# ไบโอเซนเซอร์การแพทย์

## ชื่อผู้วิจัย/หน่วยงาน


| | |
|---|---|
| รศ.ดร.ปณต ถาวรังกูร | ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ |
| รศ.ดร.เพริศพิชญ์ คณาธารณา | ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ |
| อ.พรรณี อัศวศรีรัตนกุล | ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ |
| ผศ.ดร.ชูศักดิ์ ลิ่มสกุล | ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ |
| ผศ.บุญเจริญ วงศ์กิตติศึกษา | ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ |



## บทคัดย่อ

ไบโอเซนเซอร์การแพทย์ในโครงการนี้ใช้เอนไซม์สภาวะตรึงร่วมกับทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสม ศึกษาระบบไบโอเซนเซอร์สามระบบ โดยใช้เอนไซม์ยูรีเอสในระบบคอนดักทิเมทริกและแคลอริเมทริกไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์ยูเรียและเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสร่วมกับออกซิเจนอิเล็กโทรดสำหรับวิเคราะห์กลูโคส ได้พัฒนาเครื่องคอนดักทิเมทริกทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสมกับการใช้ในระบบไบโอเซนเซอร์ ผลการวิเคราะห์ยูเรียในซีรัมและกลูโคสในพลาสมาโดยไบโอเซนเซอร์แสดงให้เห็นว่าทั้งสามระบบสามารถวิเคราะห์สารได้อย่างถูกต้องแม่นยำ เอนไซม์ที่ตรึงบน Controlled Pore Glass (CPG) และซิลิกาเจลที่มีราคาต่ำกว่ามากให้ผลดีเท่ากัน การใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวพยุงเอนไซม์ทำให้ลดค่าใช้จ่าย และคอลัมน์ที่ใช้กสามารถใช้งานได้นานโดยสามารถใช้งานได้มากกว่า 300 ชั่วโมง ในช่วงเวลา 7 เดือน นอกจากนี้สารละลายที่ใช้ในระบบคือบัฟเฟอร์ซึ่งราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับรีเอเจนต์ต่างๆ ที่ใช้ในระบบวิเคราะห์ที่มีอยู่ในปัจจุบันระบบที่มีไดอะไลเซอร์นี้ทำให้สามารถผ่านตัวอย่างจริงเข้าไปในระบบได้โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง เป็นการลดขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์


## บทนำ

ไบโอเซนเซอร์เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารที่ใช้วัสดุชีวภาพร่วมกับทรานสดิวเซอร์ วัสดุชีวภาพจะทำปฏิกิริยาอย่างจำเพาะเจาะจงกับสารที่ต้องการหาปริมาณ และทรานสดิวเซอร์จะแปลงสัญญาณจากปฏิกิริยาให้เป็นสัญญาณที่วัดได้ง่าย เทคนิคนี้มีข้อดีหลายประการกล่าวคือ ใช้งานง่าย ไม่ต้องอาศัยความชำนาญของผู้ใช้ มีความจำเพาะเจาะจงสูงและราคาไม่แพง โครงการนี้เน้นศึกษาไบโอเซนเซอร์สำหรับหาปริมาณยูเรียและกลูโคสซึ่งเป็นการวิเคราะห์ที่ทำกันมากทางเคมีคลินิค โดยใช้เอนไซม์สภาวะตรึง (Immobilized) ที่จำเพาะเจาะจงกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ร่วมกับทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสม

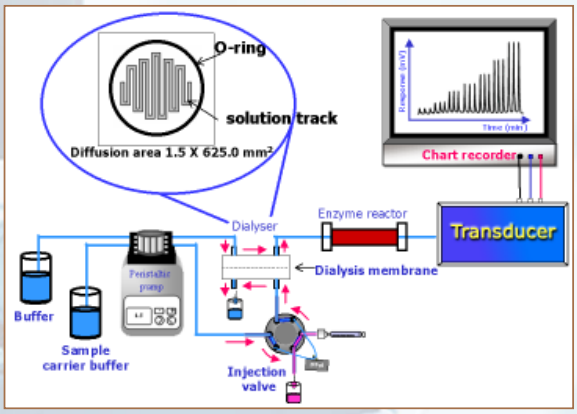
## วัตถุประสงค์

พัฒนาไบโอเซนเซอร์การแพทย์ที่ใช้ทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสมวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาอย่างจำเพาะเจาะจงของเอนไซม์กับสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยศึกษาการหาปริมาณยูเรียและกลูโคสซึ่งเป็นการวิเคราะห์ที่ทำกันมากทางเคมีคลินิค เพื่อให้ได้ระบบวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้รวดเร็วและประหยัดค่าใช้จ่าย

