

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ขั้วไฟฟ้าชีวภาพพิมพ์สกรีนปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัว  
บนลวดนาโนโพลีอะนิลีน สำหรับวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

SCREEN-PRINTED ELECTRODE MODIFIED WITH NANO-ZnO  
DISPERSED ON POLYANILINE NANOWIRES BIOSENSOR FOR  
DETERMINATION OF HYDROGEN PEROXIDE



จพ.  
๑ ข

เลขหมู่..... 2553  
เลขทะเบียน..... 110586  
วัน,เดือน,ปี..... - 9 มี.ย. 2553

b..... 122575๐4  
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ.2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ KMITL-2010-SC-M-012-033 มอนูญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**SCREEN-PRINTED ELECTRODE MODIFIED WITH NANO-ZnO  
DISPERSED ON POLYANILINE NANOWIRES BIOSENSOR FOR  
DETERMINATION OF HYDROGEN PEROXIDE**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY  
FACULTY OF SCIENCE**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องยกย่องเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2010

**KMITL-2010-SC-M-012-033**



**COPYRIGHT 2010**

**FACULTY OF SCIENCE**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ผู้ใดเห็นประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**คณะวิทยาศาสตร์**  
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**  
**ใบรับรองวิทยานิพนธ์**

**หัวข้อวิทยานิพนธ์**      **ขั้วไฟฟ้าชีวภาพพิมพ์สกรีนปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีน สำหรับวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์**  
 Screen-printed electrode modified with nano-ZnO dispersed on polyaniline nanowires biosensor for determination of hydrogen peroxide

**นักศึกษา**  
**รหัสประจำตัว**  
**ปริญญา**  
**สาขาวิชา**  
**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

นายวิรัช ภูหนาก่อ  
 49067802  
 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
 เคมี  
 รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสุทธิ



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.วิบูลย์ ประคิมขเวียงคำ	
รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	
ผศ.ดร.วินัย นุคมากุล คณะวิทยาศาสตร์	
รศ.ดร.สุวรรณสถาบันไอซีทีไอทีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**  
 วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 25 พฤษภาคม พ.ศ. 2553 เวลา 13.00 – 16.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง 309 ชั้น 3 อาคารปฏิบัติการใหม่

สำนักทะเบียนและประมวลผล สจล.  
 วันที่ส่งเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์  
 วันที่ 17 เดือน ๕ พ.ศ. 53  
 ลงชื่อ.....

**คณะวิทยาศาสตร์พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**  
 (รองศาสตราจารย์วิรัช ภูหนาก่อ เป็นประธาน)  
 คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่ 15 เดือน ๕ พ.ศ. 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หัวข้อวิทยานิพนธ์**      **ชีวไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์  
กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีเอนิลีน สำหรับวิเคราะห์ไฮโดรเจน  
เปอร์ออกไซด์**

**นักศึกษา**                      **นายวีรชน ภูหินกอง**

**รหัสประจำตัว**               **49067802**

**ปริญญา**                       **วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต**

**สาขาวิชา**                   **เคมี (เคมีวิเคราะห์)**

**พ.ศ.**                           **2553**

**อาจารย์ที่ปรึกษา**         **รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์**

**บทคัดย่อ**

การพัฒนาชีวไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนโดยใช้วัสดุผสมระหว่างนาโนซิงค์ออกไซด์และโพลีเอนิลีน สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้ทำการศึกษาวิธีการปรับแต่งชีวไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีเอนิลีน และได้ทำการปรับปรุงชีวไฟฟ้าชีวภาพพิมพ์สกรีนสองวิธีเปรียบเทียบกับโดยวิธีแรกใช้ซิงค์ออกไซด์ กับโพลีเอนิลีน และวิธีที่สองใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวอยู่บนเส้นลวดนาโนของโพลีเอนิลีน ในการศึกษาลักษณะพื้นผิวของชีวไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (FE-SEM) ทำการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีไฟฟ้าด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี (CV) และอิมพีแดนซ์สเปกโทรสโกปีเชิงเคมีไฟฟ้า (EIS) พบว่าชีวไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับปรุงด้วยนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวอยู่บนเส้นลวดนาโนของโพลีเอนิลีนมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าและยังเตรียมง่ายกว่าการปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีเอนิลีนคอมโพสิตจึงเลือกเฉพาะชีวไฟฟ้านี้มาศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี (CV) และ แอมเพอโรเมทรี จึงจำกัดการตรวจวัดของชีวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโน

โพลีเอนิลีนคือ 4.35 ไมโคร โมลาร์ (3๐) ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ได้คือ  $9.9 \times 10^6$  ถึง  $4.8 \times 10^3$  โมลาร์  
ขั้วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนนี้แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะสามารถนำไปพัฒนาต่อเพื่อ  
ใช้งานในการตรวจวัดตัวอย่างจริงได้ เช่น ทางเคมี ทางคลินิก และทางสิ่งแวดล้อม รวมทั้งสามารถ  
พัฒนาให้ที่เข้ากับอุปกรณ์ชนิดพกพาได้ทำให้ใช้งานง่ายและสะดวกรวดเร็ว

คำสำคัญ : ขั้วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีน, นาโนซิงค์ออกไซด์, ลวดนาโนโพลีเอนิลีน



**Thesis Title** Screen-printed electrode modified with nano-ZnO dispersed on polyaniline nanowires biosensors for determination of hydrogen peroxide

**Student** Mister Weerachon Phoohinkong

**Student ID** 49067802

**Degree** Master of science

**Program** Chemistry (Analytical chemistry)

**Year** 2010

**Thesis Advisor** Assoc. Prof. Dr. Suwan Chaiyasith

### Abstract

Hydrogen peroxide biosensor using screen-printed carbon electrode (SPCE), nano-ZnO and polyaniline was developed. The SPCE were modified by using the composite of nano ZnO-polyaniline (PANI) and nano-ZnO dispersed on polyaniline nanowires (PANI-NWs). The surface morphology of electrode was characterized by field-emission scanning electron microscopy (FE-SEM) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The performances of the resulting hydrogen peroxide sensor were studied by using cyclic voltammetric and amperometric measurements. The results of EIS and CV showed that the modified hydrogen peroxide biosensors using dispersed nano-ZnO in PANI-NWs were more high sensitivity and easy preparation than the ZnO-PANI composite modified electrode. The detection limit of nano-ZnO dispersed in PANI-NWs biosensor was found to be 4.35  $\mu\text{M}$  based on signal-to-noise ratio of 3. Linear responses over the concentration range between  $9.9 \times 10^{-3}$  to  $4.8 \times 10^{-6}$  M of  $\text{H}_2\text{O}_2$  were observed. In regarding to this biosensor required small sample size (50  $\mu\text{L}$ ) and easily to operate. It can be used as portable device and showed advantage in many applications such as in chemical, biological, and environmental analysis etc.

**Keywords : Screen-printed electrode, nano-ZnO, polyaniline nanowire, hydrogen peroxide biosensor**



**IV**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้อย่างดีด้วยคำแนะนำ คำปรึกษา และแนวทางในการแก้ไข ปัญหาที่ดีในช่วงการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมาจาก รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุม วิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล และ ผศ.ดร. วินัย นุตมกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลา อันมีค่ายิ่งในการเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์พร้อมทั้งให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะใน วิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. เผชญชัย ไชยสิทธิ์ ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และความอนุเคราะห์ ให้แก่ผู้วิจัยในการใช้ห้องพักอาจารย์ ตลอดเวลาในช่วงการทำวิจัย ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความ อนุเคราะห์จากท่านอาจารย์เป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ คุณ ไพโรจน์ จันทร์หอม และน้อง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย และ ช่วยพิมพ์วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ในสาขาวิชาเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกคนที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ และอำนวยความสะดวกในการใช้ ห้องปฏิบัติการเสมอมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้าที่เป็น กำลังใจ และให้การสนับสนุนในทุก ๆ เรื่อง ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จ ลุล่วงด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมาจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

วีรชน ภูหินกอง

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญรูป.....	IX
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	
1.1ความเป็นมาและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	
2.1 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	5
2.2 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า.....	7
2.3 เทคนิคโวลแทมเมทรี.....	11
2.4 Electrochemical biosensors.....	21
2.5 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน.....	30
2.6 ซิงค์ออกไซด์.....	32
2.7 โพลีอะนิลีน.....	36
2.8 เอนไซม์ Horseradish peroxidase.....	45
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	46
<b>บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....</b>	
3.1 สารเคมี.....	56
3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการสร้างขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน.....	57
3.3 เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.4 การเตรียมสารละลาย.....	58
3.5 การเตรียมขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน.....	58
3.6 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน.....	60
3.7 ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงทั้งสองวิธีการ.....	63
3.8 ทดสอบขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้นมากับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	64
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....</b>	
4.1 ลักษณะทางกายภาพของ โพลีอะนิลีนซิงค์ออกไซด์คอม โพลีท และทวดนาโนโพลีอะนิลีน.....	66
4.2 ผลการศึกษาคุณสมบัติเชิงเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งผิวหน้า ด้วยทวดนาโนโพลีอะนิลีนและที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอม โพลีท.....	81
4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับปรุงด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase ในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	92
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....</b>	
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	101
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	104
<b>เอกสารอ้างอิง.....</b>	<b>106</b>
<b>ภาคผนวก.....</b>	<b>117</b>
ภาคผนวก ก. การคำนวณ.....	118
ภาคผนวก ข. การเตรียมสารเคมี.....	130
ภาคผนวก ค. ผลเพิ่มเติม.....	132
ภาคผนวก ง. เอกสารเพิ่มเติม.....	115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
5.1 แสดงการเปรียบเทียบขั้วไฟฟ้าที่ใช้เอนไซม์ horseradish peroxidase ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	102
ก.1 แสดงข้อมูลในการคำนวณค่า $i_{p,r}/i_{p,r}$ ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน.....	122
ก.2 แสดงข้อมูลจากการคำนวณค่าอิมพีแดนซ์ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน.....	123
ก.3 แสดงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกระแสที่วัดได้จากแอมเพอโรแกรมในรูปที่รูปที่ 4.33.....	125
ก.4 แสดงค่ากระแสพื้นที่ทำการตรวจวัด.....	126
ก.5 แสดงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกระแสที่วัดได้จากแอมเพอโรแกรมในรูปที่รูปที่ 4.31 ซึ่งใช้ในการสร้างกราฟเพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด.....	127
ก.6 แสดงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกระแสที่วัดได้จากแอมเพอโรแกรมในรูปที่รูปที่ 4.35 ซึ่งใช้ในการสร้างกราฟเพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด.....	128
ก.7 แสดงค่ากระแสพื้นที่ทำการตรวจวัดจากแอมเพอโรแกรมในรูปที่รูปที่ 4.35.....	129
ข.1 แสดงอัตราส่วนของสารในการเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ต่างๆ.....	131

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	5
2.2 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สถานะแก๊สและของแข็ง.....	5
2.3 การเคลื่อนที่ของไอออนแบบไมเกรชัน.....	8
2.4 การนำพามวลจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าอิเล็กโทรดด้วยการแพร่.....	8
2.5 การนำพามวลจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการพา.....	9
2.6 รูปแบบแสดงกระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า.....	9
2.7 แสดงช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานที่สามารถทนได้ของวัสดุที่ใช้ทำขั้วชนิดต่างๆกับ supporting Electrolytes ชนิดต่างๆ.....	13
2.8 แสดงลักษณะการจ่ายศักย์ไฟฟ้าเทียบกับเวลา.....	13
2.9 แสดงลักษณะสัญญาณของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผันกลับได้จากการสแกนศักย์หนึ่งรอบ.....	14
2.10 แสดงลักษณะการของความเข้มข้นเทียบกับระยะทางที่ห่างจากผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของแต่ละช่วงเวลาของการจ่ายศักย์ไฟฟ้าของไซคลิก.....	15
2.11 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมแบบผันกลับได้ (B) และแบบกึ่งผันกลับได้ (A).....	18
2.12 แสดงความสัมพันธ์ของโครโนแอมเพอโร.....	19
2.13 แสดงลักษณะขั้วไฟฟ้าเอนไซม์ซึ่งมีชั้นที่บรรจุเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ.....	23
2.14 แสดงความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น.....	24
2.15 แสดงหลักการการทำงานของตัวตรวจวัดทางชีวภาพ.....	26
2.16 ลำดับขั้นการเกิดปฏิกิริยาจนถึงการถ่ายอิเล็กตรอนให้ขั้วไฟฟ้า.....	27
2.17 แสดงกระบวนการที่ขั้วไฟฟ้ากลูโคสเซนเซอร์.....	28
2.18 หลักการในการตรวจวัดกลูโคสของคลาสมัลติลักษณะดังกล่าว.....	28
2.19 ลักษณะโดยทั่วไปของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ใช้ในงานวิจัยนี้.....	31
2.20 แสดงส่วนประกอบต่างๆของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ใช้.....	31
2.21 แสดงส่วนประกอบชั้นต่างๆของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ใช้.....	32
2.22 แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกของซิงค์ออกไซด์.....	33
2.23 แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ wurtzitic ของซิงค์ออกไซด์.....	34
2.24 แสดงการเพิ่มโปรตอนให้แก่ emeraldine base เพื่อให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูป emeraldine salt.....	40

# สารบัญรูป(ต่อ)

	หน้า
2.25 แสดงกลไก Chemical polymerization ของ โพลีอะนิลีน.....	44
2.26 แผนภาพแสดงกลไกการถ่ายเทอิเล็กตรอนระหว่างขั้วไฟฟ้า โพลีอะนิลีนและเอนไซม์.....	46
3.1 ลายสกรีนชั้นต่างๆตามลำดับ.....	59
3.2 แสดงลักษณะชั้นต่างๆที่สกรีนและแบบรวมสุดท้ายของแผ่นสกรีนปรินท์ได้.....	59
3.3 แสดงลักษณะการจ่ายศักย์ไฟฟ้าและการเกิดโพลิเมอร์ไรเซชันด้วยไฟฟ้า.....	62
3.4 แสดงรูปถ่ายลักษณะการเซตอุปกรณ์ในการสังเคราะห์ลวดนาโน โพลีอะนิลีน.....	63
3.5 แสดงลักษณะการจัดอุปกรณ์ในการทดลองด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริก.....	65
4.1 แสดงลักษณะซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตที่เตรียมขึ้น.....	67
4.2 แสดงลักษณะซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 20 เท่า.....	67
4.3 แสดงลักษณะซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า	68
4.4 แสดงลักษณะอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า.....	68
4.5 แสดงลักษณะซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า.....	69
4.6 แสดงลักษณะอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า.....	69
4.7 แสดงลักษณะผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเปลา์ก่อนทำการปรับแต่ง.....	70
4.8 แสดงลักษณะผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยลวดนาโน โพลีอะนิลีนเป็นเวลา 20 นาที.....	71
4.9 แสดงลักษณะผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยลวดนาโน โพลีอะนิลีนเป็นเวลา 30 นาที.....	71
4.10 แสดงลักษณะของพื้นผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนหลังจากล้างด้วยสารละลาย.....	72
4.11 แสดงลักษณะของพื้นผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนหลังจากล้างด้วยสารละลาย.....	73
4.12 แสดงลักษณะลวดนาโน โพลีอะนิลีนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 20,000 เท่า...	73
4.13 แสดงลักษณะลวดนาโน โพลีอะนิลีนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 20,000 เท่า ...	74
4.14 แสดงลักษณะลวดนาโน โพลีอะนิลีนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 90,000 เท่า....	74
4.15 แสดงภาพถ่ายโพลีอะนิลีนที่สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization ใช้กรดฟอสฟอริกเป็น dopant.....	75
4.16 แสดงภาพถ่ายโพลีอะนิลีนที่สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization ใช้กรดฟอสฟอริกเป็น dopant.....	76
4.17 แสดงลักษณะของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์ ด้วยวิธี electrodeposition โดยใช้เวลาในการจ่ายศักย์ไฟฟ้า +1 โวลต์ 20 นาที.....	77

สำหรับวิธีการทางเคมีไฟฟ้า อาศัยการใช้ตัวตรวจวัดทางชีวภาพร่วมกับเอนไซม์ซึ่งวิธีนี้มีข้อได้เปรียบคือ มีความจำเพาะต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ สามารถลดการรบกวนจากตัวอย่างที่มีสีเข้มได้ ทำให้สามารถเตรียมสารตัวอย่างได้ง่ายไม่ยุ่งยาก โดยนำมาใช้ร่วมกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนซึ่งเป็นขั้วไฟฟ้าที่มีขนาดเล็ก ใช้งานง่าย และสามารถผลิตตัวตรวจวัดทางชีวภาพได้ในปริมาณมากจึงเป็นการรวมข้อดีของทั้งสองเทคนิคเข้าด้วยกัน

ปัจจุบันมีความพยายามปรับปรุงประสิทธิภาพการเคลือบเอนไซม์ลงบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน โดยใช้วัสดุทางด้านนาโนมาปรับแต่งผิวหน้าขั้วไฟฟ้า [17-20] เช่น อนุภาคเงินนาโน [21] อนุภาคทองคำนาโน [22-24] อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน [25-43] คาร์บอนนาโนทิวบ์ [44-46] เป็นต้น โพลีอะนิลีนเป็นอีกวัสดุหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจนำมาใช้ปรับแต่งกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอน เนื่องจากข้อดีของโพลีอะนิลีนคือเป็นโพลีเมอร์ที่นำไฟฟ้า สามารถสังเคราะห์ได้ง่าย มีความคงตัวสูง เมื่อเทียบกับโพลีเมอร์นำไฟฟ้าชนิดอื่น [47-50] และสามารถเข้ากันกับสารทางชีวภาพ นอกจากนั้น ยังได้มีการนำอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์มาปรับปรุงประสิทธิภาพการทำงานของขั้วไฟฟ้าชีวภาพร่วมกับเอนไซม์เช่นกัน เนื่องจากซิงค์ออกไซด์มีราคาถูก ช่วยในการยึดติดของเอนไซม์ และยังพบว่าการใช้นาโนซิงค์ออกไซด์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ horseradish peroxidase ได้ [25-43] ในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเพื่อตรวจวัดหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น โดยใช้ โพลีอะนิลีนซึ่งเป็นโพลีเมอร์นำไฟฟ้า และอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ร่วมกับการใช้เอนไซม์ horseradish peroxidase

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อสร้างขั้วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับแต่งด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีน อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ และเอนไซม์ horseradish peroxidase สำหรับตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
2. พัฒนารูปการใช้ลวดนาโนโพลีอะนิลีน อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ และเอนไซม์ horseradish peroxidase กับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
3. ทดสอบการใช้ลวดนาโนโพลีอะนิลีนและนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับเอนไซม์ horseradish peroxidase ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. สร้างขั้วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีน
2. สังเคราะห์ลวดนาโนโพลีอะนิลีนบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีน
3. ศึกษาวิธีการสังเคราะห์โพลีอะนิลีนด้วยวิธี electrochemical polymerization ในการปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน
4. ศึกษาวิธีการสังเคราะห์ซิงค์ออกไซด์ ด้วยวิธี electrodeposition บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน
5. ศึกษาวิธีการสังเคราะห์ซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตด้วยวิธี Pickering emulsion polymerization เพื่อใช้ในการปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนร่วมกับเอนไซม์ horseradish peroxidase
6. เตรียมขั้วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ร่วมกับเอนไซม์ horseradish peroxidase กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีน
7. เตรียมขั้วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตร่วมกับเอนไซม์ horseradish peroxidase
8. ศึกษาลักษณะทางกายภาพของลวดนาโนโพลีอะนิลีนที่สังเคราะห์
9. ศึกษาคุณสมบัติทางไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าที่ทำการปรับแต่งแล้วด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีและอิเล็กโทรอิมพีแดนซ์สเปกโทรสโกปี
10. ศึกษาคุณลักษณะทางไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าที่ทำการปรับแต่งแล้วด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
11. ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่สร้างขึ้นในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรี

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถผลิตขั้วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และลวดนาโนโพลีอะนิลีนที่มีต้นทุนต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สามารถผลิตไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพื้สกกรีนที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และลวดนาโนโพลิอะนิลีนในการใช้ตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยสามารถใช้ปริมาณสารตัวอย่างที่น้อยในลักษณะแบบหยดได้ (50 ไมโครลิตร)

3. ชั่วไฟฟ้าชีวภาพคาร์บอนพื้สกกรีนที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และลวดนาโนโพลิอะนิลีนที่สร้างขึ้นมีสัญญาณในการวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มมากกว่าชั่วไฟฟ้าคาร์บอนพื้สกกรีนเปล่าและใช้ศักย์ไฟฟ้าในการตรวจวัดลดลง

4. เป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาและพัฒนา การสร้างชั่วไฟฟ้าคาร์บอนพื้สกกรีน การใช้ลวดนาโนโพลิอะนิลีน และอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ในการสร้างตัวตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

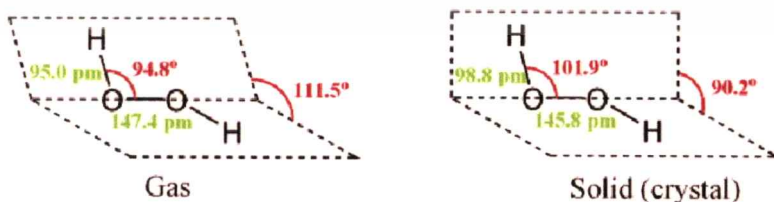
### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ [51,52]

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) มีชื่อตามระบบ IUPAC ว่า dihydrogen dioxide มีลักษณะเป็นของเหลวสีฟ้าจาง มีความหนืดมากกว่าน้ำเพียงเล็กน้อย เมื่อเจือจางจะมีลักษณะใสไม่มีสี มีสมบัติเป็นตัว oxidizing ที่แรง และมีประสิทธิภาพในการฟอกสีเป็นอย่างมาก ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรค disinfectant, antiseptic, oxidizer และใช้เป็นเชื้อเพลิงที่ใช้ขับเคลื่อนในจรวด ในธรรมชาติไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถเกิดขึ้นได้เองในร่างกายซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้ที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ในสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิด ( โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตที่มีกระบวนการหายใจแบบแอโรบิก ) กระบวนการที่เกิดจากเอนไซม์จำพวก peroxidases ซึ่งมีความปลอดภัยไม่เป็นอันตรายและสลายตัวได้ง่ายเมื่อมีความเข้มข้นต่ำๆ



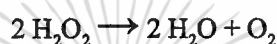
รูปที่ 2.1 แสดง โครงสร้าง โมเลกุลของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



รูปที่ 2.2 แสดง โครงสร้าง โมเลกุลของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่สถานะแก๊สและของแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีโครงสร้างโดยทั่วไปอยู่สองรูปแบบดังรูปที่ 2.1 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีคุณสมบัติแตกต่างจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บริสุทธิ์ เนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของน้ำกับโมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยทั่วไปไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะหาได้ในรูปของสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ สามารถหาซื้อได้ทั่วไปตามร้านขายยาใช้เป็นน้ำยาสำหรับล้างแผล หน่วยของความเข้มข้นที่นิยมใช้อีกหน่วยสำหรับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์คือหน่วย volume ซึ่งหมายถึงปริมาตรของแก๊สออกซิเจน เนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถสลายตัวได้เป็นน้ำและแก๊สออกซิเจน ดังสมการ



การสลายตัวที่มีตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมด้วยเช่น  $\text{Fe}^{2+}$  หรือ  $\text{Ti}^{3+}$  กลไกการสลายตัวจะแตกต่างกันออกไปโดยเกิด free radicals เช่น  $\text{HO}\cdot$  (hydroxyl) และ  $\text{HOO}\cdot$  ร่วมด้วย ซึ่ง  $\text{H}_2\text{O}_2$  ร่วมกับ  $\text{Fe}^{2+}$  เรียกว่า Fenton's reagent โดยทั่วไปไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 6 % จะมีความเข้มข้น 20-volume หมายความว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 volume จะให้ออกซิเจน 20 volumes ดังนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 20-volume concentration จะเท่ากับ  $1.667 \text{ mol/dm}^3$  (โมลาร์)

**การนำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มาใช้ประโยชน์**

- ใช้ในงานฟอกขาวกระดาษหรือฟอกผ้า
- ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคแทนคลอรีนซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าคลอรีน
- ใช้ในอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น
- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นระหว่าง 3 เปอร์เซ็นต์ ถึง 12 เปอร์เซ็นต์

สามารถใช้ร่วมกับ ammonium hydroxide ในการฟอกสีผม

- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ใช้สำหรับล้างแผลทำความสะอาดล้างเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว

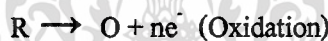
อย่างไรก็ตามการศึกษาล่าสุดชี้ให้เห็นว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำลายเซลล์ผิวที่เกิดใหม่ถูกดูดซึมโดยผิวหนังและทำให้เกิดสถานะเส้นเลือดฝอยอุดตัน จะปรากฏเป็นสีขาวขั้วคราวที่ผิวหนังเมื่อสัมผัสกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นต่ำใช้สำหรับทำให้สุนัขอาเจียน อย่างไรก็ตามไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่เหมาะสำหรับกลืนหรือกิน

## 2.2 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า [53-56]

เคมีไฟฟ้าเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าหรือปริมาณกระแสไฟฟ้ากับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารที่เกิดขึ้นบริเวณขั้วไฟฟ้าในเซลล์ไฟฟ้าเคมี ซึ่งเซลล์ไฟฟ้าเคมีโดยทั่วไปประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าอย่างน้อย 2 - 3 ขั้ว คือขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) และขั้วไฟฟ้าช่วย (auxiliary electrode หรือ counter electrode)

โดยทั่วไปขั้วไฟฟ้าทางเคมีไฟฟ้าเป็นอุปกรณ์ที่ใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีด้วยอาศัยคุณสมบัติการเกิดปฏิกิริยาของสารดังต่อไปนี้

1. ปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) คือ ปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยารีดักชัน โดยมีการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กตรอนดังแสดงในสมการ



โดย O เป็นสารออกซิไดซ์และ R เป็นสารรีดิวซ์

2. ปฏิกิริยา heterogenous คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากับสารที่ละลายในตัวทำละลายด้วยการถ่ายเทมวล (mass transfer) และอิเล็กตรอน ดังสมการดังต่อไปนี้



โดย O เป็นสารออกซิไดซ์และ R เป็นสารรีดิวซ์

### 2.2.1. การถ่ายเทมวลในสารละลาย (mass transfer)

ปริมาณกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวถูกควบคุมด้วยกระบวนการถ่ายเทมวลของสารซึ่งประกอบด้วย 3 ลักษณะดังนี้

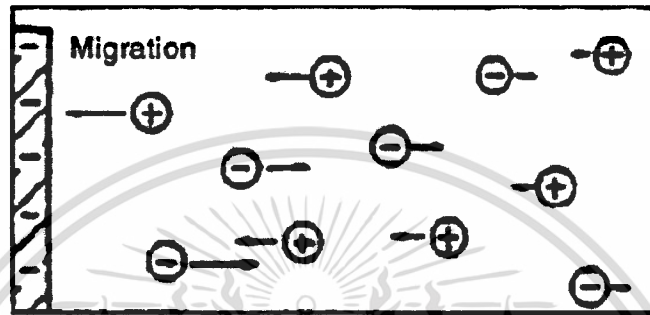
#### 2.2.1.1. ไมเกรชัน (migration)

เป็นการเคลื่อนที่ของไอออนภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในสารละลาย โดยไอออนบวกเคลื่อนที่เข้าหาขั้วลบ และ ไอออนลบเคลื่อนที่เข้าหาขั้วบวก ดังรูปที่ 2.3 ความเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

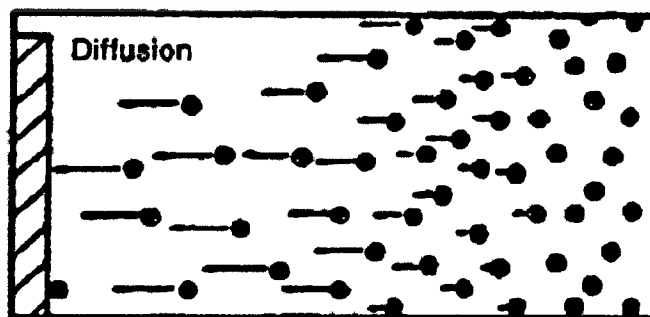
ของการเคลื่อนที่เข้าหา หรือเคลื่อนออกจากผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าอาจเพิ่มขึ้นหรือลดลงตามแต่ ศักย์ไฟฟ้าที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้านั้น ซึ่งมีผลทำให้การไหลของกระแสไฟฟ้าในวงจรอันเนื่องจาก ไอออนที่ต้องการลดลงไปด้วย ในเชิงวิเคราะห์สามารถอาศัยธรรมชาติของการแย่งการเคลื่อนที่ แบบไมเกรชันนี้ในการควบคุมการเคลื่อนที่ของไอออนสารวิเคราะห์ให้เป็นไปตามกลไกที่ต้องการ เท่านั้น



รูปที่ 2.3 การเคลื่อนที่ของ ไอออนแบบไมเกรชัน

#### 2.2.1.2. การแพร่ (diffusion)

เป็นการเคลื่อนที่ของ ไอออนหรือ โมเลกุลในสารละลายจากบริเวณที่มีความเข้มข้น สูงกว่าไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า จนกว่าจะ ไม่เกิดความแตกต่างของความเข้มข้น อัตรา ความเร็วของการแพร่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นที่ต่างกันตัวอย่างเช่นในรูปที่ 2.4 ใน สารละลายซึ่งประกอบด้วย  $Ag^+$  ในความเข้มข้นที่มากกว่าผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า จึงเกิดการแพร่ของ  $Ag^+$  ไปยังผิวหน้าของอิเล็กโทรด ยิ่งความเข้มข้นของ  $Ag^+$  ในสารละลายและที่ผิวหน้าอิเล็กโทรด ต่างกันมาก การแพร่ก็ยิ่งเกิดอย่างรวดเร็ว

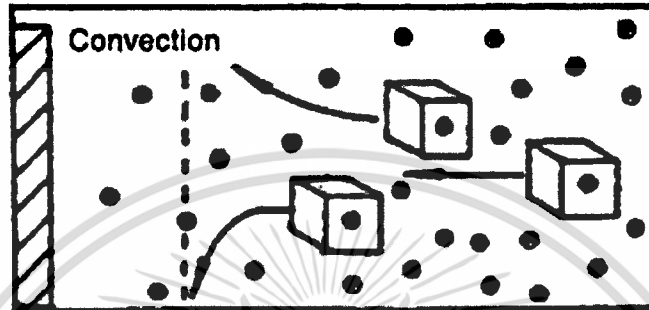


รูปที่ 2.4 การนำพามวลจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าอิเล็กโทรดด้วยการแพร่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการเขียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิฉะนั้นผู้ใดเห็นประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.3. การพา (convection)

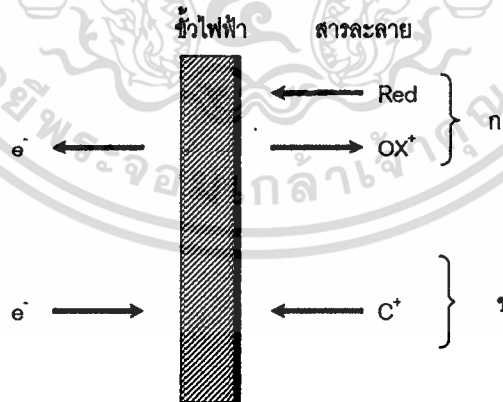
การที่ไอออนหรือโมเลกุลในสารละลายถูกพาเข้าหา หรือออกจากผิวหน้าขั้วไฟฟ้า อันเป็นผลจากความแตกต่างของอุณหภูมิหรือความหนาแน่น (มวลต่อหนึ่งหน่วยปริมาตร) ของสารละลาย หรือด้วยกลไกภายนอก เช่น โดยการคน หรือการกวนสารละลาย ซึ่งเป็นการเร่งการเคลื่อนตัวของไอออนหรือ โมเลกุล ภายในสารละลาย ดังแสดงในรูปที่ 2.5



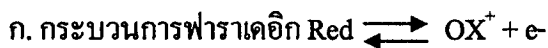
รูปที่ 2.5 การนำพามวลจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการพา

2.2.2 กระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

เมื่อ ไอออนของสารในอิเล็กโทรไลต์ ถูกนำพามาถึงผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าไม่ว่าจะด้วยกลไกใดก็ตาม กระบวนการที่เกิดขึ้นตรงผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า ซึ่งเป็นรอยต่อระหว่างขั้วไฟฟ้ากับ สารละลายอิเล็กโทรไลต์ เป็นไปได้โดยอย่างน้อยหนึ่ง ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ดังนี้คือ



รูปที่ 2.6 รูปแบบแสดงกระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า



ข. กระบวนการอัดประจุ (นอนฟาราเดอิก)

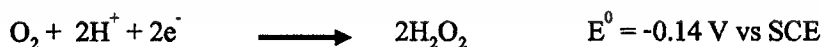
ถ้าไอออนหรือประจุที่ตรงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า สามารถข้ามรอยต่อระหว่างสารละลาย กับผิวหน้าขั้วไฟฟ้านั้น และมีปฏิกิริยาของการรับและคายอิเล็กตรอนเกิดขึ้น (ปฏิกิริยารีดอกซ์) ซึ่งเป็นไปตามกฎของฟาราเดย์ เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่า “กระบวนการฟาราเดอิก (Faradaic process)” ผลลัพธ์ของการเกิดกระบวนการฟาราเดอิก ที่อิเล็กโทรด ทำให้เกิดการไหลของกระแสในวงจรของเซลล์เคมีไฟฟ้านั้นได้ เรียกว่าเกิด กระแสฟาราเดอิก (Faradaic current)

