

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การตรวจวัดคุณภาพโดยใช้ขั้วกลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วย
เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน



T107820



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 107820
วัน,เดือน,ปี..... 1.4 พ.ค. 2553

b..... 12211801
i.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชา เคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2549

Electrochemical determination of glutamate using β -cyclodextrin modified
glassy carbon electrode



A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of
Bachelor of Science
Department of Chemistry
Faculty of Science
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic Year 2006

โครงการพิเศษเรื่อง การตรวจวัดคุณภาพดินโดยใช้ขี้เถ้าจากถ่านหินที่ปรับปรุงด้วย
 เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน
นักศึกษา นาย วีรศักดิ์ ลำควนหอม
ภาควิชา เคมี
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	
กรรมการ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	
กรรมการ รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์	



 (รศ.ดร. ประยงค์ ดวงดี)
 หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	การตรวจวัดกลูตาเมตโดยใช้ขั้วกลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วย เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน
นักศึกษา	นาย วีรศักดิ์ ลำควนหอม
ภาควิชา	เคมี
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2549
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์

บทคัดย่อ

การปรับปรุงวิธีการตรวจวัดกลูตาเมต โดยการตรึงเอนไซม์กลูตาเมตออกซิเดสและเพอร์โรซินในเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์ เพอร์โรซินเกิดปฏิกิริยาเคมีโฮสต์-เกสต์ที่อยู่ในโพรงของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์ ในขณะที่เอนไซม์กลูตาเมตออกซิเดสเกิดการเชื่อมโยงกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน ไบโอดีเอ็นเซอรัลมีขีดจำกัดความเข้มข้นในการตรวจวัดกลูตาเมต เท่ากับ 0.0698 mM ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.8 ถึง 2.0 mM ค่า pH ที่เหมาะสมในการตรวจวัดกลูตาเมต คือ pH 8 ไบโอดีเอ็นเซอรัลมีอายุการใช้งานมากกว่า 50 ครั้ง ความเสถียรของเอนไซม์เพิ่มขึ้น โดยเกิดการเชื่อมโยงของเอนไซม์กับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์เพราะน้ำมีคุณสมบัติในการดูดซึมเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินพอลิเมอร์ได้

Special Project Title	Electrochemical determination of glutamate using β -cyclodextrin modified glassy carbon electrode
Name	Mister Weerasak Lumduanhom
Department	Chemistry
Program	Industrial Chemistry-Analytical Instrumentation
Academic Year	2006
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Dr. Suwan Chaiyasith

Abstract

An amperometric biosensor sensitive to glutamate has been developed by immobilizing glutamate oxidase (GmOx) and ferrocene in β -cyclodextrin polymer. The ferrocene is included in the cavities of the β -cyclodextrin polymer through a host-guest chemical reaction whereas glutamate oxidase is cross-linked with the β -cyclodextrin polymer on the surface of glassy carbon electrode. The biosensor displayed a low detection limit of 0.0698 mM MSG (S/N = 2.2868, E = 0.400 V). Linearity was obtained from 0.8 to 2.0 mM ($R^2 = 0.9956$). The optimum pH of the biosensor has been determined as 8. The biosensor was used for over 50 measurements. The stability of the enzyme membrane was greatly enhanced by cross-linking of the enzyme with β -cyclodextrin polymer because of the water absorbability of the β -cyclodextrin polymer.

Keyword: Biosensor; Glutamate oxidase; Glutamate; Ferrocene; β -cyclodextrin; Glassy carbon electrode

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีตามวัตถุประสงค์ของโครงการ เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือและความกรุณาจากทุกๆ ท่าน ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่คอยให้คำแนะนำและข้อคิดมาเป็นแนวทางในการปฏิบัติได้อย่างถูกต้อง รวมทั้งให้คำปรึกษามาโดยตลอด รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้านอย่างเต็มที่ และกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และบุคคลในครอบครัวที่ให้ความรัก ความเข้าใจและคอยให้กำลังใจมาโดยตลอด รวมถึงขอบใจเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีโดยตลอดการทำโครงการพิเศษนี้

ผู้จัดทำสำนึกในพระคุณของทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจจนโครงการพิเศษสำเร็จได้ด้วยดี จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

นาย วีรศักดิ์ ลำดวนหอม



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....	3
2.1 หลักการของไซคลิก โวลแทมเมตรี.....	3
2.2 หลักการของโคร โนแอมเพอโรเมตรี.....	10
2.3 การพัฒนาขั้วไฟฟ้า.....	11
2.4 โมโนโซเดียม กัลคาเมต.....	12
2.5 ไซโคลเดกซ์ทริน.....	20
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	25
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....	31
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.....	31
3.1.1 อุปกรณ์.....	31
3.1.2 สารเคมี.....	31
3.2 วิธีการพัฒนาขั้วไฟฟ้า.....	32
3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้า.....	32

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.4 วิธีการทดลอง	33
3.4.1 การศึกษาเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี.....	33
3.4.1.1 การศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดไฮโดรเจน- เปอร์ออกไซด์.....	33
3.4.1.2 การศึกษาอัตราการสแกนศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสม.....	33
3.4.1.3 การศึกษาจำนวนรอบการสแกน.....	33
3.4.1.4 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง ในการวิเคราะห์กลูตาเมต.....	33
3.4.1.5 การศึกษากระแสพื้น	34
3.4.2 การศึกษาสมบัติของขั้ว.....	34
3.4.2.1 สภาพผิวของขั้ว.....	34
3.4.2.2 ซีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์.....	34
3.4.2.3 การศึกษาความเที่ยง.....	34
3.4.2.4 การศึกษาปริมาณกลูตาเมตในตัวอย่างด้วยเทคนิค แอมเพอโรเมตรี.....	34
บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล.....	36
4.1 ค่า พี-เอช ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	36
4.2 การสร้างขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน	38
4.3 การศึกษาหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดกลูตาเมต.....	39
4.3.1 อัตราการสแกนที่เหมาะสม.....	39
4.3.2 จำนวนรอบการสแกน.....	43
4.4 สมบัติของขั้วไฟฟ้า.....	44
4.4.1 การศึกษาสมบัติช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้น กับกระแสในการวิเคราะห์.....	44
4.4.2 ซีดจำกัดความเข้มข้นในการตรวจวัดกลูตาเมต	47
4.4.3 การศึกษาความเที่ยงของขั้วไฟฟ้า.....	47

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.4.4 การศึกษาอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า.....	48
4.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณกลูตามตในตัวอย่างด้วยเทคนิคเอมเพอโรเมทรี.....	49
บทที่ 5 สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	51
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	51
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	52
เอกสารอ้างอิง.....	53
ภาคผนวก.....	57
ภาคผนวก ก. การตั้งค่าการทำงานของโปรแกรม Auto Lab.....	56
ภาคผนวก ข. การเตรียมสารเคมี.....	63
ภาคผนวก ค. ผลการทดลอง.....	65
ภาคผนวก ง. การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด.....	70
ภาคผนวก จ. การวิเคราะห์ปริมาณกลูตามตในน้ำชอสปริงตตัวอย่าง.....	73

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของ แอลฟา-, เบต้า- และแกมมา- ไซโคลเดกซ์ทริน.....	24
4.1 Detection limit และ Quantification limit ของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน ที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน.....	44
4.2 ค่ากระแสฟลักเคลีย์ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ %RSD ของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน ที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน จากการตรวจวัด 2.0 mM กลูตามัด ใน 0.1 M Phosphate buffer อัตราการสแกน 50 mV/s ตรวจวัดด้วยเทคนิค แอมเพอโรเมทรี	47
4.3 ค่าปริมาณกระแสสเปกโตริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรม ของ 2.0 M กลูตามัด ใน 0.1 M Phosphate buffer อัตราการสแกน 50 mV/s ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน ที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน.....	48
4.4 สมบัติของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน จากการตรวจวัดสารละลายกลูตามัดมาตรฐานใน 0.1 M Phosphate buffer อัตราการสแกน 50 mV/s.....	48
4.5 เปรียบเทียบปริมาณแอมไพร์ที่ใช้ในการตรวจวัดกลูตามัด detection limit, linear range และ % RSD จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	49
4.6 Percent Recovery ที่ได้จากการตรวจวัดของสปริงรสต์ตัวอย่างด้วยวิธีการเดิม สารมาตรฐาน จากเทคนิคแอมเพอโรเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน ที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน	50
5.1 สมบัติของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน.....	51
ค.1 ค่าปริมาณกระแสสเปกโตริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรม ของ 2.0 mM ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วกลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า- ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	65
ค.2 ค่าปริมาณกระแสสเปกโตริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรม ของ 2.0 mM กลูตามัด ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อัตราการสแกน	

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	66
ก.3 ค่าปริมาณกระแสปฏิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ สารละลายมาตรฐานกลูตามัตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	67
ก.4 ค่าปริมาณกระแสปฏิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ 2.0 mM กลูตามัต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	67
ง.1 ค่าปริมาณกระแสปฏิริยาออกซิเดชัน ค่าความชัน และความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานกลูตามัต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	72
ง.2 สัญญาณของกระแสพื้นที่ได้จากการตรวจวัด 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน.....	71
จ.1 ปริมาณกระแสปฏิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดน้ำซอสปรุงรสตัวอย่าง น้ำซอสปรุงรสโซยุ ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้า กลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจสอบด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	74
จ.2 ปริมาณกระแสปฏิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดน้ำซอสปรุงรสตัวอย่าง น้ำซอสปรุงรสแมกกี ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจสอบด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	77
จ.3 สรุปผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณกลูตามัตในน้ำซอสปรุงรสตัวอย่าง.....	79
จ.4 แสดงเกณฑ์ที่ยอมรับของความถูกต้องเฉลี่ย	80

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แผนภาพสัญญาณกระตุ้นในไซคลิกโวลแทมโมแกรม.....	3
2.2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมทั่วไป.....	4
2.3 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมแบบต่างๆ.....	5
2.4 การแปรผลข้อมูลจากไซคลิกโวลแทมโมแกรม.....	6
2.5 การเกิดปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นบนขั้วไฟฟ้า.....	7
2.6 แสดงขั้วไฟฟ้าทำงาน	11
2.7 แสดงโครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทริน.....	20
2.8 แสดงโครงสร้างของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน.....	21
2.9 แสดงการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน.....	23
2.10 แสดงรูปแบบการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไซโคลเดกซ์ทริน.....	23
4.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 2.0 mM ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ที่ pH ต่างๆ อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้นเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน เมื่อ (a) pH 4, (b) pH 5, (c) pH 6, (d) pH 7, (e) pH 8 และ (f) pH 9.....	36
4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ต่างๆของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์กับกระแส ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 2.0 mM โดยใช้ ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน.....	37
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ต่างๆของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์กับ ศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 2.0 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน.....	37
4.4 แสดงชั้นของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน.....	38
4.5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของกลูตามेट ไบโอเซนเซอร์.....	39
4.6 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมเปรียบเทียบอัตราการสแกนที่เหมาะสมของ 2.0 mM กลูตามेट ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อัตราเร็วการสแกนต่างๆ สแกน ในช่วง 0 ถึง +1 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เมื่อ (a) 1 mV/s, (b) 5 mV/s, (c) 10 mV/s, (d) 25 mV/s, (e) 50 mV/s, (f) 100 mV/s, (g) 200 mV/s, (h) 300 mV/s, (i) 400 mV/s และ (j) 500 mV/s	40

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 2.0 mM กลูตามेट ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน	41
4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 2.0 mM กลูตามेट ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน	41
4.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง log ของอัตราการสแกนกับ log กระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 2.0 mM กลูตามेट ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน	42
4.10 โวลแทมโมแกรมแสดงจำนวนรอบการสแกนจากการตรวจวัด 2.0 mM กลูตามेट ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี	43
4.11 โวลแทมโมแกรมของกลูตามेटที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ใน 0.1 M phosphate buffer อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้น ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี เมื่อ (a) 0.4 mM, (b) 0.8 mM, (c) 1.2 mM, (d) 1.6 mM, (e) 2.0 mM และ (f) 2.4 mM	45
4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูตามेटกับกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	46
4.13 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูตามेटกับ กระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	46
ก.1 การเลือกเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัด.....	56

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
ก.2 การหาค่าสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมทรีแบบออตโนมติ.....	57
ก.3 การหาค่าสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมทรีแบบกำหนด cursor จุดเอง.....	57
ก.4 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมทรี.....	58
ก.5 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	59
ก.6 การบันทึกผลการวิเคราะห์.....	60
ก.7 การเรียกดูผลการวิเคราะห์.....	61
ก.1 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าออกซิเดชันกับจำนวนครั้งของการตรวจวัด 2.0 mM กลูตาเมต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมทรี ตรวจวัดทั้งหมด 30 ครั้ง.....	69
จ.1 โวลแทมโมแกรมของซอสปริงรสตัวอย่าง โดยวิธีการเดิมสารมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	73
จ.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสไฟฟ้าออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูตาเมต โดยใช้ขั้วกลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	75
จ.3 โวลแทมโมแกรมของน้ำซอสปริงรสตัวอย่าง โดยวิธีการเดิมสารมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	76
จ.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสไฟฟ้าออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูตาเมต โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	78
จ.5 ภาพวาดกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยวิธีเดิมสารมาตรฐาน.....	79

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

โมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือ MSG หรือเรียกง่าย ๆ ว่า ผงชูรส เป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหาร เป็นตัวกระตุ้นเซลล์ประสาทรับรส ซึ่งเป็นพื้นฐานที่ทำให้รสชาติอาหารดีขึ้น การบริโภคผงชูรสในปริมาณที่เหมาะสม จะไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย แต่ถ้าหากร่างกายได้รับผงชูรสในปริมาณที่มากเกินไป จะทำอันตรายต่อเซลล์ประสาท [1] โดยทั่วไป พบว่าอาหารประเภท fast food จะมีวัตถุอันตรายผสมอยู่ในปริมาณมาก นอกจากนั้นจะใช้อาหารประเภท fast food จะมีวัตถุอันตรายผสมอยู่ในปริมาณมาก นอกจากนั้นจะใช้อาหารแล้ว ผงชูรสยังถูกใช้ในกระบวนการผลิตกระป๋องและหีบห่อบรรจุอาหาร การบริโภคผงชูรส ในปริมาณมากเกินไป จะก่อให้เกิดอาการ เช่น เจ็บหน้าอก ชา ปวดหัว และเหงื่อออก (sweat) มีรายงานว่ามีการผลิต เพื่อสนองความต้องการผงชูรส ในอุตสาหกรรมอาหารในแต่ละปี มากถึง 900,000 ตันต่อปี และมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ [2] โดยทั่วไปกลูตาเมตที่มีอยู่ในตัวอย่างอาหาร มักจะถูกตรวจวัดโดยเทคนิคโครมาโทกราฟี (chromatography) [3-7] แต่ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์นาน หรือ เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical) [8-14] ซึ่งใช้ส่วนใหญ่จะใช้เป็นขั้วไฟฟ้าเอนไซม์ (enzyme electrode) หลังจากนั้นก็มีการใช้เทคนิค amperometric [15-19]

เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า เป็นเทคนิคที่สามารถเตรียมได้ง่าย และมีความไวในการตรวจวัดสูง สำหรับการตรวจวัดกลูตาเมต โดยจะเกิดปฏิกิริยา ระหว่างกลูตาเมตและเอนไซม์รีดอกซ์ เช่น เอนไซม์แอล-กลูตาเมตออกซิเดส (L-glutamate oxidase) หรือ เอนไซม์กลูตาเมตดีไฮโดรจีเนส (glutamate dehydrogenase) ไปโอเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดกลูตาเมตมีการออกแบบโดยการรวมกันของเอนไซม์กับขั้วไฟฟ้าใช้เอนไซม์เกิดการเชื่อมโยง (cross-linking) [20-22] และเอนไซม์รวมอยู่ในพอลิเมอร์ [16,23]

จากข้อมูลและเหตุผลดังกล่าว ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ โดยการพัฒนาขั้วไฟฟ้า (modify electrode) สำหรับตรวจวิเคราะห์กลูตาเมต (glutamate) ในตัวอย่างซอสปรุงรส ซึ่งจะช่วยให้การตรวจวิเคราะห์มีความไวสูงขึ้น และสัญญาณที่ได้การตรวจวัดเพิ่มขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาขั้วไฟฟ้าสำหรับการตรวจวัดกลูตามัต
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดกลูตามัต โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น
3. ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นกับขั้วกลาสลิคาร์บอน
4. ตรวจวัดกลูตามัต (glutamate) ในตัวอย่างซอสปรุงรส

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2. พัฒนาขั้วไฟฟ้าสำหรับการตรวจวัดกลูตามัต (glutamate)
3. ศึกษาผลของพี-เอช การตอบสนองของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ และเวลาที่ตอบสนอง
4. ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของขั้วที่พัฒนาขึ้นกับขั้วกลาสลิคาร์บอน
5. ตรวจวัดสารกลูตามัต (glutamate) ในตัวอย่างซอสปรุงรส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถสร้างขั้วไฟฟ้าสำหรับการตรวจวัดกลูตามัต ที่ทำให้ตรวจวัดกลูตามัต ในซอสปรุงรส ได้ดีขึ้น
2. สามารถพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์กลูตามัต (glutamate) ได้ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า
3. ทำให้มีการพัฒนาเทคโนโลยี โดยการสร้างชิ้นใช้เองภายในประเทศ และลดการนำเข้าจากต่างประเทศ

บทที่ 2

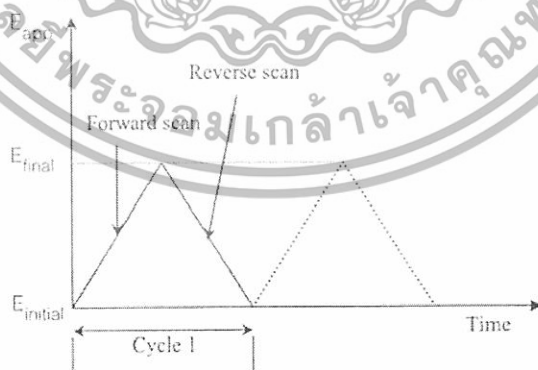
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่องการพัฒนาการสร้างขั้วไฟฟ้า ผู้วิจัยได้ศึกษาทฤษฎีเอกสาร วารสาร รายงาน และบทความในประเทศและต่างประเทศ เพื่อเป็นแนวทางในการวิจัย ดังหัวข้อต่อไปนี้

- 2.1 หลักการของไซคลิกโวลแทมเมตรี
- 2.2 หลักการของโครโนแอมเพอโรเมตรี
- 2.3 การพัฒนาขั้วไฟฟ้า
- 2.4 กลุตามต
- 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หลักการของไซคลิกโวลแทมเมตรี [24]

ไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry) เป็นการสแกนศักย์ไฟฟ้าเชิงเส้นตรงแบบคลื่นรูปสามเหลี่ยมดังรูปที่ 2.1 ใช้กับระบบที่ใช้อิเล็กโทรดแบบนิ่งขนาดเล็กในสารละลายที่ไม่มี การปั่นกววน ศักย์ไฟฟ้ารูปสามเหลี่ยมนี้สามารถให้วนได้ไม่จำกัดรอบหรือให้เพียงรอบเดียวขึ้นกับ ข้อมูลที่ต้องการตรวจหา



รูปที่ 2.1 แผนภาพสัญญาณกระตุ้นในไซคลิกโวลแทมโมแกรม

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมเป็นการสร้างกราฟระหว่างกระแสที่เกิดขึ้นกับ ศักย์ไฟฟ้าที่ให้การตอบสนองที่อยู่ในรูปกระแสของการสแกนไปข้างหน้ามีลักษณะคล้ายคลื่นในโวลแทมเมทรีแบบกวาดเชิงเส้นตรง พารามิเตอร์ที่สำคัญของการกระตุ้นแบบรอบและไซคลิกโวลแทมโมแกรม ได้แก่ ศักย์ไฟฟ้า (initial potential , $E_{initial}$) ทิศทางการกวาดเริ่มต้น (initial sweep direction , +/-) ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (maximum potential , E_{max}) ศักย์ไฟฟ้าต่ำสุด (minimum potential , E_{min}) ศักย์ไฟฟ้าสุดท้าย (final potential , E_{final}) อัตราการสแกน (scan rate , V) ศักย์ไฟฟ้าที่ยอดแคโทดิก (cathodic peak potential , E_{pc}) ศักย์ไฟฟ้าที่ยอดแอนอดิก (anodic peak potential , E_{pa}) กระแสที่ยอดแคโทดิก (cathodic peak current , i_{pc}) และกระแสที่ยอดแอนอดิก (anodic peak current , i_{pa})



รูปที่ 2.2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมทั่วไป

เมื่อเริ่มสแกนศักย์ไฟฟ้าก็เริ่มมีกระแสเกิดขึ้น เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (ถึงยอดของสามเหลี่ยม) จะมีกระแสเนื่องจากเกิดปฏิกิริยารีดักชันเกิดขึ้นสูงสุดมีลักษณะเป็นพีกและเมื่อศักย์ไฟฟ้าด้วยอัตราเร็วเท่าเดิมกระแสจะค่อยๆ ลดลงจนถึงต่ำสุดเพราะเกิดปฏิกิริยาในทิศทางตรงกันข้าม (ผันกลับได้) มีลักษณะเป็นพีกเช่นกันแต่กลับทิศทางกัน การให้ศักย์ไฟฟ้าที่เวลาใดๆ มี

ความสัมพันธ์ดังสมการ 2.1

$$V = \frac{dE}{dt} \tag{2.1}$$

การเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ในเคมีไฟฟ้า โดยการให้ศักย์ไฟฟ้าในทิศทางที่เป็นลบแก่ขั้วไฟฟ้าทำงาน ศักย์ใกล้จะถึง E^0 จะเริ่มเกิดกระแสแคโทดิกเกิดขึ้น ($Ox + ne^- \rightarrow Red$) เมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าในทิศทางย้อนกลับจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ($Red \rightarrow Ox + ne^-$) และให้กระแสแอนอดิก ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.3 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมแบบต่างๆ