## ระเบียบวิธีวิจัย

ศึกษาไบโอเซนเซอร์การแพทย์ที่ใช้เอนไซม์สภาวะตรึงร่วมกับทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสมในระบบโฟลว์อิเจ็กชัน (ดูรูปที่1) ได้ศึกษาปัจจัยหลัก 3 ประการคือ

- การตรึงเอนไซม์เพื่อให้ได้เอนไซม์สภาวะตรึงที่เสถียรและมีประสิทธิภาพสูง
- ทรานสดิวเซอร์ที่รับสัญญาณจากปฏิกิริยาชีวเคมีและสามารถแปลงให้เป็นสัญญาณที่เหมาะสมในการตรวจวัด
- ความสามารถในการวิเคราะห์ที่จะออกแบบขั้นตอนการวิเคราะห์เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เสถียรและเชื่อถือได้




*รูปที่ 1 ระบบโฟลว์อินเจ็กชันไบโอเซนเซอร์ เมื่อฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าไปในบัฟเฟอร์ด้านสารตัวอย่าง (Sample Carrier Buffer) ผ่านอินเจ็กชันวาล์ว ไดอะไลเซอร์จะกรองอนุภาคขนาดใหญ่ออกจากระบบทั้งไปโมเลกุลที่ต้องการวิเคราะห์จะผ่านเมมเบรนเข้าไปในบัฟเฟอร์ที่อยู่อีกด้านหนึ่งซึ่งถูกปั๊มผ่านเอนไซม์คอลัมน์ที่บรรจุเอนไซม์สภาวะตรึง ทรานสดิวเซอร์จะวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น*

## ผลการวิจัย

### การตรึงเอนไซม์

เปรียบเทียบเอนไซม์ที่ตรึงโดยการกักในพอลิอะคริลาไมด์เจลและโดยวิธีโควาเลนท์ไบดิงบนตัวพยุงชนิดต่างๆ พบว่าเอนไซม์สภาวะตรึงที่เตรียมโดยวิธีโควาเลนท์ไบดิงให้การตอบสนองสูงกว่าและมีอายุการใช้งานมากกว่า โดยเอนไซม์ที่ตรึงบน CPG และซิลิกาเจลมีประสิทธิภาพเท่ากัน (ดูรูปที่ 2) (Limbut et al., 2004) นั่นคือสามารถใช้ซิลิกาเจลที่ราคาต่ำกว่ามากเป็นตัวพยุงเอนไซม์ทำให้ลดค่าใช้จ่าย

### คอนดักทิเมทริกทรานสดิวเซอร์

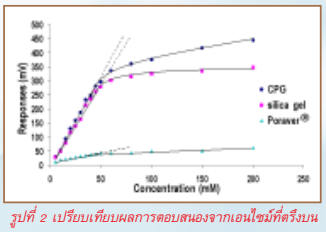
พัฒนาเครื่องคอนดักทิเมทริกทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสมกับการใช้ในระบบไบโอเซนเซอร์ คือมีออฟเซ็ตที่ตัดสัญญาณภูมิหลังที่เกิดจากสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายและขยายสัญญาณการเปลี่ยนแปลงของสภาพนำไฟฟ้าที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ (Wongkittisuksa et al., 2003) ต้นแบบของเครื่องคอนดักทิเมทริกทรานสดิวเซอร์นี้สามารถวิเคราะห์ยูเรียในระบบโฟลว์อินเจ็กชันไบโอเซนเซอร์ได้ดี (ดูรูปที่ 3) (Limbut et al., 2004)

### ระบบไบโอเซนเซอร์

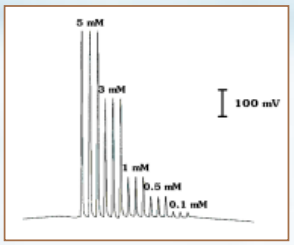
ศึกษาระบบไบโอเซนเซอร์สามระบบ ได้แก่ คอนดักทิเมทริกและแคลอริเมทริกไบโอเซนเซอร์สำหรับยูเรียและไบโอเซนเซอร์ที่ใช้ออกซิเจนอิเล็กโทรดสำหรับกลูโคส (ดูตารางที่ 1) โดยหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราไหล ชนิด ความเข้มข้นและ pH ของบัฟเฟอร์และปริมาตรของสารตัวอย่าง ที่สภาวะที่เหมาะสมศึกษาช่วงการตอบสนองเชิงเส้นและขีดจำกัดการตรวจวัด วิเคราะห์ตัวอย่างจริงโดยไบโอเซนเซอร์และวิธีที่ใช้โดยทั่วไป (ดูรูปที่ 4) และเปรียบเทียบผลที่ได้โดยวิธีทางสถิติ ผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ดูตาราง 1)