ถ้าไอออนหรือประจุที่ถูกพาไปยังผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เพียงแต่ถูกดูดซับไว้ที่บริเวณรอยต่อของสารละลายกับขั้วไฟฟ้า ไม่มีปฏิกิริยารีดอกซ์เกิดขึ้น โดยประจุที่ถูกดูดซับไว้มีการเรียงตัวตรงบริเวณรอยต่อนั้น ในระหว่างการเกิดการเรียงตัวมีการเปลี่ยนแปลงของกระแสหรือศักย์ไฟฟ้าขึ้นแต่ก็เป็นเพียงชั่วขณะที่การเรียงตัวยังไม่ยุติ เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่า “กระบวนการนอนฟาราเดอิก (Nonfaradaic process)” กระแสชั่วขณะที่เกิดขึ้นเรียกว่า กระแสนอนฟาราเดอิก (Nonfaradaic current)

สำหรับเซลล์เคมีไฟฟ้าหนึ่งๆ กระบวนการที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้าจะเป็นฟาราเดอิก หรือนอนฟาราเดอิก ไม่ได้ขึ้นกับการจัดเซลล์หรือชนิดของเซลล์เคมีไฟฟ้า แต่ขึ้นกับสถานะของการวิเคราะห์ว่า มีเทอร์โมไดนามิกส์หรือจลนศาสตร์ที่เหมาะสมกับการที่จะเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นตรงผิวหน้าขั้วไฟฟ้านั้นได้หรือไม่เพียงใด

### 2.2.3 การกำจัดออกซิเจน

โดยปรกติแล้วออกซิเจนมีอยู่ทั่วไปในบรรยากาศในรูปแก๊ส และละลายอยู่ในสารละลาย สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ออกซิเจนจะสามารถละลายได้ในตัวทำละลายทุกชนิด เช่น น้ำ ออกซิเจนสามารถละลายในน้ำได้ดี (ประมาณ  $10^{-3}$  โมลาร์ ) ออกซิเจนที่อยู่ในสารละลายเป็นสารรบกวนต่อการวิเคราะห์เพราะจะเกิดกระแสเนื่องจากการแพร่อยู่สองส่วน ส่วนแรกออกซิเจนในสารละลายที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำเกิดปฏิกิริยารีดักชันโมเลกุลของน้ำไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งมีศักย์ไฟฟ้าครึ่งคลื่นเท่ากับ -0.14 โวลต์ ( เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง SCE ) และส่วนที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกรีดิวซ์ได้นำเกิดขึ้นที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ -0.9 โวลต์



ผลจากการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของแก๊สออกซิเจนทั้งสองปฏิกิริยาดังกล่าว เกิดขึ้นในช่วงศักย์ไฟฟ้า 0 ถึง -1 โวลต์ โดยเฉพาะที่ศักย์ไฟฟ้า -0.14 โวลต์นั้นถือว่าต่ำมาก ทำให้เกิดกระแสแคโทดิกได้ไม่น้อยกว่า 5 ไมโครแอมแปร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นยังสามารถที่จะทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ ในสารตัวอย่างได้ ดังนั้นในการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าจึงจำเป็นต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะต้องกำจัดออกซิเจนออกจากสารละลายที่จะทำการตรวจวัดก่อน โดยการผ่านแก๊สเฉื่อยที่บริสุทธิ์ เช่น แก๊สไนโตรเจน หรือแก๊สอาร์กอน ลงไปในสารละลายที่จะทำการวัดประมาณ 10 ถึง 15 นาที ก่อนเริ่มทำการวิเคราะห์ และผ่านแก๊สปกคลุมบรรยากาศบริเวณเหนือสารตัวอย่างตลอดการวิเคราะห์ เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีการละลายของออกซิเจนลงไปในสารละลายตัวอย่างขณะทำการวิเคราะห์

## 2.3 เทคนิคโวลแทมเมทรี [53-56]

### 2.3.1 การควบคุมศักย์ไฟฟ้าในเทคนิคโวลแทมเมทรี

การควบคุมศักย์ไฟฟ้าในเทคนิคโวลแทมเมทรีคือการให้ศักย์ไฟฟ้าแก่เซลล์ไฟฟ้าและวัดปริมาณกระแสไฟฟ้าซึ่งเทคนิคนี้จะต่างจากเทคนิคโพเทนชิอเมทรี คือ มีการใช้ขั้วไฟฟ้าช่วย (auxiliary electrode) ส่วนมากมักเป็น ขั้วไฟฟ้าแพลตินัม (platinum wire auxiliary electrode) นอกจากนี้ขั้วไฟฟ้าใช้งานสำหรับเทคนิคนี้มักเป็นขั้วไฟฟ้าจุลภาค (microelectrode) ทั้งนี้เพื่อให้เกิดโพลาไรเซชันที่ขั้วไฟฟ้าใช้งาน เทคนิคที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์โดยใช้โวลแทมเมทรีคือ

1. Chronoamperometry
2. Current-Sample Polarography
3. Pulse Voltammetry
  - Normal Pulse Voltammetry
  - Differential Pulse Voltammetry
  - Squar-Wave Voltammetry
  - Staircase Voltammetry
4. AC Polarography
5. Linear Sweep Polarography
6. Cyclic Voltammetry
7. Stripping Voltammetry
  - Anodic Stripping Voltammetry
  - Cathodic Stripping Voltammetry
  - Potentiometric Stripping Analysis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.2 เซลล์โวลแทมเมทรีประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าและสารละลายอิเล็กโทรไลต์

**2.3.2.1 อิเล็กโทรไลต์ช่วย (Supporting electrolyte)** คือ สารประกอบอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้เติมลงไปในการวิเคราะห์ โดยเติมในปริมาณที่มากกว่าสารตัวอย่างประมาณ 50 – 100 เท่า อิเล็กโทรไลต์ช่วยต้องไม่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่าง แต่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการทำให้ไอออนเคลื่อนที่ในสารละลายแบบการแพร่ป้องกันการเกิดไมเกรชันและช่วยลดความต้านทานของเซลล์ นอกจากนี้การเลือกชนิดของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมบางชนิดจะสามารถทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ได้ด้วย

ขั้วไฟฟ้า (Electrode) ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ขั้วไฟฟ้าใช้งาน และขั้วไฟฟ้าช่วย ทั้งหมดจมอยู่ในสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์

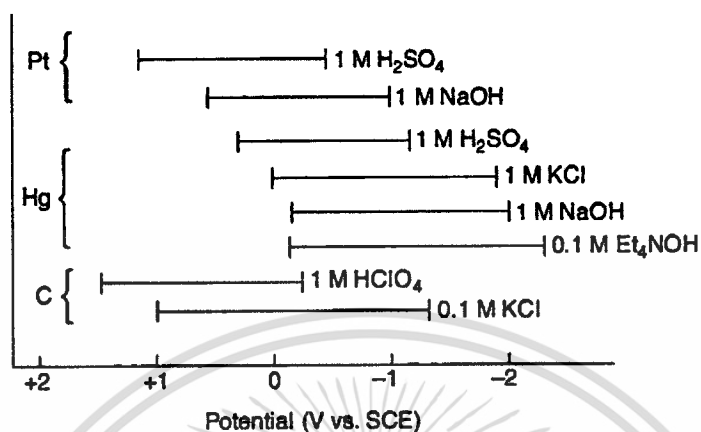
**2.3.2.2 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode)** ในการวิเคราะห์ทางเคมีเชิงไฟฟ้า จำเป็นต้องมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิงไว้เพื่อเทียบศักย์ไฟฟ้า เนื่องจากศักย์ไฟฟ้าที่อ่านได้จากวงจรเป็นค่าของความต่างศักย์ของขั้วไฟฟ้าทั้งสองขั้ว จึงเรียกได้ว่าเป็นค่า ศักย์ไฟฟ้าสัมพัทธ์ (Relative potentials) การใช้ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงจะมีค่าศักย์ที่แน่นอนไม่เปลี่ยนแปลงไปตามการเปลี่ยนกระแสไฟฟ้าในวงจร ไม่ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของสารตัวอย่าง ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ดีต้องมีส่วนประกอบคงตัวเสถียร ไม่เปลี่ยนแปลงง่ายเก็บได้นานและไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ

**2.3.2.3 ขั้วไฟฟ้าช่วย (Counter electrode)** จะมีคุณสมบัติเฉพาะคือ ทำหน้าที่เป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดีเป็นขั้วที่ถ่ายเทไฟฟ้าจากขั้วไฟฟ้าใช้งานผ่านสารละลายเพื่อให้สารตัวอย่างเกิดปฏิกิริยาเคมี ขั้วไฟฟ้าช่วยมักมีพื้นที่ผิวมากๆ เพื่อให้การนำไฟฟ้าเกิดขึ้นได้ดีและควรมีความเสถียรในช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่ใช้งาน ได้กว้างนำไฟฟ้าได้ดี เช่น แพลทินัม หรือ กลาสติคาร์บอน

**2.3.2.4 ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode)** โดยทั่วไปนิยมกำหนดให้มีขนาดเล็กเพื่อให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับสารตัวอย่างน้อยๆทำให้เกิดสภาวะโพลาไรเซชันตลอดการวิเคราะห์ มักใช้ขั้วไฟฟ้าที่เฉื่อยเช่น แพลทินัมหรือทอง ไพโรไลติกกราไฟต์ กลาสติคาร์บอน หรือปรอท

สำหรับการวิเคราะห์โดยโวลแทมเมทรีนั้นขั้วไฟฟ้าใช้งานมีผลโดยตรงอย่างมากต่อประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ ขึ้นอยู่กับวัสดุที่ใช้ทำขั้วไฟฟ้าใช้งาน ซึ่งขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ดีควรจะให้ค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนที่สูงรวมทั้งมีการตอบสนองที่คงที่เชื่อถือได้ตลอดอายุการใช้งาน สิ่งที่ควรพิจารณาในการเลือกวัสดุใช้ทำขั้วไฟฟ้าใช้งานคือ ลักษณะของปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์และกระแสพื้นในช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ใช้งาน ปัจจัยย่อยอื่นๆที่นำมาพิจารณา

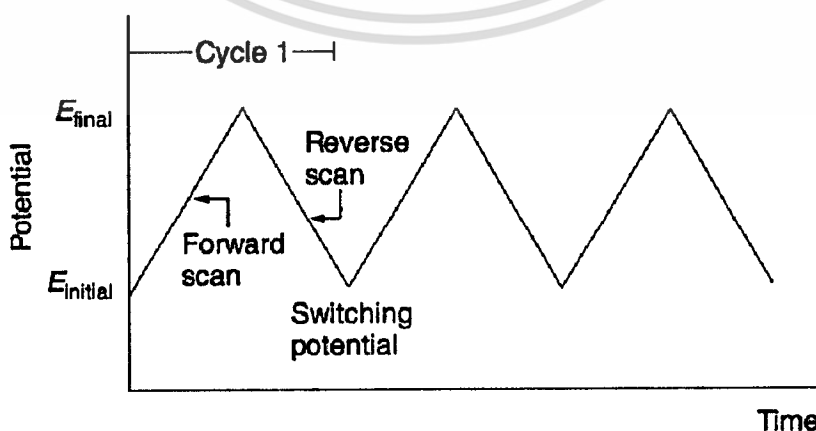
เช่น ช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่ใช้งานได้ ค่าความนำไฟฟ้า ราคา ความยากง่ายในการหา ความเป็นพิษ เป็นต้น



รูปที่ 2.7 แสดงช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานที่สามารถทนได้ของวัสดุที่ใช้ทำขั้วชนิดต่างๆ กับอิเล็กโทรไลต์ช่วย ชนิดต่างๆ

### 2.3.3 เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

เทคนิคโวลแทมเมตรีเป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันมากเพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงคุณภาพเกี่ยวกับปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าของสารที่เราศึกษา และยังใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่น้อยมาก อีกทั้งยังให้ข้อมูลทางด้านเทอร์โมไดนามิกส์ของกระบวนการรีดอกซ์ และจลนศาสตร์ของสารผสม โวลแทมเมตรีเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี ที่ต้องให้ศักย์ไฟฟ้าในลักษณะสามเหลี่ยมหน้าจั่วให้แก่ขั้วไฟฟ้า และวัดปริมาณกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น



รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะการจ่ายศักย์ไฟฟ้าเทียบกับเวลา

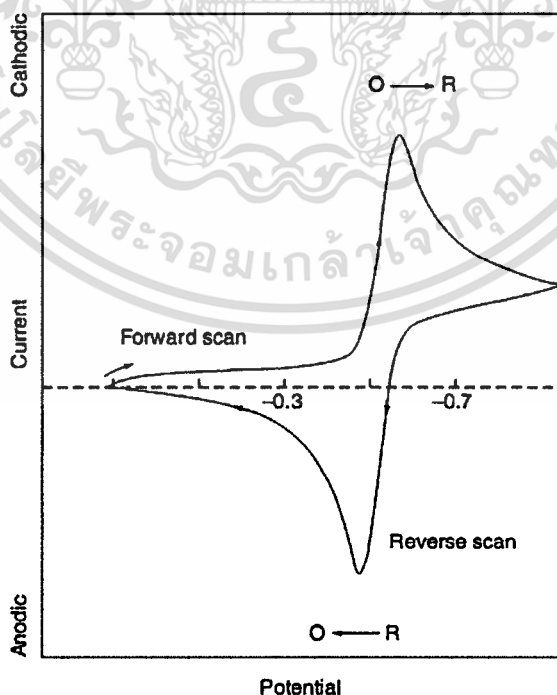
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระแสไฟฟ้าที่ได้จากการให้ศักย์ไฟฟ้าที่ชั่วไฟฟ้าทำงานและนำค่าที่ได้ไปสร้างเป็นกราฟระหว่างค่ากระแสไฟฟ้าเทียบกับศักย์ไฟฟ้าที่ให้ เรียกว่า ไชคลิก โวลแทมโมแกรม (cyclic voltammogram)

การให้ศักย์ไฟฟ้าในไชคลิกโวลแทมเมทรจะเป็นการให้ศักย์ไฟฟ้าตามค่า scan rate ซึ่งเทียบกับเวลาจนถึงจุดสูงสุดและลดศักย์ไฟฟ้าในทิศทางตรงข้ามด้วย scan rate เดียวกัน โดยสามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่ชั่วไฟฟ้าทำงานกับเวลา ณ จุดต่าง ๆ ตามความสัมพันธ์ซึ่งแสดงในสมการที่ (1)

$$V = \frac{dE}{dt} \quad (1)$$

การเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ในเคมีไฟฟ้า เช่นการให้ศักย์ไฟฟ้าในทิศทางที่เป็นลบแก่ชั่วไฟฟ้าทำงาน สารที่อยู่ในรูปของออกซิไดซ์ตอนเริ่มแรกของการให้ศักย์ไฟฟ้ายังไม่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน จนกระทั่งให้ศักย์ไฟฟ้าใกล้จะถึง  $E^\circ$  จะเริ่มเกิดกระแสแคโทดิกเกิดขึ้น ( $O + e^- \rightarrow R$ ) จนกระทั่งมีการให้ศักย์ไฟฟ้าในทิศทางย้อนกลับจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ( $R \rightarrow e^- + O$ ) และให้กระแสแอนอดิก

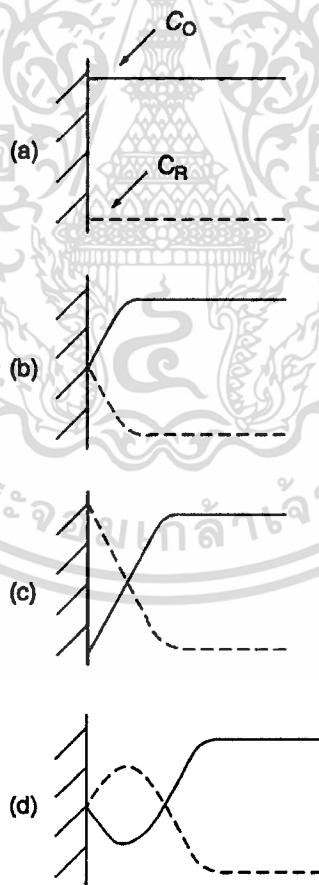


**รูปที่ 2.9** แสดงลักษณะสัญญาณของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผันกลับได้จากการสแกนศักย์หนึ่งรอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยสมมติว่าเริ่มแรกมีเฉพาะ O เท่านั้น เมื่อเลือกให้ศักย์ไฟฟ้าไปในทางลบสำหรับครึ่งรอบแรก เริ่มจากค่าที่ไม่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าจนเข้าใกล้  $E^\circ$  ของปฏิกิริยา จะเริ่มมีกระแส cathodic เพิ่มขึ้นจนกระทั่งมีลักษณะเป็นพีก เมื่อแสกนศักย์ไฟฟ้าจนถึงจุดสุดท้ายจากนั้นก็ทำการแสกนสวิตช์กลับ ในระหว่างที่ทำการแสกนกลับ โมเลกุล R จะถูกออกซิไดซ์กลับเป็น O และก็จะได้กระแส anodic

ลักษณะของพีกในไซคลิกโวลแทมโมแกรมเกิดจากลักษณะการเกิดขึ้น diffusion layer บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ระหว่างการเกิดกระบวนการสวิตช์กลับศักย์ไฟฟ้า ตัวอย่างรูปที่ 2.10 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นที่ละเอียดๆ ของ reactant และ product ที่เวลาต่างๆกัน (a) คือที่ค่าศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้น (b) และ (d) อยู่ในขณะที่กำลังจ่ายศักย์ไฟฟ้า (แสกนไปและแสกนกลับตามลำดับ) และ (c) ในขณะที่ความเข้มข้นของ reactant บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเป็นศูนย์ ทั้งหมดเป็นการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอย่างต่อเนื่องที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่แสดงให้เห็นในลักษณะตามความหนาของชั้น diffusion layer จากผิวหน้าขั้วไฟฟ้า



รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะการของความเข้มข้นเทียบกับระยะทางที่ห่างจากผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของ

แต่ละช่วงเวลาของการจ่ายศักย์ไฟฟ้าของไซคลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พีคกระแสที่ได้เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอย่างต่อเนื่องกับเวลา ดังนั้นพีคกระแสที่เพิ่มขึ้นเป็นไปในทางเดียวกับ diffusion control ที่เกิดขึ้น ในขณะที่กระแสลดลงจะเห็นว่าขึ้นอยู่กับเวลา  $t^{-1/2}$  (ขึ้นอยู่กับศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายไป) ด้วยเหตุผลดังกล่าวกระแสที่เกิดขึ้นในทางกลับกันจึงมีลักษณะที่คล้ายๆกัน

### 2.3.4 การแปลผลข้อมูล

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม เราจะได้ข้อมูลมาสี่ค่าเป็นอย่างน้อย คือ ค่ากระแสพีค สองค่า และค่าศักย์พีคอีกสองค่า ซึ่งได้เริ่มมีการศึกษาพัฒนาขึ้นมาโดย Nicholson และ Shain

#### 2.3.4.1 ระบบปฏิกิริยาผันกลับได้

Randles-Sevcik ได้แสดงกระแสพีคสำหรับปฏิกิริยาแบบผันกลับได้ออกมาในรูปสมการเรียกว่าสมการ Randles-Sevcik equation

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

เมื่อ  $n$  คือ จำนวนของอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา

$I_p$  คือ กระแสพีคมีหน่วยเป็นแอมแปร์

$A$  คือ พื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ( $\text{cm}^2$ )

$C$  คือ ความเข้มข้น ( $\text{mol/cm}^3$ )

$D$  คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )

$v$  คือ อัตราเร็วการสแกน ( $\text{V/s}$ )

จากสมการนี้แล้วจะเห็นว่ากระแสที่ได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารซึ่งเพิ่มขึ้นในอัตราส่วนเท่ากับรากที่สองของอัตราเร็วการสแกน อัตราส่วนของกระแสพีคย้อนกลับกับกระแสพีคไปข้างหน้าจะเท่ากับหนึ่ง ( $i_{p,c}/i_{p,a}=1$ ) สำหรับระบบผันกลับได้ง่ายๆโดยทั่วไป ซึ่งปฏิกิริยาเคมีของกระบวนการรีดอกซ์มีผลโดยตรงอย่างมากต่ออัตราส่วนพีคดังกล่าว ซึ่งพีคกระแสสามารถทำการวัดได้โดยคำนวณเทียบกับกระแสพื้น

ตำแหน่งของพีคบนแกนศักย์ ( $E_p$ ) สัมพันธ์กับค่าศักย์ไฟฟ้าที่เฉพาะสำหรับปฏิกิริยารีดอกซ์นั้น (ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐาน) ซึ่งศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานสำหรับปฏิกิริยาที่ผันกลับได้คือค่ากลางระหว่าง  $E_{p,a}$  และ  $E_{p,c}$

$$E^\circ = \frac{E_{p,a} + E_{p,c}}{2} \quad (3)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกระหว่างศักย์พีคทั้งสองแสดงความสัมพันธ์ได้โดยสมการ

$$\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c} = \frac{0.059}{n} V \quad (4)$$

ดังนั้นการแยกกันของพีคสามารถใช้หาจำนวนอิเล็กตรอนที่เกิดการถ่ายเทได้ด้วย และเป็นหลักเกณฑ์เดียวกันกับพฤติกรรมลักษณะ Nernstian ตามนี้แล้วอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องหนึ่งตัวจะได้ค่า  $\Delta E_p$  ประมาณ 59 mV. ทั้งศักย์พีค cathodic และศักย์พีค anodic ไม่ได้ขึ้นอยู่กับอัตราเร็วในการสแกน แต่เป็นไปได้ว่าจะโยงความสัมพันธ์ของค่าศักย์ไฟฟ้าครึ่งพีค ( $E_{p/2}$  คือค่าศักย์ไฟฟ้าจุดที่กระแสเท่ากับครึ่งหนึ่งของกระแสพีค) กับศักย์ไฟฟ้าครึ่งคลื่น  $E_{1/2}$  ของโพลารแกรม ดังสมการ

$$E_{p/2} = E_{1/2} \pm \frac{0.028}{n} V \quad (5)$$

( สำหรับกระบวนการรีดอกซ์จะเป็นบวก )

### 2.3.4.2 ระบบที่ผันกลับไม่ได้และกึ่งผันกลับได้

สำหรับกระบวนการที่ผันกลับไม่ได้ (เนื่องมาจากการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนเกิดขึ้นได้ช้า) พีคจะมีค่ากระแสที่ลดลงและพีคมีขนาดกว้างแยกออกจากกันมากขึ้นดังกราฟ A รูปที่ 2.11 ระบบที่ผันกลับไม่ได้สามารถบอกได้จากการเลื่อนของศักย์พีคเมื่อเปลี่ยนอัตราเร็วการสแกน ตามสมการ

$$E_p = E^\circ - \frac{RT}{\alpha n_a F} \left[ 0.78 - \ln \frac{k}{D^{1/2}} = \ln \left( \frac{\alpha n_a F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (6)$$

เมื่อ

$\alpha$  คือ transfer coefficient

$k^\circ$  คือค่าคงที่ของปฏิกิริยาการเคลื่อนที่อิเล็กตรอน (heterogeneous rate)

$n_a$  คือ จำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนการถ่ายเทอิเล็กตรอน

$E_p$  คือค่าศักย์ไฟฟ้าที่มีกระแสสูงสุด

$E^\circ$  คือ ศักย์ขั้วไฟฟ้ามาตรฐาน (V)

R คือ ค่าคงที่ของแก๊ส ( $R = 8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ,  $R = 0.0821 \text{ liter atm mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )

T คือ อุณหภูมิเคลวิน (K)

F คือ ค่าคงที่ฟาราเดย์ =  $96500 \text{ C mol}^{-1}$

ดังนั้น  $E_p$  จะเกิดที่ศักย์ไฟฟ้าสูงกว่า  $E^\circ$  เสมอ ศักย์ไฟฟ้าเกินตัว (overpotential) จะสัมพันธ์กับค่า  $k^\circ$  และค่า  $\alpha$  ซึ่งค่าศักย์ไฟฟ้าของพีค ( $E_p$ ) (peak potential) และค่าศักย์ไฟฟ้าครึ่ง

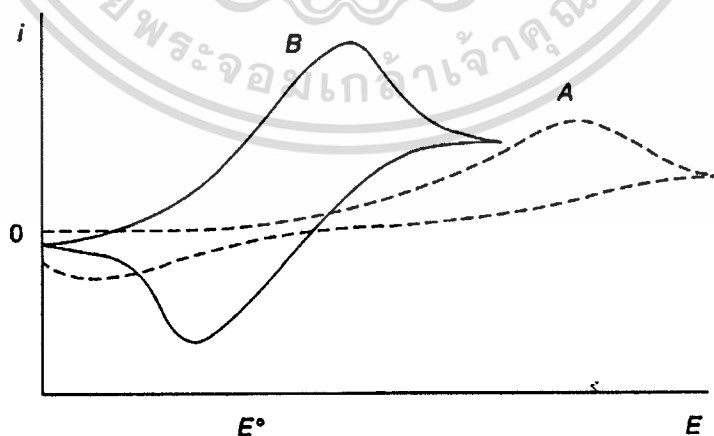
พีค ( $E_{p/2}$ ) (half-peak potential) ที่ 25 °C จะมีค่าแตกต่างกันเท่ากับ  $\frac{48}{\alpha n}$  มิลลิโวลต์ หรือ [56]

$$|E_p - E_{p/2}| = 2.20 \frac{RT}{nF} \text{ mV} = \frac{56.5}{n} \text{ mV}$$

ดังนั้น ระยะห่างระหว่างยอดพีคของโวลแทมโมแกรมในการเกิดปฏิกิริยาจะกว้างออกมากกว่าเดิม เมื่อ  $\alpha n$  ลดลง กระแสพีคมีความสัมพันธ์ดังสมการ

$$i_p = (2.99 \times 10^5) n(\alpha n_a)^{1/2} ACD^{1/2} \nu^{1/2} \quad (7)$$

ซึ่งยังคงเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายทั้งหมด แต่จะมีค่าค่าที่ความเข้มข้นสูง (ขึ้นอยู่กับค่า  $\alpha$ ) เช่น ถ้าค่าของ  $\alpha = 0.5$  อัตราส่วนของกระแสไฟฟ้าในปฏิกิริยาผันกลับได้หารด้วยกระแสในปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ (reversible/irreversible) จะมีค่าเท่ากับ 1.27 ซึ่งค่าของพีคกระแสไฟฟ้าในปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ จะมีค่าประมาณ 80% ของพีคกระแสไฟฟ้าในปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ สำหรับระบบกึ่งผันกลับได้ค่า  $k^0$  จะอยู่ระหว่าง  $10^{-5} - 10^{-1}$  cm/s ปริมาณของกระแสไฟฟ้าจะถูกควบคุมโดยความเร็วในการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน และการเคลื่อนที่ของมวลรูปร่างของไซคลิกโวลแทมโมแกรมจะเป็นฟังก์ชันของ  $k^0 / \sqrt{\pi a D}$  (โดยที่  $a = nF\nu / RT$ ) เมื่ออัตราส่วนของ  $k^0 / \sqrt{\pi a D}$  มีค่าเพิ่มขึ้นกระบวนการจะมีลักษณะเข้าใกล้กรณีระบบผันกลับได้ สำหรับกรณี  $k^0 / \sqrt{\pi a D}$  มีค่าน้อยๆ (เช่นกรณีที่อัตราเร็วในการสแกนสูง) ระบบจะแสดงพฤติกรรมในลักษณะระบบผันกลับไม่ได้ โดยรวมทั้งหมดแล้วโวลแทมโมแกรมของระบบกึ่งผันกลับได้จะมีลักษณะที่แผ่ขยายออกและศักย์ไฟฟ้าพีคจะแยกจากกันกว้างมากขึ้นเมื่อเทียบกับระบบที่ผันกลับได้

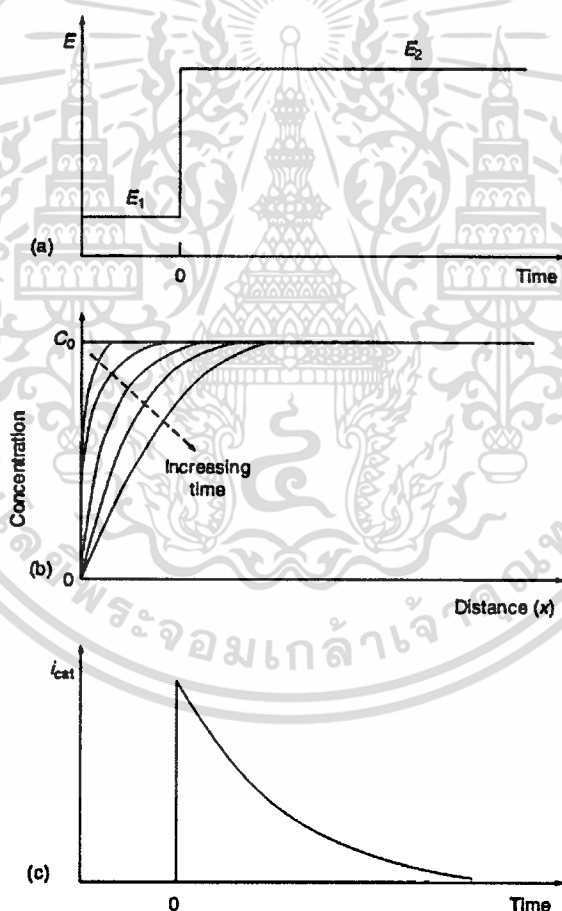


รูปที่ 2.11 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมแบบผันกลับได้ (B) และแบบกึ่งผันกลับได้ (A)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.4 โครโนแอมเพอโรเมทรี

โครโนแอมเพอโรเมทรีเป็นเทคนิคที่ให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าทำงานในลักษณะคงที่ โดยจ่ายศักย์ไฟฟ้าให้แก่ขั้วไฟฟ้าใช้งานจากค่าตรงจุดที่เกิด faradaic reaction เริ่มจากจุดศักย์ไฟฟ้าที่ความเข้มข้นของ electroactive species ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ามีผลเป็นศูนย์ (รูปที่ 2.12 a) ใช้ขั้วไฟฟ้าอยู่กับที่และปราศจากการกวนสาร การเคลื่อนที่ของมวลภายใต้สภาวะนี้จะมีเพียงการแพร่ กราฟของปริมาณกระแสที่ได้จะเป็นผลมาจากการเปลี่ยนความเข้มข้นอย่างต่อเนื่องที่ละน้อยๆ ในบริเวณใกล้เคียงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า รวมถึงการค่อยๆ แผ่ขยายออกชั้นการแพร่พร้อมกับ reactant ที่ลดลงที่ละน้อยๆ และดังนั้นผลที่แสดงความเข้มข้นจะเห็นว่าค่อยๆ ลดลงในลักษณะลาดชันตามเวลาที่ผ่านไป (รูปที่ 2.12 b) ตามนี้แล้วกระแสไฟฟ้า (ที่ planar electrode) ลดลงเทียบกับเวลาที่ผ่านไป (รูปที่ 2.12 c)



**รูปที่ 2.12** แสดงความสัมพันธ์ของ โคร โนแอมเพอโรเมทรี (a) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ศักย์ไฟฟ้าและเวลา (b) ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงเทียบกับ ระยะทางที่เวลาต่างๆ (c) กราฟแสดงกระแสที่อ่านได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเขียนเป็นสมการแสดงความสัมพันธ์เรียกว่าสมการ Cottrell equation

$$i(t) = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}} kt^{-1/2} \quad (8)$$

เมื่อ  $i$  คือกระแสการแพร่ มีหน่วยเป็น แอมแปร์ (A)

$n$  คือจำนวนของอิเล็กตรอน

$F$  คือค่าคงที่ Faraday มีหน่วยเป็น  $C \text{ mol}^{-1}$

$A$  คือพื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร

$C$  คือความเข้มข้น มีหน่วยเป็น โมลาร์

$D$  คือค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ มีหน่วยเป็น  $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$

$t$  คือเวลา มีหน่วยเป็นวินาที

ดังนั้น  $it^{1/2}$  คงที่ มักอยู่ในเทอม “Cottrell behavior” ซึ่งเบี่ยงเบนไปจากพฤติกรรมที่ปรากฏที่ระยะเวลายาวนาน (มากกว่า 100 วินาที) เป็นผลจากการพาตามธรรมชาติ หรือเมื่อใช้ขั้วไฟฟ้าจุลภาค (microelectrodes) ที่มีอัตราส่วนเส้นรอบวงต่อพื้นที่ผิวสูง ในกรณีหลังเป็นกรณีกระแส (เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้น) ที่ขึ้นกับเวลา ที่ได้ที่เวลา  $t > 0.1$  วินาที เนื่องจากมีรัศมีของการแพร่ที่กว้าง

ขั้วไฟฟ้าแบบ spherical electrodes ก็ใช้หลักในการพิจารณาคล้ายๆกัน ซึ่งค่ากระแสที่ตอบสนองจะเป็นไปตามขั้นของศักย์ไฟฟ้าซึ่งจะมีทั้งส่วนที่เป็น time-dependent ดังแสดงส่วนที่เป็น time-independent ดังสมการ

$$i(t) = nFAD_oC_o(b)/(\pi D_o t)^{1/2} + nFAD_oC_o \quad (9)$$

สำหรับค่า  $t$  น้อยๆ ( $t < 50 \text{ ms}$ ) สัญญาณของโคร โนแอมเพอ โรเมทริก จะมีสัญญาณพื้นของการอัดกระแสรวมอยู่ด้วย

$$i_c = \frac{E}{R_s} e^{-\frac{t}{RC}dt} \quad (10)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(การอัดกระแสไฟฟ้าจะเหมือนที่เกิดขึ้น เมื่อเราจ่ายศักย์ไฟฟ้าเข้าไปในวงจรแบบอนุกรม (series RC circuit)) กระแสการอัดประจุนี้จะลดลงในลักษณะเอกโพเนนเชียลซึ่งเป็นสัญญาณตอบสนองให้เราเห็นแม้ไม่มี electroactive species ก็ตาม