จากรูปที่ 2.3 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของปฏิกิริยาต่างๆ กราฟเส้นทึบ คือ กราฟของปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ พีก A คือ แคโทดิกพีกของปฏิกิริยาซึ่งมีลักษณะเหมือนกับพีกที่เกิดขึ้นในลิเธียม สวีปโพลาริกราฟี ความสูงของพีกคือกระแสที่เกิดขึ้น เรียกว่า i_{pc} (Cathodic current) เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าถึงค่าที่ทำให้ปฏิกิริยาเริ่มผันกลับ (จุด B) กระแสยังคงมีค่าเป็นบวก เพราะยังมีกระแสเนื่องจากการแพร่ในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของการวิเคราะห์เกิดขึ้น เมื่อลดศักย์ไฟฟ้าลง (ทำให้ศักย์ไฟฟ้าเป็นลบน้อยลง) จนถึงจุด C ซึ่งเป็นจุดที่ไม่มีการเกิดปฏิกิริยาจึงทำให้กระแสมีค่าเป็นศูนย์ เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าลดลงไปอีก (ให้เป็นลบน้อยลง หรือเพิ่มความเป็นบวกมากขึ้น) จะมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นกระแสเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนกระทั่งความเข้มข้นรอบๆ ขั้วไฟฟ้าทำงานของไอออนที่โวลดลงเป็นศูนย์ ซึ่งทำให้เกิดกระแส

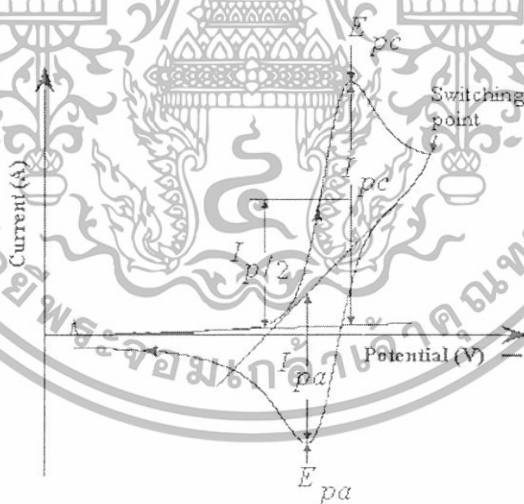
จากปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุดทำให้เกิดพีก D ขึ้นเรียกว่า แอนโนดิกพีก ความสูงของพีกคือ กระแสที่เรียกว่า i_{pa} (Anodic current) สำหรับปฏิกิริยาที่ผันกลับได้นี้จะมีค่าศักย์ไฟฟ้าที่แตกต่างกันระหว่างพีก A และพีก D เท่ากับ $2 \times 0.0282/n$ โวลต์ ถ้าหากพีกมีลักษณะสมมาตรกัน (Reversible) ความแตกต่างกันของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า (ΔE_p) จะอยู่ในช่วง 57 – 60 มิลลิโวลต์

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 0.059/n \text{ V} \quad (2.2)$$

เมื่อ E_{pa} แทน ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน
 E_{pc} แทน ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน

2.1.1 การแปลผล

การแปลผลข้อมูลของไซคลิกโวลแทมโมแกรม ซึ่งพิจารณาจากค่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้กระแสไฟฟ้าสูงสุดสองค่า และค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดสองค่า หรือค่าศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าที่ได้จากตำแหน่งแคโทดิกและแอนโนดิก ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 การแปลผลข้อมูลจากไซคลิกโวลแทมโมแกรม

การวัดกระแส i_{pc} และ i_{pa} ที่เกิดขึ้นจากไซคลิกโวลแทมโมแกรมสามารถทำได้โดยต่อเส้นฐาน (Base line) ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาแต่ละชนิดโดยการประมาณค่าแนวโน้มที่เป็นไปได้แล้ววัดระยะระหว่างส่วนยอดของพีกถึงฐาน สำหรับปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ไม่สมบูรณ์ (กราฟเส้นประเข้มในรูป 2.3) และปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ (กราฟเส้นประจางในรูป 2.3) สามารถทำการวิเคราะห์ได้จากการ

วัดค่ากระแส i_{pc} เท่านั้น เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยามีผลต่อโวลแทมโทแกรม จึงทำให้วิธีการของไซคลิก-โวลแทมเมตริกกลายเป็นเครื่องมือสำคัญในการศึกษากลไกของปฏิกิริยา และอัตราเร็วในกระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในปฏิกิริยาของสารประกอบอินทรีย์

2.1.2 ระบบที่เป็นปฏิกิริยาผันกลับได้ (Reversible System)

ในระบบที่เป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ (Reversible reaction) จะต้องเป็นระบบที่มีการเกิดปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนอย่างรวดเร็ว ดังนั้นเมื่อพิจารณาปฏิกิริยา $Ox + ne^- \leftrightarrow Red$ ตามรูปที่ 2.5 แสดงปฏิกิริยาของสารออกซิไดซ์ที่อยู่ในรูป Ox รับอิเล็กตรอนจากขั้วไฟฟ้าเปลี่ยนอยู่ในรูป Red และเกิดการแพร่ของสารในชั้นการแพร่ของสารละลาย กระแสไฟฟ้าที่เกิดจากการแพร่นี้เรียกว่ากระแสแคโทดิก (Cathodic current) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เรียกว่า ปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction reaction) และเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าในทิศทางตรงกันข้ามจะเกิดปฏิกิริยาของสารรีดิวซ์ (Reduced) ที่อยู่ในรูป Red ให้อิเล็กตรอนเปลี่ยนไปเป็น Ox กระแสไฟฟ้าที่เกิดจากการแพร่นี้เรียกว่ากระแสแอโนดิก (Anodic current) และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเรียกว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน



รูปที่ 2.5 การเกิดปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นบนขั้วไฟฟ้า

กระแส i_p ที่วัดได้จากแคโทดิกพีคและแอโนดิกพีคจะมีขนาดเท่ากันซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นและรากที่สองของอัตราเร็วในการสแกนศักย์ไฟฟ้างตามสมการ 2.3

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} ACD^{1/2} v^{1/2} \quad (2.3)$$

เมื่อ	i_p	แทน กระแสฟีก มีหน่วยเป็นแอมแปร์
	n	แทน จำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้อง
	A	แทน พื้นที่ผิวขั้วไฟฟ้า มีหน่วยเป็น cm^2
	C	แทน ความเข้มข้น มีหน่วยเป็น mol cm^{-3}
	D	แทน สัมประสิทธิ์ของการแพร่ มีหน่วยเป็น $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$
	v	แทน อัตราการสแกน มีหน่วยเป็น Vs^{-1}

ในระบบของ Nernst ปฏิริยาที่ผันกลับได้ (Reversible) จะมีเงื่อนไขดังต่อไปนี้

1. การแยกกันของ $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$ ต้องมีค่าเป็น $59/n \text{ mV}$ ที่ 25°C
2. ค่าของ E_p ไม่ขึ้นอยู่กับอัตราการสแกน
3. i_p จะเป็นฟังก์ชันเส้นตรงกับค่า $v^{1/2}$
4. อัตราส่วนของฟีก (i_{pa}/i_{pc}) ต้องมีค่าเท่ากับ 1
5. ค่าของ $E^0 = (E_{pa} + E_{pc})/2$
6. ค่าของ $E_{p/2} = E_{1/2} \pm (0.028/2) v$

จากสมการ 2.3 ถ้านำค่า i_p มาพลอตกับค่า $v^{1/2}$ จะได้กราฟที่เป็นเส้นตรงนั้นแสดงว่ากระบวนการนี้เป็น Diffusion-controlled และถ้าให้ค่า n, A, C และ D ลงที่เมื่อใส่ \log ลงในสมการ 2.3 จะได้

$$\text{Log } i_p = \log (2.69 \times 10^5 n^{3/2} A C D^{1/2}) + \log v^{1/2}$$

$$\text{Log } i_p = 0.5 \log v \quad (2.4)$$

จากสมการ 2.4 ถ้านำค่า $\log i_p$ มาพลอตกับค่า $\log v$ จะได้กราฟที่มีลักษณะที่เป็นเส้นตรงและมีความชันเท่ากับ 0.5 ดังนั้นกระบวนการที่เกิดขึ้นแสดงว่าเป็น Diffusion-controlled แต่ถ้าปฏิริยาผันกลับไม่ได้จะไม่เกิดฟีกเมื่อสแกนให้ศักย์ไฟฟ้าลดลงเรียกว่า Irreversible และถ้าปฏิริยาผันกลับได้ไม่สมบูรณ์ ลักษณะของฟีกที่เกิดขึ้นจะไม่สมมาตรกันเรียกว่า Quasi-reversible จะพบว่าค่า ΔE_p จะมากกว่า $0.059/n$ โวลต์ และจะเพิ่มขึ้นตามอัตราการสแกน

ในกรณีที่มีสารตั้งต้นหรือสารผลิตภัณฑ์ติดอยู่ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า กระแสของฟีกที่เกิดขึ้นสามารถหาได้จากสมการ 2.4

$$i_p = n^2 F^2 C_{ads} v / 4RT \quad (2.5)$$

เมื่อ F แทน Faraday constant มีหน่วยเป็น $C \text{ mol}^{-1}$

C_{ads} แทน ความเข้มข้นของสารที่ติดอยู่ที่ผิวหน้า มีหน่วยเป็น mol cm^{-3}

v แทน อัตราการสแกน มีหน่วยเป็น Vs^{-1}

จากสมการ 2.5 ถ้านำค่า i_p มาพลอตกับค่า v จะได้กราฟที่เป็นเส้นตรงนั้นแสดงว่า กระบวนการนี้เกิดมีสารติดที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า และถ้าให้ n, F, C_{ads}, R และ T คงที่ เมื่อใส่ \log ลงในสมการ 2.5 จะได้

$$\begin{aligned} \log i_p &= \log (n^2 F^2 C_{ads} v / 4RT) + \log v \\ \log i_p &= \log v \end{aligned} \quad (2.6)$$

จากสมการ 2.6 ถ้านำค่า $\log i_p$ มาพลอตกับค่า $\log v$ จะได้กราฟที่เป็นเส้นตรงและมีความชันเท่ากับ 1 ดังนั้นกระบวนการที่เกิดขึ้นแสดงว่าเป็นการดูดซับสารที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า

2.1.3 ระบบที่เป็นปฏิกิริยาผันกลับไม่ได้และกึ่งผันกลับได้ (Irreversible and quasi-reversible system)

ในกระบวนการที่เป็นปฏิกิริยาผันกลับไม่ได้ (Irreversible reaction) จะมีการแลกเปลี่ยนของอิเล็กตรอนของการเกิดปฏิกิริยาที่ช้าทำให้เกิดฟลักเคียวและเกิดการเลื่อนของศักย์ไฟฟ้า โดยการเลื่อนของศักย์ไฟฟ้านั้นขึ้นอยู่กับค่าอัตราเร็วการสแกนศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ สามารถอธิบายได้จากสมการ 2.7

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha n_a F v} \left[0.780 + \ln \left(\frac{D^{1/2}}{K^0} \right) + \ln \left(\frac{\alpha n_a F v}{RT} \right) \right] \quad (2.7)$$

เมื่อ α แทน transfer coefficient

K^0 แทน ค่าคงที่ของปฏิกิริยาการเคลื่อนที่อิเล็กตรอน

n_a แทน จำนวนอิเล็กตรอนในขั้นตอนการกำหนดอัตราการเกิดปฏิกิริยาของกระบวนการขั้วไฟฟ้า (the number of electrons in the rate-determination of electrode process)

E_p แทน ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้กระแสไฟฟ้าสูงสุด

ซึ่งค่าศักย์ไฟฟ้าของพีก (peak potential ; E_p) และค่าศักย์ไฟฟ้าของครึ่งพีก (Half-peak potential ; $E_{p/2}$) ที่ 25 °C จะแตกต่างกันเท่ากับ

$$|E_p - E_{p/2}| = \frac{1.857RT}{\alpha F} = \frac{47.7}{\alpha} mV$$

และปริมาณกระแสไฟฟ้า สามารถหาได้จากสมการที่ 2.8

$$i_p = (2.99 \times 10^5) n (\alpha n_a)^{1/2} (ACD^{1/2}) \nu^{1/2} \quad (2.8)$$

จากสมการ 2.8 ถ้านำค่า i_p มาพลอตกับค่า $\nu^{1/2}$ จะได้กราฟที่เป็นเส้นตรง นั้นแสดงว่ากระบวนการนี้เป็น Diffusion-controlled และถ้าให้ค่า n , n_a , A , C และ D คงที่ เมื่อใส่ \log ลงในสมการ 2.8 จะได้

$$\begin{aligned} \log i_p &= \log (2.99 \times 10^5) n (\alpha n_a)^{1/2} (ACD^{1/2}) + \log \nu^{1/2} \\ \log i_p &= 0.5 \log \nu \end{aligned} \quad (2.9)$$

จากสมการ 2.9 ถ้านำค่า $\log i_p$ มาพลอตกับค่า $\log \nu$ จะได้กราฟที่เป็นเส้นตรงและมีความชันเท่ากับ 0.5 ดังนั้นกระบวนการที่เกิดขึ้นแสดงว่าเป็น Diffusion-controlled ถ้าปฏิกิริยาผันกลับไม่ได้จะไม่เกิดพีก เมื่อสแกนให้ศักย์ไฟฟ้าลดลงเรียกว่า Irreversible และถ้าปฏิกิริยาผันกลับได้ไม่สมบูรณ์ ลักษณะพีกที่เกิดขึ้นจะไม่สมมาตรกันเรียกว่า Quasi-reversible จะพบว่า ΔE_p จะมากกว่า 0.059/n โวลต์ และจะเพิ่มขึ้นตามอัตราการสแกน

2.2 หลักการของโครโนแอมเพอโรเมทรี

แอมเพอโรเมทรีเป็นวิธีที่อาศัยหลักการเดียวกับวิธีโพลารอกราฟี แต่ศักย์ไฟฟ้าที่ให้เป็นค่าคงที่ ค่าเดียวแล้ววัดกระแสไฟฟ้าที่ไหล โดยไม่ต้องบันทึกเส้นกราฟกระแส-ศักย์ไฟฟ้า กระแสไฟฟ้าที่วัดได้จะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้น เวลา หรือปัจจัยอื่นๆ ถ้ากระแสขึ้นกับเวลา (time dependent) จะเรียกว่า “โครโนแอมเพอโรเมทรี (chronoamperometry)”

แอมเพอโรเมทรี อาศัยหลักการที่ว่าค่าความเข้มข้นของสารจะแปรผันตรงกับปริมาณกระแสในสถานะ ที่ทำการวิเคราะห์นั้นต้องมีการปั่นกวานสารละลายอยู่ตลอดเวลา ขั้วที่ใช้ในการตรวจวัดประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 3 ขั้ว คือ

1. ขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode)
2. ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode)

3. ขั้วไฟฟ้าช่วย (auxiliary electrode)

2.3 การพัฒนาขั้วไฟฟ้า [35]

ขั้วไฟฟ้าที่ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สาร มีวัตถุประสงค์เพื่อให้มีความไวต่อการตรวจวัด และใช้เวลาในการตอบสนองต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่รวดเร็วขึ้น



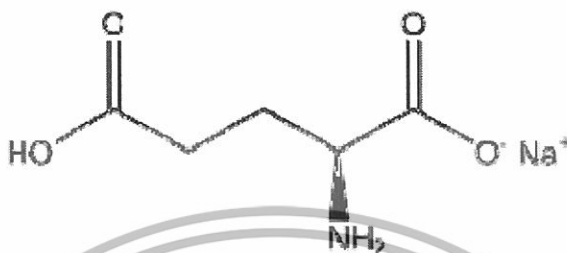
รูปที่ 2.6 แสดงขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode)

วิธีพัฒนาขั้วไฟฟ้า มีดังนี้ [35]

1. Covalent attachment
 - 1.1 Silanisation
 - 1.2 Direct bonding
2. Adsorption
 - 2.1 Electrosorption
 - 2.2 Direct non-specific adsorption
3. Polymeric coatings
 - 3.1 Polymer solution casting
 - 3.2 Electro- and photodeposition
 - 3.2 Electropolymerisation

2.4 โมโนโซเดียม กลูตามेट (Monosodium glutamate) [25]

โครงสร้าง



ชื่อเคมี Monosodium L-glutamate monohydrate

สูตรเคมี $C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$

มวลโมเลกุล 187.13 g/mol

โมโนโซเดียม กลูตามेट (Monosodium glutamate) หรือที่รู้จักกันในชื่อ ผงชูรส และมีชื่อย่อภาษาอังกฤษว่า เอ็ม เอส จี (MSG) ภาษาจีนแต้จิ๋วเรียกว่า “บีเจ็ง” เป็นเกลือโซเดียมของกรดกลูตามิก ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่เป็นส่วนประกอบของโปรตีน มีอำนาจในการกระตุ้นประสาทรับรสทำให้รู้สึกว่าการกินอาหารได้อร่อย

ผงชูรสเป็นสิ่งที่ช่วยเสริมรสชาติของ อาหารอย่างมีประสิทธิภาพมานานเกือบ ศตวรรษ องค์ประกอบหลักของผงชูรส คือ กรดอะมิโน ที่มีชื่อว่า "กรดกลูตามิก" หรือ "กลูตามेट" ซึ่งเป็นส่วนประกอบตามธรรมชาติที่พบได้ในอาหารแทบทุกชนิด

2.4.1 การค้นพบผงชูรส

ผงชูรส คือ สารกลูตามेट (glutamate) ที่มีในอาหารตามธรรมชาติและ กรดกลูตามेट (glutamate acid) ก็มิอยู่ในตัวคนเราเสียด้วยซ้ำ ในน้ำปลา ซีอิ๊ว โชยุ ซีส ซอสมะเขือเทศ น้ำ ชุปไก่ ซอสถั่วเหลือง ในอดีตไม่เคยมีใครทราบว่ามีส่วนประกอบอย่างหนึ่งที่ทำให้อาหาร มีรสอร่อย จนกระทั่งปี พ.ศ. 2451 (ค.ศ.1908) ดร.กิคุนาเอะ อิเคดะ (Professor Ikeda) ชาวญี่ปุ่นพบว่า กลูตามेटนั่นเอง ที่ทำให้อาหารมีรสชาติดีขึ้น หลังจากนั้นไม่นานมนุษย์ก็สามารถหาวิธีผลิตกลูตามेटได้ มีชื่อที่รู้จักกันดีว่า ผงชูรส หรือ โมโนโซเดียม กลูตามेटการศึกษาของญี่ปุ่นค้นตำรับผงชูรสพบว่า กลูตามेटให้รสที่ห้า คือรสอูมามิ หรือรสอร่อยนั่นเอง ซึ่งรสนี้ไม่สามารถจัดอยู่ในรสชาติพื้นฐานทั้ง สี่รสคือ เปรี้ยว หวาน เค็ม และขมได้ แม้ไม่รู้สัชชัดเจนแต่ก็มีบทบาทในการรับรส

2.4.2 กระบวนการผลิตผงชูรส

ผงชูรสผลิตจากกระบวนการทางเคมีหมักเช่นเดียวกับเบียร์ นำสัสมายชู หรือโยเกิร์ต โดยกระบวนการผลิตจะเริ่มต้นจากการหมักกาก น้ำตาลจากอ้อย หรือน้ำตาลจากแป้งมัน ลำปะหลัง และต้องใช้สารเคมีหลายตัว เช่น กรดกำมะถันหรือกรดซัลฟูริก กรดเกลือหรือกรดไฮโดรคลอริก ยูเรีย ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในปัสสาวะของคน นอกจากนี้ยังต้องใช้โซดาไฟอีกด้วย ซึ่งเป็นวัตถุดิบธรรมชาติโดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จะเป็นผลึกขาวบริสุทธิ์ ละลายน้ำได้ง่าย และเข้ากับอาหารได้ทุกชนิด กระบวนการผลิตผงชูรสอาจเขียนเป็นแผนผังโดยย่อได้ดังต่อไปนี้ ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ผลิตจากแป้งมันลำปะหลัง โปรดสังเกตสารเคมีที่ต้องใช้ในแต่ละขั้นตอน ซึ่งมีทั้งกรดและด่างโซดาไฟรวมทั้งยูเรียด้วย

วิธีการผลิตผงชูรส

1. แป้งมันลำปะหลัง (Tapioca หรือ Cassava starch) ใช้กรดกำมะถันหรือกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ผ่านกระบวนการย่อยสลายแป้งทางเคมีที่ 130 องศาเซลเซียส (Saccharification)
2. สารละลายน้ำตาลกลูโคส (Glucose solution) ใช้ยูเรีย (Urea) และเชื้อจุลินทรีย์ (*Corynebacterium glutanicum*) ผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation)
3. แอมโมเนียมกลูตาเมต (Ammonium Glutamate) ใช้กรดเกลือหรือกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมี
4. กรดกลูตามิก (Glutamic acid) ใช้โซดาไฟ หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมี
5. สารละลายผงชูรสหยาบ (MSG. Crude Solution) ใช้สารเคมีฟอกสีผ่านกระบวนการฟอกสี
6. สารละลายผงชูรสใส (MSG. Clear Solution) ผ่านกระบวนการตกผลึก
7. ได้ผลึกผงชูรส (MSG. Crystals)

2.4.3 การใช้ผงชูรสในการปรุงอาหาร

ผงชูรสจะช่วยเสริมรสชาติของอาหารหลากหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นเนื้อสัตว์ อาหารทะเล หรือผัก โดยจะช่วยให้อาหารมี รสชาติเด่นชัดขึ้น อาหารจำพวกซूप แกงจืด เกรวี่สำหรับราดสเต็ก น้ำจิ้มต่างๆ ก็เป็น ตัวอย่างของอาหารที่มีรสชาติที่อร่อยมากขึ้น เมื่อเติมผงชูรสในปริมาณที่เหมาะสม ผงชูรส เป็นสารปรุงแต่งรสอาหารที่ใช้ได้อย่างปลอดภัย และจะเข้ากันได้ดีกับอาหารรสเค็มและเปรี้ยว แต่จะมีผลน้อยมากเมื่อเติมในอาหาร รสหวานและขม การเติมผงชูรสลงในอาหาร ก็คล้ายกับ การ