*ตารางที่ 1 ข้อมูลและผลของไบโอเซนเซอร์ทั้ง 3 ระบบ*

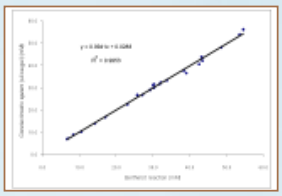
| | ไบโอเซนเซอร์ | | |
|---|---|---|---|
| สารที่วิเคราะห์ | ยูเรีย | ยูเรีย | กลูโคส |
| เอนไซม์ | ยูรีเอส | ยูรีเอส | กลูโคสออกซิเดส |
| หลักการที่ใช้ | คอนดักทิเมทริก | แคลอริเมทริก | แอมเพอโรเมทริก |
| ทรานสดิวเซอร์ | คอนดักทิวิตีมิเตอร์ | เทอร์มิสเตอร์ | ออกซิเจนอิเล็กโทรด |
| การเปลี่ยนแปลงที่ตรวจวัด | สภาพนำไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้น | ความร้อนที่เพิ่มขึ้น | ออกซิเจนที่ลดลง |
| ขีดจำกัดของการตรวจวัด (mM) | 0.5 | 0.5 | 0.1 |
| ช่วงการตอบสนองเชิงเส้น (mM) | 0.5-150 | 0.5-150 | 0.1-6.0 |
| $R^2$ | 0.9995 | 0.9999 | 0.9993 |
| เสถียรภาพของเอนไซม์ (h) | 310 | 320 | 310 |
| เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ (min) | 4-5 | 8-9 | 8-10 |
| ตัวอย่างจริง | ซีรัม | ซีรัม | พลาสมา |
| เปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้โดยทั่วไป | Fearon และ Berthelot | Fearon และ Berthelot | SIGMA glucose kit |
| ผลการเปรียบเทียบทางสถิติ | ไม่แตกต่าง | ไม่แตกต่าง | ไม่แตกต่าง |
| ระดับความเชื่อมั่น | 95% | 95% | 95% |




*รูปที่ 2 เปรียบเทียบผลการตอบสนองจากเอนไซม์ที่ตรึงบน CPG ซิลิกาเจล และ Poraver (Limbut et al., 2004)*




*รูปที่ 3 ตัวอย่างสัญญาณจากคอนดักทิเมทริกทรานสดิวเซอร์เมื่อใช้วัดยูเรีย (Wongkittisuksa et al., 2003)*



*รูปที่ 4 ตัวอย่างความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้โดยระบบไบโอเซนเซอร์เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้โดยทั่วไป รูปแสดงความเข้มข้นของยูเรียในตัวอย่างซีรัมที่วิเคราะห์โดยระบบคอนดักทิเมทริกไบโอเซนเซอร์และโดยวิธี Berthelot Reaction*

## สรุป

ระบบโฟลว์อินเจ็กชันที่ใช้เอนไซม์คอลัมน์สามารถใช้ร่วมกับทรานสดิวเซอร์ชนิดต่างๆ เพื่อวิเคราะห์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพ ไบโอเซนเซอร์การแพทย์ที่พัฒนาขึ้นสามารถตรวจวัดปริมาณยูเรียและกลูโคสได้รวดเร็วให้ผลที่เชื่อถือได้และประหยัดค่าใช้จ่าย

## เอกสารอ้างอิง


- Limbut W, Thavarungkul P, Kanatharana P, Asawatreratanakul P, Limsakul C, Wongkittisuksa B. (2004). *Comparative study of controlled pore glass, silica gel and Poraver(r) for the immobilization of urease to determine urea in a flow injection conductimetric biosensor system.* Biosensors and Bioelectronics 19:813–821.
- Wongkittisuksa B, Limsakul C, Thavarungkul P, Kanatharana P, Asawatreratanakul P, Limbut W, Suwansa-ard S. (2003). *A conductimetric transducer for biosensor systems.* NECTEC Technical Journal, 4(14): 369–374.



โครงการนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและพัฒนา จาก
ฝ่ายเครือข่ายการวิจัยและพัฒนา (RDD)
ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ
112 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
โทรศัพท์ 02-564-6900 ต่อ 2501-10 โทรสาร 02-564-6901..2

http://www.nectec.or.th/