โครโนแอมเพอโรเมทรี นิยมใช้สำหรับวัดค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของ electroactive species หรือวัดพื้นที่ผิวของหน้าขั้วไฟฟ้าทำงาน และใช้งานทางด้านวิเคราะห์ทดสอบสารชีวภาพ เช่น กลูโคสในเลือด หรืองานทางด้านเอนไซม์ (จะกล่าวรายละเอียดในเรื่อง Electrochemical biosensors) โครโนแอมเพอโรเมทรียังสามารถประยุกต์ใช้ในการศึกษากลไกที่เกิดขึ้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า โครโนแอมเพอโรเมทรียังสามารถบันทึกค่าประจุ (บันทึกประจุเทียบกับเวลา charge-time dependence) ซึ่งสามารถทำได้โดยรวบรวมค่ากระแสที่ได้จากศักย์ไฟฟ้าต่างๆ และทำการปรับแก้ค่าให้ถูกต้อง โดยเพิ่มค่าประจุเนื่องจาก double-layer charging ( $Q_{dl}$ ) และค่าประจุที่เกิดจากปฏิกิริยาการดูดซับ ( $Q_i$ )

$$Q = \frac{2nFACD^{1/2}t^{1/2}}{\pi^{1/2}} + Q_{dl} + Q_i \quad (11)$$

ซึ่งเทคนิคการวัดประจุเรียกว่า โครโนคูลอมเมทรี (chronocoulometry) ซึ่งสามารถใช้สำหรับวัดปริมาณตัวทำปฏิกิริยาที่ถูกดูดซับอยู่ ( เนื่องจากสามารถที่จะแยกแยะค่าประจุที่เกิดขึ้นจากการดูดซับและที่เกิดจากสารถละลายได้) การสร้างกราฟของประจุ ( $Q$ ) เทียบกับเวลา  $t^{1/2}$  เรียกว่า Anson plot ค่าของจุดตัดแกนที่เวลาเท่ากับศูนย์ก็คือค่าของประจุรวม ( $Q_{dl}$  และ  $Q_i$ ) ที่เกิดจาก double-layer charging และปฏิกิริยาการดูดซับ ซึ่งสามารถประมาณค่าจุดตัดแกนที่ได้นี้แล้วนำไปหักลบเพื่อปรับแก้ค่าเป็นการหักลบค่าของสารถละลาย blank solution ออกไปได้ที่ให้ได้ผลการทดลองที่ถูกต้องยิ่งขึ้น

## 2.4 Electrochemical biosensors [53-58]

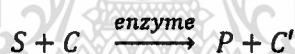
Electrochemical biosensors เป็นการรวมระหว่างเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้ากับเทคนิคเฉพาะทางชีวภาพ โดยใช้หลักการทางชีวภาพในการทำให้เกิดสัญญาณทางไฟฟ้าที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยทั่วไปใช้สารชีวภาพมาเคลือบบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ซึ่งมีทั้งใช้การตรวจวัดโดยใช้วิธีแอมเพอโรเมทรีหรือโพเทนทิโอมेटรี โดยทั่วไป electrochemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

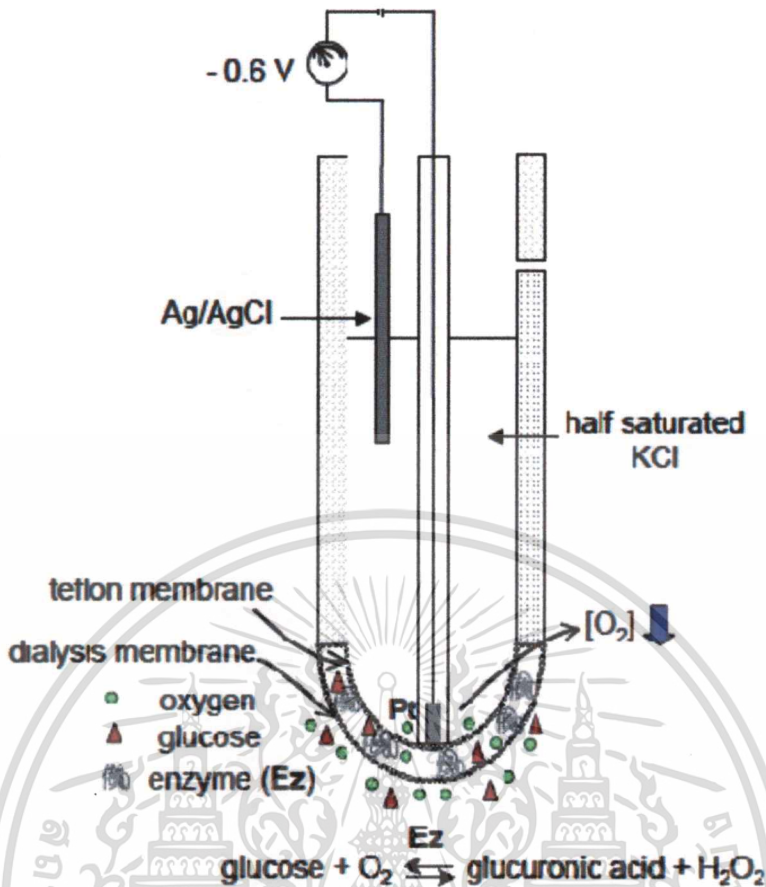
biosensors แบ่งออกเป็นสองอย่างหลักๆ ตามลักษณะตามธรรมชาติของกระบวนการทางชีวภาพที่เกิดขึ้นคือ biocatalytic devices (ใช้เอนไซม์, เซลล์, หรือเนื้อเยื่อ tissues เป็นส่วนประกอบทางชีวภาพมาเคลือบ) และ affinity sensors (ใช้หลักของ antibodies, membrane receptors, หรือ nucleic acids)

### 2.4.1 ขั้วไฟฟ้าเอนไซม์

เอนไซม์คือโปรตีนที่สามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีในระบบสิ่งมีชีวิต ซึ่งไม่เพียงแต่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพดีมาก เท่านั้นแต่ยังมีความจำเพาะเจาะจงสูง ดังนั้นการใช้เอนไซม์จึงเป็นการรวมเอาคุณสมบัติทั้งความสามารถในการจำแนกเฉพาะและความสามารถขยายสัญญาณด้วยไปพร้อมกัน ซึ่งเป็นสิ่งที่มีประสิทธิภาพที่ดีสำหรับการใช้งานด้านตรวจวิเคราะห์ ขั้วไฟฟ้าเอนไซม์ใช้หลักการนำเอนไซม์มาไว้เป็นชั้นของขั้วไฟฟ้า มีการใช้งานกันอย่างหลากหลายในงานวิเคราะห์ทางด้านต่างๆ เช่นทางการแพทย์ ด้านสิ่งแวดล้อม และด้านอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น ตัวอย่างการทำงานของขั้วไฟฟ้าเอนไซม์ดังแสดงในรูปที่ 2.13 ได้ทำการเคลือบชั้นของเอนไซม์ไว้เพื่อเร่งปฏิกิริยาในการให้สารตัวที่สามารถตรวจวัดได้ออกมา



เมื่อ S และ C คือสารตั้งต้นและตัวทำปฏิกิริยาร่วม (cofactor)  
P และ C' คือผลิตภัณฑ์ที่ได้



รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะขั้วไฟฟ้าเอนไซม์ซึ่งมีชั้นที่บรรจุเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ

การเลือกขั้วไฟฟ้าสำหรับการตรวจวัดขึ้นอยู่กับระบบเอนไซม์ที่เลือกใช้ด้วย เช่น โพรบแอมเพอโรเมตริก มีความเหมาะสมอย่างมากเมื่อใช้เอนไซม์พวก oxidase หรือ dehydrogenase (ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์จำพวกเปอร์ออกไซด์หรือ NADH ที่สามารถเกิดออกซิไดซ์ได้) ใช้ขั้วไฟฟ้าขั้วแก้ว pH-glass สำหรับเอนไซม์ที่ให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นต้น

ลักษณะของสัญญาณที่ได้จากขั้วไฟฟ้าเอนไซม์ขึ้นอยู่กับหลายๆ ตัวแปร ความเข้าใจเกี่ยวกับทฤษฎีพื้นฐานของหน้าที่ของแต่ละเอนไซม์จะทำให้สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพให้เพิ่มขึ้นได้ ปฏิกิริยาของเอนไซม์สามารถแสดงเป็นสมการอย่างง่ายได้ดังนี้



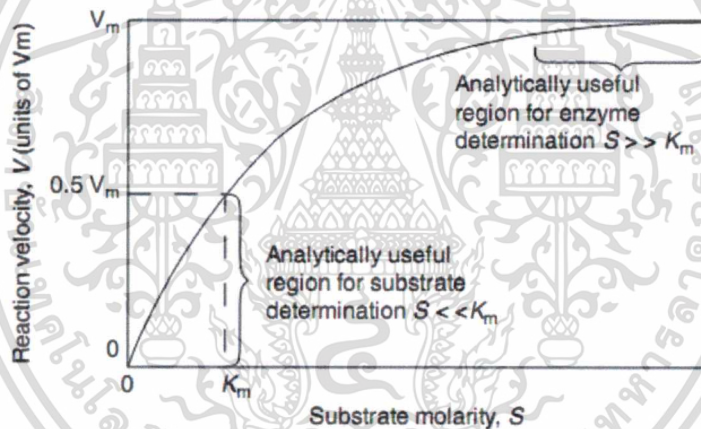
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกลไกนี้ตัวทำปฏิกิริยา S รวมกับเอนไซม์ E ไปอยู่ในรูปสารมัธยันต์ ES ซึ่งจะสามารถเปลี่ยนไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ P และได้เอนไซม์กลับคืนมา เมื่อกำหนดความเข้มข้นของเอนไซม์ให้คงที่อัตราของการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์สามารถคำนวณได้จากสมการของ Michaelis-Menten equation

$$V = V_m[S]/(K_m + [S]) \quad (13)$$

เมื่อ  $K_m$  คือค่าคงที่ของ Michaelis-Menten และ  $V_m$  คืออัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยา

เทอมของ  $K_m$  จะแปรไปตามความเข้มข้นของตัวทำปฏิกิริยาที่อัตราส่วนเท่ากับครึ่งหนึ่งของ  $V_m$  ในทางด้านซ้ายไฟฟ้าเอนไซม์เราควรจะได้ค่า  $V_m$  ที่สูงและค่า  $K_m$  ที่ต่ำ รูปที่ 2.14 แสดงผลของความเข้มข้นของตัวทำปฏิกิริยาที่มีต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยากับตัวแปร  $K_m$  และ  $V_m$



รูปที่ 2.14 แสดงความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น (กำหนดให้ค่า enzyme activity คงที่)

อัตราเร็วเริ่มต้นเพิ่มขึ้นพร้อมกับการเพิ่มขึ้นของตัวทำปฏิกิริยา จนกระทั่งถึงช่วงที่ตัวทำปฏิกิริยามีมากๆ และหลังจากที่เพิ่มความเข้มข้นของตัวทำปฏิกิริยาเข้าไปอีกจะทำให้อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาไม่สามารถเพิ่มขึ้นไปได้อีก ดังนั้นการที่กราฟมาตรฐานของความเข้มข้นเบี่ยงเบนไปสาเหตุหลักเกิดจากความเข้มข้นของตัวทำปฏิกิริยามากกว่าค่า  $K_m$  ของเอนไซม์ ตามนี้แล้วการทำให้ค่า  $K_m$  ต่ำๆจะทำให้ความไวในการวัดสูงขึ้นในช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานความเข้มข้นที่แคบๆ (ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการอิ่มตัวของเอนไซม์) การพิจารณาตามนี้ถือว่าปฏิกิริยา

เป็นไปตามทฤษฎีของ Michaelis-Menten kinetics ในการทำการทดลองจะสามารถเพิ่มช่วงความเอกลสารเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเส้นตรงให้กว้างขึ้นได้โดยเพิ่มค่า  $K_m$  เนื่องจากความเข้มข้นตัวทำปฏิกิริยาที่บริเวณขั้วไฟฟ้าจะน้อยกว่าบริเวณทั้งหมดของสารละลายนั้น

หลังจากมีการพัฒนาการผลิต electrode โดยใช้เทคนิค silk screen ทำให้การผลิต electrode มีความเที่ยงสูง แต่มีขนาดและราคาตกลงอย่างมาก ในปี 1987 บริษัท Medisense, USA จึงได้ผลิต biosensor device รูปแบบต่างๆ ออกมา ตั้งแต่ รูปปากกา credit card, computer mouse เป็นต้น จำหน่ายในนามของบริษัท Abbott, Boehringer Mannheim และ Bayer และทำให้เทคนิคการตรวจวัดแบบ home testing ด้วยหลักการ dry reagent chemistry (DRC) ซึ่งใช้ Reflectance photometry ลดลงอย่างมาก

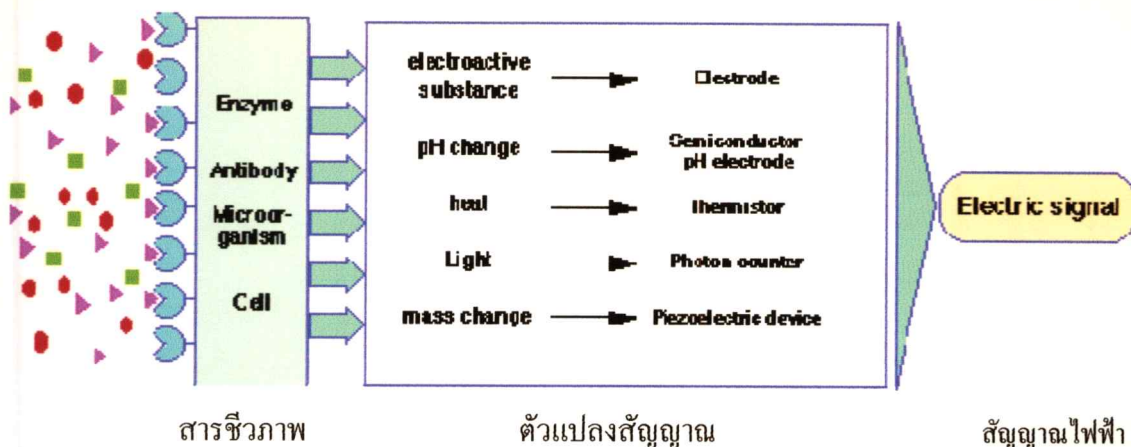
#### 2.4.2 โครงสร้างและการทำงานของตัวตรวจวัดทางชีวภาพ

การทำงานของตัวตรวจวัดทางชีวภาพมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอนแรก ทำการตรึงสารชีวภาพเข้ากับตัวแปลงสัญญาณเพื่อสร้างไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์สารที่ต้องการ

ขั้นตอนที่สอง นำไบโอเซนเซอร์ที่ได้มาทำการตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ ในขั้นตอนนี้สารที่ต้องการวิเคราะห์จะจับกับไบโอเซนเซอร์ที่ตำแหน่งจำเพาะเจาะจงตรงส่วนของสารชีวภาพที่เราติดบนตัวไบโอเซนเซอร์ เราเรียกขั้นตอนนี้ว่า กลไกการจดจำทางชีวภาพ (Biological recognition mechanism) จากการเข้าจับกันทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีและมีการถ่ายทอดสัญญาณเฉพาะ (Indicated signal) ซึ่งอาจเป็นอิเล็กทรอนิกส์ แสง และอื่นๆ เข้าสู่ตัวแปลงสัญญาณ

ขั้นตอนที่สาม ตัวแปลงสัญญาณรับและเปลี่ยนสัญญาณเฉพาะเป็นสัญญาณไฟฟ้าผ่านเครื่องอ่านสัญญาณออกมา ทำให้เราสามารถอ่านค่าได้ เรียกขั้นตอนนี้ว่า เทคนิคของการรับและแปลงสัญญาณทางกายภาพ (Physical transduction technique) และเมื่ออ่านค่าได้ก็ทำให้ทราบว่าสารที่เราวิเคราะห์นั้นเป็นสารใด โครงสร้างของตัวตรวจวัดทางชีวภาพ โดยรวมแล้วแบ่งเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ ส่วนแรก สารชีวภาพ (Biological Substance) และ ส่วนที่สอง ตัวแปลงสัญญาณ (transducer)



รูปที่ 2.15 แสดงหลักการทำงานของตัวตรวจวัดทางชีวภาพ

### 2.4.3 สารชีวภาพ (Biomolecules หรือ Bio-substances)

เป็นสารที่มีความสามารถทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์อย่างจำเพาะเจาะจง เป็นส่วนที่ทำให้เกิดสัญญาณประกอบด้วยสารทางชีวภาพที่ตรึงอยู่กับ transducer ส่วนนี้อาจเรียกว่า detector หรือ probe สารชีวภาพที่นำมาใช้ใน biosensor จะต้องเป็นสารที่มีความไวในทางชีวภาพ ทำหน้าที่ตรวจจับหรือทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ต้องการตรวจได้อย่างจำเพาะ เกิดเป็นสัญญาณชี้แนะ (Indicated signal) ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นสัญญาณทางไฟฟ้าโดย transducer

Biosensors สามารถแบ่งตามสารชีวภาพที่นำมาใช้ได้ดังนี้

1. Enzyme sensor ใช้สารชีวภาพเป็นเอนไซม์ ตั้งแต่ 1 ชนิดขึ้นไป เช่น การตรวจระดับกลูโคสโดยใช้ glucose oxidase, การหาปริมาณโคเลสเตอรอลโดยใช้ cholesterol oxidase เป็นต้น เอนไซม์ที่ใช้ อาจตรึงอยู่บน transducer หรือบน Oxygen electrode โดยตรงก็ได้

2. Microbial sensor ใช้เซลล์ หรือชิ้นส่วนของเซลล์จุลินทรีย์เป็นสารชีวภาพ เช่น *E. coli* เพื่อหาปริมาณยาปฏิชีวนะ tetracycline hydrochloride โดยเซลล์หรือเชื้อจุลินทรีย์ทำหน้าที่เป็นแหล่งเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยา ซึ่งมีข้อดีกว่าการใช้เอนไซม์โดยตรงตามข้อ 1. คือ ไม่ต้องแยกเอนไซม์ที่บริสุทธิ์ออกจากเซลล์ ไม่ต้องเติมสารที่ช่วยการทำงาน (cofactor) ของเอนไซม์ แต่ข้อเสียอาจเกิดจากการที่เซลล์ที่ใช้มีเอนไซม์หลายชนิด ทำให้ความจำเพาะเจาะจงน้อยลงไป มีการใช้เนื้อเยื่อจากพืช และสัตว์มาเป็นสารชีวภาพ เช่น การใช้เนื้อเยื่อของแตงเหลือง (yellow squash) ซึ่งมีเอนไซม์ glutamate decarboxylase เพื่อหาปริมาณกลูตาเมต และการใช้ตับวัวร่วมกับเอนไซม์ urease เพื่อหาปริมาณ arginine เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Bioaffinity sensor ใช้ antibody (Antibody-based biosensor) หรือ receptor (Receptor-based biosensor) เป็นสารทางชีวภาพ อาศัยการจับตัวกันระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี หรือ receptor กับ ligands (Analytes) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางมวลหรือความถี่ ที่สามารถตรวจจับได้โดย transducer ชนิด piezoelectric crystal

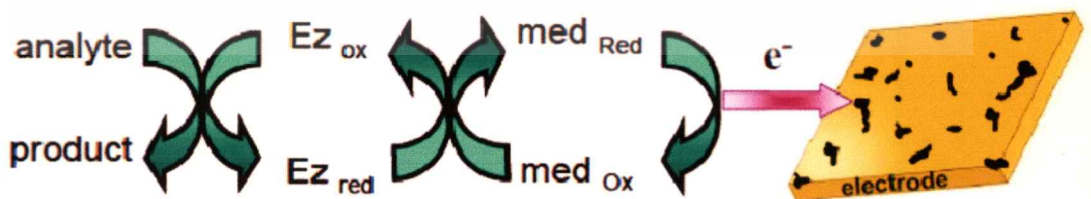
#### 2.4.4 Transducer

เป็นส่วนที่ทำหน้าที่แปลงสัญญาณและขยายสัญญาณซึ่งนำที่เกิดจากปฏิกิริยา หรือการจับกันระหว่างสารชีวภาพกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ สัญญาณเฉพาะต่างๆที่เกิดขึ้น เช่น อิเล็กตรอน แสง เป็นสัญญาณไฟฟ้าให้เป็นสัญญาณทางไฟฟ้า transducer ที่ดี จะต้องมีความไว (sensitivity) และสามารถตอบสนองได้ในช่วงปริมาณสัญญาณซึ่งนำที่เกิดขึ้นได้อย่างเหมาะสม transducer ที่นำมาใช้ในงาน biosensor มีแบบต่างๆ ดังนี้

1. Potentiometric biosensor
2. Optical biosensor
3. Piezoelectric crystal biosensor
4. Conductimeter
5. Amperometric biosensor

#### 2.4.5 Amperometric biosensor

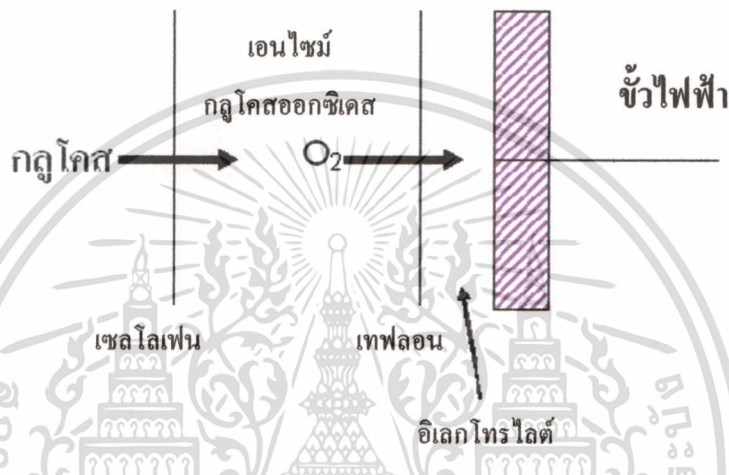
วัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น จากผลที่มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนจากสารตัวอย่างเข้าสู่ขั้วไฟฟ้า เมื่อเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์โดยการเร่งของเอนไซม์ แสดงลำดับขั้นตอนได้ดังรูปที่ 2.16



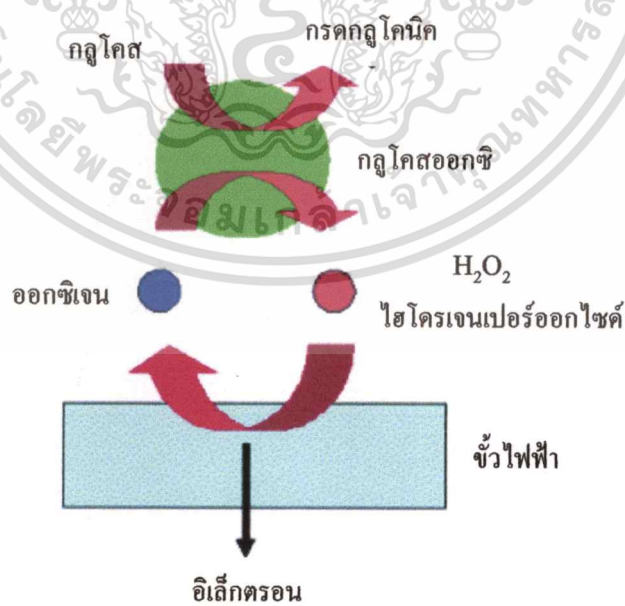
รูปที่ 2.16 ลำดับขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาจนถึงการถ่ายเทอิเล็กตรอนให้ขั้วไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง ของ biosensor ชนิดนี้ ที่นิยมใช้กัน ได้แก่ การวัดปริมาณกลูโคสในเลือดของ ตามวิธีของคลาด เขาได้ใช้เอนไซม์ชนิดหนึ่งเรียกว่าเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) หรือใช้ตัวย่อ GOD เนื่องจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสจะมีความจำเพาะเฉพาะกับกลูโคสเท่านั้น เพราะฉะนั้นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นก็เป็นผลมาจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสทำกับกลูโคส ขั้วบวกทำจากโลหะแพลทินัม ขั้วลบทำจากโลหะเงิน ตรงส่วนรับสัญญาณก็จะบรรจุเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสที่ตรึงบนพอลิเมอร์ โดยหุ้มไว้ด้วยเยื่อ 2 ข้างด้านที่ติดกับขั้วไฟฟ้าเป็นเยื่อเทฟลอน แต่ด้านที่ติดกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) จะเป็นเยื่อเซลโลเฟน



รูปที่ 2.17 แสดงกระบวนการที่ขั้วไฟฟ้างลูโคสเซนเซอร์



รูปที่ 2.18 หลักการในการตรวจวัดกลูโคสของคลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มต้นจากเมื่อกลูโคสแทรกผ่านเยื่อเซลล์โพลีเมอร์เข้ามาทำปฏิกิริยากับ เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสที่มีอีเล็กตรอนอยู่มาก กลูโคสจะกลายเป็น กรดกลูโคนิก ส่วน เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเมื่อถูกออกซิไดซ์ด้วยกลูโคส จะให้ 2 อีเล็กตรอนและ 2 ไฮโดรเจน ไอออนหรือ 2 โปรตอน แล้วกลายเป็นอยู่อีกรูปหนึ่ง ต่อมาออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลายจะ แทรกผ่านเยื่อเพฟลอนรับเอา 2 อีเล็กตรอนและ 2 โปรตอน กลายเป็น แก๊สไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ ที่ขั้วบวก เกิดเป็นสัญญาณไฟฟ้าต่อไป ส่วนกลูโคสตัวใหม่ก็สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลง ได้อีกเช่นเดียวกันเรื่อยไป เมื่อนำอิเล็กโทรดไปวัดสารตัวอย่างเพื่อหาปริมาณกลูโคส ปริมาณ ออกซิเจนที่ใช้ไปจะสัมพันธ์กับปริมาณของเอนไซม์ที่จับกับกลูโคส ดังนั้นปริมาณกลูโคสที่มีอยู่ก็ สามารถวัดได้โดยการวัดปริมาณแก๊สออกซิเจนที่เอนไซม์ใช้ไปนั่นเอง ปฏิกิริยารวมที่เกิดขึ้น ทั้งหมดคือ



โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยา คือ เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และที่ขั้วบวก จะเกิดปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีดังนี้



จากสมการ จะพบว่า ออกซิเจนมีเลขออกซิเดชันเปลี่ยนจาก 0 เป็น -1 นั่นแสดงว่าที่ อิเล็กโทรดมีการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าเคมีเกิดขึ้น จากการเปลี่ยนแปลงนี้เราก็สามารถวัดปริมาณ กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นหรือปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงได้ ถ้าเป็นการวัดกระแส ทรานควิวเซอร์ ของเซนเซอร์ชนิดนี้ก็จะจะเป็น amperometric transducer แต่ถ้าเป็นการวัดความต่างศักย์ก็จะเป็น potentiometric transducer

จะเห็นได้ว่า ปริมาณกลูโคสที่มีในสารตัวอย่างจะสัมพันธ์กับ

ก. กระแสที่เกิดขึ้น โดยเป็นผลจากการเกิดที่  $\text{H}_2\text{O}_2$  เกิดออกซิไดซ์อีกครั้ง (reoxidation) ที่ ลวด platinum ใน  $\text{O}_2$  electrode (ที่ปล่อยกระแสไฟฟ้าเข้าไปประมาณ 0.7 mV เทียบกับ Calomel electrode

ข. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เปลี่ยนไปจากการเกิด gluconic acid สามารถวัดปริมาณ การเปลี่ยนแปลงได้โดย pH electrode

ค. การถ่ายเทอิเล็กตรอน โดยมี mediator เป็นตัวรับ ซึ่งเดิมใช้ออกซิเจนในธรรมชาติเป็น mediator แต่ออกซิเจนมีผลในปฏิกิริยาเนื่องจาก oxidase ต้องใช้ออกซิเจนด้วย จึงมีการพัฒนา mediator ตัวอื่นมาใช้แทน ได้แก่ สาร redox ทั้ง organic และ inorganic รวมทั้ง organometallic mediator ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกรีดิวส์ได้ง่ายกว่าออกซิเจน และละลายในน้ำได้น้อย ทำให้นามาตรัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้ เช่น Benzoquinone, Polyviologen, Chloranil, Methylene blue, และ ferrocene derivatives เป็นต้น

การประยุกต์ใช้เอนไซม์ โดยเฉพาะในกลุ่ม oxidase เพื่อหาปริมาณสาร นอกจากทางคลินิก แล้ว ยังใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายชนิด เช่น lactate oxidase และ galactose oxidase ในการวัดปริมาณ lactate และ galactose ตามลำดับในอุตสาหกรรมนมและผลิตภัณฑ์นม การใช้ xanthine oxidase เพื่อวัดปริมาณ hypoxanthine ในการตรวจความสดของเนื้อปลา เป็น ตัวอย่างของการประยุกต์ใช้ไบโอเซนเซอร์ เช่น

- ใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม
- ใช้ในการควบคุมกระบวนการหมักต่างๆ
- ใช้ในการวิเคราะห์อาหารและน้ำดื่ม
- ใช้ในการตรวจวัดคุณภาพสิ่งแวดล้อม
- ใช้ในการตรวจรักษาทางการแพทย์
- ใช้ในอุตสาหกรรมการรักษาความปลอดภัยและความมั่นคง

## 2.5 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สาร โดยมีลักษณะคล้ายกับขั้วไฟฟ้าที่ใช้ทั่วไปคือประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าสามขั้ว ได้แก่ ขั้วทำงาน (Working electrode) ขั้วไฟฟ้าช่วย (auxiliary electrode) และขั้วอ้างอิง (reference electrode) ซึ่งใช้ Ag/AgCl เป็นขั้วอ้างอิง ใช้เทคนิคการพิมพ์สกรีนลงบนวัสดุรองรับที่มีลักษณะเป็นแผ่นผิวเรียบ เช่น กระดาษเซรามิกซ์ หรือ แผ่นโพลีเมอร์ เป็นต้น ซึ่งเทคนิคการพิมพ์สกรีนทำให้สามารถผลิตขั้วไฟฟ้าได้ที่ละมากๆพร้อมกันได้

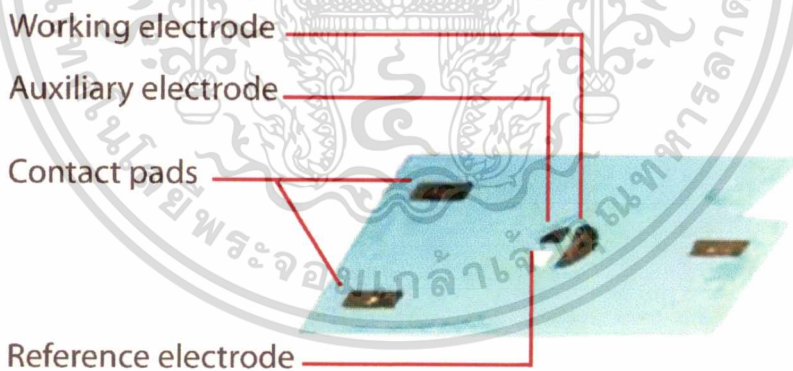
ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนสามารถนำมาทำการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าเพื่อให้มีคุณสมบัติได้อย่างหลากหลายเพื่อให้สามารถนำไปใช้ตรวจวัดสารต่างๆตามที่ต้องการได้ ปัจจุบันได้มีการศึกษาการใช้งานปรับปรุงขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเพื่อใช้งานทางด้านต่างๆกันอย่างแพร่หลายโดยใช้การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าใช้งานด้วยวิธีต่างๆเช่น การผสมสารที่ต้องการปรับปรุงลงไปที่มีสกรีนโดยตรง หรือการใช้โพลีเมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นที่ต้องการเคลือบไว้บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า เป็นต้น โดยทั่วไป ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนออกแบบมาให้มีขนาดเล็กและเพื่อให้ใช้แบบใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้ง หรือใช้กับเครื่องมือแบบพกพาได้โดยการเสียบแล้วใช้งานได้ทันที ข้อดีของการใช้งานแบบใช้ครั้งเดียว

ทั้งคือเป็นการลดการปนเปื้อนของสารตัวอย่างและการตรวจวัดแต่ละครั้งขั้วไฟฟ้าจะเป็นขั้วไฟฟ้าใหม่เสมอไม่มีการปนเปื้อนการรบกวนของสารตัวอย่างที่วัดก่อนหน้านี้

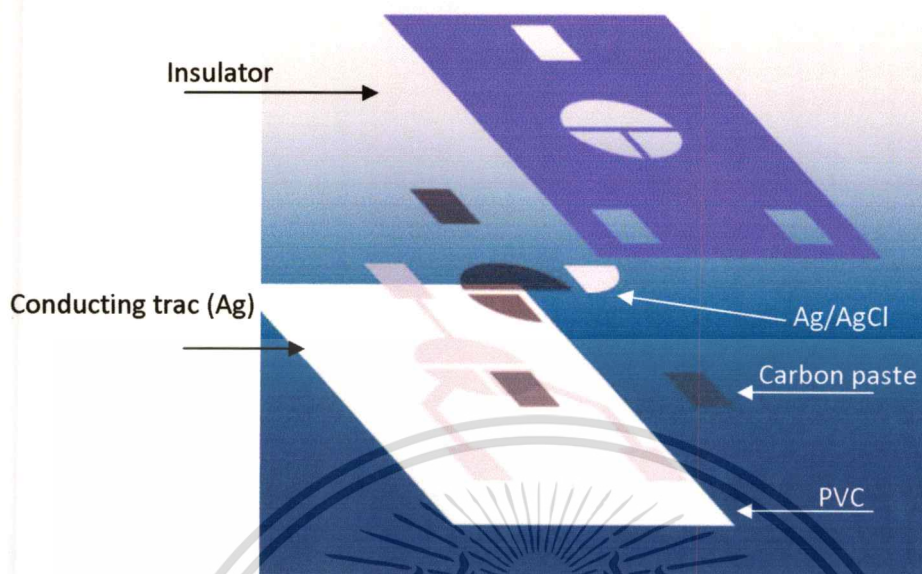


รูปที่ 2.19 ลักษณะ โดยทั่วไปของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ใช้ในงานวิจัยนี้