เติมเครื่องปรุงรสต่างๆ ไป เช่น เกลือ น้ำตาล และพริกไทย โดยปริมาณการใช้ผงชูรสอย่างเหมาะสม จะอยู่ในระดับเดียวกับปริมาณกลูตาเมตในอาหารธรรมชาติ คือ 0.1 - 0.8 % ของอาหาร หรืออาจกล่าวได้ว่าประมาณผงชูรส 1 ช้อนชาเหมาะที่จะใช้ในการปรุงอาหารที่เป็นเนื้อสัตว์ 1 กิโลกรัม หรือ ปรุงอาหารจำพวกผักและซूपหรือแกงจืด 1 หม้อ สำหรับเสิร์ฟ 4 - 6 ที่

นอกจากนี้ผงชูรสเองก็มีคุณสมบัติจำกัดตัวเองในด้านรสชาติเช่นเดียวกับเกลือ พริก ไทย และ น้ำส้มสายชู การใช้สารปรุงรสเหล่านี้เกินกว่าปริมาณ ที่เหมาะสมจะไม่ช่วยให้รสชาติของอาหารดีขึ้น เห็นได้จาก การใส่เกลือหรือพริกไทยในอาหารในปริมาณที่มากเกินไป ก็จะทำให้อาหารเค็มเกินไป มี รสชาติไม่เป็นที่ปรารถนา

ซึ่งเมื่อมาพิจารณาปริมาณกลูตาเมตที่เติมลงไปในการปรุงอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติแล้ว จะพบว่าปริมาณเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับ ปริมาณกลูตาเมตทั้งหมดที่เราได้รับในแต่ละวัน โดยเฉลี่ยมนุษย์ จะได้รับ กลูตาเมต จากอาหารโปรตีน 10 กรัม และกลูตาเมตอิสระ อีกกว่า 1 กรัมต่อวัน นอกจากนี้ ร่างกายยังสามารถสร้างกลูตาเมตอิสระได้เอง เพื่อใช้ ในระบบอื่นๆ อีกวันละ 50 กรัม แต่กลูตาเมตที่ได้รับจากการเติมผงชูรสลงในอาหารจะอยู่ที่ 1.5 กรัมหรือ 0.1 ช้อนโต๊ะ /คน / วันเท่านั้น

2.4.4 ผงชูรสกับนิวคลีโอไทด์

นอกจากกลูตาเมตเป็นสาร ให้รสชาติที่มีในธรรมชาติแล้วในเห็ดหอม เนื้อสัตว์ ปลา และกุ้ง นั้น ก็ยังมีสารที่ให้รสของอูมามิ อีกกลุ่มหนึ่งที่มีชื่อว่า นิวคลีโอไทด์อยู่ด้วย สาร ในกลุ่มนี้ได้แก่ อินโนซิเนต (Inosinate) และ กัวนิเลต (Guanylate) และเมื่อลองนึกถึงรายการอาหารที่เราคุ้นเคย เช่น ผัดผักคะน้ากับ ปลาต้ม ผัดผักกระเฉดใส่หมูกรอบ ผัดผักกาดขาวใส่เห็ดหอม หรือพิซซ่าซึ่งมีมะเขือเทศกับชีส ที่หลายคนอาจสงสัยว่าทำไมการจับคู่ของผักกับเนื้อสัตว์ในการปรุงอาหารจึง ทำให้เกิดรสชาติอร่อยที่เราชื่นชอบได้คำตอบ ก็คือ จากความชาญฉลาดในการปรุงอาหารของบรรดาพ่อครัว แม่ครัว ในการจัดคู่ผักที่เป็นแหล่งของนิวคลีโอ ไทด์เพื่อช่วยให้อาหารมีรสชาติอร่อยมากยิ่งขึ้นนั่นเอง จะเห็นได้ว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของอาหารที่เป็นแหล่ง ของกลูตาเมตและนิวคลีโอไทด์จะช่วยให้อาหารมีรสชาติดีกว่า เมื่อมีอาหารดังกล่าว อย่างใดอย่างหนึ่ง

ความนิยมบริโภคผงชูรสได้รุ่งเรืองเมื่อไม่นานมานี้ ผงชูรสจึงจึงกลายมาเป็นส่วนประกอบของอาหารที่จะขาดเสียมิได้ ผู้ประกอบอาหารและผู้ผลิตอาหารนิยมผสมผงชูรสลงในอาหารมากมายแทบทุกชนิด หากได้รับในปริมาณน้อยจะกระตุ้นสมองให้แจ่มใส กระปรี้กระเปร่า แต่หากได้รับประทานผงชูรสมากเกินไป ก่อให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพขึ้น เช่น ผู้แพ้ผงชูรส คือ มีอาการผื่น ง ปวดหรือร้อนวูบวาบที่ก้านคอและแก้ม บางรายมีคลื่นไส้และอาเจียน อาการเหล่านี้จะหายไปในเวลาต่อมา นอกจากนี้ยังพบว่าผงชูรสสามารถทำลายเซลล์สมองของสัตว์ทดลองได้ จึงมีคำแนะนำ

ว่าเด็กทารกและหญิงมีครรภ์ไม่ควรบริโภคผงชูรสเลย เพราะอาจจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สมองของเด็กได้ ส่วนคนปกติไม่ควรได้รับผงชูรสเกินกว่าวันละ 1 ช้อนชาพูน ๆ หรือเท่ากับ 6 กรัม จึงจะปลอดภัยจากพิษของผงชูรส

ผงชูรสมีประโยชน์หรือไม่

ผงชูรสไม่มีประโยชน์ทางโภชนาการ ถึงแม้จะเกี่ยวข้องกับกรดกลูตามิก ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่มีความจำเป็นเพราะร่างกายผลิตเองได้จึงไม่มีคุณค่าทางอาหารแต่อย่างใดทั้งสิ้น อนึ่งผงชูรสเป็นสารเคมีคนละตัวกับกรดกลูตามิกที่มีอยู่ในธรรมชาติและในอาหารประเภทโปรตีน โดยที่ผงชูรสเป็นเกลือ โซเดียมเช่นเดียวกับเกลือแกง เป็นคนละตัวกับกรดเกลือที่หลังอยู่ในกระเพาะอาหารเวลาหิว

นอกจากไม่มีประโยชน์แล้ว ผงชูรสยังมีโทษและพิษภัยอันตรายมากมายด้วย ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป อย่างไรก็ตามผงชูรสก็มีประโยชน์อย่างหนึ่งซึ่งไม่เกี่ยวกับการโภชนาการคือ ช่วยห้ามเลือดได้ จะพบว่าในสมัยสงครามประเทศเพื่อนบ้านเรามีการนำเข้าผงชูรสกันมากเพื่อใช้ในการห้ามเลือด

2.4.5 พิษภัยและอันตรายของผงชูรส [25]

พิษภัยและอันตรายของผงชูรสอาจแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่เกิดจากโซเดียมและส่วนที่เกิดจากตัวผงชูรสแท้ๆ

พิษภัยและอันตรายที่เกิดจากเกลือโซเดียม

ผงชูรสมีโซเดียมที่มาจากโซดาไฟเป็นองค์ประกอบสำคัญเช่นเดียวกับเกลือแกง แต่อันตรายมากกว่าเกลือแกงตรงที่ว่าเกลือแกงใช้เพียงนิดเดียว ก็รู้สึกว่ามีรสเค็ม แต่ผงชูรสใส่มากเท่าไรก็ไม่รู้สึกตัวว่ามีปริมาณโซเดียมมากเท่าไร เพราะไม่มีรสเค็มให้รู้สึกเหมือนอย่างเกลือแกงหรือพุดอีกนัย หนึ่ง ผงชูรสมี “พิษแฝง” ในเรื่องโซเดียม ซึ่งมีพิษภัยอันตรายดังต่อไปนี้

1. ทำให้ภูมิคุ้มกันหรือภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์ลดลง ถึงแม้ผงชูรสจะไม่ทำให้เกิดโรคเอดส์โดยตรง แต่ (ภูมิคุ้มกันร่างกายบกพร่อง คือความหมายของโรคเอดส์ (AIDS) ซึ่งย่อมาจากคำว่า Antibody Immune Defficiency Syndrome

2. ทำให้เกิดการคั่งในสมองเด็ก ซึ่งเมื่อเด็กโตขึ้นจะเป็นคนปัญญาอ่อน ในปัจจุบันนี้มีเด็กปัญญาอ่อนเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ นับตั้งแต่มีผงชูรสแพร่หลายในประเทศไทย จะเกี่ยวข้องกันทั้งทางตรงและทางอ้อมหรือไม่น่าศึกษา

3. ทำให้เด็กทารกเกิดอาการชัก โคม่า ซึ่งบางครั้งแพทย์ไม่รู้สาเหตุ อาจทำการรักษา

ผิดปกติเป็นอันตรายได้

4. เป็นภัยต่อหญิงมีครรภ์ทำให้ร่างกายบวมและยังมีพิษภัยต่อทารกในครรภ์และทารกแรกเกิดด้วย

5. อันตรายต่อผู้เจ็บป่วยด้วยโรคต่างๆ เช่น โรคไต ความดันสูง โรคหัวใจ และโรคอื่นๆ ที่แพทย์ห้ามกินของเค็ม ซึ่งหมายถึงการห้ามกินเกลือโซเดียมนั่นเอง ได้แก่ เกลือแกงและผงชูรส เป็นต้น

พิษภัยและอันตรายที่เกิดจากตัวผงชูรสแท้

1. ทำให้เกิดอาการแพ้ผงชูรส ซึ่งจะมีอาการชาและร้อนวูบวาบที่ปาก ลิ้น ไซนัส โหนกแก้ม ต้นคอ หน้าอก บางคนมีผื่นแดงเกิดขึ้นตามตัว แน่นหน้าอก หัวใจเต้นช้าลง หายใจไม่สะดวก เป็นต้น จนเป็นที่รู้จักและขนานนามโรคแพ้ผงชูรสว่า “ไชนีสเรสทอรองซินโดม” (Chinese Restaurant Syndrome) หรือ “โรคภัตตาคารจีน” เพราะร้านอาหารจีนมักใช้ผงชูรสกันมากนั่นเอง

2. ทำลายสมองส่วนหน้าที่เรียกว่าไฮโปทาลามัส (Hypothalamus) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและระบบสืบพันธุ์ของร่างกาย ทำให้การเจริญเติบโตช้า ป้อนยาอ่อน ระบบสืบพันธุ์ผิดปกติ เป็นหมัน อวัยวะสืบพันธุ์เล็กลง ทั้งในเรื่องขนาดและน้ำหนัก

3. ทำลายระบบประสาท สายตาเสียหรือเกิดตามอดได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ทดลอง ยิ่งอายุน้อยจะยิ่งเกิดผลร้ายมาก

4. ทำลายกระดูกและไขกระดูก ซึ่งเป็นส่วนที่ผลิตเม็ดเลือดแดงในร่างกาย อาจทำให้เกิดโรคโลหิตจางได้ นอกเหนือจากโรคทรพีซัง เพราะต้องใช้เงินซื้อผงชูรสโดยไม่จำเป็น

5. ทำให้วิตามินในร่างกายลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินบี-6 ทำให้ร่างกายผิดปกติและเป็นโรคผิวหนังได้ง่าย (การค้นพบนี้ทำให้ใช้วิตามินบี-6 แก้อาการแพ้ผงชูรสได้)

6. เกิดโรคมะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งผงชูรสที่ผ่านความร้อนสูงๆ เช่น การปิ้งย่างเผา ทำให้เกิดสารก่อมะเร็งในอวัยวะต่างๆ ได้หลายแห่ง เช่น ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ ตับและสมอง เป็นต้น

7. ทำลายระบบประสาทส่วนกลาง (Central Nervous System) ทำให้เป็นโรคประสาทได้ง่ายขึ้น ในปัจจุบันมีผู้ป่วยด้วยโรคประสาทมากขึ้นเรื่อยๆ นำศึกษาว่าเกิดจากผงชูรสได้หรือไม่

8. เปลี่ยนแปลงโครโมโซม ทำให้ร่างกายเกิดวิรูปหรือผิดปกติ ปากแห้ง หูแห้ง จมูกวิน แขนขาพิการ เป็นต้น

9. ถ้ากินมากจะผ่านเยื่อกั้นระหว่างรกภายในร่างกายของผู้เป็นมารดากับทารกในครรภ์ได้ ทำให้ทารกในครรภ์ได้รับผลกระทบจากผงชูรส

10. ทำให้เด็กเล็กถึงตายได้ เด็กไทยอายุ 20 เดือนถึงแก่ความตาย เมื่อกินขนมครกโรยผงชู

ตำนานหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รสด้วยความเข้าใจผิดคิดว่าเป็นน้ำตาล (เรื่องนี้ได้สัมภาษณ์บิดามารดาของเด็กเอง)

2.4.6 ผงชูรสแท้กับผงชูรสเทียม

ทุกวันนี้ผงชูรสมีราคาถูกลง จึงไม่มีการปลอมปนด้วยสารเคมีชนิดบอแรกซ์หรือโซเดียมเมตาฟอสเฟต ซึ่งมีเกลือคล้ายคลึงกับผงชูรส อย่างที่เกิดขึ้นในสมัยก่อนที่ผงชูรสมีราคาแพงมาก อย่างไรก็ตาม หากมีการปลอมปนผงชูรสในปัจจุบันนี้ มักจะปลอมปนด้วยน้ำตาลทรายหรือเกลือแกง ดังนั้นในปัจจุบันนี้จึงไม่ค่อยมีผงชูรสปลอม ซึ่งมักจะเป็นข้ออ้างของบริษัทผู้ผลิต รวมทั้งข้าราชการที่สนับสนุนบริษัทผู้ผลิตผงชูรสว่า “ผงชูรสแท้ไม่อันตราย ผงชูรสปลอมจึงจะอันตราย” อันที่จริงถ้าหากมีผงชูรสปลอมปนด้วยน้ำตาลทรายหรือเกลือแกง ผงชูรสแท้ย่อมจะอันตรายมากกว่าผงชูรสปลอม เพราะน้ำตาลทรายมีพิษภัยน้อยกว่าผงชูรส ส่วนเกลือแกงก็มีรสเค็มจัด ถ้ากินผงชูรสในปริมาณที่จะให้รสเค็มเท่าเกลือแกงแล้ว จะมีพิษภัยมากกว่าเกลือแกงหลายเท่าตัว ถ้ารับประทานมากเกินไปก็อาจเป็นภัยได้เหมือนกันในการเพิ่มรสชาติของอาหารปริมาณที่เหมาะสมและปลอดภัย โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 0.2-0.8 % ของน้ำหนักอาหารที่รับประทาน

การพิจารณาความเป็นผงชูรสแท้หรือปลอม ผงชูรสแท้จะดูทึบไม่ใสเป็นท่อนยาวด้านหัวโตปลายเล็ก ส่วนผงชูรสปลอมมักใสและมีฟองอากาศเป็นจุดๆ เป็นแท่งยาวที่ปลายทั้งสองโตเท่าๆกัน ผงชูรสผลิตมาจากสารเคมีล้วนๆ ถึงแม้ว่าผู้ผลิตจะอ้างว่าทำมาจากวัตถุดิบธรรมชาติ ซึ่งอาจจะเป็นอ้อย หรือ แป้งมันสำปะหลัง แต่ในกระบวนการผลิตก็ต้องใช้สารเคมีหลายๆ ตัว อาทิ กรดกำมะถันกรดเกลือ ยูเรีย และ โซดาไฟ เข้ามาทำปฏิกิริยาย่อยสลาย จากนั้นพอกสีให้สารละลายกลายเป็นผลึกผงชูรส จึงแทบจะเรียกว่าไม่ได้คงเหลือ ความเป็นวัตถุดิบธรรมชาติเอาไว้เลย ผงชูรสทำให้เรารู้สึกว่าอาหารอร่อยขึ้น ก็เพราะว่าผงชูรส ทำให้เรารู้ชินในลิ้น เปิดกว้างเต็มที่ ทำให้เราสามารถรับรสได้มากขึ้น จึงทำให้เราเข้าใจไปว่าอาหารนั้นอร่อย

โซเดียมและตัวผงชูรสแท้ แม้ว่าผงชูรสจะมีโซเดียม (ที่ได้มาจากโซดาไฟ) น้อยกว่าเกลือแกง 2.5 เท่า แต่สิ่งที่ทำให้มันอันตรายมากกว่าก็คือ การที่ผงชูรสไม่มีรสเค็ม เพราะฉะนั้นทำให้เรากินเข้าไปมากเท่าไรก็ไม่รู้สึก นี่จึงเป็นภัยแฝงที่ไม่มีใครมองเห็น โซเดียมในผงชูรส มีผลต่อร่างกายโดยตรง ตั้งแต่การทำให้ภูมิคุ้มกันต้านทานลดลงเกิดน้ำในสมองเด็ก จนกลายเป็นเด็กปัญญาอ่อน ทำให้ทารกชกได้ ร่างกายหญิงมีครรภ์บวม รวมทั้งเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยที่แพทย์ห้ามรับประทานอาหารรสเค็ม อาทิ โรคไต ความดันโลหิตสูง และโรคหัวใจด้วย อันตรายจากตัวผงชูรสแท้ ยังทำให้เกิดอาการต่างๆ ได้อีกมากมาย แต่ที่เป็นที่รู้จักกันดีก็คือ กลุ่มอาการแพ้ผงชูรส หรือเรียกอีกอย่างว่า "โรคภัตตาคารจีน" (Chinese Restaurant Syndrome) เนื่องจากว่า ร้านอาหารจีนในต่างประเทศจะมีการใส่ผงชูรสเป็นจำนวนมาก และทำให้ผู้คนส่วนใหญ่เกิดอาการแพ้ ซึ่งอาจจะเริ่มตั้งแต่ รู้สึก

ชา ร้อนวูบวาบที่ปาก ลิ้น ใบหน้า โหนกแก้ม ต้นคอ หน้าอก บางคนมีผื่นแดงเกิดขึ้นตามตัว แน่นหน้าอก หัวใจเต้นช้าลง หายใจไม่สะดวก

นอกจากนี้ ผงชูรสก็ยังทำลายสมองส่วนหน้า หรือไฮโปทาลามัส ซึ่งควบคุม การเจริญเติบโตรวมทั้งการสืบพันธุ์ของร่างกาย ทำลายระบบประสาทส่วนกลางทำให้เป็นโรคประสาท ทำลายระบบ ประสาทตา ทำให้ตาเสียหรือตาบอด ทำลายกระดูกและไขกระดูกจนอาจเกิดโรคโลหิตจาง เปลี่ยนแปลงโครโมโซมใน ร่างกายซึ่งอาจทำให้ทารกในครรภ์เสียชีวิตหรือคลอดแล้วพิการ เช่น มีสมองอยู่นอกกะโหลกศีรษะ ใบหน้าผิดปกติ ปากแหว่ง ไม่มีตา แขนขาผิดปกติ และที่สำคัญที่สุดก็คือ เป็นสารก่อมะเร็ง เพราะเมื่อผงชูรส ถูกนำไปปรุงด้วยการสัมผัส กับความร้อนโดยตรง ในอุณหภูมิสูงๆ เช่น การปิ้งย่าง หรือเผา โครงสร้างเคมีของมันจะเปลี่ยนไป กลายเป็น สารเคมี ตัวใหม่ คือ กลูที 1 และกลูที 2 ซึ่งเป็นต้นเหตุของมะเร็งทางเดินอาหาร ตับ และสมอง

กรมวิทยาศาสตร์ กระทรวงอุตสาหกรรม (2523) ได้รายงานการวิเคราะห์หาผงชูรส ในอาหารไทยหลายชนิด เช่น เต้าเจี้ยว ซีอิ๊วหวาน น้ำปลา น้ำบูดู มันกุ้ง ปลาเนื้ออ่อนปนพริกชี้หนู ส้มผัก กุนเชียง ไข่ ลูกชิ้น เนื้อวัว ลูกชิ้นหมู ข้าวเกรียบกุ้ง ข้าวเกรียบปลา ซึ่งผลิตจากทั่วประเทศ พบว่าอาหารดังกล่าวมีผงชูรสเกือบทุกตัว อย่างรายงานนี้แสดงให้เห็นว่า มีผงชูรสปะปนอยู่ในอาหารแทบทุกชนิดที่กินเป็นประจำทุกวัน จึงเป็นการยากที่จะระวังมิให้ได้รับผงชูรส เกินกว่าระดับความปลอดภัย ที่ทางการกำหนด โดยเฉพาะอย่างยิ่งทารกและหญิงมีครรภ์ ควรจะต้องระมัดระวังเรื่องผงชูรสให้มาก

- ไม่ควรใช้ ผงชูรสปลอม
- ผงชูรสแท้ใช้ได้ไม่เกิน 2 ช้อนชา/วัน
- ผงชูรสแท้ต้องบรรจุในภาชนะปิดผนึกเรียบร้อย

2.4.7 ลักษณะรูปร่างผงชูรส

1. เป็นผลึกสีขาวค่อนข้างใส ไม่มีความวาว
2. เป็นแท่งสี่เหลี่ยม ไม่เรียบ ปลาข้างใดข้างหนึ่งเล็กคล้ายรูปกระบอง
3. เป็นแท่งสี่เหลี่ยม ไม่เรียบ แต่ปลายทั้งสองข้างใหญ่คอดตรงกลางคล้ายรูปกระดูก

ผงชูรสมีคุณสมบัติละลายได้ดีในน้ำ ทั้งยังช่วยละลายไขมันให้ผสมกลมกลืนกับน้ำ มีรสเหมือนน้ำคั้นเนื้อ สามารถกระตุ้นปฏิกิริยาประสาทโคนลิ้นกับลำคอ ทำให้รู้สึกอร่อยขึ้นได้ ผู้ผลิตอาจปลอมปนผงชูรสได้ สารที่ใช้ปลอมปนมี 2 ชนิด คือ

