-2} M by using commercial ISFET that coated with AChE enzyme in an agarose gel matrix to obtain the best quality signal before applying in ITO-EGFET sensor. The results are shown in Fig. 7, when the enzyme reacted to substrate could produce choline and acetic acid or it mean that H^+ ion were produced in the solution system and sensing to both ISFET. The optimum concentration of AChCl substrate was at 2mM with the highest signal was observed about 52.6 mV when compare to others concentration. At too low and too high concentration were not suitable for using in pesticide detection due to the lower signal. This may be come from the amount of AChCl substrate were not enough for reaction at too low concentration while at too high concentration the crowded substrate could limit the reaction with enzyme then the signal were lower. So, the suitable concentration of AChCl at 2 mM was chosen for measuring carbaryl pesticide by ITO-EGFET based on inhibition process.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

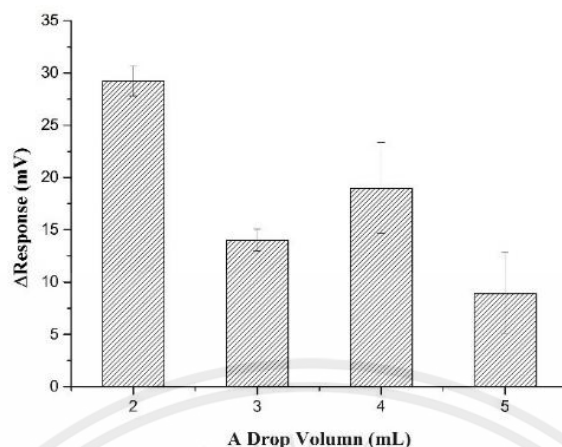


Fig. 8. The response of each variation of a drop volume at 2, 3, 4, and 5 μL , reacts with 2 mM of AChCl substrate.

3.3. Optimization of enzyme drop volume

AChE enzyme at 0.5 Unit and agarose gel 1%w/v were prepared and drop on ITO-EGFET surface to obtain AChE/Agarose gel-EGFET sensor. 0.5 Unit of AChE enzymes were entrapped on EGFET surface on each drop volume condition; 2, 3, 4, and 5 μL , to see the effect of drop volume on the detection signal. These AChE/Agarose gel-EGFET sensors at each condition were used to measure 2 mM AChCl substrate. The differential signals between PS buffer and the AChCl substrate are shown on Fig. 8 which is an average signal that got from 3 times measurement in each condition of drop volume. Condition of a drop at 2 μL exhibited the highest response at 29.22 mV and condition of a drop at 3, 4, and 5 μL had lower responses. A drop volume had an effect on signals which could be explained by the thickness of agarose gel film on the EGFET surface. When the thickness increased, the detected signal decreased which is due to the sensing distance or Debye-length [15] is far away from the solution phase. In addition, the H^+ ions produced from reaction took longer time to attach around the sensing surface in higher film thickness than lower signal were obtained. On the other hand, at lower thickness the signal can be rapidly detected because it is close to the sensing area on the surface. From the result showed that at 2 μL of drop volume may be had the thinner film on the sensing surface which made the response signals (V_{gs}) to be higher. Thus a drop volume at 2 μL was used to detect carbaryl pesticide which is low thickness and high response signals.

3.4. Carbaryl pesticide detections

An inhibition process was used to measure the carbaryl pesticide in the solution by using AChE enzyme 0.5 unit coated with an agarose gel 1%w/v at 2 μL of drop volume on ITO glass substrate. The testing process started from the lowest concentration of carbaryl solutions; 1×10^{-6} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-4} M, and 1×10^{-3} M, respectively. Fig. 9 shows the relative change of %inhibition at various concentrations of carbaryl. When the concentration of carbaryl increased effect to voltage signals by decreasing of signal were observed, in the other hand it showed increasing of %Inhibition. The sensitivity of this sensor was at 26.08 %inhibition/M with linearity R-square of 0.987. Moreover, the carbaryl pesticides were measured by using agarose gel/ITO EGFET without enzyme trapping, as a control surface. It was found that the control surface cannot detect the signal change at various concentrations of carbaryl because it showed no trend and not have linearity relation. Therefore, as suggested by the results, 1% w/v agarose gel with 0.5 unit of AChE at drop volume of 2 μL is appropriate to be prepared as AChE/Agarose gel-EGFET sensor for carbaryl pesticide detection.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

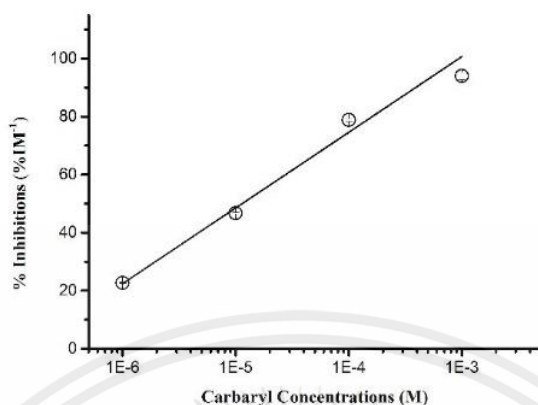


Fig. 9. The plot between % inhibition against concentration of carbaryl from EGFET.