จากการที่ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินสามารถปรับปรุงได้หลากหลายเช่นเดียวกับขั้วไฟฟ้าที่ใช้งานทั่วไปและรวมกับข้อดีของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินดังกล่าวมาแล้ว การนำขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินไปประยุกต์และเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้งานจึงสามารถทำได้หลากหลายด้าน เช่น ด้านสิ่งแวดล้อม ด้านการแพทย์ หรือด้านอุตสาหกรรม เป็นต้น ทำให้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินมีความน่าสนใจเป็นอย่างมาก



รูปที่ 2.20 แสดงส่วนประกอบต่างๆของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ใช้



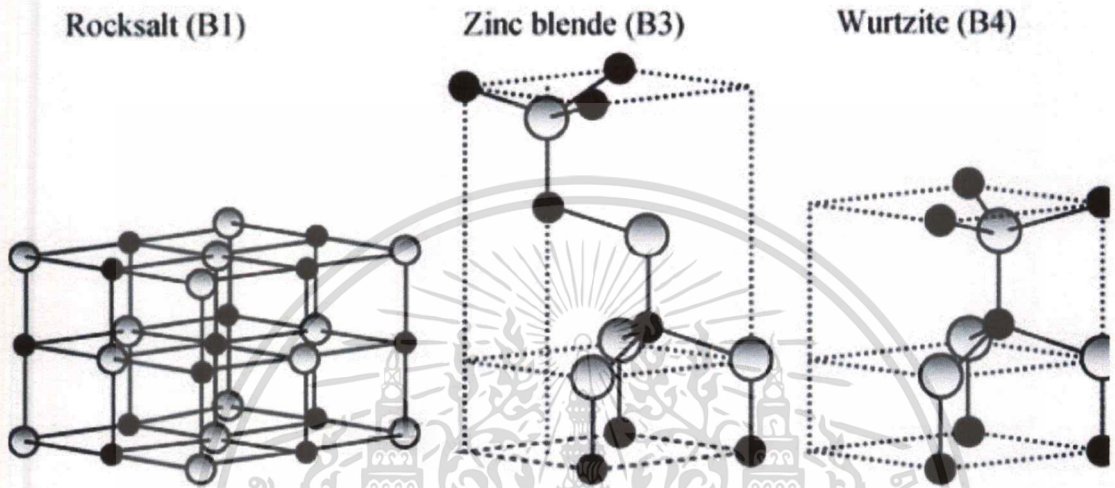
รูปที่ 2.21 แสดงส่วนประกอบชั้นต่างๆของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ใช้

## 2.6 ซิงค์ออกไซด์ [25-43, 59-62]

ซิงค์ออกไซด์เป็นวัสดุที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมสี อุตสาหกรรมยาง อุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา อุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอาง เป็นต้น ซิงค์ออกไซด์เป็นวัสดุสารกึ่งตัวนำชนิด n มีช่วง bandgap ที่กว้าง ( $E_g = 3.2$  eV) และเป็นตัวนำไฟฟ้าที่โปร่งแสงชนิดหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากเนื่องจากสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้อย่างมากมายหลายสาขานอกจากที่กล่าวมาข้างต้นแล้วเฉพาะในส่วนทางด้านอิเล็กทรอนิกส์นั้นยังสามารถนำมาใช้งานได้หลากหลายเช่น optoelectronic ใช้ทำเลเซอร์ในย่าน blue และ UV, Phosphors, เซลล์สุริยะ, Varistors, piezoelectronic devices (ถือเป็นลักษณะเด่นอีกประการของซิงค์ออกไซด์เนื่องจากเป็นสารออกไซด์นำไฟฟ้าโปร่งแสงที่มีคุณสมบัติทางด้านเพียโซอิเล็กทริกด้วย), และ Transistors ในปัจจุบันซิงค์ออกไซด์ผงได้มีการผลิตอยู่ทั่วโลก ซิงค์ออกไซด์ผงบริสุทธิ์ผลิตมาจากโลหะสังกะสี ส่วนมากใช้ในอุตสาหกรรมที่ไม่ใช่อิเล็กทรอนิกส์ เช่น ด้านยาง ด้านเคมี และเซรามิกซ์ เป็นต้น

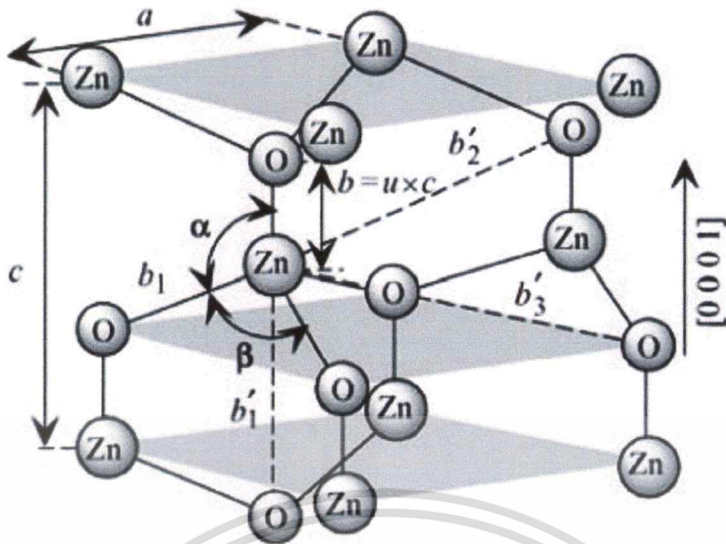
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซิงค์ออกไซด์เป็นสารประกอบกึ่งตัวนำหมู่ II-VI ซึ่งความแรงไอออนิกจะอยู่ระหว่าง covalent และ ionic semiconductors โครงสร้างผลึกของซิงค์ออกไซด์แบ่งออกเป็น wurtzite (B4), Zinc blende(B3), และ rocksalt (หรือ Rochelle salt)(B1) ดังแสดงในรูปที่ 2.22



รูปที่ 2.22 แสดงลักษณะ โครงสร้างผลึกของซิงค์ออกไซด์ (B1, B3, และ B4 เป็นสัญลักษณ์แสดง ลักษณะ โครงสร้างที่กำหนดตาม Strukturbericht)[62]

ภายใต้สภาวะปรกติสถานะที่เสถียรจะอยู่ในรูป wurtzite



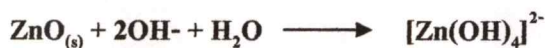
รูปที่ 2.23 แสดงลักษณะ โครงสร้างผลึกแบบ wurtzitic ของซิงค์ออกไซด์ a คือแนวระนาบ b คือ ระยะตามแนวตั้งฉากของแต่ละระนาบ[62]

ค่า  $u$  แสดงความยาวพันธะหรือระยะห่างของอะตอมข้างเคียง มีค่าเท่ากับ  $b/c$  (สำหรับ โครงสร้างผลึกอุดมคติจะเท่ากับ 0.375) มุมระหว่างพันธะ  $\alpha$  และ  $\beta$  (สำหรับโครงสร้างอุดมคติ มีค่าเท่ากับ  $109.47^\circ$ )

$b_1, b_2$  และ  $b_3$  คือ ระยะห่างของอะตอมข้างเคียง(อะตอมซิงค์และอะตอมออกซิเจน)ลำดับ ที่หนึ่งลำดับที่สองและลำดับที่สามตามลำดับ

โครงสร้างของ wurtzite เป็น hexagonal unit cell ที่มีสัดส่วน  $c/a = 1.633$  (เป็น โครงสร้าง wurtzite อุดมคติ) ดังแสดงในรูปที่ 2.23 ตามรูปจะเห็นว่าประกอบด้วย interpenetrating hexagonal closepacked (hcp) สอง sublattices โดยปรกติโครงสร้างจริงของผลึกซิงค์ออกไซด์จะ เบี่ยงเบนไปจาก wurtzite อุดมคติแบบสมมาตร โดยอัตราส่วนของ  $c/a$  หรือ  $u$  จะเปลี่ยนแปลงไป เล็กน้อย

อนุภาคซิงค์ออกไซด์สามารถละลายได้ทั้งในสภาวะกรดและเบส[82] เนื่องจาก เกิดปฏิกิริยากับไอออน  $H^+$  และไอออน  $OH^-$  ดังสมการ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซิงค์ออกไซด์เป็นวัสดุในกลุ่มโลหะออกไซด์ที่มีการนำมาใช้งานในรูปแบบของวัสดุนาโน ตัวอย่างการใช้งานนาโนซิงค์ออกไซด์ ได้แก่ การใช้งานในกลุ่มของอิเล็กทรอนิกส์หรืออุปกรณ์ตรวจจับแก๊ส ใช้สำหรับการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในทางทันตกรรม ใช้ในการบำบัดสิ่งแวดล้อม เนื่องจากมีสมบัติที่ดีในด้านการดูดซับแสง และสมบัติด้านการเร่งปฏิกิริยาดังแสง นอกจากนี้ยังใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับคน โดยตรงคือเครื่องสำอางค์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โลชั่นกันแดดที่เริ่มนิยมนำซิงค์ออกไซด์ขนาดนาโนมาใช้เป็นองค์ประกอบ เนื่องจากมีระดับความสามารถในการป้องกันรังสียูวีได้ในระดับเดียวกับอนุภาคซิงค์ออกไซด์ขนาดใหญ่กว่านาโน แต่ข้อได้เปรียบที่เห็นได้ชัดของโลชั่นกันแดดที่มีอนุภาคนาโนเป็นองค์ประกอบคือการส่งผ่านแสงได้ดีกว่า ทำให้ไม่ทิ้งร่องรอยให้เห็นเป็นสีขาวอย่างชัดเจนบนผิวเมื่อเทียบกับโลชั่นกันแดดที่ใช้อนุภาคขนาดใหญ่ จากเหตุที่ซิงค์ออกไซด์ได้รับความสนใจในการใช้ประโยชน์มากขึ้น ทำให้เกิดการผลิตในภาคอุตสาหกรรมมากขึ้นตามไปด้วย

ในด้านชีววิทยา [25-43] อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กำลังได้รับความสนใจมากขึ้นเรื่อยๆ เป็นลำดับเนื่องจากคุณสมบัติพิเศษของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เองที่มีความสามารถเข้ากันได้กับสารทางชีวภาพ และสามารถเกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนได้อย่างรวดเร็ว รวมทั้งมีพื้นที่ผิวปริมาณมาก คุณสมบัติพิเศษที่โดดเด่นยิ่งกว่าวัสดุอื่นที่สำคัญอีกสองประการคือ ประการแรกการเคลือบโมเลกุลทางชีวภาพบนอนุภาคซิงค์ออกไซด์ อาศัยผลของการ absorption effect ซึ่งสามารถเกิดได้ง่ายในสภาวะปรกติที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งโครงสร้างที่เป็นนาโนของซิงค์ออกไซด์ยังช่วยเพิ่ม active surface สำหรับ โมเลกุลทางชีวภาพมากขึ้น ประการที่สองคือ ซิงค์ออกไซด์สามารถที่จะยึดติดกับโปรตีนเนื่องจากหมู่ amine และหมู่ carboxyl บนผิวของโมเลกุลทางชีวภาพหรือ โมเลกุล โปรตีน จึงสามารถเป็นเสมือนลิแกนด์กับซิงค์ออกไซด์ ซึ่งแสดงได้ว่า โปรตีนสามารถเคลือบและยึดติดอยู่บนซิงค์ออกไซด์ได้อย่างเหนียวแน่น

มีการใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กับ โมเลกุลทางชีวภาพมากมาย เช่น myoglobin ในงานด้านตัวตรวจวัดชีวภาพ เอนไซม์ microperoxidase ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กับ เอนไซม์ horseradish peroxidase ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี [39] เอนไซม์ uricase โดยอาศัยการยึดติดด้วยแรงทางประจุระหว่างเอนไซม์กับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ คือ electronegative uricase กับ electropositive nano-ZnO ในการสร้างตัวตรวจวัดชีวภาพสำหรับวัดครดยริก [63] และยังมีเอนไซม์ tyrosinase ซึ่งอาศัยแรงทางประจุไฟฟ้าเช่นกันในการยึดเอนไซม์กับซิงค์ออกไซด์ ในงานด้านการตรวจวัด phenol และ catechol ซึ่งเป็นการแสดงหลักการในการเคลือบเอนไซม์หรือ โปรตีนบนวัสดุนาโนอีกหนทางหนึ่ง [64]

## 2.7 โพลีอะนิลีน [65,69]

โพลีอะนิลีน (Polyaniline, PANI, PAN) เริ่มเป็นที่รู้จักเป็นครั้งแรกเมื่อปี 1860 ในชื่อว่า aniline blacks ซึ่งใช้ในด้านการศึกษาของสีผ้าฝ้าย โพลีอะนิลีนได้เริ่มมีการศึกษาอย่างเป็นระบบจริงจังตั้งแต่ช่วงก่อนสงครามโลกครั้งที่หนึ่ง โดย Green และ Woodhead ซึ่งได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ aniline octamer และ คุณสมบัติที่เกี่ยวข้องกับสถานะออกซิเดชันต่างๆของโพลีอะนิลีน หลังจากนั้นอีก 70 ปี MacDiarmid และทีมงานได้ค้นพบการนำไฟฟ้าของโพลีอะนิลีนที่อยู่ในรูปของ emeraldine salt (ES) ในช่วงปี 1980 ทำให้ผู้คนหันมาสนใจโพลีเมอร์ขึ้นมาอีกครั้ง

โพลีเมอร์ที่นำมาใช้งานแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติเฉพาะตัวแตกต่างกันไปโดยอาศัยคุณสมบัติจำเพาะของหมู่ทางเคมีที่รวมอยู่กับโพลีเมอร์นั้นๆ เนื่องจากคุณสมบัติทางด้านกายภาพและทางเคมีที่หลากหลายและสามารถปรับแต่งคุณสมบัติได้หลายลักษณะ ซึ่งสามารถนำมาใช้งานทางด้านเซนเซอร์ได้ไม่ว่าจะเป็น gas sensor, pH sensor หรือ Ion selective sensors ใช้ในกระบวนการ process control ใช้ในการตรวจวัดสารเคมีต่างๆ เช่น ยา, amines, surfactant, herbicide, stimulants และ hydrazine เป็นต้น รวมทั้งใช้ทำตัวตรวจวัดชีวภาพ เช่น enzyme sensor, odor sensor, Immunosensor, Teste sensor เป็นต้น ซึ่งการใช้งานด้านตัวตรวจวัดชีวภาพโดยทั่วไปจะมีส่วนของสารทางชีวภาพรวมอยู่ด้วย เช่น เอนไซม์ แอนติบอดี แคลทีเรีย หรือ เนื้อเยื่อ เป็นต้น [7-10]

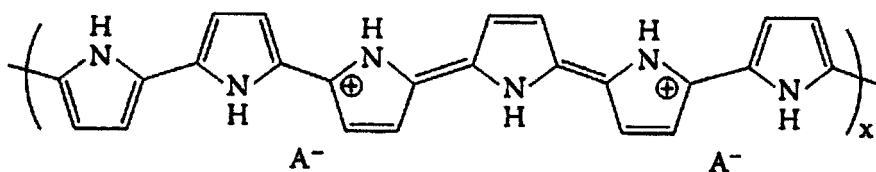
การตรึงเอนไซม์ในฟิล์มโพลีเมอร์ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการทำตัวตรวจวัดทางชีวภาพ โดยเอนไซม์จะถูกจับอยู่ในร่างแหของโพลีเมอร์ที่เคลือบไว้บนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า โดยทั่วไปเตรียมโพลีเมอร์จากสารละลายที่มีโมโนเมอร์ที่สามารถละลายได้ และเอนไซม์ จากนั้นทำให้เกิดการโพลีเมอร์ไรเซชันบนผิวหน้าขั้ว ซึ่งมักทำในสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นกลางเนื่องจากต้องการให้แน่ใจว่าสารชีวภาพที่ใช้จะอยู่ในสภาพที่เหมาะสม จากนั้นจะได้เอนไซม์ที่ถูกตรึงอยู่กับผิวหน้าขั้วไฟฟ้า วิธีนี้ยังสามารถนำไปใช้กับการตรึงเอนไซม์บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่มีขนาดเล็กได้

ขั้วไฟฟ้าโพลีเมอร์ส่วนมากนิยมนำมาประยุกต์ใช้กับเทคนิคการวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมี เช่น กระบวนการทางโวลแทมเมทรี หรือ แอมเพอโรเมทรี ส่วน กระบวนการทางด้านโพเทนซิโอมิตรี และ คอนคักติเมทรี ก็ได้มีการนำขั้วไฟฟ้าโพลีเมอร์มาใช้ด้วยเช่นกัน

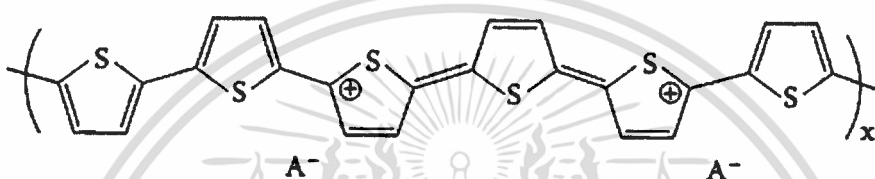
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## โพลิเมอร์นำไฟฟ้า (Conductive Polymers หรือ Conducting electroactive polymers, CEPs)

เช่น polypyrrole, polyaniline and sulfonated polyaniline

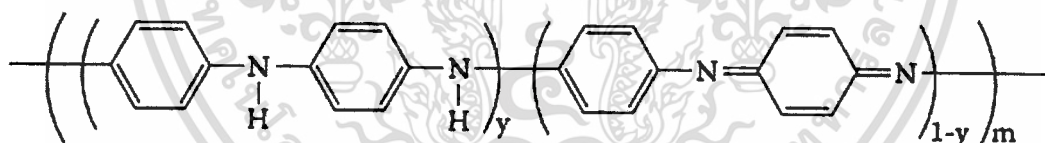


polypyrrole



polythiophene

polypyrrole และ polythiophene มีจำนวนหน่วยของโมโนเมอร์ประมาณ 3-4 หน่วยต่อประจุบวก 1 ประจุ A<sup>-</sup> เป็น counterion ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในระหว่างการสังเคราะห์โพลิเมอร์



โพลิอะนิลีน :leucoemeraldine ( $y = 1$ ), emeraldine ( $y = 0.5$ ), and pernigraniline ( $y = 0$ );

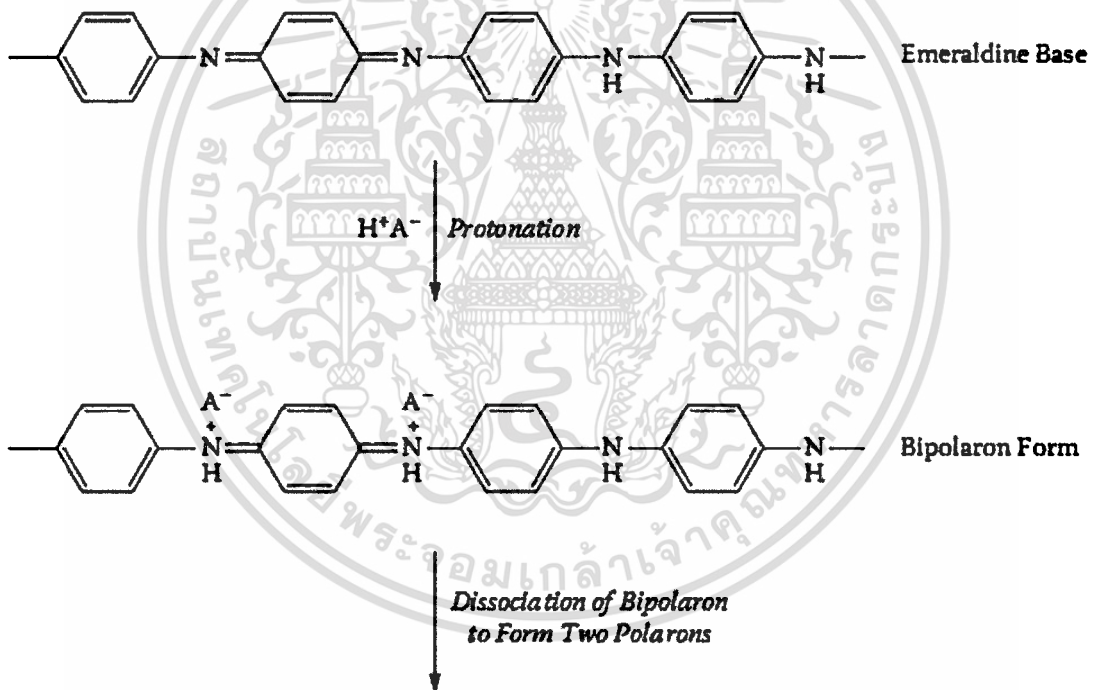
$m$  คือมวลโมเลกุล

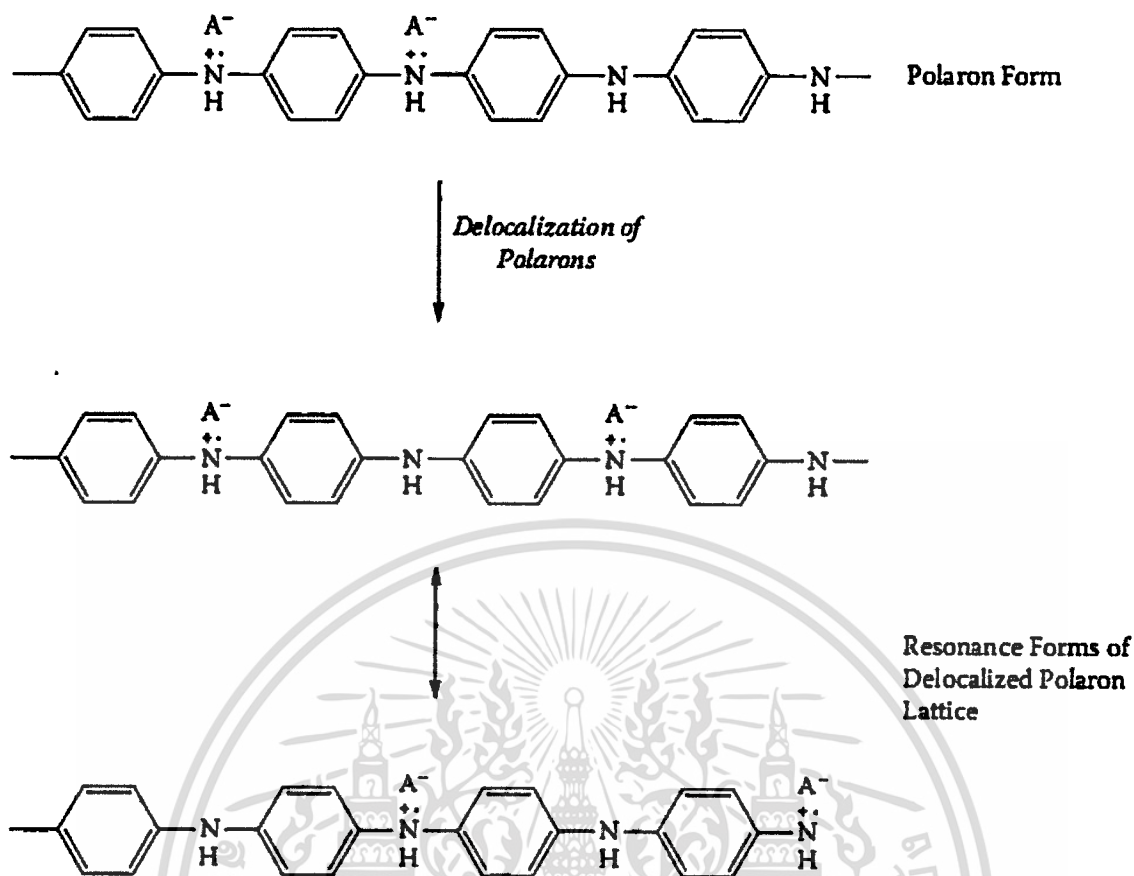
เราสามารถสังเคราะห์โพลิเมอร์นำไฟฟ้าให้มีคุณสมบัติต่างๆและนำไปใช้งานได้หลากหลาย ตัวอย่างเช่น เราสามารถนำไปเป็นวัสดุคักจับไอออนของสารเคมีหรือสารทางชีวภาพ เป็นต้น คุณสมบัติทางไฟฟ้าก็สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้านเช่น การนำไฟฟ้า การใช้ประโยชน์ในเรื่องความจุประจุ หรือใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติรีดอกซ์ของโพลิเมอร์

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่า โครงสร้างโดยทั่วไปของโพลิอะนิลีนแตกต่างจากจากโพลิเมอร์นำไฟฟ้าตัวอื่น อย่างเช่น polypyrroles กับ polythiophenes ตรงที่มีสามสถานะออกซิเดชัน สถานะที่มี fully reduced ( $y = 1$ ) เรียกว่า leucoemeraldine สถานะ half-oxidized ( $y =$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณตามทฤษฎีสามารถใช้ทำนายสถานะของ bipolaron ที่มีพลังงานมากกว่า polaron ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันว่า polaron มีการนำประจุได้ ทำให้โพลีอะนิลีนมีค่าการนำไฟฟ้าที่สูง นอกจากนั้นความสามารถในการนำไฟฟ้าของ PAn/HA emeraldine salt (ES) ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความชื้นด้วย ดังนั้น โพลีเมอร์จึงต้องมีน้ำประกอบด้วย โดยทั่วไปการเติมหมู่ฟังก์ชันลงไปจะทำให้สภาพการนำไฟฟ้านลดลง ซึ่งนอกจากนี้สภาพการนำไฟฟ้ายังขึ้นอยู่กับวิธีหรือเทคนิคและสถานะที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วย เนื่องจากมีผลต่อการเกิด defect ของโพลีเมอร์ และมีผลต่อรูปร่างทางกายภาพของโพลีอะนิลีนที่ได้ด้วย ซึ่งทั้งหมดต่างมีผลต่อสภาพการนำไฟฟ้าของโพลีอะนิลีน อย่างไรก็ตามสิ่งที่สำคัญต่อค่าการนำไฟฟ้าของโพลีอะนิลีนคือระดับของ proton-doping สถานะการนำไฟฟ้าที่สูงที่สุดจะเกิดขึ้นเมื่อโพลีอะนิลีนมีโปรตอนเจือปน 50 เปอร์เซ็นต์ เพื่อจะทำให้เกิดเป็นโครงสร้างผลึก polaron ดังแสดงในรูปที่ 2.24





รูปที่ 2.24 แสดงการเพิ่ม โปรตอนให้แก่ emeraldine base เพื่อให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูป emeraldine salt (apolaron lattice)

ภายใต้สภาวะนี้ กลไกในการนำไฟฟ้าของโพลีอะนิลีนภายใต้สภาวะนี้จะคล้ายกับการนำไฟฟ้าของโพลีเมอร์นำไฟฟ้าทั่วไป ซึ่งสภาวะนี้ที่อุณหภูมิปกติเป็นสภาวะของ polaron จะเกิดการซ้อนทับกับ midgap band จะทำให้อิเล็กตรอนเกิดการเลื่อนไปอยู่ในตำแหน่งที่มีที่ระดับพลังงานต่ำกว่าเดิมซึ่งทำให้นำไฟฟ้าได้

### 2.7.2 วิธีการสังเคราะห์โพลีอะนิลีน

โพลีอะนิลีนสามารถสังเคราะห์ได้หลายทางยกตัวอย่างเช่น

1. Electrochemical polymerization
2. Chemical polymerization
3. Photochemically initiated polymerization

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4. Enzyme-catalyzed polymerization

## 5. Polymerization employing electron acceptors

ซึ่งจะกล่าวรายละเอียดในเฉพาะส่วนเกี่ยวกับวิธี Electrochemical polymerization และ

## Chemical polymerization

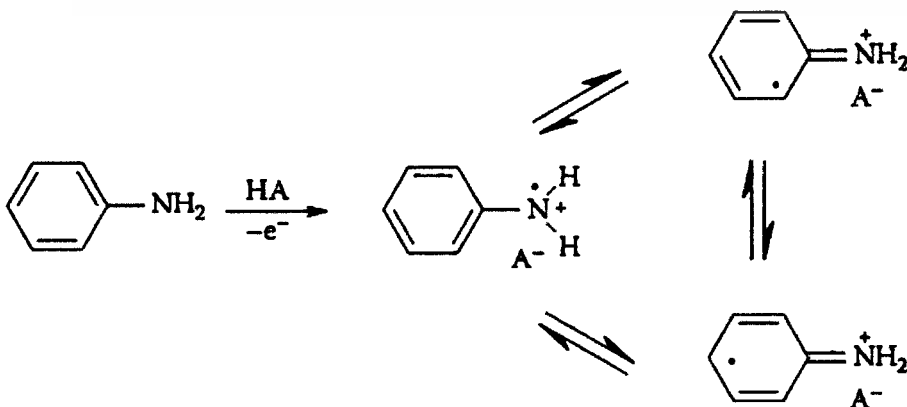
## 2.7.2.1 Electrochemical polymerization

การทำ Electrochemical polymerization ขั้วไฟฟ้าต้องมีความเสถียรในกรด เนื่องจากเทคนิค Electrochemical polymerization ต้องทำในสารละลายของอะนิลีนที่มีสภาพเป็นกรด เนื่องจากอะนิลีนโมโนเมอร์สามารถละลายได้ในกรดและเพื่อทำให้เกิดเป็น PAn/HA (HA = acid) emeraldine salt ซึ่งเป็นรูปที่นำไฟฟ้าของโพลีอะนิลีน โดยทั่วไปมักใช้เทคนิค Constant potential (potentiostatic) หรือ potentiodynamic เนื่องจากว่าค่าศักย์ overoxidation ของโพลีอะนิลีน มีค่าใกล้เคียงกับศักย์ออกซิเดชันของโมโนเมอร์ อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่ทราบธรรมชาติที่แท้จริงของ overoxidation มีเพียงทฤษฎีที่อธิบายเกี่ยวกับการเกิด crosslinking โดยทั่วไปกระบวนการเกิด polymerization จะเริ่มที่ศักย์ +0.65 โวลต์ เทียบกับขั้วอ้างอิงซิลเวอร์ซิลเวอร์คลอไรด์ ซึ่งขึ้นอยู่กับสถานะอื่นๆด้วย เช่น ตัวทำละลาย กรดที่ใช้ เป็นต้น มีรายงานเกี่ยวกับการเพิ่มศักย์ไฟฟ้าในช่วงสั้นๆไปถึง +0.9 - +0.11 โวลต์ เทียบกับขั้วอ้างอิงซิลเวอร์ซิลเวอร์คลอไรด์ ในระหว่างทำการเคลือบ โดยเทคนิค potentiostatic จะทำให้เกิดการยึดเกาะของฟิล์ม โพลีอะนิลีนที่ดีขึ้น

## - กลไกของการเกิดปฏิกิริยา Electrochemical polymerization

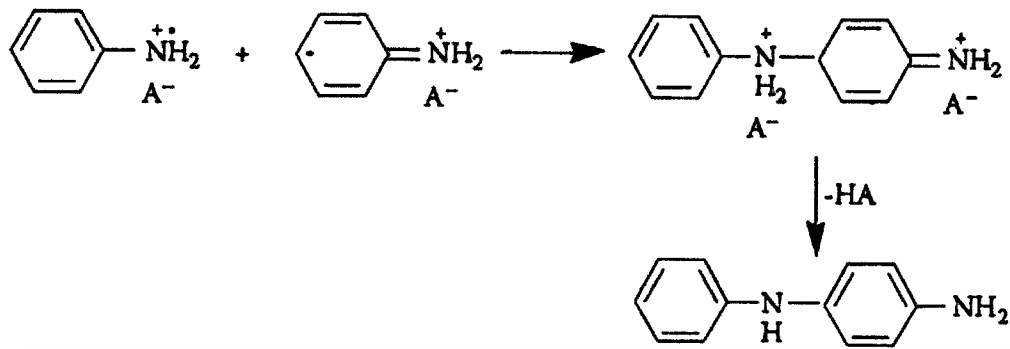
กลไกที่เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปสำหรับการเกิด electropolymerization ของอะนิลีน คือ กระบวนการ  $E(CE)_n$  ดังแสดงในรูป

## Step 1. Oxidation of Monomer

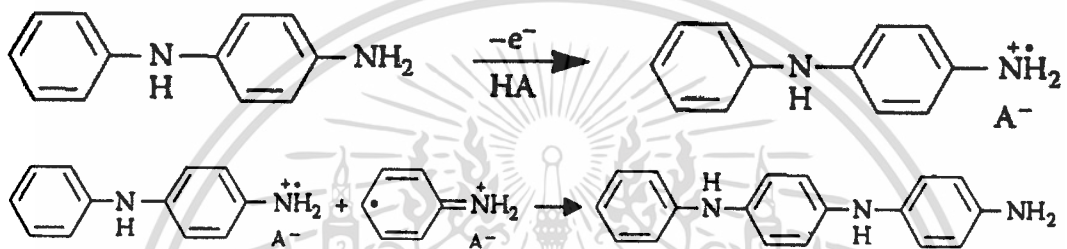


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### Step 2. Radical Coupling and Rearomatization