- สารที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย เช่น น้ำตาล, เกลือ แต่ถือว่าเป็นการเอาเปรียบผู้บริโภค
- สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ที่เคยตรวจพบคือ บอแรกซ์และ โซเดียมเมตาฟอสเฟต

2.4.8 การทดสอบสารปลอมปน

บอแรกซ์

บอแรกซ์ เป็นผลึกค่อนข้างกลม สีขาวขุ่นคล้ายผงชูรสหัก บอแรกซ์มีพิษสะสมที่กรวยไตและเป็นอันตรายถึงตายถ้าบริโภคเกินกว่า 15 กรัมต่อครั้ง

1. วิธีตรวจสอบว่ามี Sodium Borate (Borax) เจือปนอยู่กับผงชูรสหรือไม่โดยนำผงชูรสละลายน้ำ ประมาณเม็ดถั่วเขียวละลายน้ำ 1 ช้อนกาแฟ แล้วนำกระดาษขมิ้นจุ่มลงไปในตัวอย่างทีละลายไว้ ถ้าเป็นผงชูรสบริสุทธิ์ กระดาษขมิ้นจะคงสีเหลืองอยู่ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ถ้าผงชูรมี Sodium Borate (Borax) เจือปนอยู่ กระดาษขมิ้นจะเปลี่ยนเป็นสีแดง สีม่วงเข้มและน้ำเงิน ตามปริมาณของ Sodium Borate (Borax) ที่เจือปนทันที (วิธีทำกระดาษขมิ้นใช้ผงขมิ้นประมาณ 1 ช้อนกาแฟ ผสมแอลกอฮอล์หรือสุราขาวประมาณ 10 ช้อนกาแฟ จะได้น้ำยาสีเหลือง นำกระดาษสีขาวจุ่มลงไป แล้วตากให้แห้งกระดาษจะมีสีเหลืองอ่อน)

2. วิธีตรวจโดยการเผาไหม้ นำผงชูรสประมาณครึ่งช้อนกาแฟใส่ลงในช้อนโลหะ เฝอบนเปลวไฟให้ไหม้ จะทราบผลดังนี้

2.1 ถ้าเป็นผงชูรสแท้ สารนั้นจะไหม้ไฟเป็นถ่านสีดำที่ช้อน

2.2 ถ้าเป็นผงชูรสผสมกับสารอื่น เช่น Sodium Borate หรือ Borax หรือ Sodium Metaphosphate จะปรากฏว่าส่วนหนึ่งจะเผาไหม้เป็นถ่านดำ และมีอีกส่วนหนึ่งเพียงแต่หลอมตัวเป็นสารสีขาวอยู่ด้วย

2.3 ถ้าเป็น Sodium Borate หรือ Borax หรือ Sodium Metaphosphate อย่างเดียวจะเพียงแต่หลอมตัวเป็นสารสีขาวอยู่บนช้อน

โซเดียมเมตาฟอสเฟต

โซเดียมเมตาฟอสเฟต เป็นผลึกแท่งเหลี่ยมยาวคล้ายผงชูรสมาก แต่มีลักษณะใสและเรียบกว่า ถ้าบริโภคเข้าไปแล้วจะเกิดอาการถ่ายท้องอย่างรุนแรง

การตรวจหาโซเดียมเมตาฟอสเฟตในผงชูรส ที่สงสัยประมาณ 1 ช้อนชา ละลายในน้ำสะอาดประมาณครึ่งแก้ว แล้วใส "น้ำปูนขาวผสมกรดน้ำส้ม" ลงไปประมาณ 1 ช้อนชา ถ้าเป็นผงชูรสแท้จะไม่มีตะกอนเกิดขึ้น แต่ถ้าเป็นผงชูรสที่มีโซเดียมเมตาฟอสเฟตผสมอยู่จะเกิดตะกอนขุ่นขาวทันที (วิธีทำน้ำปูนขาวผสมกรดน้ำส้ม ใช้ปูนขาวประมาณครึ่งช้อนชา ละลายในน้ำส้มสายชูประมาณ 7 ช้อนโต๊ะ คนให้ทั่วประมาณ 2 - 3 นาที แล้วทิ้งไว้ให้ตะกอนนอนก้นรินเอาน้ำยาใสข้างบนออกมาใช้น้ำยาใสนี้คือ "น้ำปูนขาวผสมกรดน้ำส้ม"

2.4.9 ข้อแนะนำในการเลือกซื้อและใช้ผงชูรส

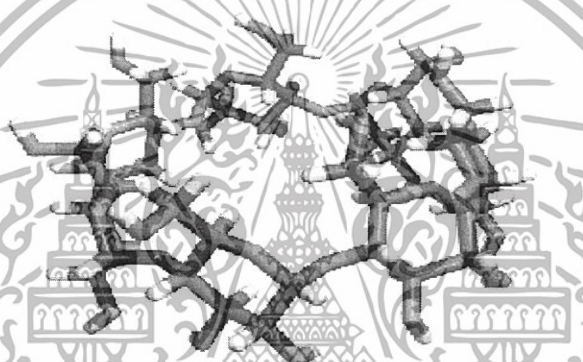
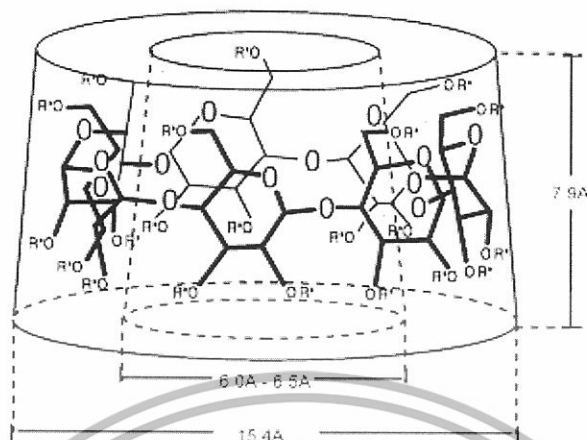
1. ผงชูรสแท้มี MSG ไม่น้อยกว่าร้อยละ 99 ของน้ำหนักก่อนซื้อ โปรดสังเกตภาชนะบรรจุ ต้องเรียบร้อยไม่มีรอยตำหนิฉลากตัวหนังสือพิมพ์ภาษาไทยชัดเจน และมีข้อความต่อไปนี้

- ก. ผงชูรสแท้ ชื่อ (ยี่ห้อ)
 - ข. เลขทะเบียนอาหาร
 - ค. ชื่อและที่ตั้งของผู้ผลิต
 - ง. น้ำหนักสุทธิ
 - จ. วันเดือนปีที่ผลิตหรือวันเดือนปีที่หมดอายุ
2. สังเกตลักษณะของเกล็ดผงชูรส
 3. ละลายน้ำได้ดี ชิมดูมีรสคล้ายน้ำตาลมึนเนื้อ

2.5 ไซโคลเดกซ์ทริน [26]



รูปที่ 2.7 แสดงโครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทริน



รูปที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน

ไซโคลเดกซ์ตรินเป็น ไซคลิกโอลิโกแซคคาไรด์ (cyclic oligosaccharide) รูปร่างเหมือนกรวยที่ถูกตัดยอดออก ซึ่งมีโพรงอยู่ตรงกลางเป็นส่วนใหญ่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ไซโคลเดกซ์ตรินประกอบด้วย D-glucose มากกว่า 6 ตัวและมีชื่อเรียกว่า แอลฟา-ไซโคลเดกซ์ตริน (กลูโคส 6 ตัว), เบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน (กลูโคส 7 ตัว) และ แกมมา-ไซโคลเดกซ์ตริน (กลูโคส 8 ตัว) มีหมู่ไฮดรอกซิลปฐมภูมิ (primary hydroxyl groups) อยู่บนขอบที่แคบกว่าของโพรงไซโคลเดกซ์ตริน ส่วนหมู่ไฮดรอกซิลทุติยภูมิ (secondary hydroxyl groups) อยู่บนขอบที่กว้างกว่าของโพรงไซโคลเดกซ์ตริน จำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลปฐมภูมิและทุติยภูมิเท่ากับ 1 และ 2 ตามลำดับ ต่อหน่วยกลูโคสเดียวในไซโคลเดกซ์ตริน เพราะว่ามีหมู่ไฮดรอกซิลที่ชอบน้ำ (hydrophilic) อยู่ที่ปลายทั้ง 2 ด้านของโพรงไซโคลเดกซ์ตริน จึงสามารถละลายในน้ำได้ ภายในของโพรงเป็นส่วนใหญ่ที่ไม่ชอบน้ำ อย่างไรก็ตามโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำสามารถอยู่อย่างเหนียวแน่นในโพรง เมื่อโมเลกุลมีขนาดมิติที่พอดีกับขนาดของโพรง

2.5.1 ประวัติของไซโคลเดกซ์ตริน [26]

ไซโคลเดกซ์ตรินที่รู้จักในทุกวันนี้ เมื่อปี ค.ศ. 1891 Villiers ได้บรรยายเป็นครั้งแรก โดยเรียกชื่อว่า cellulose หลังจากนั้น Schrödinger จำแนกไซโคลเดกซ์ตรินในธรรมชาติได้ 3 ชนิด คือ แอลฟา-, เบต้า- และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ตริน สารประกอบเหล่านี้อ้างอิงถึง “Schrödinger sugars” เป็นเวลา 25 ปี ระหว่างปี ค.ศ. 1911 และ 1935 Pringsheim ชาวเยอรมัน ทำการวิจัยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรระหว่างไซโคลเดกซ์ตรินกับสารเคมีอื่น ๆ โดยกลาง ค.ศ. 1970 มีการศึกษาโครงสร้าง คุณสมบัติทางเคมีและการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไซโคลเดกซ์ตริน แต่ละชนิด

2.5.2 การสังเคราะห์

การสังเคราะห์ไซโคลเดกซ์ตรินค่อนข้างง่ายและรวมถึงการเก็บรักษา โดยจัดเตรียมแป้งธรรมชาติกับเอนไซม์ที่เหมาะสม โดยทั่วไปใช้ cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) ร่วมกับ α -amylase เริ่มจากน้ำแป้งเหลวไปให้ความร้อนหรือใช้ α -amylase จากนั้นนำ CGTase เติม enzymatic conversion, CGTase สามารถสังเคราะห์รูปแบบทั้งหมดของไซโคลเดกซ์ตริน ด้วยเหตุนี้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากผลการเปลี่ยนแปลงในการผสมโมเลกุลไซคลิกที่สำคัญ 3 ชนิดในอัตราส่วนที่ถูกต้องขึ้นอยู่กับเอนไซม์ที่ใช้: CGTase แต่ละตัวมีลักษณะเฉพาะของตัวเอง การทำให้ไซโคลเดกซ์ตรินทั้ง 3 ชนิด บริสุทธิ์ อาศัยความแตกต่างของความสามารถในการละลาย โดยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตรินละลายน้ำได้น้อยที่สุด 18.5 g/l สามารถเอากลับคืนมาผ่านการตกผลึก ในขณะที่ α - และ γ -CDs สามารถละลายน้ำได้ดี 145 และ 232 g/l ตามลำดับ สามารถทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี สามารถเติม "complexing agent" ในระหว่างขั้นตอนเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ (agents มักจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น toluene, acetone หรือ ethanol) อยู่ในรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อนกับไซโคลเดกซ์ตรินที่ต้องการ ซึ่งในเวลาต่อมาทำการตกตะกอน ตะกอนไซโคลเดกซ์ตรินสามารถเอากลับคืนมาได้ง่ายโดยการหมุนเหวี่ยงให้ตกตะกอน และจากนั้นทำการแยกออกจาก complexing agent

2.5.3 พฤติกรรมของไซโคลเดกซ์ตริน

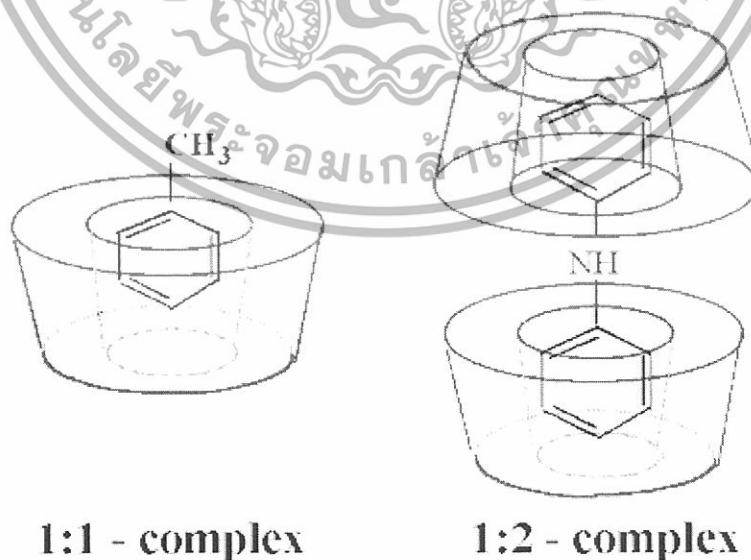
ในเฟสของแข็งและของเหลว โมเลกุลสารอินทรีย์และอนินทรีย์ขนาดที่เหมาะสมสามารถรวมเข้ากับโพรงไซโคลเดกซ์ตรินเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (Complexes) การรวมกันของสารประกอบและไซโคลเดกซ์ตรินจะเรียกว่า guests และ hosts ตามลำดับ บนส่วนที่ไม่ชอบน้ำ เกิดพันธะไฮโดรเจนและแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals and hydrogen bonding) ระหว่างผู้

อาศัยกับผู้ถูกอาศัยเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน แอลฟา-ไซโคลเดกซ์ทรินมีขนาดของโพรงที่เล็กที่สุด เหมาะที่สุดกับนิวเคลียสของเบนซีน ในขณะที่เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีขนาดของโพรงเหมาะสมที่สุดกับนิวเคลียสของเนฟทาลีน

ตามปกติแล้วโมเลกุลเดี่ยวผู้อาศัยอยู่ในโพรงของโมเลกุลเดี่ยวไซโคลเดกซ์ทริน รวมตัวกันในรูปแบบ 1:1 เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน อย่างไรก็ตามอาจมีโมเลกุลผู้อาศัยขนาดเล็ก 2 โมเลกุลรวมกับโพรงเดี่ยวไซโคลเดกซ์ทรินเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ในรูปแบบ 1:2 ในบางกรณีโมเลกุลของผู้อาศัยซึ่งค่อนข้างใหญ่และยาวจะอยู่ในแคปซูล โดยโมเลกุลไซโคลเดกซ์ทริน 2 โมเลกุล เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ในรูปแบบ 2:1 เพิ่มเติมการรวมกันเองของสารประกอบเชิงซ้อน (1:1) เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนในรูปแบบ 2:2 ยังมีการรวมกันของสารประกอบเชิงซ้อน (1:1) ที่แตกต่างกัน 2 ชนิด เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (2:1:1 host-guest 1 – guest 2 inclusion complex)



รูปที่ 2.9 แสดงการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน



1:1 - complex

1:2 - complex

รูปที่ 2.10 แสดงรูปแบบการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไซโคลเดกซ์ทริน

2.5.4 การนำไซโคลเดกซ์ทรินไปใช้ประโยชน์

ไซโคลเดกซ์ทรินถูกใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร ในทางเภสัชกรรม อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เป็นต้น เมื่อเติมไซโคลเดกซ์ทรินในยาที่ไม่ละลายในน้ำก็จะเปลี่ยนเป็น ละลายน้ำได้ดีขึ้น และ/หรือมีเสถียรภาพมากขึ้น เพราะว่ามีรูปแบบการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับยา การรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนจะอ่อนไหวมากกับขนาด รูปร่าง ตำแหน่งการแทนที่ และโมเลกุลของผู้อาศัยที่มาชอบน้ำ ในอนาคตไซโคลเดกซ์ทรินจะใช้ตรวจวัดสารจำเพาะ

2.5.5 คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมี

คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของ แอลฟา-, เบต้า- และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน แสดงใน ตาราง ตามปกติเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินจะสามารถละลายในน้ำได้น้อยที่สุดในบรรดาไซโคลเดกซ์ทรินทั้ง 3 ชนิด ซึ่งภายในโมเลกุลเหมาะสมในการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลทุติยภูมิ (secondary hydroxyl groups) ข้อมูลนี้มีผลโดยตรงในการจัดวางการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาที่พื้นผิวภายนอกกับโมเลกุลของน้ำ นำไปให้ความร้อนเพื่อให้สามารถรวมกับน้ำได้ จากนั้นเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินจะกลับมามีโครงสร้างที่แข็ง ซึ่งอธิบายถึงขอบเขตจำกัดในการละลายน้ำ อย่างไรก็ตาม การดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีโดยแทนที่หมู่ไฮดรอกซิลด้วยหมู่ฟังก์ชันเม-ธอกซี (methoxy) และเอธอกซี (ethoxy) จะสามารถแก้ปัญหานี้ได้

ตารางที่ 2.1 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของ แอลฟา-, เบต้า- และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน

คุณสมบัติ	α -CD	β -CD	γ -CD
Number of glucopyranose unit	6	7	8
Cavity diameter (Å^0)	5	6	8
Height of torus (Å^0)	7.9	7.9	7.9
Diameter of periphery (Å^0)	14.6	15.4	17.5
Molecular weight (g/mole)	972	1135	1297
Aqueous solubility ¹⁾	14.5	1.85	23.2
Melting point (C^0)	275	280	275
pKa ²⁾	12.3	12.2	12.1
Half-life of ring opening ³⁾ (hr)	6.2	5.4	3.0
Hydrolysis ⁴⁾	negligible	slow	rapid

- 1) in grams per 100 ml water at ambient temperature
- 2) pKa : by potentiometry at 25 C⁰
- 3) Half-life of ring opening in 1 N HCl at 60 C⁰
- 4) By *Aspergillus oryzae* alpha-amylase

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zhang, M., Mullens, C., Gorski, W. (2005) [15] พัฒนาเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดโมโนโซเดียมกลูตาเมต โดยการตกตะกอนสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์แอล-กลูตาเมต ออกซิเดส (GmOx) กับ ไคโตซาน (CHIT) บนพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าแพลทินัม detection limit 1.0×10^{-7} M (S/N=3, E = 0.400 V) linear range 2×10^{-4} M ($R^2 = 0.991$) sensitivity $85 \text{ mA M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ และ short response time ($t_{90\%} = 2\text{s}$)

Basu, A.K., Chattopadhyay, P., Roychudhuri, U. and Chakraborty, R. (2005) [20] ศึกษาการตรวจวัดโมโนโซเดียมกลูตาเมต (MSG) โดยการ co-immobilized เอนไซม์แอล-กลูตาเมต ออกซิเดส (L-GLOD) และแอล-กลูตาเมตดีไฮโดรจีเนส (L-GLDH) การมีแอมโมเนียมไอออนจะช่วยเพิ่มสัญญาณให้สูงขึ้น เช่นเซอร์มาตรฐานตรวจวัด MSG ได้ในช่วง 0.02 – 3.0 mg/L, linearity 0.02 – 1.2 mg/L ในการมีอยู่ของไอออนแอมโมเนียม (10 mM) และ NADPH (2 mM) แต่ถ้าไม่มีเอนไซม์ L-GLDH detection limit ของ MSG จะเหลือเพียง 0.1 mg/L K_m สำหรับ MSG กับปฏิกิริยาของเอนไซม์ ของ L-GLOD - L-GLDH เท่ากับ 0.4451 mM แต่เท่ากับ 1.9222 mM เมื่อมีเฉพาะเอนไซม์ L-GLOD เชื่อมโยงกับ glutaraldehyde ที่มี bovine serum albumin (BSA) ผสมอยู่ เช่นเซอร์ใช้เวลาวัด 2 นาที pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรวจวัดคือ 7 ± 2 และ 25 ± 2 °C ตามลำดับ

Lui, H., Li, H., Ying, T., Sun, K., Qin, Y. and Qi, D. (1997) [16] ได้ศึกษาการตรวจวัดกลูโคสและแลคโทส โดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GOD) β -galactosidase, mutarotase และ ferrocene ใน β -cyclodextrin polymer ferrocene รวมอยู่ในโพรงของ β -cyclodextrin polymer เกิดปฏิกิริยาเคมี host-guest ส่วนเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GOD) β -galactosidase และ mutarotase เกิดการเชื่อมโยง (cross-linked) กับ β -cyclodextrin polymer เทคนิค Cyclic voltammetry และ amperometric ใช้ครั้งแรกเพื่อแสดงประสิทธิภาพของการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนระหว่างเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสและขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน โดยมี ferrocene รวมอยู่ในโพรงของ β -cyclodextrin polymer สมรรถนะและเสถียรภาพเฉพาะ

ของไบโอเซนเซอร์ พิจารณาจากค่า response time, detection limit, selectivity และขึ้นอยู่กับ การให้ค่าศักย์ไฟฟ้า อุณหภูมิและค่า pH และการเก็บรักษา ความเสถียรของเอนไซม์เพิ่มขึ้นโดยการ เกิดการเชื่อมโยง (cross-linked) กับ β -cyclodextrin polymer เพราะว่าจะนำจะดูดซับ β -cyclodextrin polymer

Isa, I.M. and Ghani, A. (2006) [21] ศึกษาการเตรียมและการทดลองโดยใช้ heterogeneous chitosan membrane สำหรับวิเคราะห์กลูตามตไอออน linearity อยู่ในช่วง 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-1} M กับ detection limit 1.0×10^{-6} M, response time 5-35 วินาที สมรรถนะของขั้วไฟฟ้าพบในช่วง pH 4.0 - 8.0 ที่อุณหภูมิ 25 ± 3 °C และใช้ตรวจวัดได้มากกว่า 4 เดือน การปรับปรุงสมรรถนะของ membrane ไม่สำคัญมากไปกว่าการเติม plasticizers เช่น 2-NPOE, BEHA และ DOPP