4. Conclusions

An ITO glass substrate is applied to prepare the AChE/Agarose gel-EGFET sensor for carbaryl pesticide detection. The prepared EGFET senses to pH change in a similar way as a commercial ISFET. Carbaryl can inhibit reaction of AChE enzyme and AChCl substrate on EGFET surface and sensing to the decreasing of signal when concentration of carbaryl pesticide increases. The prepared AChE/Agarose gel-EGFET can detect carbaryl in the range of from 1×10^{-6} M to 1×10^{-3} M with the limit of detection (LOD) lower than 1×10^{-6} M. Moreover, this sensor is easy to fabricate and low cost which can be developed as a portable device and applied in other pesticide detection.

Acknowledgements

This work has partially been supported by the National Nanotechnology Center (NANOTEC), NSTDA, Ministry of Science and Technology, Thailand, through its program of Center of Excellence Network.

References

- [1] D.T. Win, Pesticides, AU J.T. 14 (2010) 47-55.
- [2] European commission, Pesticide, 2016. http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/index_en.htm (Accessed 2016-02-25).
- [3] Agricultural production science research and development office, Department of Agricultural, Statistical imports of pesticide and hazardous annual 2015, [http://www.doa.go.th/ard/FileUpload/hazzard/4.2/Top%2010%20Import%20of%20Hazardous%20\(B.E.%202558\).pdf](http://www.doa.go.th/ard/FileUpload/hazzard/4.2/Top%2010%20Import%20of%20Hazardous%20(B.E.%202558).pdf). (Accessed 2016-05-01).
- [4] European commission, EU pesticide database, 2016, http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database-redirect/index_en.htm. (Accessed 2016-02-25).
- [5] J. Fillion, F. Sauv e, J. Selwyn, J. AOAC Int. 83 (2000) 698.
- [6] S.S.E. Petropoulou, A. Tsaropoulos, P.A. Siskos, Anal. Bioanal. Chem. 385 (2006) 1444.
- [7] E. Orejuela, M. Silva, J. Chromatogr. A, 1007 (2003) 197.
- [8] G. Zhao, H. Wang, G. Liu, Int. J. Electrochem. Sci. 10 (2015) 9790 – 9807 (Review).
- [9] Y. Zheng, Z. Liu, Y. Jing, J. Li, H. Zhan, Sensor. Actuat. B 210 (2015) 389–397.
- [10] M. Wei, J. Wang, Sensor. Actuat. B 211 (2015) 290–296.
- [11] A.L. Simonian, E.I. Rainina, J.R. Wild, Anal. Lett. 30 (1997) 2453.
- [12] Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Case Studies in Environmental Medicine Cholinesterase Inhibitors: Including Pesticides and Chemical Warfare Nerve Agents, Course: WB1102, 2010.
- [13] P. Bergveld, IEEE Trans. Biomed. Eng. 1970.
- [14] L. Bousse, N.F.De. Rooij, P. Bergveld, IEEE Trans. Electron devices 30 (1983).
- [15] H.J. Jang, J. Ahn, M.G. Kim, Y.B. Shin, M. Jeun, W.J. Cho, K.H. Lee, Biosens. Bioelectron. 64 (2015) 318–323.

Curriculum Vitae

MR. SUPANAT SASIPONGPANA

Personal Information:

Address: 384/21 Moo 8, Sansainoi, Sansai, Chiangmai

Thailand 50210 Phone: 086-3641425

Email : framepidthong@gmail.com

Facebook : www.facebook.com/framepidthong

Birth date: 25 February 1993 Age: 24 years old

Education:

Educational Level	Institution	Major	Year of Graduated	GPA
High school	The Prince Royal's College	Science-Math	2010	3.75
Bachelor's degree	College of Nanotechnology, KMITL	Nanomaterial engineering	2014	2.97
Master's degree	College of Nanotechnology, KMITL	Nanoscience and Nanotechnology	2017	

Research Experience

- Sasipongpana S., Hougkamhang N, Promyothin D., Rayanasukha Y., Prichanont S., Thanachayanont C., “**Fabrication of Disposable Gate for Field Effect Transistor (FET) for Pesticide Detection**”, Full Paper Proceeding ECBA-2017, Vol. 03 – Issue 14, 1-8
- Sasipongpana S., Rayanasukha Y., Seerong P., Chanchana T., Supanit P., Nongluck ., “**Extended-Gate Field Effect Transistor (EGFET) for Carbaryl Pesticide Detection Based on Enzyme Inhibition Assay**”, MaterailsToday Proceeding, STEMa Conference, 2016 (Oral Presentation)
- Sasipongpana S., Rayanasukha Y., Hougkamhang N., Pratontep S., Prichanont S, and Sritongkam P. , “**AChE/agarose gel Coated on ISFET for Methyl-Parathion Sensors**”, Siam Physics Congress 2015, 2558 (Oral presentation)
- Yossawat R., Supanat S., Nongluck H., Supanit P., Jiti N., Seerong P., Chanchana T., Pornpimol S., and Sirapat P., “**Nanostructured coating for selective chemical sensing**”.
- Wantana K., Supanat S., Pichet W., Thanawee C., Nongluck H., Sirapat P., **PMMA Coated Ion-Sensitive Field Effect Transistors as Urea Sensors**, Siam Physic Congress 2014, 2557 (Poster Presentations)
- Sasipongpana S., Rayanasukha Y., Hougkamhang N., Pratontep S., “**The Preparation of ISFET Sensor Surface for Urea Detection by Enzymatic and Non-Enzymatic System**”, 2014 (Senior Project)
- Supanat S., Siwat M., Sutee S., Kanokporn S., “**The Effect of Carbon Black and Titanium Dioxide Concentration to Growth in Plant Tissue Culture**”, 4th National Nano innovation Competition”, 2013 (Poster Presentation)