### Step 3. Chain Propagation



### Step 4. Oxidation and Doping of the Polymer



โมโนเมอร์จะถูกออกซิไดซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าไปเป็นอะนิลีนโมโนเมอร์ radical cation (ขั้นที่1) ซึ่งเป็นขั้นกำหนดอัตราการเกิดปฏิกิริยา ขั้นที่สองเกิดการจับคู่กันของโมโนเมอร์ radicals ในตำแหน่งพาราและโปรตอนสองตัวหลุดออกมา เกิดไดเมอร์ (oligomer) ขั้นที่สามเกิดการออกซิเดชันบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของ oligomer กับอะนิลีน radical cation ของ oligomer จับกับอะนิลีน radical cation ทำให้เกิดโซ่โพลิเมอร์ต่อออกไป ขั้นที่สี่กรดที่อยู่ในสารละลายทำให้เกิด PAn/HA การเกิดโพลิอะนิลีนยังมีลักษณะที่เป็น self-catalyzing ซึ่งอัตราการเกิดโพลิเมอร์ไรเซชันจะเพิ่มขึ้นได้ด้วยตัวเอง ซึ่งสามารถควบคุมลักษณะและความหนาของของฟิล์มได้โดยการควบคุมศักย์ไฟฟ้าและเวลาในการจ่ายศักย์ไฟฟ้า

#### -วัสดุที่ใช้ทำขั้วไฟฟ้า

วัสดุที่ใช้ทำขั้วไฟฟ้าใช้งานโดยทั่วไป ใช้ ทอง หรือทองคำขาวกลาสติคาร์บอนหรือคาร์บอนรูอื่น ๆ หรือแม้กระทั่ง indium-tin-oxide (ITO) เคลือบบนวัสดุแก้ว ซึ่งวัสดุที่ใช้ทำผิวหน้าขั้วไฟฟ้าจะต้องมีความคงตัวในสารละลายสภาวะกรด โดยทั่วไปการสังเคราะห์โพลิอะนิลีนด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธี electropolymerization จะทำในสารละลายที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำ แต่ในตัวทำละลายที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ก็สามารถทำได้เช่นกัน

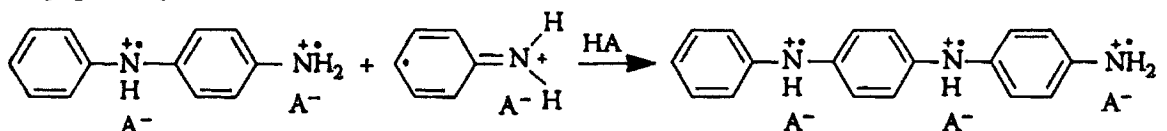
### 2.7.2.2 Chemical polymerization

การสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้เป็นกระบวนการที่สามารถทำได้ง่ายและให้คุณภาพที่สม่ำเสมอเหมือนกันหมด ซึ่งสามารถผลิตโพลีอะนิลีนที่มีลักษณะเป็นผง สำหรับวิธีทางเคมีนี้เกิดออกซิไดซ์โดยใช้ตัวออกซิแดนต์ทางเคมีเติมลงไปในสารละลาย ซึ่งตัวที่นิยมใช้มากที่สุดสำหรับระบบที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายคือ ammonium persulfate,  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  ร่วมกับ  $\text{HSO}_4^-/\text{SO}_4^{2-}$ . เป็นตัวที่ให้แอนไอออน ( $\text{A}^-$ ) แก่ PAN/HA ซึ่งโดยทั่วไปจึงต้องการสภาวะที่เป็นกรดเพื่อให้อะนิลีนละลายในสารละลายได้ในน้ำ

#### -กลไกในการเกิดปฏิกิริยา Chemical polymerization

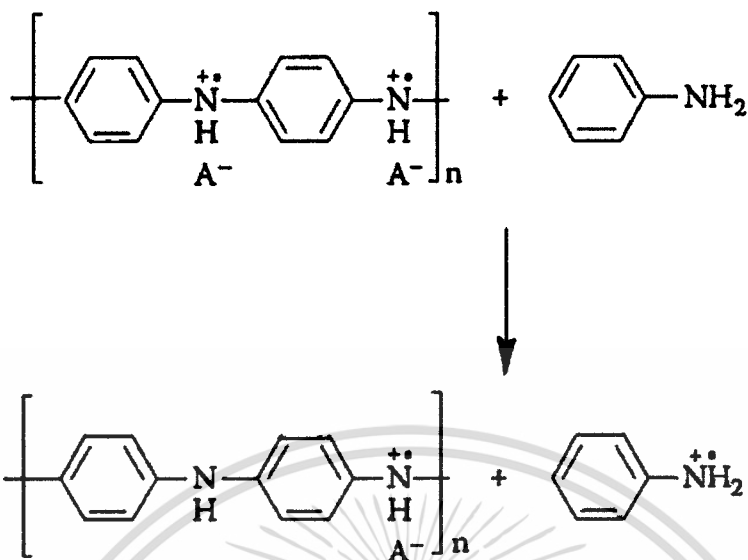
กลไกในการเกิดปฏิกิริยา Chemical polymerization ของโพลีอะนิลีนโดยใช้  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  สันนิษฐานว่าขั้นเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยาจะคล้ายๆกับการสังเคราะห์โดยวิธีการ electrochemical polymerization คือ ขั้นที่หนึ่งเกิดเป็นไอออนบวกของ aniline radical ก่อน จากนั้นในขั้นที่สองเกิดไอออนบวกตรง *N*- กับ *para*-radical และเกิด rearomatization ของ dication ของ *p*-aminodiphenylamine (PADPA) จากนั้นออกซิไดซ์ไปเป็น diradical dication โดยทั่วไปจะเกิดปฏิกิริยาต่อไปเรื่อยๆจากหัวไปท้าย ที่ตำแหน่ง *N-para* ซึ่งอาจจะมีบางอันอาจจะเกิดที่ตำแหน่ง *ortho* ได้ซึ่งตรงนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดเป็นจุดบกพร่องของคอนจูเกทของโพลิเมอร์ได้ กลไกการเกิดปฏิกิริยาส่วนที่แตกต่างอีกอย่างหนึ่งจากวิธีการ electrochemical polymerization คือเหตุการณ์ระหว่างการเกิดโพลิเมอร์ไอเซชันแผ่ออกไป ดังแสดงรายละเอียดของกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังรูปที่ 2.25

#### Propagation of Chain



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### Reduction of Pernigraniline Salt to Emeraldine Salt (ES)

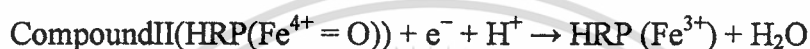
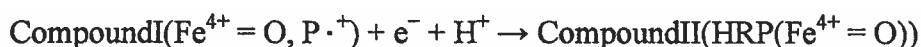


รูปที่ 2.25 แสดงกลไก Chemical polymerization ของ โพลีอะนิลีน

ความเข้มข้นและชนิดของ protonic acid (HA) ที่ใช้ในการสังเคราะห์โพลีอะนิลีนร่วมกับ  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  มีผลโดยตรงต่อสมบัติทางกายภาพและมวลโมเลกุลของ PAN/HA ที่ได้ (ซึ่งลักษณะทางกายภาพก็มีผลต่อการนำไฟฟ้าของโพลีเมอร์ด้วย) โดยทั่วไปการสังเคราะห์โพลีอะนิลีนด้วยวิธี Chemical polymerization จะใช้ตัวทำละลายที่เป็นน้ำ การเติม acetone, tetrahydrofuran (THF) หรือ ethanol เจือเข้าไป จะมีผลต่อระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน ซึ่งพอจะเรียงเป็นลำดับได้ ดังนี้  $t_{\text{acetone}} \sim t_{\text{THF}} > t_{\text{ethanol}}$  ส่วนเปอร์เซ็นต์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้และสมบัติการนำไฟฟ้าจะใกล้เคียงกันทั้งเติมและไม่เติมตัวทำละลายอินทรีย์

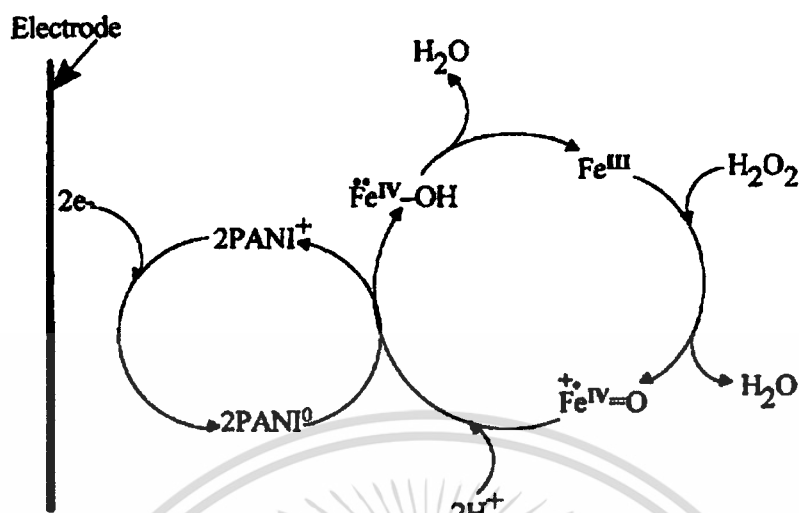
## 2.8 เอนไซม์ horseradish peroxidase [66,109-111]

เอนไซม์ Horseradish peroxidase (HRP) เป็น heme-protein ที่พบในพืชที่มีชื่อว่า horseradish ซึ่งมีความสามารถในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



เอนไซม์ Horseradish peroxidase ในรูปที่มีประสิทธิภาพในการเป็น oxidizing agent มากที่สุดคือ CompoundI( $\text{Fe}^{4+} = \text{O}, \text{P} \cdot^+$ ) ซึ่งอยู่ในรูปที่เกิดออกซิไดซ์แล้วสองตำแหน่ง คือที่ oxyferryl heme และที่ตำแหน่ง porphyrin  $\pi$  cation radical

CompoundI เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ไวและสามารถรับอิเล็กตรอนจากขั้วไฟฟ้าแล้วเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารมัธยันตร์อีกรูปหนึ่งคือ CompoundII( $\text{HRP}(\text{Fe}^{4+} = \text{O})$ ) ซึ่งเป็นรูปที่สามารถถูกรีดิวซ์กลับไปอยู่ในสถานะเดิมได้อีก คือรูป  $\text{HRP}(\text{Fe}^{3+})$  โดยการรับอิเล็กตรอนจากขั้วไฟฟ้า



รูปที่ 2.26 แผนภาพแสดงกลไกการถ่ายเทอิเล็กตรอนระหว่างขั้วไฟฟ้าโพลีอะนิลีนและเอนไซม์

[53]

## 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.9.1 งานที่ใช้การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีความสำคัญและประยุกต์ใช้งานได้อย่างหลากหลายทั้งในงานวิเคราะห์ทางด้านเคมี ชีวะวิทยา หรือด้านสิ่งแวดล้อม จึงมีผู้สนใจพัฒนาวิธีการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และนำไปใช้งานในด้านต่างๆอย่างกว้างขวางเช่นกัน เช่น

ในภาคอุตสาหกรรม P. Westbroek, และคณะ [70] ได้สร้างระบบตรวจวัดและควบคุมความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในไลน์การผลิตของระบบอุตสาหกรรม โดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมตริกในการตรวจวัด ช่วงความเข้มข้นที่สามารถวัดได้คือ 0.1 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ผลที่วัดได้มีความเที่ยงความแม่นยำและความจำเพาะเจาะจงต่อสารในการวัดระยะยาวที่สูงโดยไม่ต้องทำ recalibration ระบบนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเพื่อใช้กับอุตสาหกรรมต่างๆได้ [7-9]

Renato Camargo Matosa และคณะ [71] ทำการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ในน้ำฝนด้วยเทคนิค differential amperometric ร่วมกับระบบ flow injection ซึ่งเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในชั้นบรรยากาศเกิดได้จากปฏิกิริยาระหว่าง hydroperoxyl ( $\text{HO}_2^\cdot$ ) และ hydrated hydroperoxy radicals ( $\text{H}_2\text{O}^\cdot\text{HO}_2$ ) ซึ่งเกิดโดยปฏิกิริยา photochemical ของแก๊สในชั้นบรรยากาศ เช่น โอโซน และพวกสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยง่ายต่างๆ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในชั้นบรรยากาศมีหลายปฏิกิริยาเช่น เปลี่ยน sulfur dioxide ( $\text{SO}_2$ ) เป็นกรด sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดฝนกรด เป็นต้น ปฏิกิริยาระหว่าง  $\text{SO}_2$  และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วถึงแม้ว่าจะอยู่ในสถานะที่เป็นกรด มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำกว่า 5 ในขณะที่การเกิดออกซิเดชันของ  $\text{SO}_2$  โดยตัวออกซิไดซ์อื่น เช่น โอโซน และ  $\text{O}_2$  ซึ่งต้องใช้ Fe หรือ Mn เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมจะถูกหน่วงให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้าถ้าอยู่ในสถานะกรด สำหรับเซนเซอร์ที่ใช้ในการตรวจวัดนี้ใช้การเคลือบเอนไซม์บนขั้วทองจุดภาคที่เคลือบด้วย platinum ก่อน ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดคือ +0.60 โวลต์ เทียบกับขั้วอ้างอิง Ag/AgCl ช่วงความเป็นเส้นตรงที่วัดได้คือ 1 ถึง  $100 \times 10^{-6}$  โมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.0 การตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังได้นำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ มากมาย เช่น Rosa M Peña และคณะวัดปริมาณไฮโดรเจนในชั้นบรรยากาศโดยวัดจากน้ำฝน [72] ทางด้านยาและเครื่องสำอางเช่น L. Campanella และคณะได้ใช้ตัวตรวจวัดทางชีวภาพในการวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอางค์ [73] Wei Qin และคณะได้ใช้เทคนิคเคมีลูมิเนสเซนส์ (chemiluminescence, CL) ร่วมกับ flow-injection analysis (FIA) ในการวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในน้ำฝนและยังใช้วิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเข้มข้นได้ด้วย [74] Dibyajyoti Banerjee และคณะ [75] Lee Hua Longa และคณะ [76] ได้รายงานการศึกษาวิธีการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างปัสสาวะมนุษย์ เป็นต้น

### 2.9.2 เทคนิคต่างๆที่ใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

เทคนิคในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีอยู่หลายวิธีเช่น titrimetry โดย E. C. Hurdis, และคณะ ใช้วิธีไทเทรตด้วย cerate โดยได้ทำการเปรียบเทียบระหว่าง cerate และ permanganate ซึ่งผลที่ได้พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสามารถใช้สารมาตรฐาน cerate แทนในการไทเทรตหาความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ [77] วิธีทางเชิงแสง

(spectrometry) เช่น Chiyo Matsubara และคณะใช้ titanium 2-((5-bromopyridyl)azo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino)phenol โดยทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่นที่ 539 นาโนเมตร สีแดง

เอกสเข้ม ซึ่งสามารถใช้ประยุกต์ในการวัด serum glucose โดยใช้ร่วมกับเอนไซม์ glucose oxidase ราคาไม่แพงเกินไปทุกชิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการตรวจวัด serum glucose สามารถตรวจวัด serum glucose ได้ที่ความเข้มข้นช่วง 3 ถึง 270 มิลลิกรัมต่อลิตร [79] เทคนิคทางเคมีลูมิเนสเซนส์ เช่น Kenichiro Nakashima และคณะ ใช้เทคนิค Peroxyoxalate chemiluminescence ในการวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้ 2,4,6,8-tetrathiomorpholinopyrimido[5, 4-d]pyrimidine และ bis(2, 4, 6-trichlorophenyl)oxalate (TCPO) ช่วงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่วัดได้คือ  $10^{-3}$  ถึง  $10^{-4}$  โมลาร์ ขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 10 นาโนโมลาร์ [80] Hongfei Yue [81] ใช้เทคนิค high performance liquid chromatography ร่วมกับ coulometric detection ในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์จำพวกยา คือ crosopovidone, pharmaceutical excipient, และ capsule pharmaceutical ซึ่งต้องใช้ในการสกัดจากตัวอย่างเพื่อมาตรวจวัดด้วย HPLC โดยต่อร่วมกับ coulometric detection ชนิด multi-electrode array ใช้คอลัมน์ชนิด reserve-phase และเฟสเคลื่อนที่คือ 50 มิลลิโมลาร์ ammonium acetate ในน้ำ ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดที่ได้คือ 0.6 ถึง 4.5 ppm (ไมโครกรัมต่อกรัม) และ 6 ถึง 90 ppm (ไมโครกรัมต่อกรัม) สำหรับผลิตภัณฑ์ยา และ crosopovidone ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าเป็นวิธีที่ได้รับความสนใจศึกษามากที่สุด เนื่องจากเทคนิคอื่นนั้นมีข้อเสียในด้านต่างๆ เช่น การรบกวนของเมทริกซ์ ใช้เวลามากในการเตรียมตัวอย่างและจัดเตรียมอุปกรณ์ในการทดลอง ไม่สามารถที่จะผลิตในปริมาณมากได้ สิ้นเปลืองสารเคมีปริมาณมาก รวมทั้งใช้สารเคมีที่มีราคาแพง เป็นต้น

### 2.9.3 เอนไซม์ Horseradish peroxidase (HRP) กับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าชนิดต่างๆนั้นสามารถทำได้โดยอาศัยการวัดสัญญาณทางไฟฟ้าที่ได้จากปฏิกิริยารีดอกซ์ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้า มีการศึกษาการนำวัสดุต่างๆรวมทั้งวัสดุนาโนมาใช้ปรับปรุงขั้วไฟฟ้าในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของโลหะชนิดต่างๆ และข้อดีในด้านการเพิ่มพื้นที่ผิวของอนุภาคที่มีโครงสร้างระดับนาโนเมตร เช่น Chuan-Liang Hsu และคณะ [7] ใช้ palladium electrode โดยทำการ electro-deposition เพื่อเคลือบ palladium บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ตกค้างตามขวดเครื่องดื่มด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริก โดยใช้ศักย์ในการตรวจวัดที่ 0.5 โวลต์ ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดที่ได้คือ 0.15 ถึง 75 ไมโครโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abdollah Salimi และคณะ [17] ใช้วิธีเคลือบทางเคมีไฟฟ้าเคลือบ cobalt oxide nanoparticles บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า glassy carbon ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริกที่ศักย์ไฟฟ้า +0.75 โวลต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ชิดจำกัดการตรวจวัดที่ได้เท่ากับ 0.4 นาโนโมลาร์ และมีช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดขึ้นไปอีกถึงระดับมิลลิโมลาร์ Miyuki Chikae และคณะ [20] ทำการเคลือบอนุภาคนาโน Au และ Pt ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยวิธี electrodeposition จากนั้นนำขั้วไฟฟ้าทั้งสองคือขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยอนุภาคนาโน Au และขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยอนุภาคนาโน Pt ไปทดสอบวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยไซคลิกโวลแทมเมรีและ โครโนแอมเพอโรเมทรี โดยวัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.6 โวลต์ ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงที่สามารถวัดได้คือ 16 ไมโครโมลาร์ ถึง 2 มิลลิโมลาร์

จากการศึกษาการวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยวัสดุต่างๆจะพบว่าใช้ศักย์ไฟฟ้าในการตรวจวัดที่ค่อนข้างสูงซึ่งอาจเกิดสัญญาณตอบสนองจากตัวรบกวนได้ง่าย วิธีการหนึ่งที่ได้รับความนิยมคือการปรับปรุงด้วยเอนไซม์ โดยอาศัยการเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ horseradish peroxidase (HRP) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่ใช้สำหรับตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งกลไกการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์ horseradish peroxidase สามารถทำให้ลดศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดลงไปได้มาก ตัวอย่างงานที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการนำเอนไซม์ horseradish peroxidase มาใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เช่น

Yongcheng Liu และคณะ [82] ได้ศึกษาการนำเอนไซม์ horseradish peroxidase มาใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งทำเป็นแผ่นเยื่อบางโดยใช้ polyvinyl alcohol (PVA) และ regenerated silk fibroin (RSF) และศึกษาลักษณะของเมมเบรนที่มีเอนไซม์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ใช้คือขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน Y.J. Teng และคณะ [83] ได้ทำการพัฒนาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนแบบใช้แล้วทิ้งในการวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยอาศัยหลักการถ่ายเทอิเล็กตรอนโดยตรงจากเอนไซม์ horseradish peroxidase (HRP) กับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นรูพรุน

จากการศึกษาด้วยไซคลิกโวลแทมเมรี พบว่า formal potential ที่ได้เท่ากับ  $-0.33$  โวลต์ ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ได้คือ 5.98 ถึง 35.36 ไมโครโมลาร์ Tanin Tangkuaram และคณะ [24] ใช้การปรับปรุงไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase HRP และอนุภาคทองนา

โนโดยใช้โกลโคซาน เป็นเมทริกในการเคลือบขั้ว จากนั้นนำไปใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกไซด์ ศักย์ที่ใช้ในการตรวจวัดเท่ากับ  $-0.40$  โวลต์ ช่วงความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้เท่ากับ  $10$  ไมโครโมลาร์ ถึง  $11.3$  มิลลิโมลาร์ ขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ  $0.65$  ไมโครโมลาร์

#### 2.9.4 เอนไซม์ horseradish peroxidase กับโพลีอะนิลีนในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

โพลีอะนิลีนเป็นวัสดุที่สามารถนำมาใช้ปรับปรุงตัวตรวจวัดทางชีวภาพได้เนื่องจากคุณสมบัติที่สามารถนำไฟฟ้าได้และมีความเข้ากันได้กับเอนไซม์ต่างๆ เช่น เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส [27-30,40,41] รวมทั้งเอนไซม์ horseradish peroxidase ด้วยเช่นกัน [84-86]

Ying-Ying Horng และคณะ [4] ใช้ลวดนาโนโพลีอะนิลีน (polyaniline nanowires (PANI-NWs)) ที่สังเคราะห์ขึ้นบนขั้วไฟฟ้า carbon cloth (CC) โดยวิธี electrochemical polymerization กับเอนไซม์ glucose oxidase (GOx) ในการเตรียมตัวตรวจวัดชีวภาพเพื่อตรวจวัดปริมาณกลูโคส พบว่ามีประสิทธิภาพที่ดีมากเนื่องจากมีขนาดของพื้นที่ผิวของขั้วไฟฟ้ามากและเกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนระหว่าง NWs กับ CC เกิดขึ้นได้ดีและรวดเร็ว โดยสามารถตรวจวัดกลูโคสได้ในระดับความเข้มข้น  $8$  มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นระดับที่เพียงพอต่อการใช้งานทางคลินิก ในการตรวจวัดระดับกลูโคสในร่างกายมนุษย์ Manju Gerard และ B.D. Malhotra [87] ศึกษาการนำโพลีอะนิลีนมาใช้งานร่วมกับเอนไซม์ในการสร้างตัวตรวจวัดทางชีวภาพ โดยทำการสังเคราะห์ฟิล์มโพลีอะนิลีนด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า เพื่อใช้เป็นเมทริกซ์ในการเคลือบเอนไซม์ โดยทำการเคลือบและศึกษาเอนไซม์สองชนิดคือ เอนไซม์ glucose oxidase และเอนไซม์ lactate dehydrogenase ผลการทดลองที่ได้พบว่า ฟิล์มโพลีอะนิลีนสามารถช่วยให้เพิ่มปริมาณ load เอนไซม์ glucose oxidase ในการเคลือบได้ หลังจากการเกิด self-ion exchange ซึ่งทำให้เพิ่มสัญญาณในการตรวจวัด สำหรับเอนไซม์ horseradish peroxidase มีรายงานเกี่ยวกับการใช้งานร่วมกับโพลีอะนิลีนไว้เช่นกันเช่น Aoife Morrin และคณะ [50] ศึกษาการใช้อนุภาคนาโนโพลีอะนิลีนกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเพื่อใช้เป็นตัวตรวจวัดชีวภาพ โดยใช้ร่วมกับเอนไซม์ horseradish peroxidase โดยใช้อนุภาคนาโนโพลีอะนิลีนกระจายตัวอยู่ในสารละลายหยดเคลือบลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งาน จากนั้นจึงเคลือบเอนไซม์ตาม และทดสอบตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ Zhifeng Du และคณะ [82] ใช้เส้นใยนาโนโพลีอะนิลีนและเอนไซม์ horseradish peroxidase กระจายตัวในโคโนซานเคลือบบนขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน เพื่อตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ช่วงความเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นตรงที่ได้ในการทดลองนี้คือ  $1 \times 10^{-5}$  โมลาร์ ถึง  $1.5 \times 10^{-3}$  โมลาร์ และขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ  $5 \times 10^{-7}$  โมลาร์

K. F. Fernandes และคณะ [88] เคลือบเอนไซม์ horseradish peroxidase บน โพลีอะนิลีน ซึ่งทำการสังเคราะห์โพลีอะนิลีนโดยวิธีทาง chemical oxidation โดยได้ศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาในการเคลือบ และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ขณะเคลือบเอนไซม์ ที่มีผลต่อการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

K. F. Fernandes และคณะ [89] ได้ทำการทดลองต่อโดยเคลือบเอนไซม์ horseradish peroxidase บน โพลีอะนิลีน ซึ่งทำการสังเคราะห์โพลีอะนิลีนโดยวิธีทาง chemical oxidation พบว่าเอนไซม์ที่เคลือบสามารถทำให้ประสิทธิภาพในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ดีกว่าการใช้เอนไซม์แบบ Free enzyme

Ntlatseng G. R. และคณะ [90] ได้ศึกษาการใช้โพลีอะนิลีนและเอนไซม์ horseradish peroxidase ในการใช้เป็นตัวตรวจวัดชีวภาพ ซึ่งทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วย scanning electron microscopy และศึกษาการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริก ทำการเคลือบฟิล์มโพลีอะนิลีนบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า platinum disk ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า โดยใช้เทคนิค sweep ที่ศักย์ไฟฟ้า -200 มิลลิโวลต์ ถึง +1,100 มิลลิโวลต์ ที่อัตราเร็วการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ทำการคำนวณความหนาของฟิล์มโพลีอะนิลีนที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า มีค่าประมาณ 16 นาโนเมตร และช่วงความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ  $2.5 \times 10^{-4}$  โมลาร์ ถึง  $5 \times 10^{-3}$  โมลาร์

Emmanuel I. Iwuoha และคณะ [64] ได้ทำการเคลือบเอนไซม์ horseradish peroxidase บนขั้วไฟฟ้า platinum disc ที่ปรับปรุงด้วยฟิล์มโพลีอะนิลีนเจือด้วย polyvinyl sulphonate และทำการตรวจสอบโดยการวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทั้งในตัวทำละลายที่เป็นน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ โดยทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริกที่ศักย์ไฟฟ้า -100 มิลลิโวลต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl

Qin Xu และคณะ [65] ใช้ ordered mesoporous polyaniline film เป็นเมทริกซ์ในการเคลือบเอนไซม์ ทำการสังเคราะห์ฟิล์มโพลีอะนิลีนด้วยวิธี electrodeposit ซึ่งอาศัยข้อดีของฟิล์ม ordered -mesoporous polyaniline ที่มีพื้นที่ผิวมากในการเพิ่มปริมาณการเคลือบเอนไซม์ซึ่งช่วยเพิ่มสัญญาณในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งช่วงความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้น

ที่ตรวจวัดได้คือ 1.0 ไมโครโมลาร์ ถึง 2.0 มิลลิโมลาร์ และมีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเท่ากับ 0.63 ไมโครโมลาร์

### 2.9.5 การสังเคราะห์โพลีอะนิลีน

โพลีอะนิลีนเป็นโพลิเมอร์นำไฟฟ้าที่มีผู้สนใจศึกษาอย่างกว้างขวางเนื่องจากคุณสมบัติที่สามารถนำไฟฟ้าได้ ราคาถูก สามารถสังเคราะห์ได้ง่าย มีความคงทนสูง และนำไปประยุกต์ใช้งานได้อย่างหลากหลายด้าน โดยทั่วไปโพลีอะนิลีนที่มีโครงสร้างระดับนาโนเมตรสามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชันทางเคมีของอะนิลีน โมโนเมอร์ในสถานะกรด, emulsion polymerization [91], reversed micelle polymerization, interfacial polymerization, self-assembling polymerization, template synthesis, และโดยการเกิดโพลิเมอไรเซชันด้วยไฟฟ้า เป็นต้น [66,67] นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์โพลีอะนิลีนร่วมกับอนุภาค nano metal oxide เป็น PANI-metal oxide nano composite เช่น PANI-nano ZnO nano composite [69,91-100]

Jauder Jeng และคณะ [102] ได้สังเคราะห์โพลีอะนิลีนด้วยวิธีการ Pickering emulsion polymerization โดยใช้นาโนซิงค์ออกไซด์ที่มีขนาดอยู่ในช่วง 50 ถึง 100 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับเฟสที่เป็นน้ำมันคือ โทลูอีนและ THF ในการสังเคราะห์ของผสมนาโนซิงค์ออกไซด์กับโพลีอะนิลีนขนาดนาโนเมตร พบว่าเมื่อใช้โทลูอีนเป็นเฟสน้ำมันของผสมที่ได้มีลักษณะเป็นหลุมไม่ราบเรียบไม่สม่ำเสมอ และเมื่อใช้ THF เป็นเฟสน้ำมันของผสมที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลมหุ้มอนุภาคของนาโนซิงค์ออกไซด์อยู่ และสัดส่วนของเฟสน้ำมันต่อน้ำมีผลอย่างมากต่อผลการสังเคราะห์ Yongjun He [103,104] ได้ศึกษาการสังเคราะห์โพลีอะนิลีน sub-micrometer polyaniline/nano-ZnO composite fibers ด้วยวิธี emulsion โดยใช้ toluene น้ำ และ อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ซึ่ง submicrometer fiber ที่สังเคราะห์ได้ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 700 ถึง 900 นาโนเมตร มีความยาวประมาณ 20 – 35 ไมโครเมตร

Vinay Gupta และ Norio Miura [92] ได้ทำการสังเคราะห์ลวดนาโนโพลีอะนิลีน ( มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 30–60 นาโนเมตร ) บนขั้วไฟฟ้า stainless steel ขนาด 1 × 1 เซนติเมตร โดยใช้การจ่ายศักย์ไฟฟ้าคงที่ Haihui Zhou และคณะ [96] สังเคราะห์โพลีอะนิลีนบนขั้วไฟฟ้าไททาเนียมโดยเทคนิคพัลส์โพเทนทิโอสแตตติค โพลีอะนิลีนที่ได้มีลักษณะกึ่งเส้นใยและเส้นใยนาโนโพลีอะนิลีนซึ่งคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเส้นใยโพลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ก็แตกต่างกันตามลักษณะทางกายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

J. J. Langer และคณะ [97] ศึกษาการเตรียม polyaniline nanowires และ nano-network โดยเตรียมโพลีอะนิลีนและ polyaniline nano-fibrils ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า ซึ่งลวดนาโน (nano-wires) และโครงข่ายระดับนาโนเมตร (nano-networks) เตรียมจากโพลีอะนิลีนและโพลีอะนิลีนเชื่อมด้วยอนุพันธ์ของ fullerene ความยาวของ nanofibrils ที่ได้อยู่ในช่วง 500 ถึง 2000 นาโนเมตร และมีความหนาประมาณ 15 ถึง 70 นาโนเมตร ลักษณะ nanofibrils ที่ได้มีโครงร่างเป็นโครงข่าย (network) สองมิติและสามมิติแบบสุ่มและมีการนำไฟฟ้าที่ดี ค่าเฉลี่ยของระยะที่เชื่อมต่อกันประมาณ 750 และ 500 นาโนเมตร สำหรับระบบสองมิติและสามมิติตามลำดับ J. J. Langer และคณะ [97] ยังได้ศึกษาเกี่ยวกับ micro และ nanofibrils โพลีอะนิลีนเชื่อมด้วย fullerene เช่นกัน fibrils ที่สังเคราะห์ได้มีความหนาอยู่ในช่วง 10 ถึง 100 นาโนเมตร มีความยาวประมาณ 3,000 นาโนเมตร และมีบางสถานะที่สามารถสังเคราะห์ให้ความยาวเกินกว่า 3,000 นาโนเมตร

Guicun Li และ Zhikun Zhang [68] สังเคราะห์ dendritic polyaniline nanofibers ใน surfactant gel โพลีอะนิลีนที่สังเคราะห์ได้ แต่ละกิ่งหรือแขนงมีขนาดอยู่ในช่วง 60 ถึง 90 นาโนเมตร และมีความยาวหลายร้อยนาโนเมตร และพบว่ามีเล็กน้อยที่อนุภาคนาโนโพลีอะนิลีนติดอยู่กับโพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์

Xinyu Zhannng และคณะ [98] สังเคราะห์โพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์ด้วยวิธีที่เรียกว่า nanofiber seeding ผงโพลีอะนิลีนที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็น fibrillar ซึ่งนาโนไฟเบอร์ที่ได้จากสถานะในการสังเคราะห์ที่ดีที่สุดมีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วงประมาณ 20 ถึง 60 นาโนเมตร

Jiaying Huang และ Richard B. Kaner [94] สังเคราะห์โพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์ด้วยวิธี chemical oxidative polymerization โดยไม่ได้ใช้เทคนิค template หรือใช้ surfactant เข้าช่วย ซึ่งจากการทดลองสามารถสังเคราะห์โพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์ที่บริสุทธิ์ และยังได้ศึกษาทดลองเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดและตัวทำละลายด้วยพบว่า การเปลี่ยนแปลงชนิดของ dopant acid สามารถใช้ปรับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของนาโนไฟเบอร์ได้โดยอยู่ในช่วง 30 ถึง 120 นาโนเมตร การเปลี่ยนแปลงชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่ามีผลต่อโพลีอะนิลีนที่สังเคราะห์ได้เพียงเล็กน้อย