Wollenberger, U., Scheller, F.W., Bohmer, A., Passarge, M. and Muller, H.G. (1989) [22] ศึกษา ไบโอเซนเซอร์ สำหรับตรวจวิเคราะห์ แอล - กลูตามต พัฒนาขึ้นโดยใช้ เอนไซม์แอล - กลูตามต ออกซิเดส ร่วมกับ hydrogen peroxide indicating electrode ผลตอบสนองของไบโอเซนเซอร์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของแอล - กลูตามต ระหว่าง 0.001 และ 1.0 mM ใช้เวลาวัด 2 นาที เซนเซอร์จะเสถียรอยู่ได้มากกว่า 10 วัน และสามารถใช้ทดสอบได้ 500 ครั้ง ต่อมาเซนเซอร์ได้ถูกนำมาปรับใช้กับการตรวจสอบ แอล - กลูตามต ในซอสปรุงรส นอกจากนี้ transaminase เป็นตัวกระตุ้นการผลิต แอล - กลูตามต จาก แอลฟา-คีโตกลูตาเรต และ แอล - อะลานีน หรือ แอล - แอสพาทต และพบว่าการรวมกันของกลูตามีนส เป็นขั้วไฟฟ้าสอง เอนไซม์ (bienzyme electrode) ที่อิงไว้คือ แอล - กลูตามีน

Villarta, R.L., Cunningham, D.D. and Guilbault, G.G. (1990) [17] ได้ทำการศึกษา ขั้วไฟฟ้าสำหรับแอมเพอร์โรเมตริกใช้ตรวจวัด แอล-กลูตามต เตรียมได้โดยการตรึง เอนไซม์ แอล- กลูตามต ออกซิเดส บนเยื่อหุ้มเซลล์ Immobilon-AV Affinity และยึดติดกับ ออกซิเจน/ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เซนเซอร์ ผลการวัดเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 5.0×10^{-8} - 5.0×10^{-4} M และขอบเขตจำกัดของการวัด 35 mM

Jeffries, C., Pasco, N., Baronian, K. and Gorton, L. (1996) [18] ศึกษาเกี่ยวกับ แอม-เพอร์โรเมตริก ตรวจวัด แอล-กลูตามต ซึ่งเตรียมได้โดยการตรึง เอนไซม์แอล-กลูตามตคิ ไฮโดรจีเนส โดยใช้ความร้อน ในขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนเพส กับ สารที่ใช้เป็นสื่อกลาง

polyethylenimine Toluidine Blue O redox polymer และระบบที่เสถียรภาพ lactitol/DEAE dextran การตอบสนองของเซนเซอร์ขึ้นอยู่กับทั้งค่า pH และอุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ค่า K_m^{app} (mM) จะลดลง และค่า V_{max} (μ A) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่า pH เพิ่มขึ้น จะทำให้พารามิเตอร์ ทั้ง K_m^{app} และ V_{max} เพิ่มขึ้น โดยการวัดอยู่บนพื้นฐานแอมเพอโรเมตริก ลักษณะเฉพาะของวิธีนี้ คือ simplicity และ reproducibility ถึงแม้ว่าอุณหภูมิจะสูงมากกว่า 333 K ระบบของคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของขั้วไฟฟ้าก็ยังคงมีเสถียรภาพอยู่

Church, W.H., Lee, C.S and Dranchak, K.M. (1997) [23] ศึกษาการเติมไซโคลเดกซ์-ตริน (CDs) ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์บัฟเฟอร์ใน Capillary zone electrophoresis (CZE) ทำการแยกอนุพันธ์กรดอะมิโนโดยพิจารณาในเทอมของการเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ resolution และ migration time effects การเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์สูงสุดเกิดจากการแยกบัฟเฟอร์ที่มี β - cyclodextrin 4 mM หรือ hydroxypropyl β - cyclodextrin 10 mM ค่า resolution ลดลง เมื่อความเข้มข้นของ CD เพิ่มขึ้น migration time ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ CD วิเคราะห์ตัวอย่าง 20 μ l โดย CZE ใช้ β - cyclodextrin 4 mM ในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ cyclodextrin สามารถเพิ่มสัญญาณฟลูออเรสเซนส์และลดค่า migration time ของ NDA-อนุพันธ์ของกรดอะมิโน

O'Neill, R.D., Chang, S.C, Lowry, J.P. and McNeil, C.J. (2003) [19] ศึกษา 4 ขั้วไฟฟ้า คือ Pt, Au, Pd และ glassy carbon (GC) ที่เหมาะสมในการพัฒนาไบโอเซนเซอร์ที่แตกต่างกัน 2 กลุ่มสำหรับตรวจวิเคราะห์กลูตาเมต โดยใช้เอนไซม์กลูตาเมตออกซิเดสเชื่อมโยง (cross-linked) กับ poly (*o*-phenylenediamine) เป็นไบโอเซนเซอร์กลุ่มที่ 1 (PPD/GluOx) ตรวจวัด H_2O_2 บนพื้นผิวขั้วไฟฟ้าโดยตรงโดยให้ศักย์ไฟฟ้าค่อนข้างสูง สำหรับไบโอเซนเซอร์กลุ่มที่ 2 GluOx and horseradish peroxidase/redox polymer modified electrode (Os^{2+} PVP/HRP/GluOX) อาศัยเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ตรวจวัด H_2O_2 ให้ศักย์ไฟฟ้าต่ำกว่า ความไวของไบโอเซนเซอร์กลุ่มที่ 1 ในการตรวจวิเคราะห์ H_2O_2 detection limit ต่ำ และ linearity ดี ที่ความเข้มข้นต่ำ : Pt>Au~Pd >>GC ส่วนไบโอเซนเซอร์กลุ่มที่ 2 ใช้ตรวจวิเคราะห์ได้เฉพาะขั้วไฟฟ้า Pt

Cooper, J.M., Foreman, P.L., Glidle, A., Ling, T.W. and Prithard, D.J. (2000) [28] เอนไซม์ติดกับเยื่อพอลิเมอร์ในเคมีไฟฟ้าเป็นวิธีที่ได้รับความสนใจสำหรับใช้ในการพัฒนาความเสถียรของเอนไซม์ไมโครเซนเซอร์กับเวลาตอบสนองสั้น ในบทความนี้เป็นการพัฒนา

ไบโอเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดกลูตามาตรวมทั้งการทำให้เอนไซม์กลูตามาตออกซิเดสติดกับพอลิเมอร์ที่แตกต่างกัน 2 ชนิด แล้วเปรียบเทียบการเคลื่อนไหวในเมทริกซ์ที่แตกต่างกัน และหน้าที่ของพอลิเมอร์ในการเตรียมเป็น permselective film สำหรับแยกสิ่งรบกวนออกไป

Hamdi, N., Wang, J., Walker, E., Maidment, N.T. and Monbouquette, H.G. (2006) [29] การออกแบบแอมเพอโรเมตริก แอล-กลูตามาตไบโอเซนเซอร์ อยู่บนพื้นฐานเคมีไฟฟ้าตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดจากเอนไซม์ ซิดจัมกัดการตรวจวัดเป็นไมโครโมลาร์และเวลาตอบสนองเท่ากับ 2 หรือน้อยกว่า กลูตามาตไบโอเซนเซอร์ประกอบด้วย Pt black (PtBlk) อยู่บนลวดแพลทินัมกับฟิล์มพอลิเมอร์ overoxidized polypyrrole (OPP) และชั้นบนเป็นเอนไซม์กลูตามาตออกซิเดสเชื่อมโยงกับกลูตาาราดิไฮด์ ฟิล์ม OPP ยอมให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ผ่านผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ในขณะที่ปฏิเสธสิ่งรบกวนจาก brain extracellular fluid แอสคอร์เบต และ โดพามีน ไมโคร-ไบโอเซนเซอร์นี้มีความไวสูง ($80 \pm 10 \text{ nA M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$) วัดแอล-กลูตามาตที่ 450 mV เปรียบเทียบกับ ซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ ที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำกว่าประมาณ 700 mV ให้เหมือนกับกับการตรวจวัด แอล-กลูตามาตมากที่สุดเตรียมบนขั้วไฟฟ้าแพลทินัม ไมโครไบโอเซนเซอร์ตอบสนองทั้ง AAU และ DA ไม่สามารถตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้น physiological extracellular แอล-กลูตามาตไบโอเซนเซอร์แสดงเวลาตอบสนองที่ดีเยี่ยม ประมาณ 1 - 2 วินาที และเวลาความเสถียร มีครึ่งชีวิตประมาณ 3 สัปดาห์ ไมโครไบโอเซนเซอร์มีความแข็งแรงพอที่จะใส่ไว้ในเนื้อเยื่อสมองที่มันตอบสนองแอล-กลูตามาตอย่างรวดเร็วแต่ไม่ไวต่อโดพามีน

Na Nakorn, P., Suphantharika, M., Udomsopagit, S. and Surareungchai, W. (2003) [30] ศึกษา แอมเพอโรเมตริก แอล-กลูตามาต ออกซิเดส (GLOD) อิเล็กโทรด อยู่บนพื้นฐานฟิล์มพอลิ-เมอร์หลายชั้นซึ่งพัฒนาสำหรับการตรวจวัดกลูตามาตดียิ่งขึ้น ฟิล์มหลายชั้นประกอบด้วย 3 ชั้น ชั้นในเป็นเยื่อพอลิเมอร์ 1,3-diaminobenzene ชั้นกลางเป็นเอนไซม์กลูตามาตออกซิเดสติดอยู่กับ poly(vinylferrocene)-poly(ethylene glycol) hydrogel polymer และชั้นนอกเป็นเมมเบรนแยกขนาดโมเลกุล ในวิธีนี้ เซนเซอร์สามารถกำจัดสิ่งรบกวนและสามารถทำงานได้ที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำที่ +0.085 V เทียบกับ Ag/AgCl เมื่อระบบ flow injection เซนเซอร์ต้องสนอง ต่อแอล-กลูตามาตในช่วง 0.5-8.0 mM sensitivity เท่ากับ 9.48 nA mM เซนเซอร์มีความเสถียร 5 วัน วิเคราะห์อย่างต่อเนื่อง 250 ครั้ง และ หลังจาก 16 วันประสิทธิภาพการทำงานจะเหลือ 60 % เมื่อใช้วิเคราะห์ แอล-กลูตามาตที่บรรจุในขอสปริงรส เซนเซอร์ให้ผลการวัดที่ดีสอดคล้องกับวิธีมาตรฐาน colorimetric

Huang, X.J., Im, H.S., Lee, D.H., Kim, H.S. and Choi, Y.K. (2006) [31] ได้ศึกษา การสร้างขั้วไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดกลูตาเมตโดยการตรึงเฟอร์โรซีนบนผิวหน้า single-wall carbon nanotube bundles (SWCNT) และเฟอร์โรซีน/SWCNT ไฮบริด มีความเสถียรสูงไม่ เฉพาะในน้ำเท่านั้นแต่ในตัวทำละลายอินทรีย์ด้วย เช่น เอทานอล และอะซิโตน (สังเกตไม่เห็น ตะกอนมากกว่า 3 เดือน) นาโนไฮบริดไม่สามารถกระจายได้ทั่วถึงในเอทานอลเท่านั้น แต่ยังเกาะติด แน่นบนชั้นแก้วเกิดเป็นฟิล์ม เนื่องจากคาร์บอน นาโนทิวบ์มีอยู่มาก สารตัวกลางมีความว่องไวมาก และโครงสร้างฟิล์มที่พิเศษ ขั้วไฟฟ้า เฟอร์โรซีน/SWCNT จึงมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นสูง ความว่องไวสูง และเวลาตอบสนองสั้นในระหว่างตรวจวัดแอล-กลูตาเมตความเข้มข้นต่ำ ($1 \mu\text{M}$) ช่วงความเป็นเส้นตรงดี ($1 - 7 \mu\text{M}$)

Harper, A.C. and Anderson, M.R. (2006) [32] ศึกษาเกี่ยวกับการตรวจวัดกลูตาเมต เติร์มโดยสลับชั้นเฟอร์โรซีน poly(allylamine) พอลิเมอร์ และเอนไซม์กลูตาเมตออกซิเดสบน ขั้วไฟฟ้าทอง การสะสมของพอลิเมอร์ยืนยันในการวัดแบบไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยมีผิวหน้าคลื่น เหมือนกับออกซิเดชันของหมู่เฟอร์โรซีน ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์มีกลูตาเมตกระแสเพิ่มขึ้น และเข้าสู่ pseudosteady state ซึ่งพ้องกับ redox catalysis การพัฒนาขั้วไฟฟ้าด้วยเอนไซม์กลู ตาเมตออกซิเดสมีช่วงความเป็นเส้นตรงถึง 0.0045 โมลาร์ กับความว่องไว $20 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ และ ซีดจำกัดความเข้มข้นการตรวจวัด $31.4 \mu\text{M}$

Zhang, M., Mullens, C. and Gorski, W. (2005) [33] ศึกษาเกี่ยวกับไบโอพอลิเมอร์ ไคโตซาน (CHIT) ปรับปรุงด้วยกลูตาริก ไดอิลดีไฮด์ (GDI) และใช้พันธะโควาเลนต์ตรึง เอนไซม์กลูตา- เมตออกซิเดส (GmOx) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณที่ใช้ การรักษาไว้ และ หน่วยที่ว่องไวของเอนไซม์กลูตาเมตออกซิเดสใน CHIT-GDI-GmOx gels ตรวจวัดโดยการ วิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า ภายหลังทราบว่ามีเอนไซม์เฉลี่ย 95 % ในสารละลาย CHIT- GDI เมื่อใส่ เอนไซม์ $0.10-3.0$ หน่วย การทำงานสูงสุดของเอนไซม์ที่ตรึงในเจลสอดคล้องกับ 5 % ของ เอนไซม์ที่สูญเสียไป ขั้วไฟฟ้าแพลทินัมเคลือบด้วย CHIT-GDI-GmOx gels (ฟิล์ม) ใช้ตรวจวัดก ลูตาเมต ไบโอเซนเซอร์ใช้ได้ดีและมีความเสถียรนาน (อย่างน้อย 11 ชั่วโมง และ 100 วัน ตามลำดับ) ซีดจำกัดการวิเคราะห์ต่ำ ($0.10 \mu\text{M}$) ช่วงความเป็นเส้นตรงถึง 0.5 mM ($R^2 = 0.991$) ความว่องไว $100 \text{ mA M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ และเวลาตอบสนองสั้น ($t_{90\%} = 2\text{s}$)

Amine, A. and Kauffmann, J.M. (2002) [34] ศึกษาวิธีการตรึงเอนไซม์กลูตาเมตดีไฮโดร-จีนเนสบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอน เพลส และกลาสคาร์บอน เพื่อใช้ตรวจวัดกลูตาเมตไบโอเซนเซอร์ใช้เฮกซะ-ไซยาโนเฟอร์เรต เป็นสารตัวกลางและฟีนาซีน เมโทซัลเฟต เป็นเอนไซม์เมดิเอเตอร์ เฮกซะไซยาโน-เฟอร์เรต เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ดีขึ้นโดยรวมตัวกับออกตะดีไซลามีนในเอนไซม์พัฒนาขั้วไฟฟ้าคาร์บอน-เพลส ความเสถียรมากขึ้นเช่นเดียวกับสัญญาณดีขึ้นและความเสถียรที่ได้รับเกิดมาจากเทคนิคการตรึงและใช้ 2 รีดอกซ์เมดิเอเตอร์ ตามลำดับ ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง $50 \mu\text{M}$ และ 1.3 mM ขั้วไฟฟ้ายังคงเสถียรประมาณ 11 วัน



บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัยทดลอง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง เพื่อพัฒนาขั้วไฟฟ้า (modify electrode) ซึ่ง มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

- 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี
- 3.2 การพัฒนาขั้วไฟฟ้า
- 3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น
- 3.4 วิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1. เครื่อง 663 VA Stand voltammetric analyzer (Metrohm, Herisau, Switzerland) ที่ประกอบด้วย potentiostat (Autolap PG STAT 20.2)
2. เครื่องไทเทรตรุ่น 716 DMS Titrino ที่ประกอบด้วยเครื่อง 728 Stirrer (Metrohm) พร้อมขั้วไฟฟ้า combination pH electrode (Switzerland)
3. เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน รุ่น Milli-Q (Milford, MA, USA)
4. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด (Denver instrument company)
5. อ่างอัลตราโซนิก (รุ่น Eltrosonic type 0.7 profi, USA)
6. ขั้วกลาสติคาร์บอน, เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0 ± 0.1 mm (Metrohm Switzerland)
7. ขั้วไฟฟ้าช่วยเป็นแท่งกลาสติคาร์บอน (Metrohm Switzerland)
8. ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงเป็นขั้วซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Metrohm Switzerland)
9. ผงซัค (BDH Laboratory)

3.1.2 สารเคมี

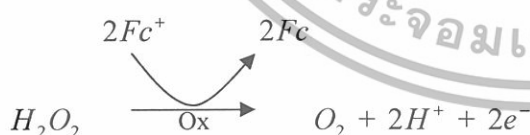
1. L-Glutamate Oxidase, from Streptomyces sp. (R&D, Sigma, USA)
2. beta-cyclodextrin ($\geq 99\%$, HPLC, Fluka, USA)
3. Glutaraldehyde (50%, Analytical grade, Merck)
4. Ferrocene (98 %, Analytical grade, Aldrich)

5. Disodium hydrogen phosphate (99 %, Analytical grade, Carlo Erba)
6. Nafion (~5%, R&D, Fluka, USA)
7. Ethyl alcohol (99.8 %, Analytical grade, Carlo Erba)
8. สารมาตรฐานกลูตามาต (98%, R&D, Aldrich, USA)
9. ตัวอย่างซอสปรุงรส (โชยุและแมกกี้)

3.2 วิธีการพัฒนาขั้วไฟฟ้า

ขจัดพื้นผิวขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน ด้วยผงขัด ผสม เบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน 0.7 g และ 8.5 % glutaraldehyde 10 ml ทั้งไว้ให้ผสมกัน 24 ชั่วโมง ซึ่ง beta-cyclodextrin จะเชื่อมโยง (crosslink) กับ glutaraldehyde ผลลัพธ์ที่ได้คือ beta-cyclodextrin polymer นำ ferrocene 10 mg ละลายในสารละลาย beta-cyclodextrin polymer 1 ml ในหลอดพลาสติกขนาด 2.5 ml เครื่องหมุนเหวี่ยง เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) เติมเอนไซม์กลูตามาตออกซีเดส 1 unit ทำการหมุนเหวี่ยง 15 นาที ปิเปตของผสม 3 μ l หยดลงบนพื้นผิวของขั้วไฟฟ้า glassy carbon ที่ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 10 ชั่วโมง นำ biosensor มาเคลือบด้วย Nafion เพื่อป้องกันสิ่งรบกวนในการวิเคราะห์สารตัวอย่าง [16]

โดยเกิดปฏิกิริยาดังต่อไปนี้ :



3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้า

1. ต่อขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นเข้ากับตำแหน่งขั้วไฟฟ้าของเครื่องตรวจวัดเพื่อทดสอบใช้ขั้วอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ และใช้ขั้วไฟฟ้าช่วยเป็นกลาสคาร์บอน
2. ปิเปตสารละลายกลูตามาตมาตรฐานตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี
3. ปิเปตสารละลายกลูตามาตมาตรฐานตรวจวัดด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรี

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การศึกษาเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดกลูตามेट ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

3.4.1.1 การศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ศึกษา pH ที่เหมาะสมในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 2.0 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 4.00 ถึง 9.00 ใช้อัตราการสแกน 50 mV/s

การศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะพิจารณากระแสที่ pH ต่างๆ ว่าที่ pH ใดมีปริมาณกระแสสูงสุดและนำค่า pH นั้น เป็นค่าของ pH สำหรับการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณกลูตามेटต่อไป (วิธีการเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH ต่างๆ ทำได้โดยการ หยดสารละลาย 1.0 M NaH_2PO_4 ลงในสารละลาย 0.1 M Na_2HPO_4 จนมีค่า pH ที่ต้องการ โดยใช้เครื่องไทเทรตวัดค่า pH และเตรียมในบีกเกอร์ซึ่งมีการปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็ก)

3.4.1.2 การศึกษาอัตราการสแกนศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดกลูตามेट

ศึกษาอัตราการสแกนศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมโดยใช้ pH และความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมซึ่งทราบได้จากการทดลองในข้อ 3.4.1.1 และ 3.4.1.2 ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นของกลูตามेटเท่ากับ 2.0 mM ใช้อัตราการสแกนศักย์ไฟฟ้า 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 mV/s

3.4.1.3 การศึกษาจำนวนรอบการสแกน (scan number)

ศึกษาจำนวนรอบการสแกน ในการตรวจวัด 2.0 mM กลูตามेट ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (ใช้ขั้วเดิม ตลอดการทดลอง) ตั้งจำนวนรอบการสแกนไว้ที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 รอบตามลำดับ

3.4.1.4 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการวิเคราะห์

ใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (ใช้ขั้วเดิม) ในสภาวะที่เหมาะสม ตรวจวัดปริมาณกลูตามेट ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.4 – 2.4 mM) แล้วสร้างกราฟ

ระหว่างค่าปริมาณกระแสกับค่าความเข้มข้นของปริมาณกลูตามิต ช่วงที่กราฟเป็นเส้นตรงจะเป็นค่าตอบสนองเชิงเส้น (linear range)

3.4.1.5 การศึกษากระแสพื้น

การทดลองศึกษากระแสพื้นของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (blank) เข้มข้น 0.1 M pH 8

3.4.2 การศึกษาสมบัติของขั้ว

3.4.2.1 สภาพไวของขั้ว (Sensitivity)

หาความชันของกราฟการตอบสนองเชิงเส้นที่ได้จากการตรวจวัดในข้อ 3.4.1.4 ความชันที่ได้จากการตอบสนองเชิงเส้น โดยใช้ขั้วทำงานแต่ละชนิดจะมีสภาพไวของขั้วไฟฟ้าชนิดนั้นๆ ความชันได้จากสัมประสิทธิ์นำหน้าค่าความเข้มข้น ในสมการที่ได้จากการพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นกับกระแสที่จากโปรแกรม Microsoft Excel