Yaping Guo และ Yu Zhou [95] ได้ศึกษาการเตรียมโพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้าโดยเทคนิค galvanostatic electrolysis โพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์ที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะ โครงสร้างเชื่อมต่อกันเป็นแบบ network-like อยู่บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าซึ่งใช้เป็นขั้ว stainless steel นำตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบด้วย scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, UV-visible spectroscopy และ Fourier transform infrared spectroscopy ผลที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้พบว่าเกิดโพลีอะนิลีนพร้อมๆกันทั้งผิวหน้าขั้วไฟฟ้าและในวุ้นซึ่งเป็นของผสมของ oligomer, dopant และ โพลีอะนิลีนที่เกิดขึ้นในขณะที่ทำการสังเคราะห์ ซึ่งเจลที่เกิดขึ้นเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดเป็นโพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์ dendritic degree ของโพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์สัมพันธ์กับ dopants ที่ใช้ตามลำดับคือ PANI-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> > PANI-H<sub>2</sub>O<sub>4</sub> > PANI-HNO<sub>3</sub> และไม่สามารถสังเคราะห์นาโนไฟเบอร์ได้เมื่อใช้ CH<sub>3</sub>COOH เป็น dopants เนื่องจากความสามารถละลายตัวได้ดีของ PANI-CH<sub>3</sub>COOH

Subhasis Roy และคณะ [100] เตรียมโพลีอะนิลีนนาโนไฟเบอร์และอนุภาคนาโนโพลีอะนิลีนโดยวิธี doping และ electro-deposition ในสารละลายที่ประกอบด้วย undoped PANI (Emeraldine bases) เป็น electrolyte และ p-toluenesulphonic acid ด้วยการจ่ายศักย์ไฟฟ้าคงที่ และศึกษาผลของระยะเวลาในการจ่ายศักย์ไฟฟ้า นำผลการสังเคราะห์ที่ได้ไปศึกษาด้วย High Resolution Transmission Electron Microscopy พบว่าเกิดเป็น PANI Emeraldine salt nanofibers ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 50 นาโนเมตร และเกิดอนุภาคนาโนของ Luco-Emeraldine ที่มีขนาดอนุภาคประมาณ 30 ถึง 50 นาโนเมตร กระจายตัวอยู่ด้วย

Haibin Zhang และคณะ [93] ทำการสังเคราะห์โพลีอะนิลีนที่มีโครงสร้าง lamellar structure ระดับนาโนเมตร ด้วยวิธี electrodeposition ลักษณะโครงสร้างของโพลีอะนิลีนที่ได้มีลักษณะ nano-fibrillar และได้ศึกษาถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยา

### 2.9.6 ชิงค์ออกไซด์กับการใช้งานด้านตัวตรวจวัดชีวภาพ

ชิงค์ออกไซด์ เป็นสารกึ่งตัวนำที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลายๆด้านรวมทั้งทางด้านอิเล็กทรอนิกส์ เช่น เซลล์สุริยะ จอภาพ อุปกรณ์ที่เกี่ยวกับเสียง เป็นต้น [59-62] นาโนชิงค์ออกไซด์สามารถนำมาเคลือบโดยสารทางชีวภาพเช่นเอนไซม์หรือโมเลกุลของโปรตีนได้เนื่องจากมีความสามารถเข้ากันได้กับสารทางชีวภาพได้เป็นอย่างดี คือไม่ทำลายโมเลกุลของโปรตีนให้เสียสภาพและยังยึดกับโมเลกุลของโปรตีนได้ดี ราคาถูก สามารถหาได้ง่าย รวมทั้งสามารถสังเคราะห์บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า [105-109] ด้วยเหตุนี้ชิงค์ออกไซด์จึงได้รับความนิยมนำมาใช้ในงานด้านตัวตรวจวัดทางชีวภาพด้วย [29,32-38,42,]

Yin-Feng Li และคณะ [37] ได้รายงานการเคลือบเอนไซม์บนนาโนชิงค์ออกไซด์พบว่าเมื่อเคลือบเอนไซม์ tyrosinase บนอนุภาคนาโนชิงค์ออกไซด์ที่มีประจุสุทธิ (isoelectric point, pI) สูง ผลที่ได้โปรตีนจะมีประจุสุทธิต่ำ จึงสามารถทำให้เอนไซม์ติดอยู่กับนาโนชิงค์ออกไซด์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

( โดยแรงทาง electrostatic interactions ) จากนั้นนำไปเคลือบบนขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนโดยใช้ โคลโคซาน พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเอนไซม์ที่เคลือบได้ และเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดได้

Xiaoli Zhu และคณะ [26] ได้ศึกษาการถ่ายเทอิเล็กตรอนโดยตรงของเอนไซม์ microperoxidase กับนาโนซิงค์ออกไซด์ บนขั้วไฟฟ้า pyrolytic graphite พบว่าประสิทธิภาพการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น Yan-Li Liu และคณะ [28] ได้ทำการสังเคราะห์ Nanosized flower-like ZnO จากนั้นมากระจายตัวในสารละลายโคลโคซานและผสมกับเอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบบนขั้วไฟฟ้าใช้งานกลาสติคาร์บอนเพื่อใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าขีดจำกัดการตรวจวัดที่ได้คือ 2.0 ไมโครโมลาร์ Tanin Tangkuaram และคณะ [24] ได้ออกแบบขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนและเคลือบเอนไซม์ horseradish peroxidase และ gold nanoparticles (AuNP) โดยใช้โคลโคซานตรึงลงบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน ใช้เทคนิคแอมเพอโรเมทรีในการตรวจวัดความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสารละลายซิตเรตเรทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 ไมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.5 โดยใช้ศักย์ไฟฟ้าในการวัดที่  $-0.4$  โวลต์ พบว่าช่วงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่วัดได้คือ 0.01–11.3 มิลลิโมลาร์ และขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 0.65 ไมโครโมลาร์ Hui Ping Bai และคณะ [39] ใช้ zinc oxide nanoflowers ที่สังเคราะห์โดยวิธี electrodeposition บนฟิล์ม multi-walled carbon nanotubes (MWNTs) บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน และปรับปรุงด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase สามารถตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า  $-0.11$  โวลต์ มีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ  $9.9 \times 10^{-7}$  ถึง  $2.9 \times 10^{-3}$  ไมลาร์ และใช้เวลาในการตอบสนอง 5 วินาที

## บทที่ 3

### การดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 สารเคมี

1. Aniline; ความบริสุทธิ์ 99 % PS ของบริษัท Panreac
2. ZoNoP<sup>®</sup> Zinc Oxide Nano Particles ของบริษัท นาโน แมททีเรียลส์ เทคโนโลยี จำกัด (Thailand)
3. Dibasic sodium phosphate  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ความบริสุทธิ์ 99.0 (% w/w) ของบริษัท CARLO ERBA (Italia)
4. Monobasic sodium phosphate  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ความบริสุทธิ์ 99.5 (% w/w) ของบริษัท BDH (UK)
5. Phosphoric acid;  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ความบริสุทธิ์ 87 (% w/v) ของบริษัท J.B.Baker (USA)
6. Potassium Hydroxide; KOH ความบริสุทธิ์ 99.5 (% w/w) ของบริษัท BDH (UK)
7. Nitrogen gas;  $\text{N}_2$  ความบริสุทธิ์ 99.999 (% v/v) ของบริษัท TIG (Thailand)
8. Hydrogen peroxide solution;  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ความบริสุทธิ์ (30 % wt in  $\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท ACS reagent (Sigma-Aldrich)
9. เอนไซม์ Peroxidase, Type VI from horseradish ของบริษัท ACS reagent (Sigma)
10. Ammonium peroxy disulfate (APS);  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  ความบริสุทธิ์ > 98 (%) ของบริษัท ACS reagent (Fluka)
11. Nafion. 117 Solution ความบริสุทธิ์ 5 (%) ของบริษัท ACS reagent (Fluka)
12. Ethanol. Absolute GR for analysis (MERCK)
13. Hydrochloric acid; HCl ความบริสุทธิ์ 37 (%) ISO-For analysis (Carlo Erba reagents)
14. Potassium hexacyanoferrate;  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (MERCK)
15. Potassium chloride; KCl Analytical Reagent (UNIVAR)
16. Toluene; Analytical reagent (Fisher Scientific)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการสร้างขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

1. Silver Ink: Electrodag 479SS, ของบริษัท Acheson (USA)
2. Carbon Ink: Electrodag PF-407C, ของบริษัท Acheson (USA)
3. Silver/Silver chloride Ink: Electrodag 7019, ของบริษัท Acheson (USA)
4. ลี้น้ำมันสำหรับชั้น Insulator ของบริษัท Chaoyabon Brother (Thailand)
5. แผ่น PVC Substrate หนา 0.4 มิลลิเมตร
6. Silicone rubber
7. ผ้าสกรีนเบอร์ 140T
8. เฟรมสกรีนสำหรับพิมพ์สกรีนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

### 3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน
2. เครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้า และวัดปริมาณกระแสไฟฟ้า (Autolab Potentiostat) รุ่น PGSTAT20 ของบริษัท Ecochemie ประเทศไทย
3. เครื่องวัด pH Metrohm รุ่น 716 DMS Titrino ของบริษัท Ecochemie ประเทศไทย
4. Ultrasonic bath; ELMA Tramsonic รุ่น 570/H
5. ตู้อบสารเคมี Memmert รุ่น 100 – 800 ประเทศ Germany
6. เครื่องชั่งละเอียด 5 ตำแหน่ง (Analytical balance) ; Sartorius Germany รุ่น BP 210 D ของบริษัท Scientific Promotion ประเทศไทย
7. เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน รุ่น Milli-Q ( Milford, MA, USA )
8. โถดูดความชื้น
9. เครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich Zentrifugen รุ่น EBA 8S จากบริษัท BEC Thai ประเทศไทย
10. เครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมแท่งกวน Metrohm Switzerland รุ่น 728 Stirrer ของบริษัท Ecochemie ประเทศไทย
11. กล้องจุลทรรศน์ Nikon Japan ของบริษัท Hollywood International ประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM) ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ Thai Microelectronics Center, TMEC

### 3.4 การเตรียมสารละลาย

#### 3.4.1 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.10 โมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) 6.8 ด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) วิธีการเตรียมดังภาคผนวก ข.

#### 3.4.2 สารละลายอะนิตินโมโนเมอร์

ในการเตรียมอะนิติน โมโนเมอร์ต้องทำการกลั่นอะนิตินใหม่ทุกครั้งก่อนนำมาใช้งาน โดยทำการกลั่นแบบธรรมดาหรือการกลั่นอย่างง่าย

เตรียมสารละลายโมโนเมอร์อะนิติน 0.2 โมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยชั่งอะนิติน 0.5 กรัม จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นที่ละน้อยจนครบปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

#### 3.4.3 สารละลายเอนไซม์ Peroxidase

เตรียมเอนไซม์โดยละลายเอนไซม์ Peroxidase, Type VI 10 มิลลิกรัม ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.8 ความเข้มข้น 0.10 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้เอนไซม์ Peroxidase ความเข้มข้น 2,500 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

### 3.5 การเตรียมขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

เตรียมแผ่นพีวีซีตัดให้มีขนาดตามต้องการตามแบบของเฟรมสกรีน

1. ทำความสะอาดแผ่นพีวีซีจากนั้นล้างด้วยเอทานอลปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนำแผ่นพีวีซีมาทำการสกรีนชั้นต่างๆ ตามลำดับดังนี้

2. ทำการสกรีนลาย Conducting track ด้วย Silver Ink นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อระเหยตัวทำละลายที่อยู่ใน Silver Ink

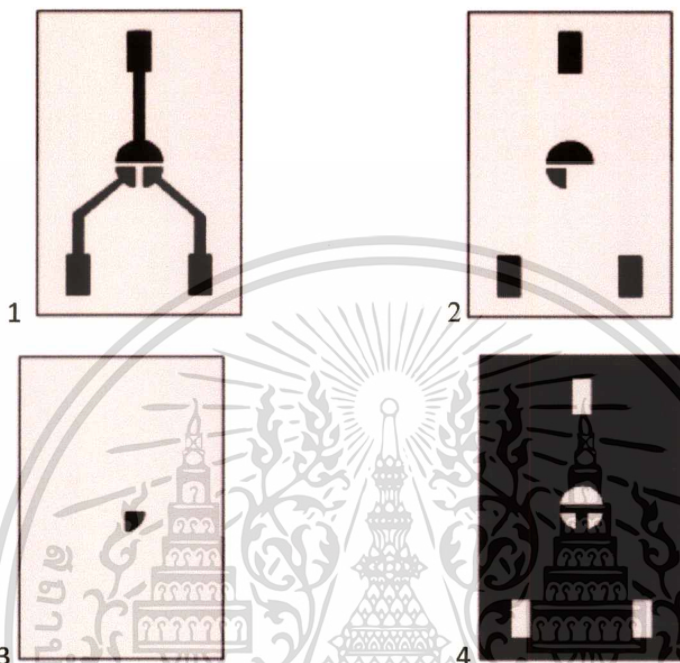
3. ทำการสกรีนลายขั้วไฟฟ้าใช้งาน ขั้วไฟฟ้าช่วย และ Contact pads ด้วย Carbon Ink นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อระเหยตัวทำละลายที่อยู่ใน Carbon Ink

4. ทำการสกรีนลายขั้วไฟฟ้าอ้างอิงด้วย Silver/Silver chloride Ink นำไปอบที่อุณหภูมิ

60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อระเหยตัวทำละลายที่อยู่ใน Silver/Silver chloride Ink

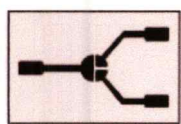
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ทำการสกรีนลาย Insulator ด้วย สีน้ำมัน นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อระเหยตัวทำละลายที่อยู่ในสีน้ำมัน  
ก่อนใช้งานทำการคัดเลือกขั้วไฟฟ้าโดยการเช็ดลายวงจรด้วยมัลติมิเตอร์

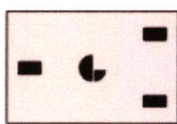


รูปที่ 3.1 ลายสกรีนชั้นต่างๆตามลำดับ

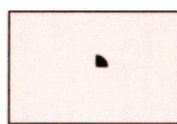
1. คือลายของเส้นวงจร สกรีนด้วย silver
2. คือชั้นของหมึกคาร์บอน
3. คือชั้นของขั้วไฟฟ้าอ้างอิง สกรีนด้วย Ag/Cl
4. คือชั้นของฉนวนไฟฟ้า สกรีนด้วยสีน้ำมัน



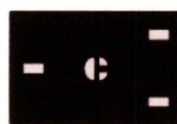
ลาย Conducting trac



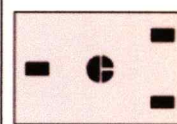
ลายขั้วไฟฟ้าใช้งานและขั้วช่วย



ลายขั้วไฟฟ้าอ้างอิง



ลายฉนวนไฟฟ้า



รวม

รูปที่ 3.2 แสดงลักษณะชั้นต่างๆที่สกรีนและแบบรวมสุดท้ายของแผ่นสกรีนปรินต์ที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

#### 3.6.1 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยขิงค์ออกไซด์ด้วยวิธี electrodeposition

1. ปิเปตสารละลายขิงค์ในเตรท 0.005 โมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าโดยให้สารละลายสัมผัสขั้วไฟฟ้าทั้งสามขั้ว
2. จ่ายศักย์ไฟฟ้าคงที่ -1.1 โวลต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl เป็นเวลา 20 และ 30 นาที จากนั้นล้างขั้วด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหนึ่งคืน
3. จากนั้นนำขั้วไฟฟ้าที่ได้ไปศึกษารูปร่างลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด

#### 3.6.2 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยวิธี electrochemical polymerization

เตรียมโพลีอะนิลีนด้วยวิธี electrochemical polymerization ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบชนิดกรดที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชันสองชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริกและกรดฟอสฟอริก

1. ล้างขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนโดยปิเปตสารละลาย 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) 6.8 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนหน้าขั้วไฟฟ้า จากนั้นจ่ายศักย์ไฟฟ้าคงที่ +1.7 โวลต์ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นล้างขั้วไฟฟ้าด้วยน้ำปราศจากไอออนอีกรอบ
2. เตรียมสารละลายโมโนเมอร์อะนิลีน 0.2 โมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ (ตามวิธีในหัวข้อ 3.4.2)
3. ปิเปตสารละลายในข้อ 2. ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนหน้าขั้วไฟฟ้าแล้วทำการจ่ายศักย์ไฟฟ้าคงที่ +0.75 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งมีการจัดอุปกรณ์ดังแสดงในรูปที่ 3.3 และรูปที่ 3.4
4. ล้างขั้วไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่นจากนั้นปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหนึ่งวัน
5. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนสารละลายในข้อ 2. เป็นการเตรียมสารละลายโมโนเมอร์อะนิลีน 0.2 โมลาร์ ในสารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์
6. จากนั้นนำขั้วไฟฟ้าที่ได้ไปศึกษารูปร่างลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด

#### 3.6.3 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase

1. ปิเปตเอนไซม์ 10 ไมโครลิตรและสารละลายเนฟิออน 2 เปอร์เซ็นต์ 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ด้วยวิธี hand mixed
2. ปิเปตสารผสมในข้อ 1. ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งาน จากนั้นทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6.4 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยซิงค์ออกไซด์ด้วยวิธี electro deposition บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เคลือบด้วยโพลีอะนิลีนด้วยวิธี electrochemical polymerization (3.6.2)

1. ปิเปตสารละลายซิงค์ในเตรท 0.005 โมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยโพลีอะนิลีน โดยให้สารละลายสัมผัสทั้งสามขั้ว
2. จ่ายศักย์ไฟฟ้าคงที่ -1.1 โวลต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl เป็นเวลา 20 และ 30 นาที จากนั้นล้างขั้วด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหนึ่งคืน
3. นำขั้วไฟฟ้าที่ได้ไปศึกษารูปร่างลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด

### 3.6.5 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยโพลีอะนิลีนและนาโนซิงค์ออกไซด์คอมโพสิตด้วยวิธี Pickering emulsion polymerization

1. ชั่ง  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  (APS) 2.49 กรัม ละลายในกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ 20 มิลลิลิตร
2. เตรียมผงนาโนซิงค์ออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์กระจายตัวในสารละลายกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยทำให้สารนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวด้วยเครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปิเปตสารปริมาตร 25 มิลลิลิตรลงขวดรูปชมพู่ แล้วปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กและเครื่องปั่นกวนต่อไป
3. เติมสารละลาย aniline โมโนเมอร์ 1 มิลลิลิตรลงในสารผสมในข้อที่ 2. โดยที่ยังปั่นกวนสารต่อไป
4. ค่อยๆ หยดสารละลายในข้อที่ 1. ทีละหยดลงในขวดรูปชมพู่ในข้อ 3. จนครบ 1 มิลลิลิตร โดยที่ยังคงปั่นกวนต่อไปหลังจากนั้นทำการปั่นกวนต่อไปจนกระทั่งครบ 12 ชั่วโมง
5. จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนและเอทานอล 30 เปอร์เซ็นต์
6. นำขั้วไฟฟ้าที่ได้ไปศึกษารูปร่างลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์

### 3.6.6 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และเอนไซม์ horseradish peroxidase

1. เตรียมผงนาโนซิงค์ออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) 6.8 จากนั้นนำไปทำให้กระจายตัวโดยใช้เครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 30 นาที
2. ผสมเอนไซม์ 10 ไมโครลิตรกับซิงค์ออกไซด์ 10 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันด้วยวิธี hand mixed
3. ปิเปตสารผสมในข้อ 2. ปริมาตร 10 ไมโครลิตรลงในสารละลายเนฟิออน 2 เปอร์เซ็นต์ 10 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันด้วยวิธี hand mixed

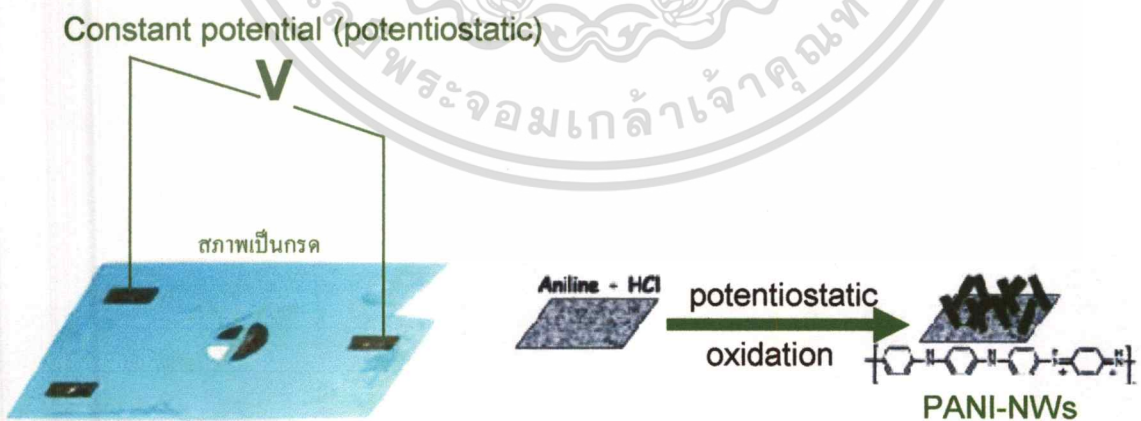
4. ปิเปตสารผสมในข้อ 3. ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งาน จากนั้นทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนการใช้งาน เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6.7 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่เคลือบด้วยโพลีอะนิลีนด้วยวิธี electrochemical polymerization (3.6.2) ร่วมกับเอนไซม์ Peroxidase

1. เตรียมผงนาโนซิงค์ออกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) 6.8 จากนั้นนำไปทำให้กระจายตัวโดยใช้เครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 30 นาที
2. นำของผสมในข้อ 1. มา 10 ไมโครลิตร ผสมกับเอนไซม์ 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตมา 2 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งานที่เคลือบด้วยโพลีอะนิลีนแล้วทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนการใช้งาน

### 3.6.8 การปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยโพลีอะนิลีนและนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธี Pickering emulsion polymerization (3.6.5) ร่วมกับเอนไซม์ Peroxidase

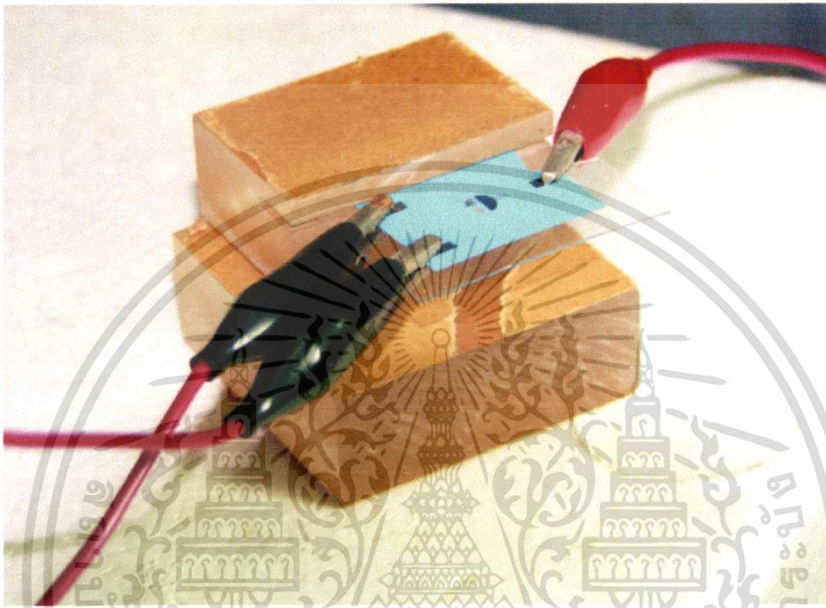
1. นำสารละลายของผสมโพลีอะนิลีนซิงค์ออกไซด์ 10 ไมโครลิตรในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) 6.8 และเอนไซม์ 10 ไมโครลิตร และ สารละลายเนฟิออน 2 เปอร์เซ็นต์ 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน โดยวิธี hand mixed
2. ปิเปตสารละลายของผสมในข้อ 1. ปริมาตร 2 ไมโครลิตรลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งาน จากนั้นทิ้งให้แห้งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้งาน



รูปที่ 3.3 แสดงลักษณะการจ่ายศักย์ไฟฟ้าและการเกิดโพลิเมอร์ไรเซชันด้วยไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการจ่ายศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าเป็นการจ่ายคร่อมขั้วไฟฟ้าช่วยและขั้วไฟฟ้าใช้งาน โดยที่ต่อไฟผ่านลายวงจรด้านริมของแผ่นสกรีนปรินต์แต่ละด้าน (สีเหลืองสีดำ) ซึ่งที่ขั้วไฟฟ้าใช้งานให้มีค่าศักย์ไฟฟ้าคงที่เท่ากับ +0.75 โวลต์ ซึ่งสารละลายที่มีอะนิตินหยดลงไปบริเวณหน้าขั้วไฟฟ้า เป็นบริเวณที่มีรูปร่างกลม โดยให้สารละลายสัมผัสทั้งขั้วไฟฟ้าใช้งาน (สีดำ) ขั้วช่วย (สีดำ) และขั้วอ้างอิง (สีขาว) ในรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.4 แสดงรูปถ่ายลักษณะการเซตอุปกรณ์ในการสังเคราะห์ลวดนาโนโพลิอะนิติน

### 3.7 ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงทั้งสองวิธีการ

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่ปรับแต่งแล้วทางด้านการนำไฟฟ้าและประสิทธิภาพในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังรายละเอียดคือ

#### 3.7.1 การศึกษาไซคลิกโวลแทมเมทรี

การศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าที่ปรับแต่งด้วยโพลิอะนิตินซิงค์ออกไซด์คอมโพสิตและขั้วไฟฟ้าที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลิอะนิติน ในการเกิดปฏิกิริยาของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยการวัดกระแสไฟฟ้าเทียบกับศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่ระบบ ด้วยเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้าและวัดปริมาณกระแสไฟฟ้า AUTOLAB PGSTAT20 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายที่ใช้คือ 30 mM Potassium ferricyanide,  $K_3[Fe(CN)_6]$  ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) 6.8 KCl 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

### 3.7.2 ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิค Electrochemical Impedance Spectroscopy

การศึกษาด้วยเทคนิค Electrochemical Impedance Spectroscopy สารละลายที่ใช้คือ 30 มิลลิโมลาร์  $K_3[Fe(CN)_6]$  ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) 6.8 KCl 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

## 3.8 ทดสอบขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้นมากับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

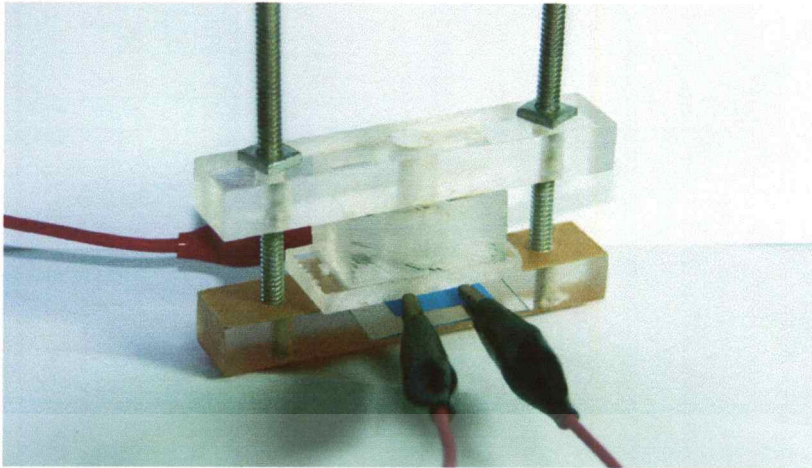
ศึกษาการใช้งานขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้นมากับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยทดสอบกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) 6.8 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้เทคนิคดังนี้

### 3.8.1 ศึกษาไซคลิกโวลแทมเมตรีในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ทำการสแกนไซคลิกจากศักย์ไฟฟ้า -0.900 โวลต์ ถึง +0.900 โวลต์ ด้วยอัตราเร็วการสแกน 30 มิลลิโวลต์ต่อวินาที จากนั้นศึกษาไซคลิกโวลแทมเมตรีโมแกรมที่ได้จากปฏิกิริยารีดอกซ์ เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการส่งผ่านกระแสไฟฟ้าที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชันหรือออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

### 3.8.2 ศึกษาขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรีในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ทำการศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด ( Detection limit ) ของการตรวจวัดของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรีศักย์ไฟฟ้าที่ใช้เท่ากับ -0.300 โวลต์ และบันทึกวนสารละลายตลอดเวลาขณะทำการทดลอง



รูปที่ 3.5 แสดงลักษณะการจัดอุปกรณ์ในการทดลองด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรี

### 3.8.3 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Linear range)

ทำการศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆจากกราฟมาตรฐานคือ 50 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.10 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.8 จากนั้นนำกราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสและความเข้มข้นมาเลือกช่วงความเป็นเส้นตรง

### 3.8.4 ศึกษาขีดจำกัดในการตรวจวัด (Detection limit)

การศึกษาขีดจำกัดในการตรวจวัด (Detection limit) ของการตรวจวัดของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยทำการหาค่าจากกราฟมาตรฐาน นำค่ากระแสที่ได้มาหาค่าสัญญาณรบกวน (ภาคผนวก ก.) ซึ่งคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและนำค่าความเข้มข้นและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานไปคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัด (ภาคผนวก ก.)

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1 ลักษณะทางกายภาพของโพลีอะนิลีนซิงค์ออกไซด์คอมโพสิตและลวดนาโน

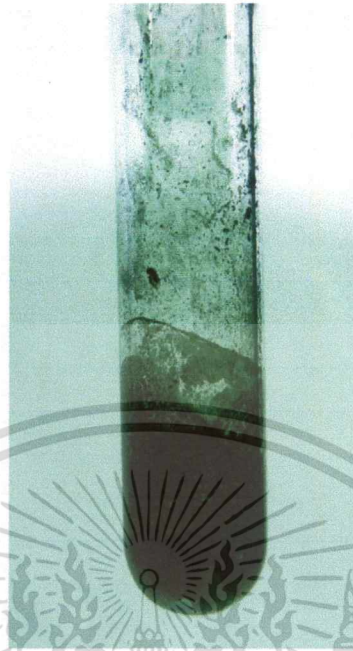
##### โพลีอะนิลีน

การศึกษาลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ ใช้การศึกษาจากภาพถ่ายที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาโดยใช้เทคนิคต่างๆ ดังนี้

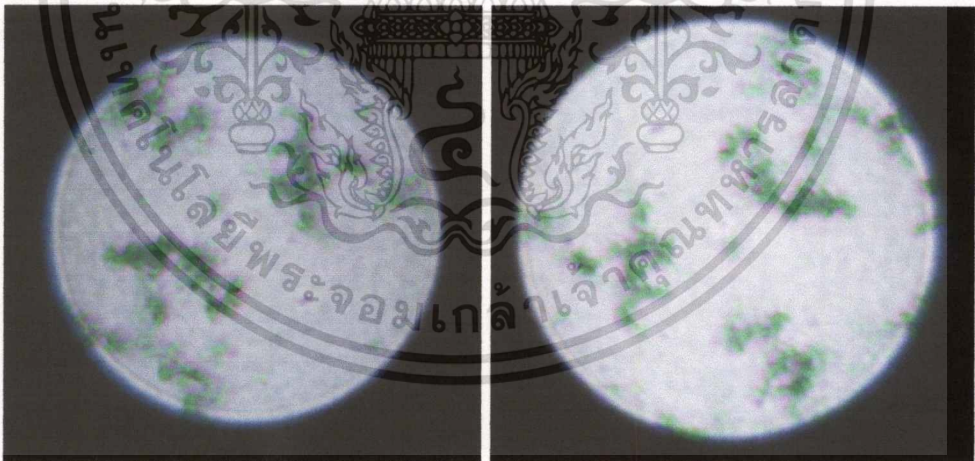
1. ซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต สังเคราะห์โดยวิธี Pickering emulsion polymerization
  2. Polyaniline nanowires สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก
  3. Polyaniline nanowires สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริก
  4. nano-ZnO สังเคราะห์โดยวิธี electrodeposition
  5. ZnO – PANI hybrid film โดยใช้เทคนิค electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริกร่วมกับเทคนิค electrodeposition
- แสดงผลรายละเอียดเรียงตามลำดับดังนี้

##### 4.1.1 ซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตสังเคราะห์โดยวิธี Pickering emulsion polymerization

ซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตที่เตรียมได้เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาแล้วจะมีสีเขียวเข้มขุ่นซึ่งแสดงว่าเกิดโพลิเมอร์ไรเซชันได้โพลีอะนิลีนในรูปแบบที่สามารถนำไฟฟ้าได้ดี (emeraldine salt) ดังแสดงในรูปที่ 4.1 แสดงสีของซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตที่ได้หลังจากล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนหนึ่งรอบ และล้างด้วยเอทานอลอีกหนึ่งรอบ



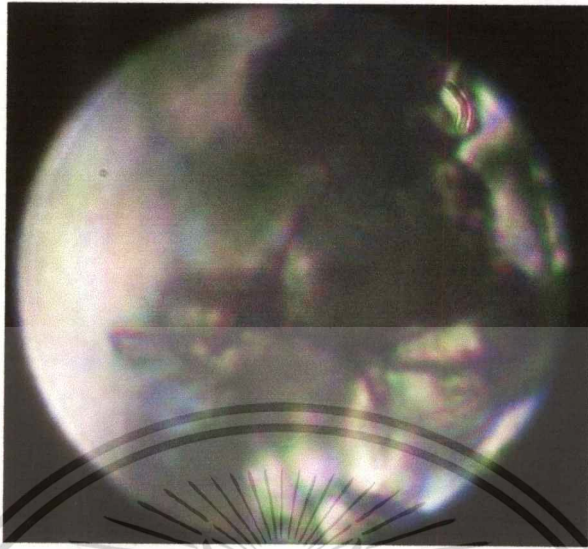
รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะสีของซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตที่เตรียมขึ้น



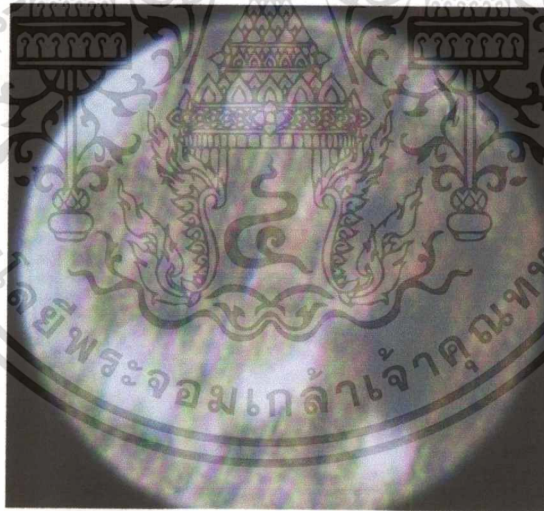
รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 20 เท่า

เมื่อนำซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตที่สังเคราะห์ได้มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 20 เท่า แสดงให้เห็นอนุภาคของโพลีอะนิลีนซึ่งมีสีเขียวดังรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



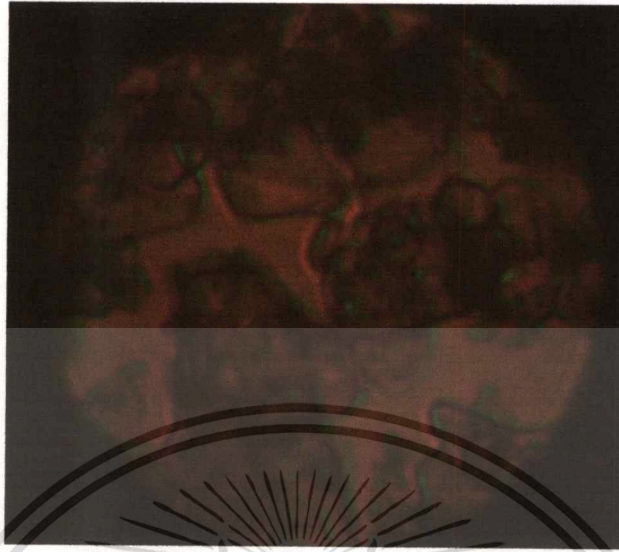
รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะซิงค์ออกไซด์โพลิอะนิลีนคอมโพสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า

ที่กำลังขยาย 100 เท่า ลักษณะของซิงค์ออกไซด์โพลิอะนิลีนคอมโพสิตรูปที่ 4.3 มีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับ อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์จาก บริษัท นาโน แมททีเรียลส์ เทคโนโลยี จำกัด รูปที่ 4.4 ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะซิงค์ออกไซด์โพลิอะนิลีนคอมโพสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า

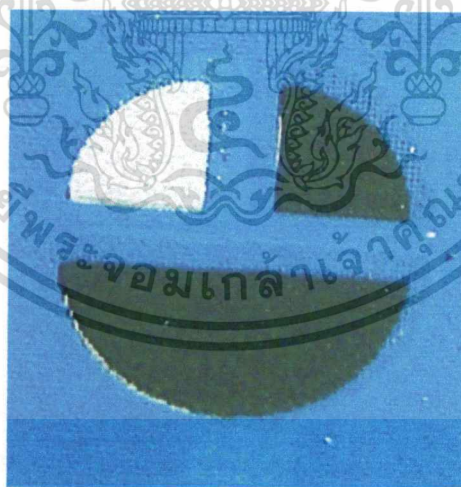
จากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์รูปที่ 4.3 และ 4.4 เป็นรูปซิงค์ออกไซด์โพลิอะนิลีนคอมโพสิตที่ได้ทำการสังเคราะห์ขึ้น และรูปของซิงค์ออกไซด์นาโนที่มาจากบริษัทนาโน แมททีเรียลส์-เทคโนโลยี จำกัด (Thailand) ที่ได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์ที่ให้แสงผ่านมากจากด้านล่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

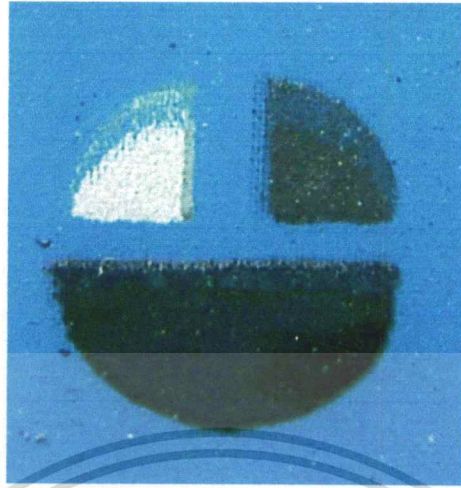
จะสังเกตเห็นว่า อนุภาคของซิงค์ออกไซด์โพไลอะนิลีนคอมโพสิทที่ได้ทำสังเคราะห์ขึ้นมาเองนั้น อนุภาคที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่มากเมื่อเทียบกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ซึ่งเกิดจากการที่อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ส่วนที่ละลายในตัวทำละลายเกิดการตกผลึกใหม่ หลังจากทำการล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนและเอทานอลซึ่งทำให้ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) เป็นกลางมากขึ้น จึงทำให้เกิดเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น แสดงได้ดังรูปที่ 4.5 และรูปที่ 4.6 ซึ่งเป็นภาพถ่ายที่จากกล้องจุลทรรศน์โดยให้แสงผ่านด้านข้าง บริเวณที่มีลักษณะใสจะเป็นซิงค์ออกไซด์ปะปนกับโพไลอะนิลีนที่มีสีทึบกว่า หลังจากนั้นได้นำซิงค์ออกไซด์โพไลอะนิลีนคอมโพสิทไปทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีเพื่อหากระแสที่เกิดจากปฏิกิริยารีดอกซ์ ซึ่งแสดงผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.2

#### 4.1.2 Polyaniline nanowires สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก

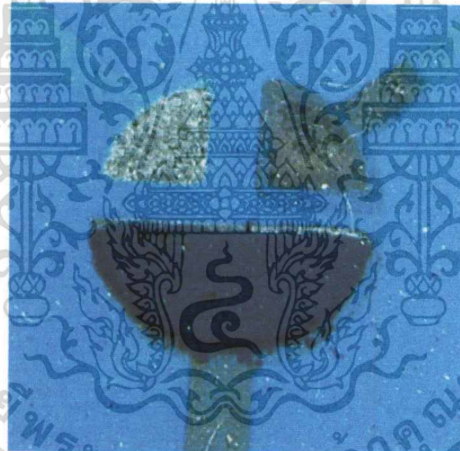
การสังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกในการสังเคราะห์บนหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเปล้าก่อนทำการปรับแต่ง



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยลวดนาโน โพลีอะนิลีนเป็นเวลา 20 นาที



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยลวดนาโน โพลีอะนิลีนเป็นเวลา 30 นาที

ลักษณะของลวดนาโน โพลีอะนิลีนเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาแล้วสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า พบว่าขั้วไฟฟ้ามีสีเปลี่ยนไปจากขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเปล่าเดิมเล็กน้อยโดยจะมีสีดำเข้มขึ้นเหลืองเขียว ม่วงจาง เวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที สามารถทำให้เกิดลวดนาโน โพลีอะนิลีนได้จำนวนมากขึ้นแต่จะเกิดความเสียหายแก่ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ในอะนิลีน โมโนเมอร์จะทำปฏิกิริยากับหมึกคาร์บอน ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และแผ่นพีวีซี ซึ่งทำให้แผ่นพีวีซีค่อยๆ

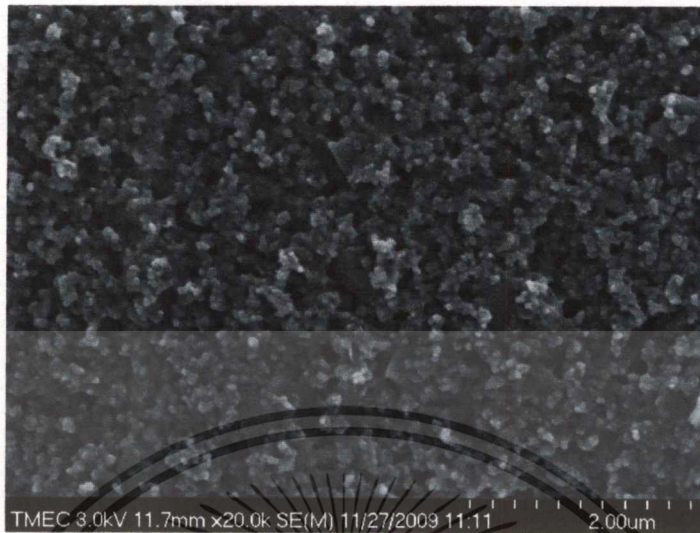
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อ่อนตัวรวมทั้งชั้นฉนวนสามารถหลุดออกได้ และเนื่องจากการนำไฟฟ้าที่ดีและพื้นที่ผิวที่เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ของลวดนาโน โพลีอะนิลีนจะทำให้กระแสไหลผ่านได้มากขึ้นเรื่อยๆเมื่อเวลาผ่านไป จึงทำให้ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าช่วยเสียหายได้

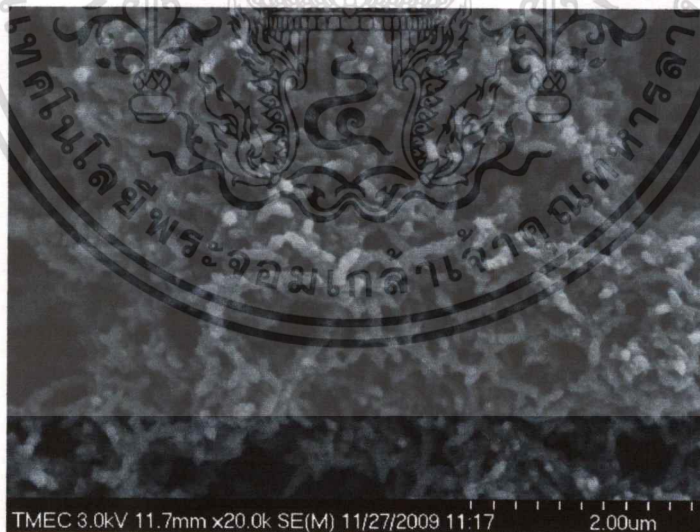
ลวดนาโน โพลีอะนิลีนใช้เวลาในการสังเคราะห์ 20 นาที ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและเตรียมได้รวดเร็ว โดยที่ลักษณะของลวดนาโน โพลีอะนิลีนที่ได้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 100 – 130 นาโนเมตร จากการวัดด้วยโปรแกรมของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งทำให้พื้นที่ผิวของขั้วไฟฟ้าเพิ่มขึ้นอย่างมาก ลักษณะการเกิดลวดนาโน โพลีอะนิลีนดังแสดงในรูปด้านล่าง มีลักษณะเป็น โครงข่ายแบบส้อม ปลายมาเชื่อมโยงถึงกันตลอดและมีความสม่ำเสมอตลอดหน้าขั้วไฟฟ้า และสัมผัสโดยตรงกับขั้วไฟฟ้าเนื่องจากเริ่มก่อตัวจากผิวหน้าขั้วไฟฟ้าโดยตรงซึ่งช่วยให้เกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนกับขั้วไฟฟ้าได้ดี



**รูปที่ 4.10** แสดงลักษณะของพื้นผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนหลังจากล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.10 โมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) 6.8 ศักย์ไฟฟ้าคงที่ +1.7 โวลต์ เป็นเวลา 1 นาที ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 50,000 เท่า

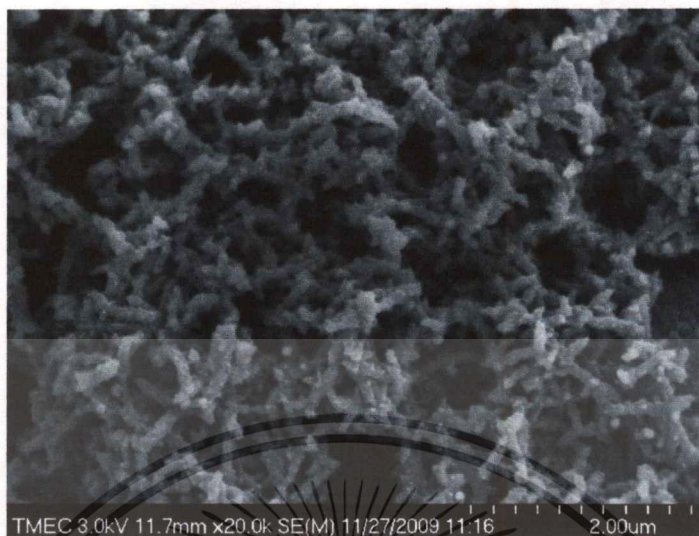


รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะของพื้นผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนหลังจากล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.10 โมลาร์ ที่ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) 6.8 ศักย์ไฟฟ้าคงที่ +1.7 โวลต์ เป็นเวลา 1 นาที ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 20,000 เท่า

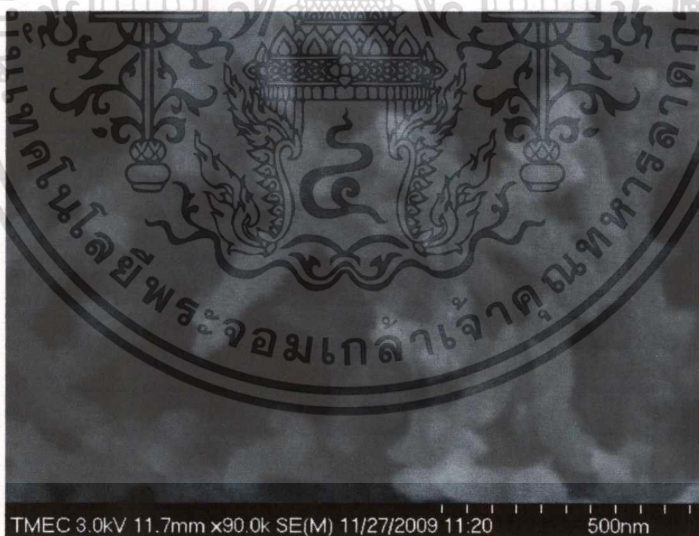


รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะลวดนาโนโพลีอะนิลีนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 20,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะสวมนาโนโพลีเอทิลีนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 20,000 เท่า



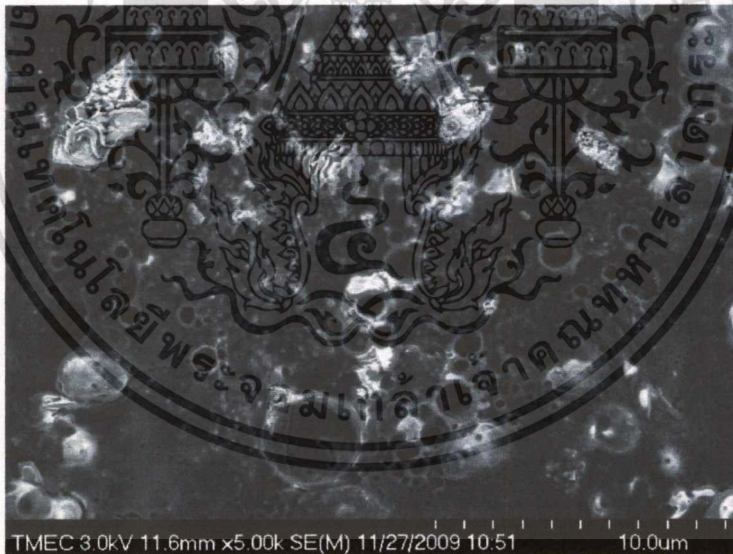
รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะสวมนาโนโพลีเอทิลีนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 90,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

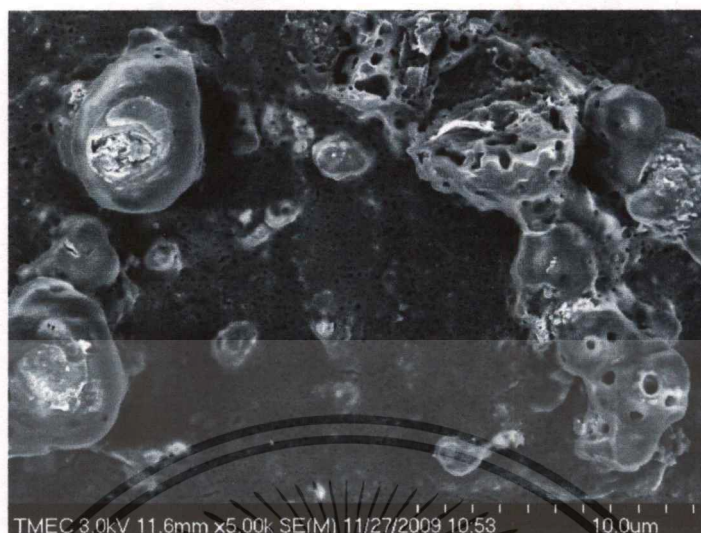
จากรูปที่ 4.13- 4.14 เป็นภาพถ่ายผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่เคลือบด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีนที่กำลังขยายเดียวกันสองจุดบนขั้วไฟฟ้าขั้วเดียวกัน ส่วนรูปที่ 4.15 เป็นภาพถ่ายที่กำลังขยาย 90,000 เท่า จะพบว่ามีลักษณะการเกิดลวดนาโนโพลีอะนิลีนเป็นโครงข่ายแบบสุ่มมีความหนาบางแต่ละจุดไม่เท่ากัน แต่ลักษณะการเกิดมีกระจายอย่างสม่ำเสมอตลอดผิวหน้าขั้วไฟฟ้า จึงได้เลือกผิวหน้าขั้วเคลือบด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีนไปใช้ในการทดลองต่อไป

#### 4.1.3 Polyaniline nanowires สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริก

การสังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 4.1.2 โดยเปลี่ยนกรดที่ใช้เป็นกรดฟอสฟอริกและทำการสังเคราะห์บนหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเช่นกัน แสดงผลที่ได้ดังนี้



รูปที่ 4.15 แสดงภาพถ่าย โพลีอะนิลีนที่สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization ใช้กรดฟอสฟอริกเป็น dopant

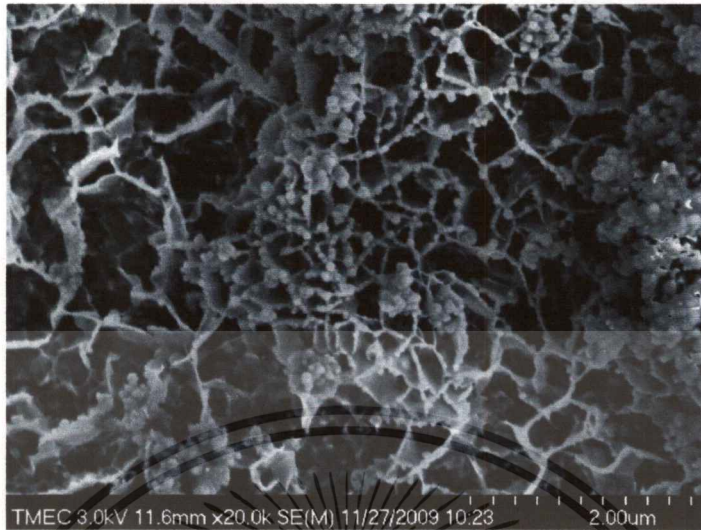


**รูปที่ 4.16** แสดงภาพถ่ายโพไลอะนิสที่สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization ใช้กรดฟอสฟอริกเป็น dopant

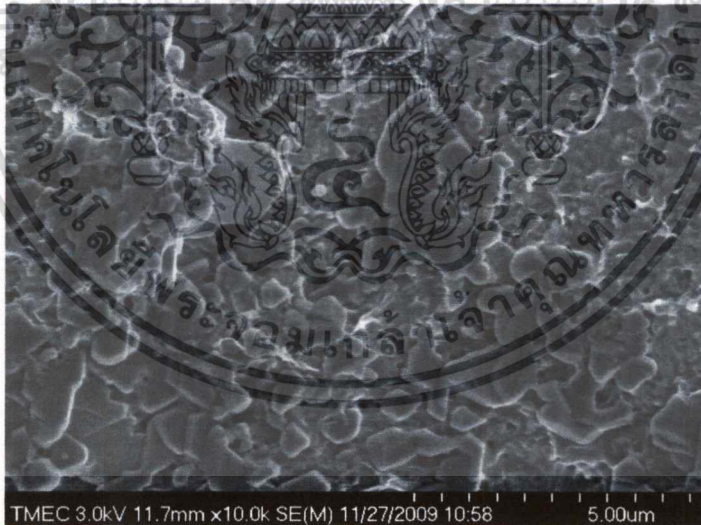
จากรูปที่ 4.15 - 4.16 แสดงภาพถ่ายโพไลอะนิสที่สังเคราะห์โดยวิธี electrochemical polymerization ใช้กรดฟอสฟอริกเป็น dopant ที่กำลังขยาย 5,000 เท่าซึ่งถ่ายด้วยไฟฟ้าชั่วเดียวกันแต่เปลี่ยนจุดที่ทำการถ่ายภาพ พบว่ามีลักษณะเป็นฟิล์มบางเคลือบบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าซึ่งทำให้ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าซึ่งทำให้มีพื้นที่ผิวของขั้วไฟฟ้าน้อยและลักษณะของพื้นผิวมีลักษณะเป็นหลุมขนาดไม่สม่ำเสมอขนาดอยู่ในช่วงประมาณ 0.5 ถึง 10 ไมโครเมตร

#### 4.1.4 nano-ZnO สังเคราะห์โดยวิธี electrodeposition

ผลจากการสังเคราะห์ nano-ZnO บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนโดยวิธี electrodeposition โดยใช้เวลาในการสังเคราะห์ 20 นาที และ 30 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์ผลด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ได้ผลดังนี้



รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์  
ด้วยวิธี electrodeposition โดยใช้เวลาในการจ่ายศักย์ไฟฟ้า +1 โวลต์ 20 นาที



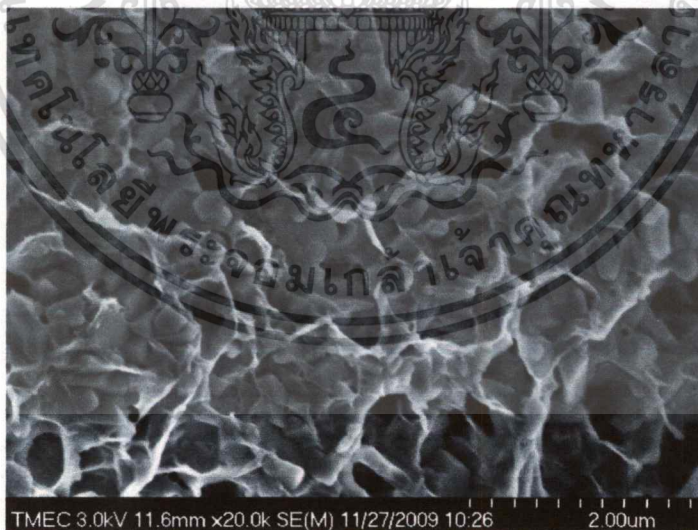
รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์  
ด้วยวิธี electrodeposition โดยใช้เวลาในการจ่ายศักย์ไฟฟ้า +1 โวลต์ 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลที่ได้จากภาพถ่ายแสดงให้เห็นว่าเกิดการกร่อนของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนก่อนที่จะเกิดเป็นฟิล์มของซิงค์ออกไซด์ ลักษณะของซิงค์ออกไซด์ที่ได้เป็นฟิล์มเคลือบตลอดผิวหน้าขั้วไฟฟ้า มีขนาดโครงสร้างผลึกอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 1.5 ไมโครเมตร

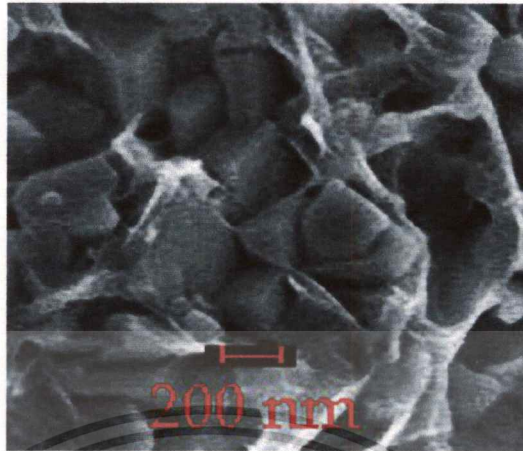
#### 4.1.5 ZnO – PANI hybrid film โดยใช้เทคนิค electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริกร่วมกับเทคนิค electrodeposition

จากการศึกษาภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของการทำ electrodeposition ของ ZnO บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่ทำมาจากผงคาร์บอน ซึ่งในขั้นตอนการเคลือบทำให้เกิดการกร่อนของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าก่อนหรือในขณะการเกิดเป็นฟิล์ม ZnO ซึ่งอาจจะทำให้ลดความสามารถในการถ่ายเทอิเล็กตรอนเกิดขึ้นได้ จึงได้ทดลองนำเอาขั้วไฟฟ้าที่ปรับแต่งด้วยโพลีอะนิลีนที่ได้จากการเคลือบด้วยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริก เป็น dopant เพื่อป้องกันการกร่อนของขั้วไฟฟ้าคาร์บอน ก่อนทำการเคลือบซิงค์ออกไซด์ด้วยวิธี electrodeposition เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำการสังเคราะห์ ZnO – PANI hybrid film [113] แสดงผลที่ได้ดังนี้



**รูปที่ 4.19** แสดงลักษณะของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยโพลีอะนิลีนด้วยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็น dopant และซิงค์ออกไซด์ ด้วยวิธี electrodeposition

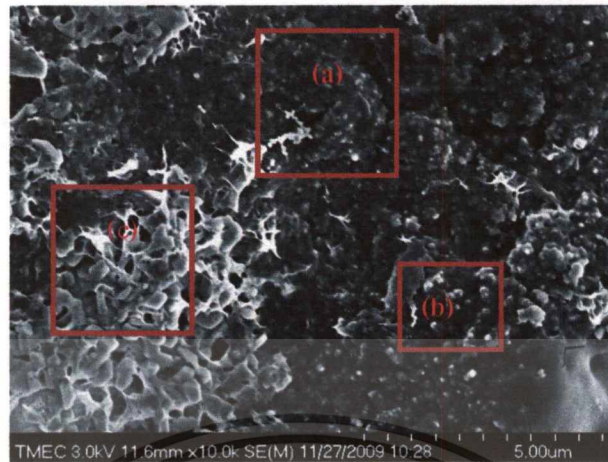
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 ภาพขยายลักษณะของอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นบนฟิล์มโพลีอะนิลีน

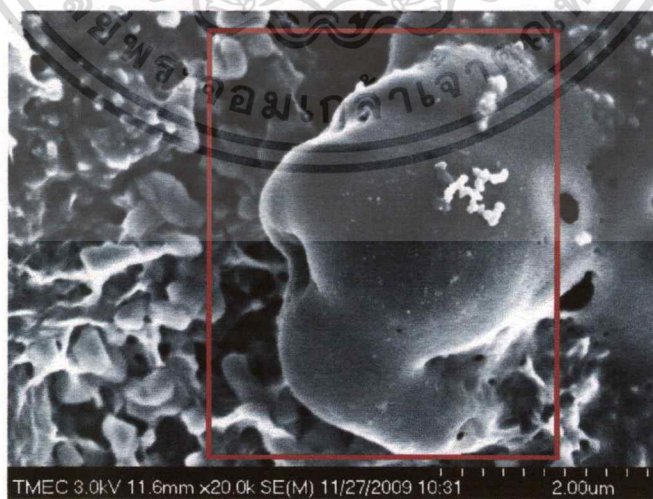
ผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.21 พบว่ามีลักษณะการของผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่มีการปรับแต่งนี้เกิดขึ้นสามลักษณะกระจายไม่สม่ำเสมอตามผิวหน้าขั้วไฟฟ้า คือ หนึ่งเกิดลักษณะของ ZnO / PANI hybrid film [94,95] มีผลึกของซิงค์ออกไซด์ขนาดอยู่ในช่วง 200 ถึง 400 นาโนเมตร กระจายแทรกอยู่ในฟิล์มของโพลีอะนิลีน รูปที่ 4.21 (c) สองเกิดลักษณะของฟิล์มโพลีอะนิลีนที่มีผิวเรียบเคลือบบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าดังแสดงในรูปที่ 4.21(b) และสามลักษณะของฟิล์มโพลีอะนิลีนที่มีผิวเป็นปุ่มขนาดประมาณ 250 นาโนเมตร เคลือบบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า 4.21(a)

รูปที่ 4.19 และ 4.20 แสดงภาพขยายลักษณะของ ZnO – PANI hybrid film ที่เกิดขึ้น [113] เทียบกับสเกลขนาด 200 นาโนเมตร



**รูปที่ 4.21** แสดงลักษณะของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยโพลีอะนิลีน  
ด้วยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็น dopant  
และซิงค์ออกไซด์ ด้วยวิธี electrodeposition

ซึ่งแสดงให้เห็นทั้งสามลักษณะที่เกิดขึ้นคือ บริเวณที่เป็นขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเปล่าที่ไม่ได้ถูกเคลือบ(a) บริเวณที่เกิดเฉพาะฟิล์มของ โพลีอะนิลีนเคลือบ(b) และบริเวณที่เกิดเป็น ZnO / PANI hybrid film(c)



**รูปที่ 4.22** แสดงลักษณะของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยโพลีอะนิลีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริกเป็น dopant และซิงค์ออกไซด์ ด้วยวิธี electrodeposition ขยายส่วนที่เกิดเป็นฟิล์ม โพลีอะนิลีน เคลือบที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่กำลังขยาย 20,000 เท่า

จากผลการทดลองที่ได้จากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าได้ว่าการสังเคราะห์ลวดนาโนโพลีอะนิลีนด้วยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดฟอสฟอริกไม่เกิดเป็นลวดโพลีอะนิลีนผลที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็นฟิล์มเคลือบบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า การสังเคราะห์ลวดนาโนโพลีอะนิลีนด้วยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเป็น dopant ให้ผลตามที่ต้องการดีที่สุดคือเกิดเป็นลวดนาโนโพลีอะนิลีนจึงได้เลือกวิธีการสังเคราะห์โพลีอะนิลีนวิธีนี้ในการนำมาใช้ปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน ร่วมกับการใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และเอนไซม์ horseradish peroxidase ในการใช้ตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เนื่องจากมีการเกิดที่สม่ำเสมอตลอดผิวหน้าขั้วไฟฟ้าและให้พื้นที่ผิวที่มาก

นอกจากนี้ยังได้นำซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตด้วยวิธี Pickering emulsion polymerization มาทำการปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนร่วมกับเอนไซม์ horseradish peroxidase เพื่อทำการทดลองศึกษาคุณสมบัติเชิงเคมีไฟฟ้าเปรียบเทียบความสามารถในการถ่ายเทอิเล็กตรอนร่วมด้วย

#### 4.2 ผลการศึกษาคุณสมบัติเชิงเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งผิวหน้าด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีนและที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต

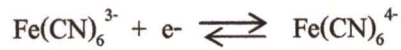
ทำการศึกษาคุณสมบัติเชิงเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนใช้หมึกคาร์บอน Electrodag PF-407C, Acheson USA เป็นผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งาน จากนั้นทำการปรับแต่งผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งานด้วยวัสดุที่สังเคราะห์ขึ้นจากหัวข้อที่ 4.1 คือ ลวดนาโนโพลีอะนิลีน ซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต โดยนำขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ได้มาศึกษาคุณสมบัติเชิงเคมีไฟฟ้าโดยใช้เทคนิคในการศึกษาสองเทคนิคคือเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรีและเทคนิคสเปกโทรสโกปี

อิมพีแดนซ์ทางเคมีไฟฟ้า ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งในลักษณะต่างๆทั้งหมดที่ทำการศึกษาได้แก่

1. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าที่ยังไม่ทำการปรับแต่งผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (Bare electrode) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ
2. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีน (Polyaniline nanowires, PANI-NWs) เป็นขั้วที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธี electrochemical polymerization โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก
3. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีน (nano-ZnO / PANI-NWs)
4. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ HRP เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (Zinc Oxide Nano Particles บริษัท นาโน เมททีเรียลส์ เทคโนโลยี จำกัด)
5. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต (ZnO-PANI composite)
6. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase
7. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase โดยใช้เนฟิออน
8. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบบนซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต (HRP / ZnO-PANI composite)
9. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ HRP เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีน (HRP / nano-ZnO / PANI-NWs)

#### 4.2.1 ผลการศึกษาด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนและขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่ง