3.4.2.2 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์ (Detection limit)

หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในสารละลายเบสไลน์ (base line) ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH และความเข้มข้นที่เหมาะสม) แล้วนำค่าดังกล่าวไปคำนวณหาขีดจำกัดในการวิเคราะห์ โดยนำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายเบสไลน์ ที่ได้ไปคูณด้วย 3 (ความเชื่อมั่นที่ 95%) นำค่าที่ได้ไปหารด้วยค่าของความชันของสมการเส้นตรงของกราฟที่ได้จากการทดลอง 3.4.1.4 จะได้ค่าขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์

$$\text{Detection limit } (\mu\text{M}) = 3(\text{S.D.}) / \text{sensitivity}$$

3.4.2.3 การศึกษาความเที่ยง (Precision)

การศึกษาค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์สามารถทำได้จากการตรวจวัดกลูตามิตที่มีความเข้มข้น 2.0 mM วัดซ้ำ 30 ครั้ง (แต่ละครั้งใช้ขั้วใหม่เสมอ และวัดด้วยวิธีเดียวกัน) แล้วคำนวณหา % RSD

$$\% \text{ RSD} = \frac{S.D}{X} \times 100$$

3.4.2.4 การศึกษาปริมาณกลูตามิตในตัวอย่างด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี

ศึกษาการตรวจวัดปริมาณกลูตามิต สามารถทำได้โดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมทรี ตรวจวัดในสภาวะที่เหมาะสม โดยวัดสารละลายตัวอย่างกลูตามิตปริมาตรที่แน่นอน 10 ml ปรับ

ปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็น 25 ml ตรวจวัดจนสัญญาณที่ได้เป็นเส้นตรง เติมสารละลายมาตรฐานกลูตามेट ความเข้มข้น 1.0 M ปริมาตร 10 μ l ในเวลา (100 วินาที) ที่เท่ากันตลอดการทดลอง

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของกลูตามेट และ กระแสที่ตรวจวัดได้ (ค่ากระแสวัดที่ตำแหน่งจุดกึ่งกลางของชั้นบันได) จะทราบปริมาณสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน



บทที่ 4

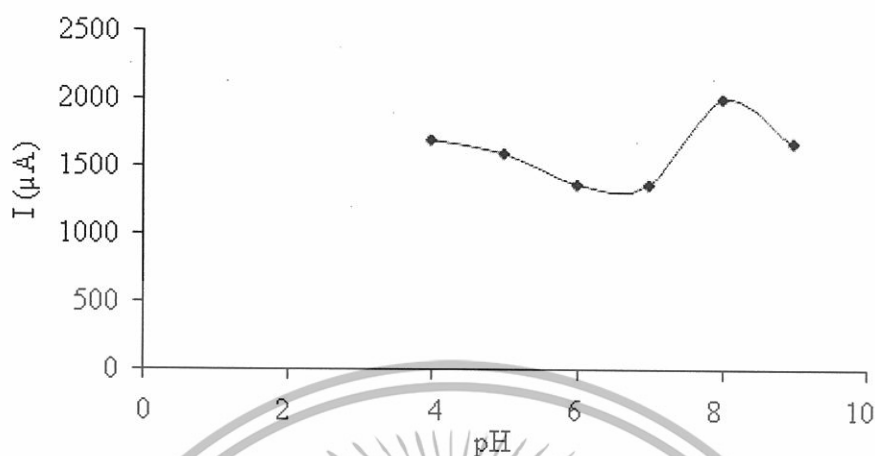
ผลการทดลอง และอภิปรายผล

4.1 ค่า พี-เอช ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

จากการตรวจวัดสารละลาย 2.0 mM ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ที่ pH 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี (โดยใช้ขั้วใหม่ทุกครั้ง) ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ ดังรูปที่ 4.1

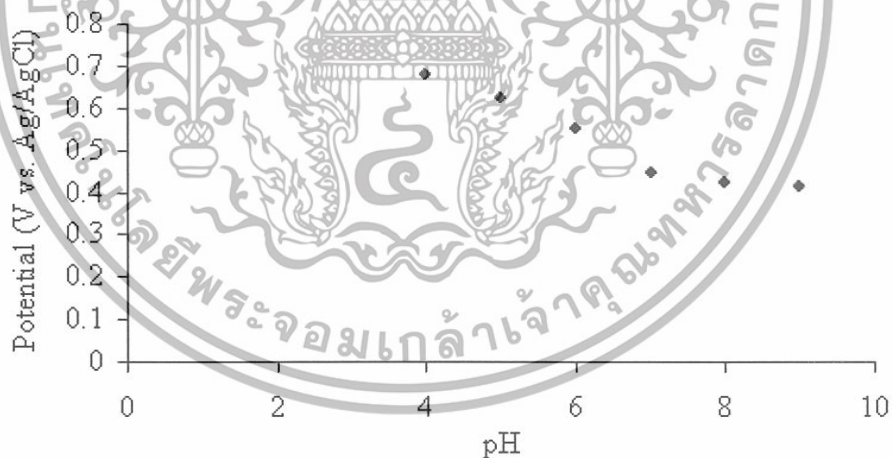


รูปที่ 4.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 2.0 mM ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ที่ pH ต่างๆ อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เมื่อ (a) pH 4, (b) pH 5, (c) pH 6, (d) pH 7, (e) pH 8 และ (f) pH 9



รูปที่ 4.2

ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ต่างๆของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์กับกระแสที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 2.0 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติ-คาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน



รูปที่ 4.3

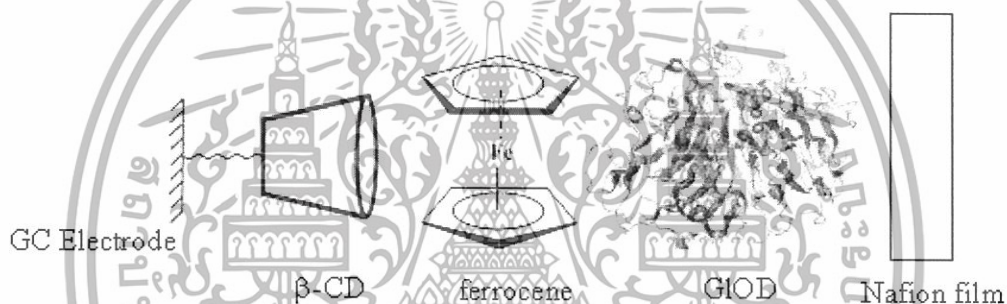
ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ต่างๆของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์กับศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 2.0 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติ-คาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

จากรูปที่ 4.2 พบว่าค่า pH 8 ของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ กระแสที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีค่าสูงสุด และที่ pH มากหรือน้อยกว่า 8 เอนไซม์จะมีแอกติ

วิต์ลดลง (Qun, 1999) ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH 8 ในการตรวจวัดสารละลายกลูตามาตต่อไป

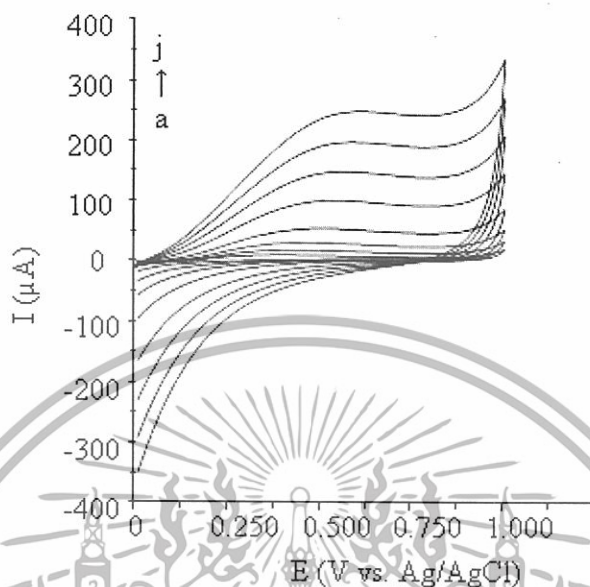
จากรูป 4.3 ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 2.0 mM ที่ pH ช่วง 4-9 ลดลงเป็นเส้นตรงเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้น มีความชันประมาณ -30 mV/pH ซึ่งกระบวนการออกซิเดชันทั้งหมดมีจำนวน โปรตอนและอิเล็กตรอนเท่ากัน ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูตามาตได้ 2 อิเล็กตรอน, 2 โปรตอน และก๊าซออกซิเจน

4.2 การสร้างขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน



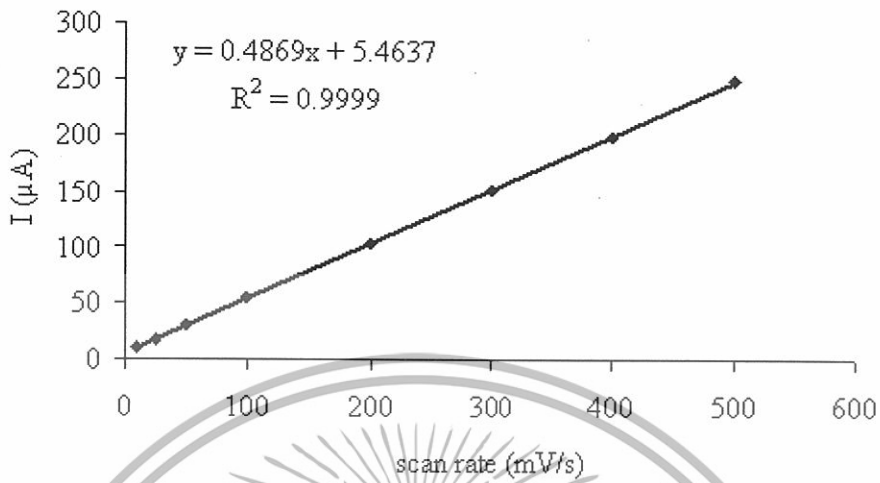
รูปที่ 4.4 แสดงชั้นของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน

ในการสร้างขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน ส่วนประกอบที่ใช้มีทั้งหมด 2 ชั้น คือ ชั้นแรกประกอบด้วย เบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน เฟอร์โรซีนและเอนไซม์ แอล-กลูตามาต ออกซิเดส โดยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน ทำหน้าที่ เป็นที่อยู่ของเฟอร์โรซีนและเอนไซม์ แอล-กลูตามาต ออกซิเดสและเฟอร์โรซีน ทำหน้าที่ เป็นสารตัวกลางในการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน ชั้นที่สองเป็น ฟิล์ม Nafion ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่มีความไวทางไฟฟ้า แต่มีคุณสมบัติในการคัดเลือกลงต่อไอออนบวกที่ไม่ชอบน้ำออกไป โดยอาศัยคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนไอออนของหมู่ไอออนที่ผิวของพอลิเมอร์ [37]

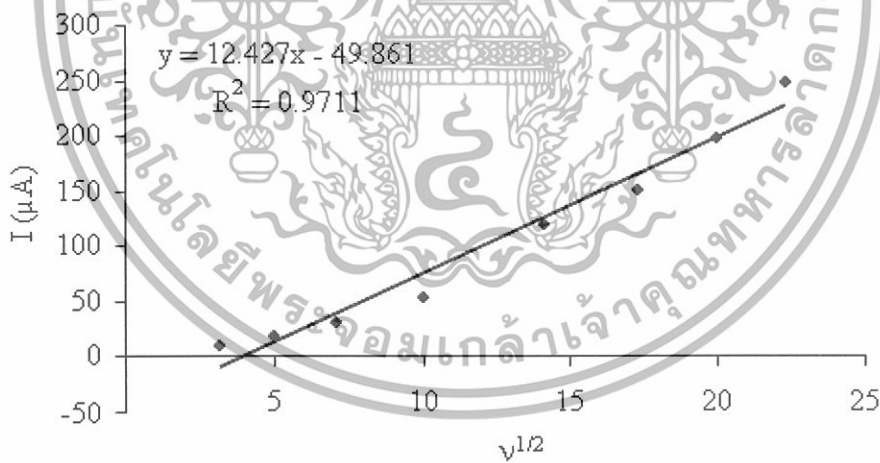


รูปที่ 4.6 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ 2.0 mM กลูตาเมต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 ที่อัตราการสแกนต่างๆ สแกนในช่วง 0 ถึง +1 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เมื่อ (a) 1 mV/s, (b) 5 mV/s, (c) 10 mV/s, (d) 25 mV/s, (e) 50 mV/s, (f) 100 mV/s, (g) 200 mV/s, (h) 300 mV/s, (i) 400 mV/s และ (j) 500 mV/s

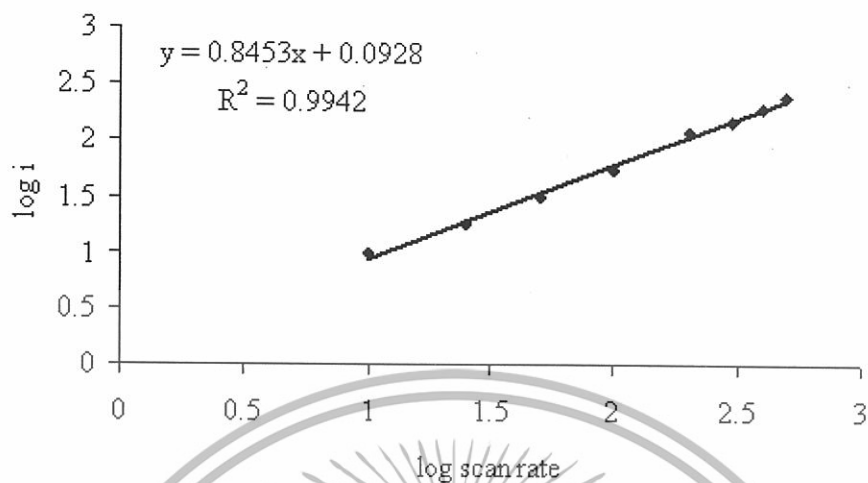
อัตราการสแกนมีผลต่อไชคลิกโวลแทมโมแกรม เมื่อเพิ่มอัตราการสแกนทำให้ศักย์ไฟฟ้าในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น ค่าของกระแสและตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าปฏิกิริยาออกซิเดชันแสดงในภาคผนวก ก.2 เมื่อนำค่าที่ได้มาพลอตกราฟได้ดังรูปที่ 4.6 พบว่าอัตราการสแกนที่ 500 mV/s ให้กระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ชัดเจนที่สุด เนื่องจากขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนอาจมีหมู่ฟังก์ชันอื่นๆ นอกเหนือไปจากไฮโดรเจน ซึ่งสามารถทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างกลูตาเมตและผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ที่เรียกว่า absorption control ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน [38] เมื่ออัตราการสแกนเพิ่มขึ้นในช่วง 1–500 mV/s ทำให้ได้กระแสเพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรง [40] ซึ่งชี้ให้เห็นว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูตาเมตถูกจำกัดโดย absorption control



รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับกระแสปฏิริยาออกซิเดชันของ 2.0 mM กลูตาเมต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน



รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับกระแสปฏิริยาออกซิเดชันของ 2.0 mM กลูตาเมต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน



รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง \log ของอัตราการสแกนกับ \log กระแสปฏิริยาออกซิเดชันของ 2.0 mM กลูตาเมต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน

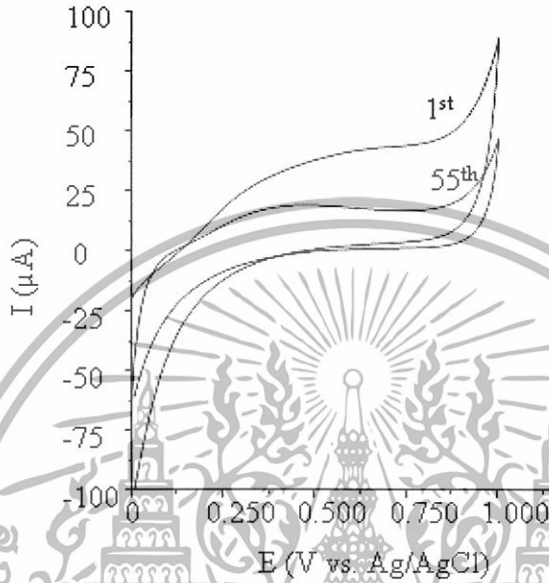
จากรูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับกระแสจากปฏิริยาออกซิเดชันของกลูตาเมต จะมีลักษณะเป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9954$) จากสมการ 2.5 ถ้านำค่า i_p มาพลอตกับค่า v จะได้กราฟที่เป็นเส้นตรง นั่นแสดงว่ากระบวนการนี้เกิดมีสารติดที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า และถ้าให้ n , F , C_{ads} , R และ T คงที่ เมื่อใส่ \log ลงในสมการ 2.5 จะได้

$$\log i_p = \log (n^2 F^2 C_{ads} v / 4RT) + \log v$$

$$\log i_p = \log v$$

จากกราฟรูปที่ 4.9 จากความสัมพันธ์ \log ของอัตราการสแกนเทียบกับ \log กระแสปฏิริยาออกซิเดชันของกลูตาเมต จะได้เป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9942$) และมีความชันประมาณ 0.85 ซึ่งใกล้เคียงกับสมการข้างต้น จากผลการทดลองสรุปได้ว่ากระบวนการนี้มีกลูตาเมตติดที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า แล้วจึงเกิดปฏิริยาออกซิเดชันที่ขั้วไฟฟ้าในลำดับต่อไป (adsorption control) [27]

4.3.2 จำนวนรอบการสแกน



รูปที่ 4.10 โวลทแกรมโวลแทมโมแกรมแสดงจำนวนรอบการสแกนจากการตรวจวัด 2.0 mM กลูตาเมต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสซี-คาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

เมื่อเปรียบเทียบการสแกนในรอบที่ 1 จนถึงรอบที่ 55 พบว่า กระแสไฟฟ้าจะลดลง และตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชันมีแนวโน้มเลื่อนไปทางซ้ายมือ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากหลังเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วเกิดการยึดเกาะแน่นของผลิตภัณฑ์เป็นฟิล์มบางบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ทำให้การเกิดปฏิกิริยารั้งต่อไปของกลูตาเมตมีพื้นที่สัมผัสขั้วไฟฟ้าลดลง แสดงว่าที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ามีสิ่งสกปรกตกติดอยู่ [39]

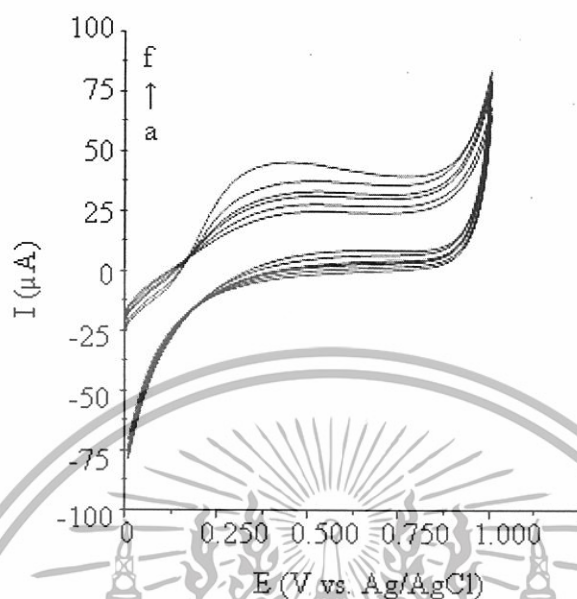
ตารางที่ 4.1 กระแสไฟฟ้า และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 2.0 mM กลูตามัด ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s ตรวจวัดด้วยเทคนิค ไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

จำนวนครั้ง	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
1	0.483	12.3467
3	0.483	4.9467
6	0.473	4.1467
21	0.473	2.9467
55	0.483	2.5467

4.4 สมบัติของขั้วไฟฟ้า

4.4.1 การศึกษาสมบัติช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นกับกระแสในการวิเคราะห์

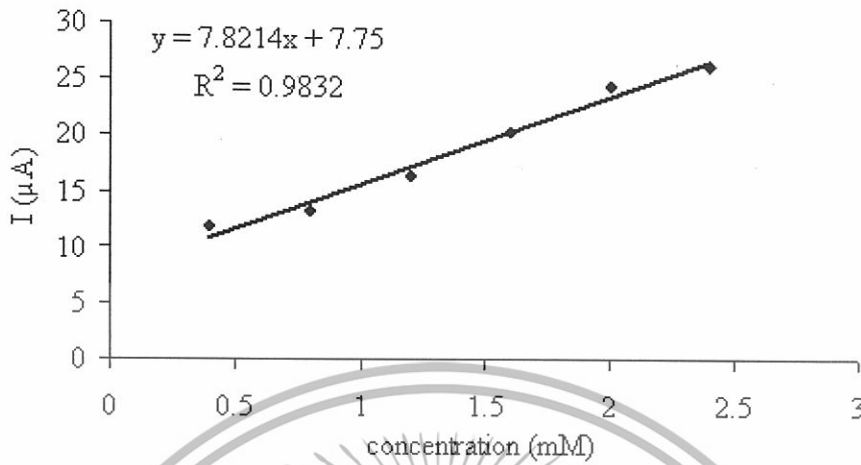
จากการใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (ใช้ขั้วเดิม) ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกลูตามัดเข้มข้นตั้งแต่ 0.4 ถึง 2.4 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 8 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยเริ่มสแกนตั้งแต่ศักย์ไฟฟ้า 0 ถึง +1 V อัตราการสแกน 50 mV/s โวลแทมโมแกรมที่ได้แสดงดังรูป 4.9



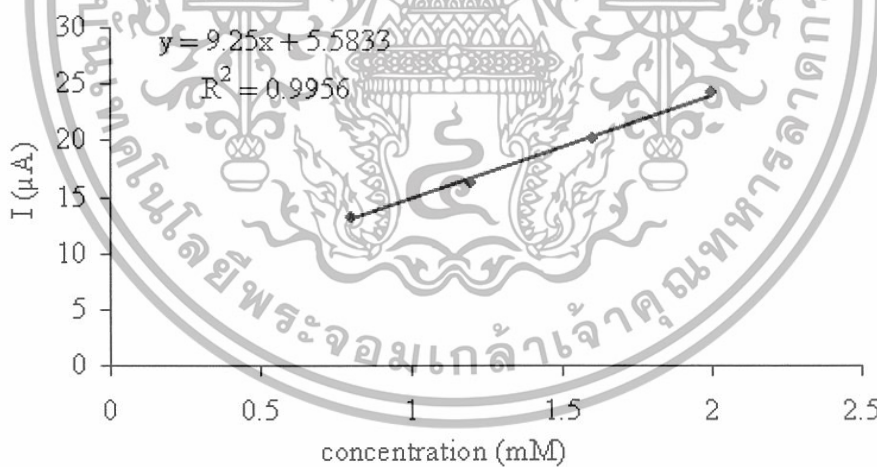
รูปที่ 4.11 โวลแทมโมแกรมของกลูตาเมตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้น ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี เมื่อ (a) 0.4 mM, (b) 0.8 mM, (c) 1.2 mM, (d) 1.6 mM, (e) 2.0 mM และ (f) 2.4 mM

1. ช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจสอบวัดกลูตาเมตความเข้มข้น 0.4 ถึง 2.4 mM มีช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.8 ถึง 2.0 mM โดยมีสมการความสัมพันธ์คือ $y = 9.25x + 5.5833$ ซึ่งมีค่าความชันเท่ากับ $9.25 \mu\text{A}/\text{mM}$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9956 (ดูรูป 4.13 ประกอบ)



รูปที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูตาเมตกับ กระแส ปฏิกริยาออกซิเดชัน อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี



รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูตาเมต กับ กระแสปฏิกริยาออกซิเดชัน อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

2. กระแสพื้นของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน

การศึกษากระแสพื้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.1 M pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน ตรวจวัด ทั้งหมด 30 จุด แสดงดังตารางที่ ง. 2 (ภาคผนวก ง.)

4.4.2 ขีดจำกัดความเข้มข้นในการตรวจวัดกลูตามेट

$$\text{Detection limit} = (3 \times \text{SD.}) / \text{Slope}$$

และ
$$\text{Quantification limit} = (10 \times \text{SD.}) / \text{Slope}$$

โดย SD. = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจาก Background (วัด 30 ครั้ง)

และ Slope = ความชันของกราฟแสดงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง การคำนวณแสดงในภาคผนวก ง. ได้ผลดังตารางที่ ง.1

ตารางที่ 4.2 Detection limit และ Quantification limit ของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน สำหรับตรวจวัดกลูตามेट

พารามิเตอร์	ความเข้มข้น (mM)
ค่า LOD	0.0698
ค่า LOQ	0.2325

4.4.3 การศึกษาความเที่ยงของขั้วไฟฟ้า

จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกลูตามेटเข้มข้น 2.0 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.1 M pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการสแกน 50 mV/s ทั้งหมด 30 ครั้ง สามารถคำนวณค่า % RSD ของขั้วไฟฟ้าได้ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่ากระแสฟลักเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ % RSD ของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน จากการตรวจวัด 2.0 mM กลูตามेट ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

ค่าที่ได้จากการทดลอง	ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้น
กระแสฟลักเฉลี่ย (μA)	29.08
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.5391
% RSD	1.8538

4.4.4 การศึกษาอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า

จากการตรวจวัดสารละลายกลูตามेटเข้มข้น 2.0 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี อัตราการสแกน 50 mV/s พบว่า อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เท่ากับ 55 ครั้ง สาเหตุที่มีอายุการใช้งานสั้นนั้นอาจเนื่องมาจากหลังเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้ว เกิดการยึดเกาะแน่นของผลิตภัณฑ์ที่ได้บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ทำให้ในการเกิดปฏิกิริยาล้างต่อไปกลูตามेटมีพื้นที่สัมผัสขั้วไฟฟ้าลดลง การเกิดปฏิกิริยาและกระแสจึงลดลง

ตารางที่ 4.4 สมบัติของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน จากการตรวจวัดสารละลาย มาตรฐานกลูตามेट ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s

ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (mM)	ความเที่ยง %RSD	LOD (mM)	LOQ (mM)	S/N *
0.8 – 2.0	1.8538	0.0698	0.2325	2.2868

หมายเหตุ: * คือการตรวจวัดสารละลายกลูตามेटความเข้มข้น 2.0 mM ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการตรวจวัดกลูตามัด detection limit, Linear range และ % RSD จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Name	Quantity of enzyme (U/mg)	Detection limit (mM)	Linear range (mM)	% RSD
Zhang, M.	10.8	0.0001	0.0001-0.2	below 7
Basu, A.K.	63	0.02 ppm	0.02-1.2 ppm	within 4
Cooper, J.M.	16	0.1	0.1-15	a
Na Nakorn,P.	6.1	0.5	0.5-8.0	within 6
Huang, X.J.	non	0.001	0.001-0.007	a
Harper, A.C.	a	0.0314	0.0314-4.5	a
Amine, A.	a	0.050	0.050-1.3	a
This work	9.7	0.0698	0.8-2.0	1.8538

a = not known quantity

จากการค้นคว้างานวิจัยที่ทำก่อนหน้านี้นี้ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอนไซม์ที่ใช้กับค่า detection limit และ linear range แล้ว พบว่าในงานวิจัยที่น่าเสนอนี้จะให้ค่าที่ดีกว่า

4.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณกลูตามัดในตัวอย่างด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี

จากการตรวจวัดกลูตามัดในซอสปรุงรสตัวอย่างด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี ศักย์ไฟฟ้า +0.4 V ใน 0.1 M สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า % Recovery (การคำนวณแสดงในภาคผนวก จ.) ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 Percent Recovery ที่ได้จากการตรวจวัดขอสปริงรสตัวอย่างด้วยวิธีการเดิม สารมาตรฐาน จากเทคนิคแอมเพอโรเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน

ตัวอย่าง	Percent Recovery
โซยุ	98.7550
แมกกี	98.4740

ช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมในตัวอย่าง 0.8-7.2 mM ค่า % Recovery ที่ยอมรับอยู่ในช่วง 95-105 % [41] จากการทดลองได้ค่า % Recovery จากการตรวจวัดขอสปริงรส ตัวอย่างโซยุและแมกกี เท่ากับ 98.7550 และ 98.4740 ตามลำดับ ดังนั้นสรุปได้ว่า % Recovery จากการทดลองอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้



บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์กลูตามेट พร้อมทั้งศึกษาถึงสถานะในการทดสอบ และสมบัติขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้น พบว่า

- 5.1.1 สถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ คือ ตรวจวัดสารละลายกลูตามेटใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 ใช้อัตราการสแกน 50 mV/s สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 ถึง +1V
- 5.1.2 จากการทดลองใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับกระแสจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูตามेट จะมีลักษณะเป็นเส้นตรง แสดงว่ากระบวนการนี้เกิดมีสารติดที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า
- 5.1.3 ผลการทดสอบสมบัติขั้วไฟฟ้า โดยการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ ความเที่ยงและอายุการใช้งาน จากการทดลองพบว่า ขั้วไฟฟ้ากลาสีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นขั้วไฟฟ้าที่มีความเหมาะสมในการตรวจวัดกลูตามेट แสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 สมบัติของขั้วไฟฟ้ากลาสีคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

Detection Limit	ความเที่ยงที่ตรวจวัดได้	อายุการใช้งาน
0.0698 mM	%RSD = 1.8538	55 ครั้ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 5.2.1 ควรศึกษาการปรับปรุงขั้วไฟฟ้า เพื่อเพิ่มสมบัติขั้วในการตรวจวิเคราะห์
- 5.2.2 ในการเตรียมขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน การทำให้ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าแห้งอาจใช้วิธีการพ่นก๊าซไนโตรเจนก็ได้
- 5.2.3 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องอายุการเก็บรักษาขั้วไฟฟ้า (storage time)



เอกสารอ้างอิง

- [1] Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. and Moore, P.K., **Pharmacology**, 5th ed th., Churchill Livingstone, Scotland, 2003, p. 491.
- [2] Delauney, S., Gourden, P., Lapujade, P., Maily, E., Oriol, E., Engasser, J.M., Lindley, N. and Goergen, J.L., An improved temperature-triggered process for glutamate production with *Corynebacterium glutamicum*, **Enzyme Microb. Tech.** 25 (1999) 762-768.
- [3] Lu, M.J., Chiu, T.C., Chang, P.L., Ho, H.T. and Chang, H.T., Determination of glycine, glutamine, glutamate, and γ -aminobutyric acid in cerebrospinal fluids by capillary electrophoresis with light-emitting diode-induced fluorescence detection, **Anal. Chim. Acta** 538 (2005) 143-150.
- [4] Qu, J., Chen, W., Luo, G., Wang, Y., Xiao, S., Ling, Z. and Chen, G., Rapid determination of underivatized pyroglutamic acid, glutamic acid, glutamine and other relevant amino acids in fermentation media by LC-MS-MS, **Analyst** 127 (2002) 66-69.
- [5] Hanko, V.P and Rohrer, J.S., Determination of amino acids in cell culture and fermentation broth media using anion-exchange chromatography with integrated pulsed amperometric detection, **Anal. Biochem.** 324 (2004) 29-38.
- [6] Halmos, G., Lendvai, B., Gaborjan, A., Baranyi, M., Szabo, L.Z. and Vitez, C., Simultaneous measurement of glutamate and dopamine release from isolated guinea pig cochlea, **Neurochem. Int.** 40 (2002) 243-248.
- [7] Tcherkas, Y.V. and Denisenko, A.D., Simultaneous determination of several amino acids, including homocysteine, cysteine and glutamic acid, in human plasma by isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection, **J. Chromatogr. A** 913 (2001) 309-313.
- [8] Ling, D., Wu, G., Wang, C., Wang, F. and Song, G., The preparation and characterization of an immobilized L-glutamic decarboxylase and its application for determination of L-glutamic acid, **Enzyme. Microb. Tech.** 27 (2000) 516-521.
- [9] Xin, W.K. and Gao, X.X., Study of the effect of lanthanide ions on the kinetics of glutamate dehydrogenase by a chronoamperometric method, **Analyst** 121 (1996) 687-690.
- [10] Stalikas, C.D., Karayannis, M.I. and Karayanni, S.M.T., Immobilization of glutamate oxidase on non-porous glass beads. Automated flow injection system for the assay of glutamic acid in food samples and pharmaceuticals, **Analyst** 118 (1993) 723-726.
- [11] Ryan, M.R., Lowry, J.P. and O'Neill, R.D., Biosensor for neurotransmitter L-glutamic acid designed for efficient use of L-glutamate oxidase and effective rejection of interference, **Analyst** 122 (1997) 1419-1424.
- [12] Shi, R. and Stein, K., Flow injection methods for determination of L-glutamate using glutamate decarboxylase and glutamate dehydrogenase reactors with spectrophotometric detection, **Analyst** 121 (1996) 1305-1309.
- [13] Montagne, M., Durliat, H. and Comtat, M., Simultaneous use of dehydrogenases and hexacyanoferrate (III) ion in electrochemical biosensors for

- L-lactate, D-lactate and L-glutamate ions, **Anal. Chim. Acta** 278 (1993) 25-33.
- [14] Niwa, O., Horiuchi, T., Kurita, R., Tabei, H. and Torimitsu, K., Microfabricated on-line sensor for continuous monitoring of L-glutamate, **Anal. Sci.** 14 (1998) 947-953.
- [15] Zhang, M., Mullens, C. and Gorski, W., Amperometric glutamate biosensor based on chitosan enzyme film, **Electrochim. Acta.** 51 (2006) 4528-4532.
- [16] Lui, H., Li, H., Ying, T., Sun, K., Qin, Y. and Qi, D., Amperometric biosensor sensitive to glucose and lactose based on co-immobilization of ferrocene, glucose oxidase, β -galactosidase and mutarotase in β -cyclodextrin polymer, **Anal. Chim. Acta** 358 (1998) 137-144.
- [17] Villarta, R.L., Cunningham, D.D. and Guilbault, G.G., Amperometric enzyme electrodes for the determination of L-glutamate, **Talanta** 38 (1991) 49-55.
- [18] Jeffries, C., Pasco, N., Baronian, K. and Gorton, L., Evaluation of a thermophilic enzyme for a carbon paste amperometric biosensor: l-glutamate dehydrogenase, **Biosens and Bioelectron** 12 (1997) 225-232.
- [19] O'Neill, R.D., Chang, S.C., Lowry, J.P. and McNeil, C.J., Comparisons of platinum, gold, palladium and glassy carbon as electrode materials in the design of biosensors for glutamate, **Biosens. and Bioelectron** 19 (2004) 1521-1528.
- [20] Basu, A.K., Chattopadhyay, P., Roychudhuri, U. and Chakraborty, R., A biosensor based on co-immobilized L-glutamate oxidase and L-glutamate dehydrogenase for analysis of monosodium glutamate in food, **Biosens. and Bioelectron** 21 (2006) 1968-1972.
- [21] Isa, I.M. and Ghani, A., Development of prototype heterogeneous chitosan membrane using different plasticiser for glutamate sensing, **Talanta** 71 (2007) 452-455.
- [22] Wollenberger, U., Scheller, F.W., Bohmer, A., Passarge, M. and Muller, H.G., A specific enzyme electrode for L-glutamate development and application, **Biosens** 4 (1989) 381-391.
- [23] Church, W.H., Lee, C.S and Dranchak, K.M., **J. Chromatogr B.**700 (1997) 67-75.
- [24] http://en.wikipedia.org/wiki/Cyclic_voltammetry
- [25] http://www.bangkokhealth.com/consult_htdoc/Question.asp?GID=1954
- [26] <http://en.wikipedia.org/wiki/Cyclodextrin>
- [27] Wang, J., **Anal. Electrochemistry**, 2nd ed th., Wiley-VCH, New Mexico, 2000, pp. 28-39.
- [28] Cooper, J.M., Foreman, P.L., Glidle, A., Ling, T.W. and Pritchard, D.J., Glutamate oxidase enzyme electrodes: microsensors for neurotransmitter determination using electrochemically polymerized permselective film, **J. Electroanal. Chem** 338 (1995) 143-149.
- [29] Hamdi, N., Wang, J., Walker, E., Maidment, N.T. and Monbouquette, H.G., An electroenzymatic L-glutamate microbiosensor selective against dopamine, **J. Electroanal. Chem.** 591 (2006) 33-40.
- [30] Na Nakorn, P., Suphantharika, M., Udomsopagit, S. and Surareungchai, W., Poly(vinylferrocene)-poly(ethylene glycol) glutamate oxidase electrode for determination of L-glutamate in commercial soy sauces, **J. Microbiol. and Biotechn** 19 (2003) 479-485.
- [31] Huang, X.J., Im, H.S., Lee, D.H., Kim, H.S. and Choi, Y.K., Ferrocene functionalized

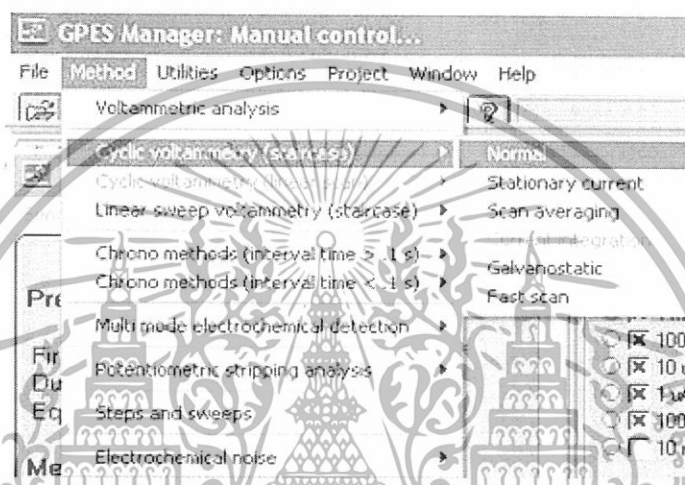
- single-walled carbon nanotube bundles. Hybrid interdigitated construction film for L-glutamate detection, **J. Phys. Chem.** 111 (2007) 1200-1206.
- [32] Harper, A.C. and Anderson, M.R., Electrostatic assembly of a redox catalysis system for detection glutamate, **Electroanal** 18 (2006) 2397-2404.
- [33] Zhang, M., Mullens, C. and Gorski, W., Chitosan-glutamate oxidase gels: synthesis, characterization, and glutamate determination, **Electroanal** 17 (2005) 2114-2120.
- [34] Amine, A. and Kauffmann, J.M., Preparation and characterization of a fragile enzyme immobilized carbon paste electrode, **Bioelectrochem. Bioenerg.** 28 (1992) 117-125.
- [35] Smyth, M.R. and Vos, J.F., **Analytical Voltammetry (Wilson & Wilson 's Comprehensive Analytical Chemistry**, ed. Svehla, G.), Elsevier, Amsterdam, 27 (1992) 159-327.
- [36] Qun, S., Study on purification and some properties of L-glutamate oxidase from *Streptomyces* sp. 80-5. In: Proceedings of 99 International Conference on Agricultural Engineering, Beijing, China (1999) pp IV-71-IV-73.
- [37] Nilsson, H., Mosbach, K., Enfors, S.O. and Molin, N., An enzyme electrode for measurement of penicillin in fermentation broth: A step toward the application of enzyme electrodes in fermentation control, **Biotechnol Bioeng** 20 (2004) 527-539.
- [38] Rao, T.N., Tryk, D.A., Hashimoto, K. and Fujishima, A., Band-edge movements of semiconducting diamond in aqueous electrolyte induced by anodic surface treatment, **J. Electrochem. Soc.** 146 (1999) 680-684.
- [39] Shin, D., Tryk, D.A., Fujishima, A., Merkoci, A. and Wang, J., Resistance to surfactant and protein fouling effect at conducting diamond electrodes, **Electroanal** 17 (2005) 305-311.
- [40] Yagi, I., Notsu, H., Kondo, T., Tryk, D.A. and Fujishima, A., Electrochemical selectivity for redox systems at oxygen-terminated diamond electrodes. **J. Electroanal. Chem.** 473 1-2 (1999) 173-178.
- [41] www.daqbi.cefetpr.br/professores/claudia/validation%20exemplo%201%20.pdf

ภาคผนวก ก.

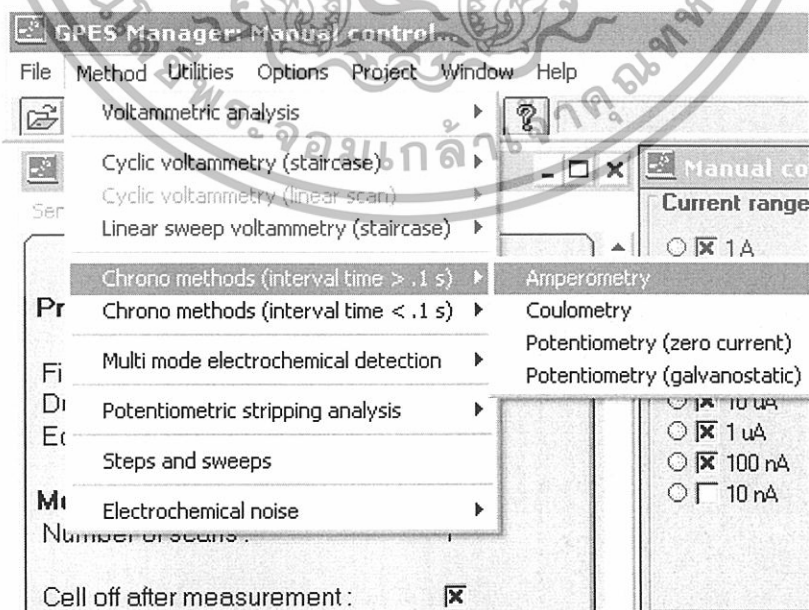
การตั้งค่าการทำงานของโปรแกรม Autolab

รูปที่ ก.1 การเลือกเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัด

- เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี



- เทคนิคแอมเพอโรเมทรี



รูปที่ ก.2 การหาค่าสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีแบบอัตโนมัติ

Search		Peak		Baseline	
<input type="checkbox"/> Reverse	<input checked="" type="radio"/> Automatic	<input type="radio"/> Whole peak	<input checked="" type="radio"/> Front peak	<input checked="" type="radio"/> Linear baseline	
<input type="checkbox"/> Include shoulders	<input type="radio"/> Curve cursor	<input type="radio"/> Rear peak		<input type="radio"/> Exponential basecurve	
	<input type="radio"/> Free cursor			<input type="radio"/> Polynomial basecurve	
				<input type="radio"/> Lin. front baseline	
				<input type="radio"/> Lin. rear baseline	
				<input type="radio"/> No baseline	
Minimum		Set formats		Close	
Peak width:	0.03				
Peak height:	1.0E-6				

รูปที่ ก.3 การหาค่าสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีแบบกำหนด cursor จุดเอง

Search		Peak		Baseline	
<input type="checkbox"/> Reverse	<input type="radio"/> Automatic	<input checked="" type="radio"/> Whole peak	<input type="radio"/> Front peak	<input checked="" type="radio"/> Linear baseline	
<input type="checkbox"/> Include shoulders	<input checked="" type="radio"/> Curve cursor	<input type="radio"/> Rear peak		<input type="radio"/> Exponential basecurve	
	<input type="radio"/> Free cursor			<input type="radio"/> Polynomial basecurve	
				<input type="radio"/> Lin. front baseline	
				<input type="radio"/> Lin. rear baseline	
				<input type="radio"/> No baseline	
Minimum		Set formats		Close	
Peak width:	0.03				
Peak height:	1.0E-6				

รูปที่ ก.4 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

Send!

Page 1 Page 2

Pretreatment

First conditioning potential (V) : 0
Duration (s) : 0
Equilibration time (s) : 15

Measurement

Number of scans : 1
Cell off after measurement :
Standby potential (V) : 0

Potentials

Define start potential w.r.t. OCP:
Start potential (V) : -1
First vertex potential (V) : 1
Second vertex potential (V) : -1
Step potential (V) : .01007
Scan rate (V/s) : 050095

Title and subtitle

2.0 glutamate + 0.1 M phosphate buffer pH 8
scan rate 50 mV/s

รูปที่ ก.5 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี

Edit procedure

Send!

Page 1 Page 2

Pretreatment

First conditioning potential (V) : 0
 Duration (s) : 0
 Equilibration time (s) : 4

Measurement

Interval time (> .1 s) : 1
 Cell off after measurement :
 Standby potential (V) : 0
 Number of potential steps (1-10) : 1

Title and subtitle

glutamate + phosphate buffer pH 8 by MeGC

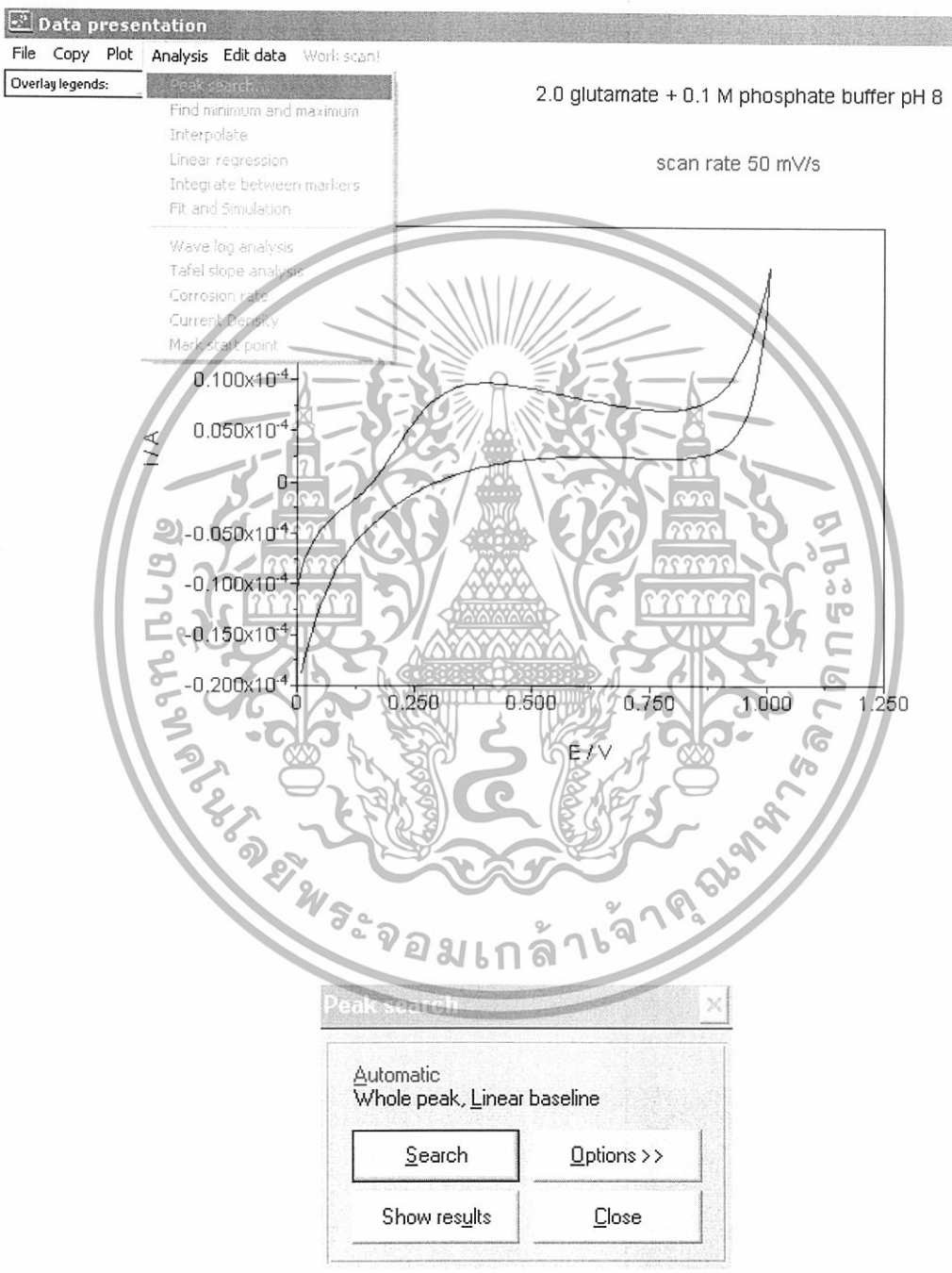
Potentials

Level	Potential/V	Duration/s
1	.4	1000
		1000

รูปที่ ก.6 การบันทึกผลการวิเคราะห์



รูปที่ ก.7 การเรียกดูผลการวิเคราะห์



Peak search results

Results

No.	Position	Height	Area (C)	Width (1/2)	Derivative	Ep-Ep/2 (V)
01	0.892	2.234e-5	1.431e-4	0.280	6.726e-4	0.134

Clear OK



ภาคผนวก ข. การเตรียมสารเคมี

ข.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 ml

ชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 141.9) 1.419 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน นำไปโซนิฟิเคทให้ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น

ข.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูตาเมตความเข้มข้น 1.0 M ปริมาตร 50 ml

ชั่งกลูตาเมต ($\text{C}_5\text{H}_8\text{NNaO}_4$; น้ำหนักโมเลกุล 187.14) 9.357 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น นำไปโซนิฟิเคทให้กลูตาเมตละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 ml ปรับปริมาตรเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น

ข.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูตาเมตความเข้มข้น 2.0 mM ปริมาตร 25 ml

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 1.0 M กลูตาเมต จากภาคผนวก ข.2 จำนวน 50 μl ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากภาคผนวก ข.1

ข.4 การเตรียมสารละลาย 8.5 % กลูตาราลดีไฮด์ ปริมาตร 100 ml

ปิเปตสารละลาย 50 % กลูตาราลดีไฮด์ จำนวน 17 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ข.5 การเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดหาปริมาณกลูตาเมตด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายตัวอย่างซอสปรุงรสจำนวน 10 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml จากนั้นจึงนำไปเติมสารละลายมาตรฐาน แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 จากภาคผนวก ข.1

ข.6 การเตรียมเอทิลแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์

ผสมเอทิลแอลกอฮอล์และน้ำปราศจากไอออนในอัตราส่วน 1:1 ให้ได้ปริมาตรรวม 100 ml

ข.7 การเตรียมสารละลาย Nafion 0.1%

ปีเปต Nafion 0.25 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml ปรับปริมาตรเป็น 25 ml ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์



ภาคผนวก ค.

ผลการทดลอง

ค.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดสารละลายกลูตามิต

ค.1.1 ค่า pH สารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ที่เหมาะสม

ตารางที่ ค.1 ค่าปริมาณกระแสปฏิกริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ 2.0 mM ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ใน 0.1 M สารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วกลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

ค่า pH	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
4	0.680	1700
5	0.627	1600
6	0.551	1370
7	0.449	1370
8	0.427	2010
9	0.415	1680

ก.1.2 อัตราการสแกนที่เหมาะสม

ตารางที่ ก.2 ค่าปริมาณกระแสไฟฟ้าออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ 2.0 mM กลูตามัต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้หัวไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยเบต้าไซโคลเดกซ์ตริน ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

อัตราการสแกน (mV/s)	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
1	0.580	2.6
5	0.585	6.0
10	0.403	9.9
25	0.443	17.8
50	0.483	30.4
100	0.514	54
200	0.554	120
300	0.574	151
400	0.584	199
500	0.614	250

ก.2 สมบัติของขั้วทำงาน

ก.2.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการวิเคราะห์

ตารางที่ ก.3 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของสารละลายมาตรฐานกลูตามตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

กลูตามต (mM)	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
0.4	0.524	11.7833
0.8	0.534	13.2833
1.2	0.534	16.2833
1.6	0.514	20.2833
2.0	0.453	24.2833
2.4	0.483	26.2833

ก.2.2 การศึกษาความเที่ยง

ตารางที่ ก.4 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ 2.0 mM กลูตามต ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

จำนวนครั้ง	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
1	0.463	28.4
2	0.473	29.3
3	0.463	29.0
4	0.463	28.4
5	0.463	29.3
6	0.473	29.6
7	0.473	28.4
8	0.473	28.4
9	0.483	29.3
10	0.455	29.6
11	0.473	29.6
12	0.483	29.1
13	0.483	29.4
14	0.473	29.4
15	0.473	28.2
16	0.483	28.2
17	0.493	28.4
18	0.504	29.8
19	0.504	29.6
20	0.504	29.3
21	0.514	29.6
22	0.514	29.6
23	0.473	29.6
24	0.473	28.6
25	0.483	28.4
26	0.473	29.0
27	0.483	28.4

จำนวนครั้ง	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
28	0.483	29.3
29	0.493	29.6
30	0.514	29.6
ค่าเฉลี่ย		29.08
SD.		0.5391
% RSD		1.8538



รูปที่ ค.1 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสปฏิริยาออกซิเดชันกับจำนวนครั้งของการตรวจวัด 2.0 mM กลูตามัด ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ตรวจวัดทั้งหมด 30 ครั้ง

ภาคผนวก ง.

การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด

การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัดตามวิธีของ International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

สูตรการคำนวณและวิธีการทดสอบ

1. สร้างกราฟความสัมพันธ์ของการตรวจวัดสารในช่วงที่เป็นเส้นตรง นำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับปริมาณกระแสที่ตรวจวัดได้ จะได้กราฟเส้นตรง จากนั้นนำมาคำนวณหาความชันของกราฟ จากสมการ

$$Y = mX + c$$

เมื่อ m แทน ความชันของเส้นกราฟ

c แทน จุดตัดแกนตั้ง

X แทน ความเข้มข้น

Y แทน กระแส

2. เมื่อสามารถหาค่าความชันของเส้นกราฟได้แล้วนำสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัพเฟอร์ มาวัดกระแสพื้น คู่มวลเลือกสัญญาณของกระแสพื้น 30 ครั้ง แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจากเบลงค์

ค่าเฉลี่ยสัญญาณของสารละลายเบลงค์ (\bar{Y}_B) =
$$\frac{\sum_{j=1}^{n_B} Y_{Bj}}{n_B}$$

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายเบลงค์ (S_B) =
$$\sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{n_B} (Y_{Bj} - \bar{Y}_B)^2}{(n_B - 1)}}$$

3. นำค่าที่ได้ทั้งหมดมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด

ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ (C_L) = $3(S_B) / m$

(3 คือค่า k = Confidence Level of 99.86% เมื่อ $(Y_L) \geq \bar{Y}_B + 3(S_B)$)

ง.1 กำหนดหาขีดจำกัดในการตรวจวัดกลูตามेत

1. หาค่าความชันกราฟ

ตารางที่ ง.1 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน ค่าความชัน และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูตามेत ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

กลูตามेत (mM)	กระแส (μA)
0.4	11.7833
0.8	13.2833
1.2	16.2833
1.6	20.2833
2.0	24.2833
2.4	26.2833
ความชัน	9.25
จุดตัดแกนตั้ง	5.5833

2. หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจากแบลนด์

ตารางที่ ง.2 สัญญาณของกระแสพื้นที่ได้จากการตรวจวัด 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี อัตราการสแกน 50 mV/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

ครั้งที่ตรวจวัด	กระแส (μA)	ครั้งที่ตรวจวัด	กระแส (μA)	
1	12.6	16	12.6	
2	12.6	17	12.6	
3	12.6	18	12.6	
4	12.6	19	12.6	
5	12.6	20	13.1	
6	12.6	21	13.1	
7	12.6	22	13.1	
8	12.6	23	13.1	
9	12.6	24	12.6	
10	12.6	25	12.6	
11	12.6	26	12.6	
12	12.6	27	12.6	
13	13.1	28	12.6	
14	13.1	29	12.6	
15	13.1	30	12.6	
			ค่าเฉลี่ย	12.7167
			SD.	0.2151

3. กำหนดค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด

$$\begin{aligned} \text{ค่า Detection Limit (mM)} &= (3 \times 0.2151 \mu\text{A}) / (9.25 \mu\text{A/mM}) \\ &= 0.0698 \text{ mM} \end{aligned}$$

4. กำหนดค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณ

$$\begin{aligned} \text{ค่า Quantification Limit (mM)} &= (10 \times 0.2151 \mu\text{A}) / (9.25 \mu\text{A/mM}) \\ &= 0.2325 \text{ mM} \end{aligned}$$

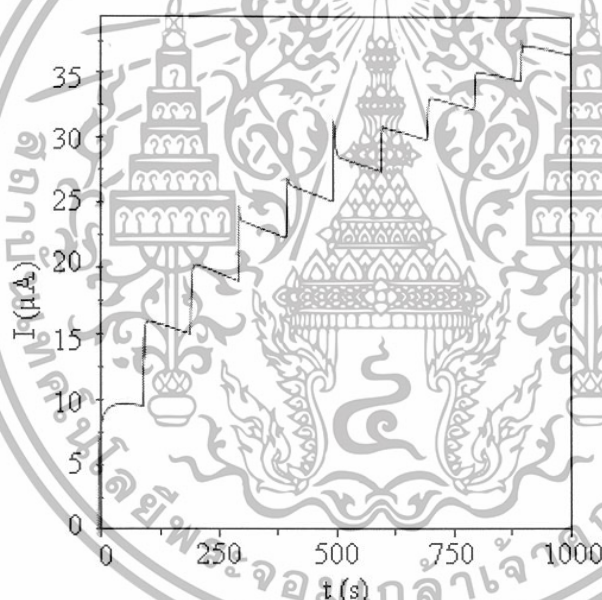
ภาคผนวก จ.

การวิเคราะห์ปริมาณกลูตามัตในน้ำซอสปรุงรสตัวอย่าง

1. น้ำซอสปรุงรสโซยุ

จ.1 กระแสที่ได้จากการตรวจวัดหาปริมาณกลูตามัตในน้ำซอสปรุงรสตัวอย่างด้วยวิธี
เติมสารมาตรฐาน

♦ ขั้วไฟฟ้ากลาสลิกรับอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน

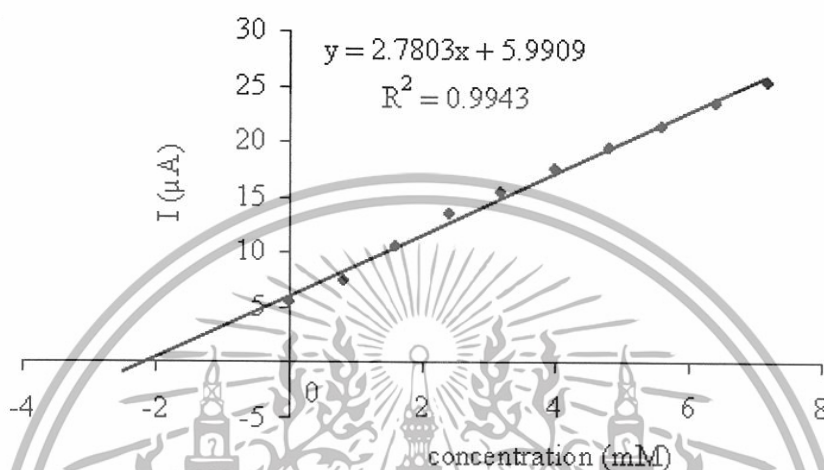


รูปที่ จ.1 โวลแทมโมแกรมของซอสปรุงรสตัวอย่างโดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี พร้อมกับกวาดด้วยอัตราเร็ว 2000 รอบต่อนาที

ตารางที่ จ.1 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดน้ำซอสปรุงรสตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสโซยุ ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า กลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี

กลูตามัต (mM)	กระแส (μA)	% Recovery
0	5.5	
0.8	7.5	67.8438
1.6	10.5	101.3607
2.4	13.5	112.533
3.2	15.5	106.8793
4.0	17.5	103.4871
4.8	19.5	101.2257
5.6	21.5	99.6103
6.4	23.5	98.3988
7.2	25.5	97.4566
เฉลี่ย		98.7550

กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยขั้วไฟฟ้า
กลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน



รูปที่ จ.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสปฏิริยาออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูตามेट โดยใช้ขั้วกลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

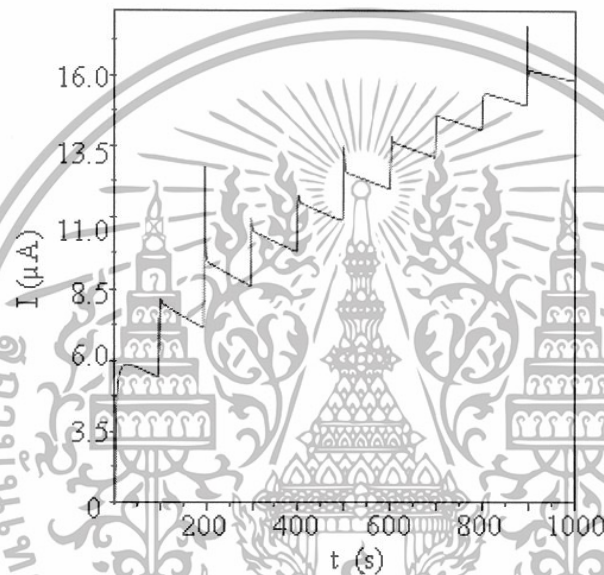
สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

$$y = 2.7803x + 5.9909$$

แทนค่า $y = 0$ จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 2.1548 mM

2. น้ำขอสปรงรสมแมกกี จ.2 กระแสที่ได้จากการตรวจวัดหาปริมาณกลูตามัตในน้ำขอสปรงรสตัวอย่างด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน

♦ ขั้วกลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุ้งด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน

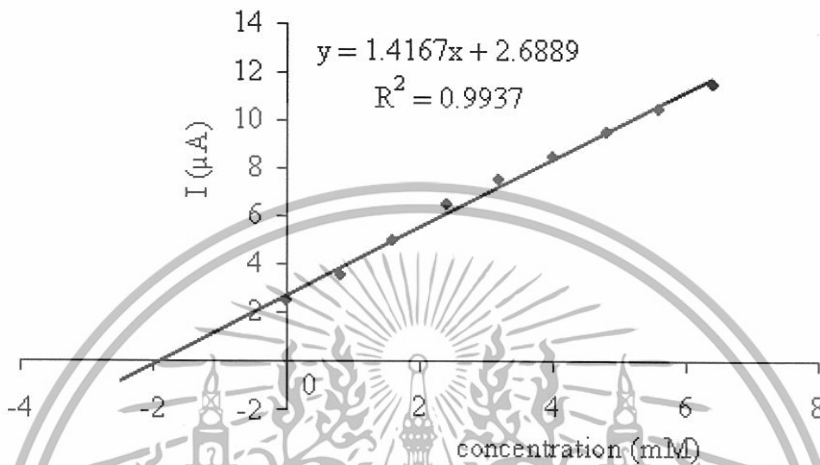


รูปที่ จ.3 โวลแทมโมแกรมของน้ำขอสปรงรสตัวอย่างโดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุ้งด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี พร้อมกับกวาดด้วยอัตราเร็ว 2000 รอบต่อนาที

ตารางที่ จ.2 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดน้ำซอสปรุงรสตัวอย่างน้ำซอสปรุงรสแมกกี ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพโรเมทรี

กลูตามัต (mM)	กระแส (μA)	% Recovery
0	2.5	
0.8	3.5	71.5663
1.6	5.0	101.9580
2.4	6.5	112.0886
3.2	7.5	106.1248
4.0	8.5	102.5465
4.8	9.5	100.1609
5.6	10.5	98.4569
6.4	11.5	97.179
7.2	12.5	96.1850
เฉลี่ย		98.4740

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้า
กลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

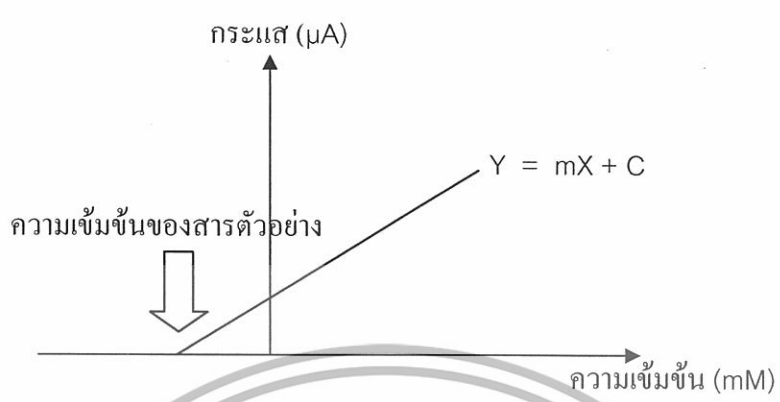


รูปที่ ๔.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสปฏิริยาออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสาร
มาตรฐานกลูตามेट โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ตรวจวัด
ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน
กับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

$$y = 1.4167x + 2.6889$$

แทนค่า $y = 0$ จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 1.8980 mM



รูปที่ ๑.5 ภาพวาดกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน

♦ การคำนวณ Percent recovery

สามารถคำนวณได้ดังสมการ

$$\frac{(\text{value of sample + standard}) - (\text{value due to sample})}{\text{value of standard added}} \times 100\%$$

ตารางที่ ๑.3 สรุปผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณกลูตาเมตในน้ำซอสปรุงรสตัวอย่าง

ตัวอย่าง	สมการที่ได้	Percent Recovery
น้ำซอสปรุงรสโซยุ	$y = 2.7803x + 5.9909$	98.7550
น้ำซอสปรุงรสแมกกี้	$y = 1.4167x + 2.6889$	98.4740

% Recovery ที่ยอมรับได้อยู่ในช่วง 95 -105 ดังนั้น % Recovery จากการทดลองอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

ตารางที่ จ.4 แสดงเกณฑ์ที่ยอมรับของความถูกต้องเฉลี่ย [41]

Concentration of the analyte	Mean recovery %
10-100 %	98-102
> 1 %	97-102
> 0.1 % (1000 ppm)	95-105
100 ppm	90-107
100 ppb-10 ppm	80-110
10 ppb	60-115
1 ppb	40-120