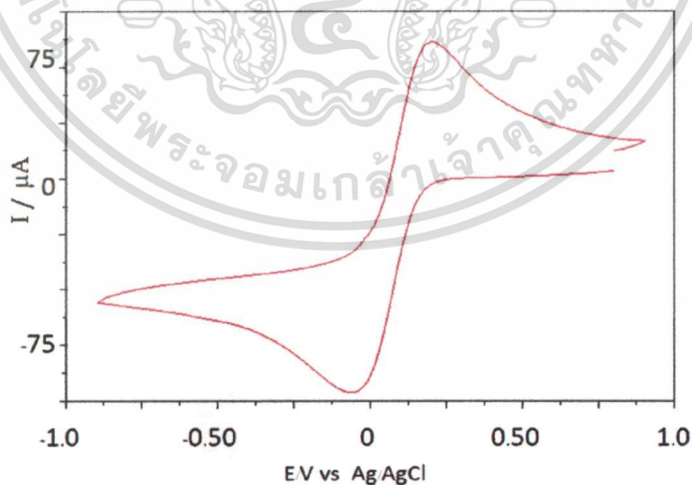
ทำการทดสอบปฏิกิริยารีดอกซ์ของ Potassium ferricyanide  $K_3[Fe(CN)_6]$  กับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเกิดกระแสไฟฟ้าออกซิเดชันและรีดักชันของ  $K_3[Fe(CN)_6]$  ดังสมการ



กำหนดสภาวะการทดลองในการทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนและขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่ง ดังนี้

- สารละลาย 30 มิลลิโมลาร์  $\text{K}_3[\text{Fe(CN)}_6]$  ใน 0.1 M KCl
- ฟันแก๊สใน โตรเจนเป็นเวลา 300 วินาที
- ปริมาตรที่ปีเปตลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า 50 ไมโครลิตร
- อัตราการสแกน 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที
- ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ใช้คือ ขั้ว Ag/AgCl
- ขั้วไฟฟ้าช่วยคือ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน
- ขั้วไฟฟ้าใช้งานคือ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์ที่ทำการปรับแต่ง

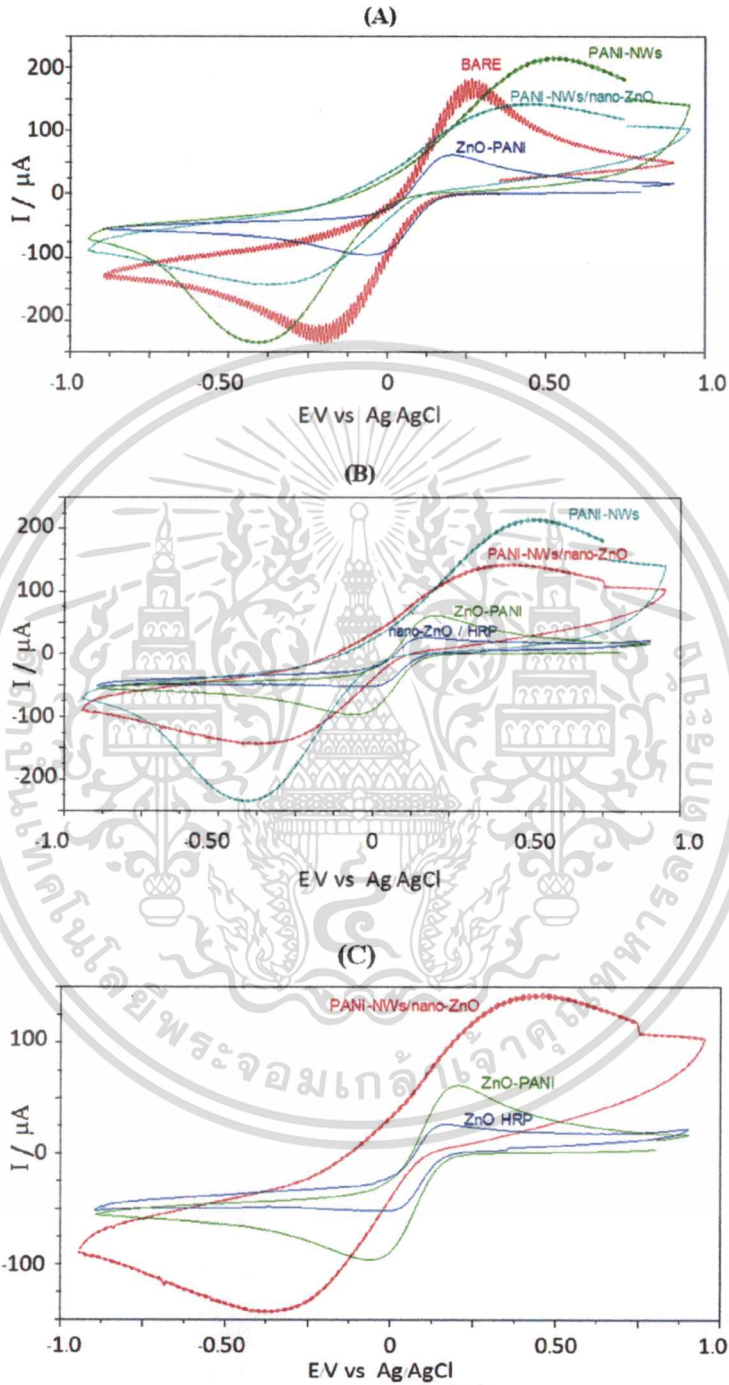
ผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนและขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่ง ดังแสดงในรูปที่ 4.23 – 4.24



รูปที่ 4.23 แสดง ไซคลิก โวลแทม เมแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยอนุภาค

ZnO-PANI composite

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.24 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วย PANI-NWs/nano-ZnO เทียบกับ nano-ZnO/HRP, PANI-NWs, ZnO-PANI composite และขั้วไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### คาร์บอนพิมพ์สกรีน(Bare electrode)

พิจารณาค่ากระแส  $i_{pr} / i_{pa}$  จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ทำการซ้อนทับเพื่อเปรียบเทียบกัน รูปที่ 4.24 และเปรียบเทียบได้จากค่า  $i_{pr} / i_{pa}$  ที่คำนวณได้จากโปรแกรม (ภาคผนวก ก. ตารางที่ 6.1) พบว่ากระแสฟิคที่ได้จากปฏิกิริยารีดักชันและออกซิเดชันมีค่าใกล้เคียงกัน หรือค่า  $i_{pr} / i_{pa}$  มีค่าใกล้เคียงหนึ่ง ดังนั้นพอจะกล่าวได้ว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของ  $K_3(Fe(CN)_6)$  บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่ปรับแต่งด้วยลวดนาโนโพไลอะนิลีน ( PANI-NWs), อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพไลอะนิลีน (PANI-NWs / nano-ZnO), ซิงค์ออกไซด์โพไลอะนิลีนคอมโพสิต (ZnO-PANI composite) และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่า (Bare electrode) สามารถเกิดปฏิกิริยาแบบผันกลับได้

จากนั้นเมื่อพิจารณาถึงค่ากระแสฟิคที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงให้เห็นว่า ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับปรุงด้วยลวดนาโนโพไลอะนิลีนให้กระแสฟิคที่สูงกว่า ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวอยู่บนลวดนาโนโพไลอะนิลีนมีกระแสฟิคที่สูงกว่า ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ แสดงว่าลวดนาโนโพไลอะนิลีนสามารถช่วยปรับปรุงสภาพการนำกระแสของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวสัมผัสของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าระหว่างลวดนาโนโพไลอะนิลีนกับอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และรวมทั้งสารละลายด้วย และนอกจากการปรับแต่งขั้วไฟฟ้าด้วยลวดนาโนโพไลอะนิลีนจะให้ฟิคกระแสรีดักชันที่สูงใกล้เคียงกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าแล้วยังช่วยลดสัญญาณรบกวน (Noise) ให้ต่ำกว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าด้วย

จากผลการทดลองไซคลิกโวลแทมเมทรีแล้ว จึงได้เลือกขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งแล้วทั้งหมดสามแบบมาเคลือบด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เพื่อใช้ในการเตรียมขั้วไฟฟ้าในการทดสอบตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เรียงตามลำดับของขั้วไฟฟ้าที่ให้กระแสฟิคสูงสุดดังนี้

#### 1. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยลวดนาโนโพไลอะนิลีน

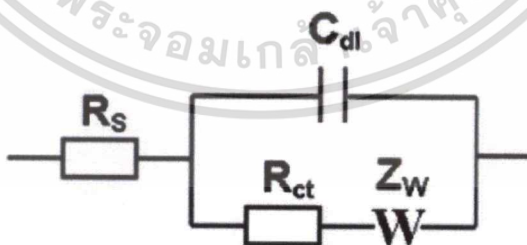
2. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีน

3. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต

#### 4.2.2 ผลการศึกษาด้วยเทคนิคอิมพีแดนซ์สเปกโทรสโกปีเชิงเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการปรับแต่ง

อิมพีแดนซ์สเปกโทรสโกปีเชิงเคมีไฟฟ้า (Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS) เป็นเทคนิคที่สำคัญในการศึกษาตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับจลนศาสตร์ทางเคมีไฟฟ้า เช่น ความจุไฟฟ้า (Capacitance) อิมพีแดนซ์ (Impedance) และจลนศาสตร์การส่งผ่านประจุ (Charge - Transfer kinetics) เป็นต้น ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาระบบที่เป็นเชิงเส้นและระบบที่ไม่เป็นเชิงเส้น (nonlinear) อย่างระบบที่ต้องการศึกษาถึงจลนศาสตร์ทางเคมีไฟฟ้าบริเวณสารละลายและผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของระบบเคมีไฟฟ้า เทคนิคนี้ใช้พื้นฐานของทฤษฎีไฟฟ้ากระแสสลับโดยการเทียบกับวงจรไฟฟ้าในฟังก์ชันของความถี่

พฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของสารละลายบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าสามารถอธิบายได้ในรูปของวงจรไฟฟ้าสมมูล ซึ่งได้ทำการทดสอบอิมพีแดนซ์ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนโดยวงจรสมมูลที่ใช้ในการคำนวณเพื่อสร้างกราฟไนควิสต์ (Nyquist) คือ



$R_s$  คือ อิมพีแดนซ์เนื่องมาจากสารละลาย ซึ่งต่ออนุกรมกับวงจร  $C_{dl}$  ตัวเก็บประจุเนื่องจากผลของ double-layer capacitance บริเวณรอยต่อระหว่างผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากับสารละลายขนานกับอิมพีแดนซ์ของ faradaic reaction คืออิมพีแดนซ์โพราไรเซชันที่ต้านทานการส่งผ่านประจุที่บริเวณ

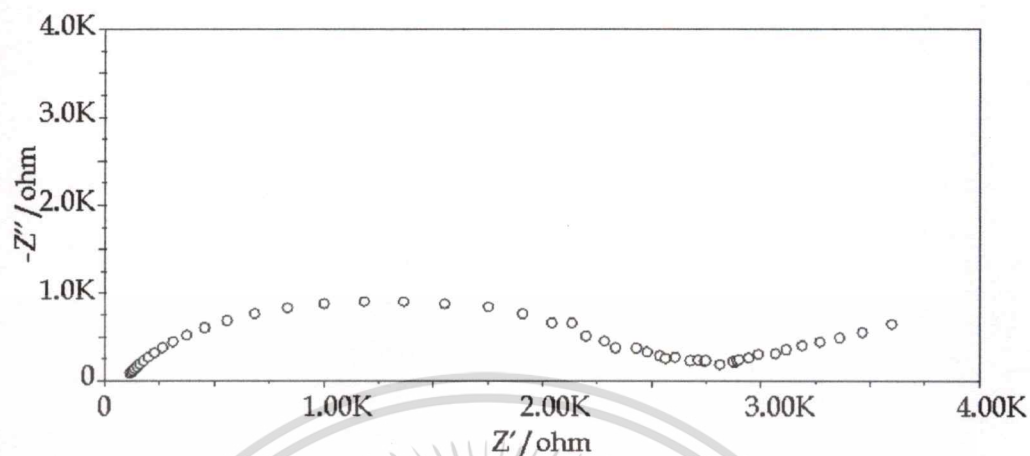
รอยต่อระหว่างขั้วไฟฟ้ากับสารละลาย ซึ่ง faradaic impedance ประกอบด้วย  $R_{ct}$  (อิมพีแดนซ์เนื่องจากการถ่ายเทประจุ) อนุกรมกับ  $Z_w$  (Warburg impedance)

กราฟไนควิสต์เป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างส่วนของจำนวนจินตภาพ ( $Z''(\omega)$ ) กับส่วนของจำนวนจริง ( $Z'(\omega)$ ) ที่ขึ้นกับความถี่ต่างๆ จากกราฟไนควิสต์ของเซลล์เรนเดล เมื่อพิจารณาจุดที่จำนวนจินตภาพที่มีค่าต่ำสุดและมีมุมเฟสที่มีค่าใกล้เคียงองศา วงจรสมมูลจะเปรียบเสมือนเป็นตัวต้านทาน

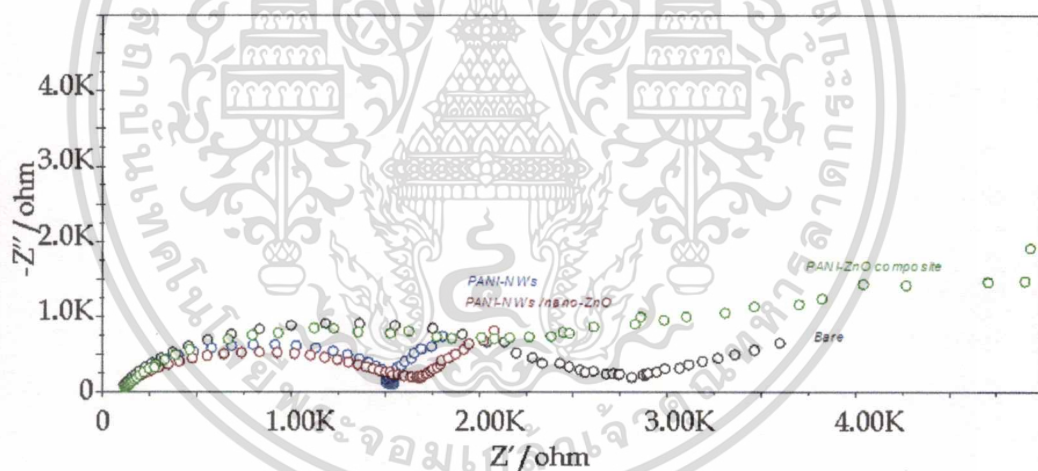
กำหนดสภาวะการทดลองในการทดสอบด้วยเทคนิคอิมพีแดนซ์สเปคโทรสโกปีเชิงเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการปรับแต่งดังนี้

- สารละลาย 30 มิลลิโมลาร์  $K_3[Fe(CN)_6]$  ใน 0.1 M KCl
- พ่นแก๊สใน โครเจนเป็นเวลา 300 วินาที
- ปริมาตรที่เป็ดลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า 50 ไมโครลิตร
- อัตราการสแกน 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที
- ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ใช้คือ ขั้ว  $Ag/AgCl$
- ขั้วไฟฟ้าช่วยคือ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน
- ขั้วไฟฟ้าใช้งานคือ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์ที่ทำการปรับแต่ง

ผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบด้วยเทคนิคอิมพีแดนซ์สเปคโทรสโกปีเชิงเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการปรับแต่ง ดังแสดงในรูปที่ 4.26 – 4.28

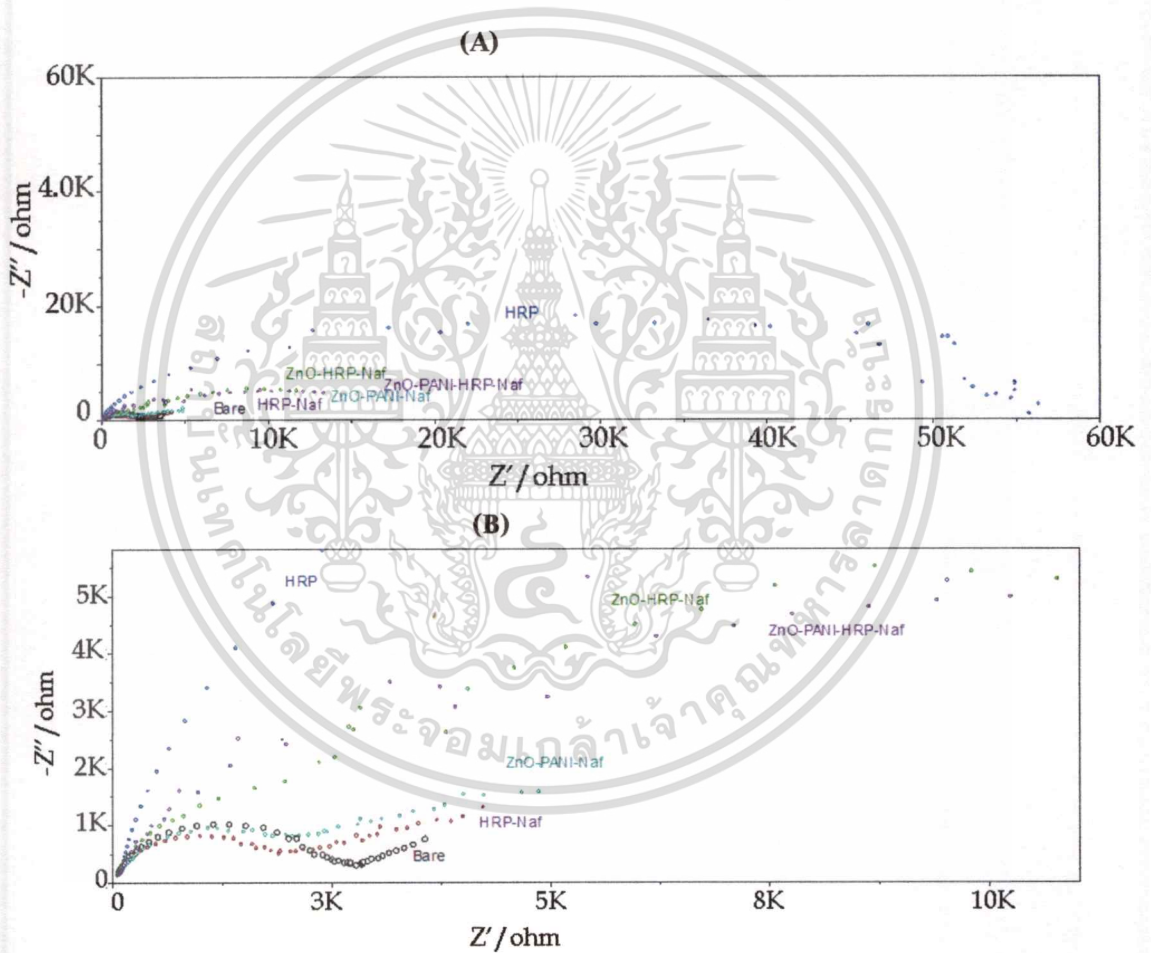


รูปที่ 4.25 แสดงอิมพีแดนซ์สเปกตรัมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่า



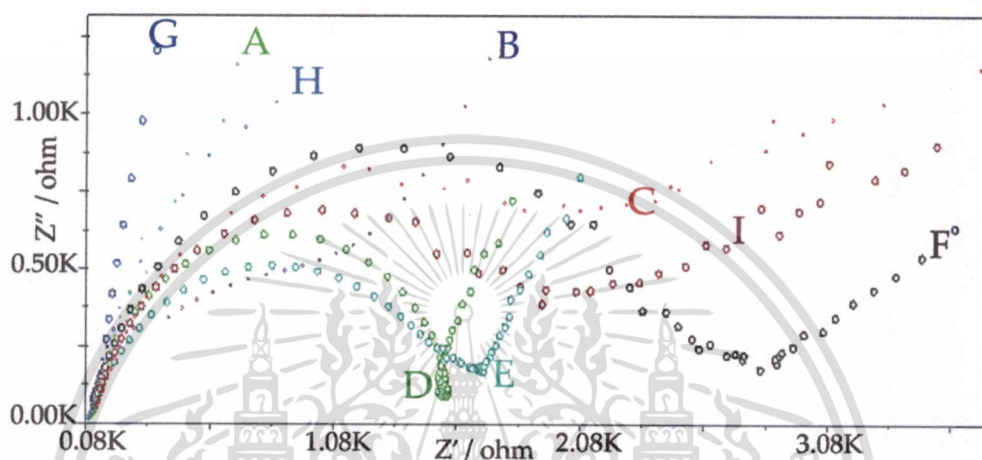
รูปที่ 4.26 แสดงอิมพีแดนซ์สเปกตรัมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวอยู่บนลวดนาโนโพลีอะนิลีน และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต

จากกราฟในควิซท์ในรูปที่ 4.26 สามารถวิเคราะห์ผลที่ได้โดยเปรียบเทียบตำแหน่งของกราฟ ซึ่งผลที่ได้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพลิทมิ อิมพีแดนซ์สูงกว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน ที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีนและขั้วไฟฟ้าคาร์บอน พิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีนคอมมีอิมพีแดนซ์ที่ต่ำสุดตามลำดับ



รูปที่ 4.27 แสดงอิมพีแดนซ์สเปคตราเปรียบเทียบกันระหว่างขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเพื่อ เปรียบเทียบขนาดของ Nyquist diameter โดยรวม (A) และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

ที่ปรับแต่ง ที่ขยายอัตราส่วนของกราฟขึ้นเพื่อเปรียบเทียบ Nyquist diameter โดยละเอียด  
รูป (B)



รูปที่ 4.28 แสดงลักษณะของอิมพีแดนซ์สเปกตรัมของขั้วไฟฟ้าที่ปรับแต่งด้วย

(A) Nafion/HRP/nano ZnO-PANI composite/SPCE

(B) Nafion/HRP/nano ZnO/PANI-NWs/SPCE

(C) Nafion/nano ZnO-PANI composite/SPCE

(D) PANI-NWs/SPCE

(E) Nafion/nano ZnO/PANI-NWs/SPCE

(F) bare SPCE

(G) HRP/SPCE

(H) Nafion/HRP/nano ZnO/SPCE

(I) Nafion/HRP/SPCE

ซึ่งวัด โดยการหยดสารละลาย 0.1 โมลาร์ KCl ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ซึ่งมี  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$

ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์

จากอิมพีแดนซ์สเปกตรภาพว่า Nyquist diameter ของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยวัสดุต่างๆจะมีค่าต่างกันแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการถ่ายเทอิเล็กตรอนของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยวัสดุต่างๆมีค่าต่างกันซึ่งยังสามารถใช้ผลของอิมพีแดนซ์ที่แตกต่างกันเป็นข้อมูลยืนยันได้ว่าทำการปรับแต่งขั้วไฟฟ้าแล้ว

ผลของอิมพีแดนซ์เป็นไปในทางเดียวกันกับผลที่ได้จากไซคลิกโวลแทมเมทรี คือ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยนาโนโพลีอะนิลีน (PANI-NWs, D) มีอิมพีแดนซ์ต่ำอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (H) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต (A) หรือขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ HRP เพียงอย่างเดียว ซึ่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวอยู่บนลวดนาโนโพลีอะนิลีน (E) มีอิมพีแดนซ์ต่ำกว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์เคลือบเอนไซม์ จึงแสดงได้ว่าลวดนาโนโพลีอะนิลีนช่วยให้เกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนของการใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ปรับแต่งขั้วไฟฟ้าได้ดีขึ้น

จากผลการทดลองนี้แล้ว จึงได้เลือกขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งแล้วทั้งหมดสามแบบซึ่งเหมือนผลที่ได้จากไซคลิกโวลแทมเมทรีมาเคลือบด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เพื่อใช้ในการเตรียมขั้วไฟฟ้าในการทดสอบตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คือ

1. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีน
2. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีน
3. ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรินที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิต

### 4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับปรุงด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase ในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

จากที่ได้เลือกขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งทั้งสามแบบมาทำการเคลือบด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เพื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้เทคนิคในการทดสอบสองเทคนิคคือเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีและเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรี

#### 4.3.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับปรุงด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase ในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

นำขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งทั้งสามแบบมาทำการเคลือบด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase และทำการทดสอบประสิทธิภาพการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิค ไซคลิกโวลแทมเมทรี

กำหนดสภาวะในการทดลองดังนี้

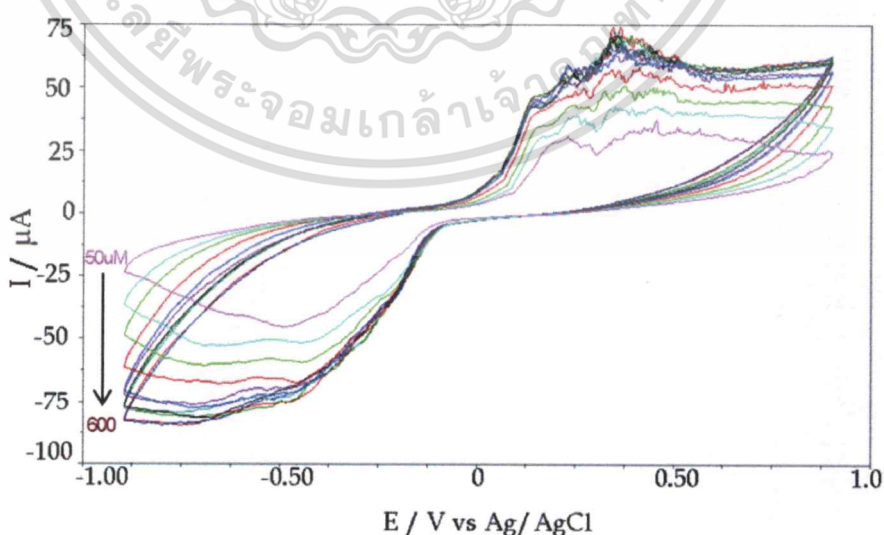
- สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) 6.8 ความเข้มข้น 0.10 โมลาร์
- พั่นแก๊สใน โตรเจนเป็นเวลา 300 วินาทีก่อนนำไปเตรียมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ
- ปริมาตรที่ปีเปตลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า 50 ไมโครลิตร
- อัตราการสแกน 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที
- ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ใช้คือ ขั้ว Ag/AgCl
- ขั้วไฟฟ้าช่วยคือ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน
- ขั้วไฟฟ้าใช้งานคือ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์ที่ทำการปรับแต่งและเคลือบเอนไซม์ horseradish peroxidase

ผลที่ได้จากขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยลวดนาโนโพลีอะนิลีนในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ของปริมาณกระแสที่ได้กับความเข้มข้นของ

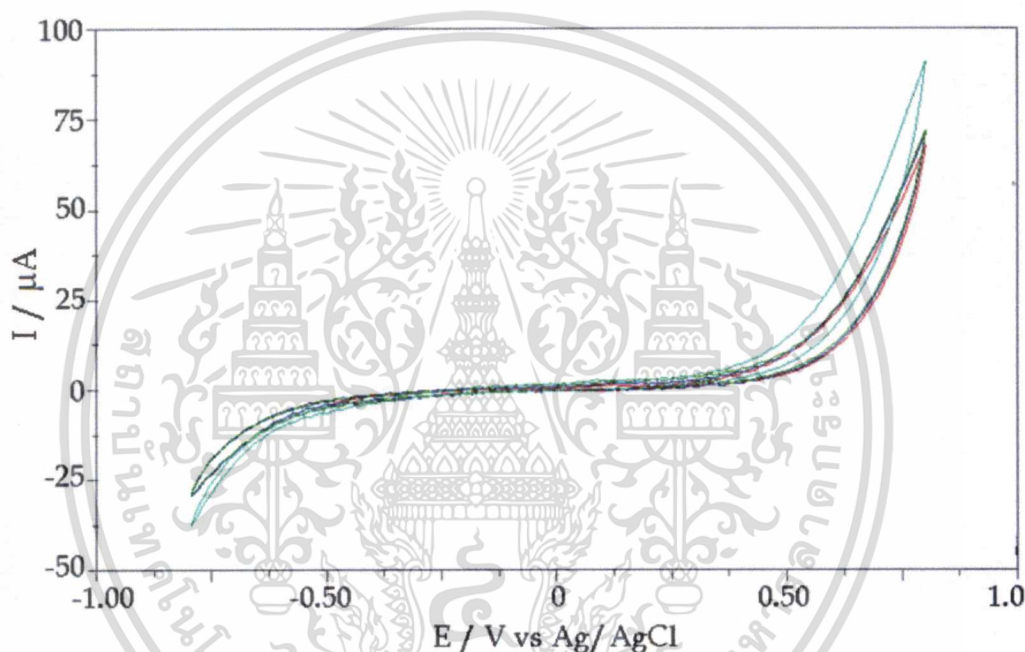
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งน่าจะเกิดจากการที่การยึดติดของเอนไซม์กับโพลีอะนิลีนเกิดขึ้นได้ไม่ดี ทำให้ลดความสามารถในการถ่ายเทอิเล็กตรอนระหว่างเอนไซม์กับลวดนาโนโพลีอะนิลีนรวมทั้งอาจเกิดจากที่เอนไซม์สามารถหลุดออกจากผิวของโพลีอะนิลีนได้จึงเป็นสาเหตุให้สัญญาณในการตรวจวัดไม่คงที่ ดังผลในภาคผนวก ค.

ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีอะนิลีนคอมโพสิตในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ของปริมาณกระแสที่ได้กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เช่นกัน น่าจะเกิดจากการที่คอมโพสิตที่สังเคราะห์ได้มีขนาดที่ใหญ่ ซึ่งจะขัดขวางความสามารถในการถ่ายเทอิเล็กตรอนทำให้ความสามารถในการถ่ายเทอิเล็กตรอนสู่ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนลดลง[81] และเนื่องจากขนาดคอมโพสิตที่ใหญ่จึงทำให้พื้นที่ผิวในการยึดเอนไซม์ลดลง นอกจากนั้นอาจเกิดจากผิวสัมผัสของโพลีเมอร์กับผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนมีพื้นที่น้อยเนื่องจากการหยดเคลือบจึงอาจเป็นข้อจำกัดหนึ่งที่ขัดขวางการถ่ายเทอิเล็กตรอนสู่ขั้วไฟฟ้า ผลของไซคลิกโวลแทม-โมแกรมในการวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แสดงในภาคผนวก ค.

ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีนเมื่อนำมาทดสอบการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.29



**รูปที่ 4.29** แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดคานาโน-โพลีอะนิลีน ที่อัตราการสแกน 30 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยซ้อนกราฟที่สแกนได้จาก ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 50, 100, 231, 333, 412, 500, 600 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ



**รูปที่ 4.30** แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่า ที่อัตราการสแกน 30 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยซ้อนกราฟที่สแกนได้จากความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 100, 500 ไมโครโมลาร์ 1, 10 มิลลิโมลาร์ ซึ่งกราฟที่ได้สลับขึ้นลงไม่มีการเรียงลำดับจนถึงระดับความเข้มข้นที่ 10 มิลลิโมลาร์ขึ้นไป

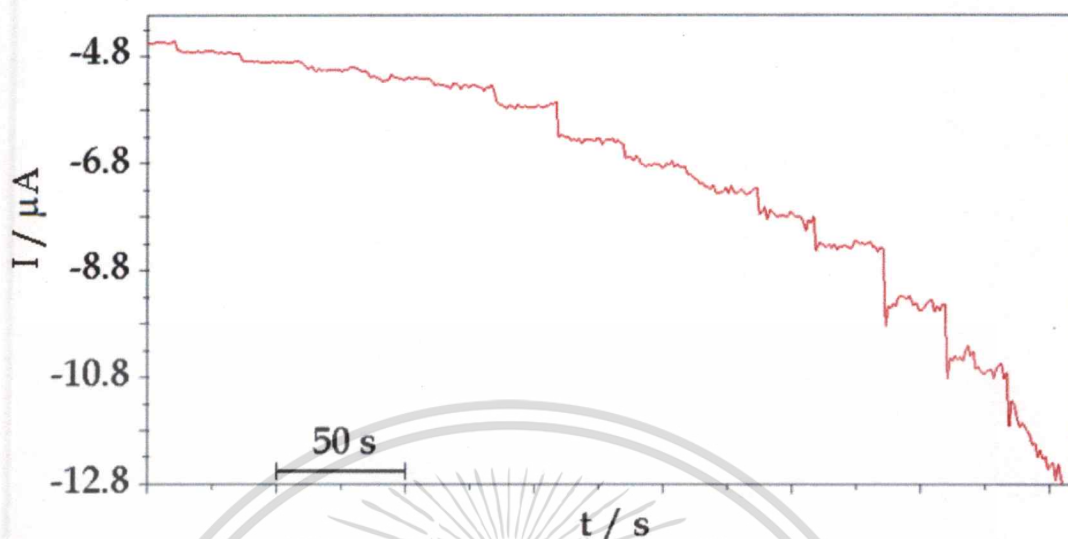
กราฟจากไซคลิกโวลแทมโมแกรมรูปที่ 4.30 ที่ได้ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 10 มิลลิโมลาร์ ไม่สามารถตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้

จากกราฟไซคลิกโวลแทมโมแกรมรูปที่ 4.29 จะพบว่ามีความสัมพันธ์ของกระแสที่วัดได้ต่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อย่างเป็นลำดับ และศักย์ไฟฟ้าที่เริ่มเกิดปฏิกิริยาจากไซคลิกโวลแทมโมแกรมมีค่าประมาณ  $-0.100$  โวลต์ ในการทดลองด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีจึงใช้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่  $-0.300$  โวลต์ เพื่อให้มั่นใจได้ว่าเกิดปฏิกิริยาได้อย่างเต็มที่และจะได้สัญญาณที่มาก ซึ่งเมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าแล้วจะพบว่าค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดมีค่าที่สูง (มากกว่า  $+0.700$  โวลต์ โดยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ) ซึ่งจะสามารถเกิดการรบกวนจากสารอื่นได้ง่าย และนอกจากนั้นแล้วขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่ายังมีช่วงความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีที่สูงกว่าอีกด้วย (ภาคผนวก ค.)

#### 4.3.2 แอมเพอโรแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับปรุงด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวลดขนาดนาโนโพลีอะนิลีนในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

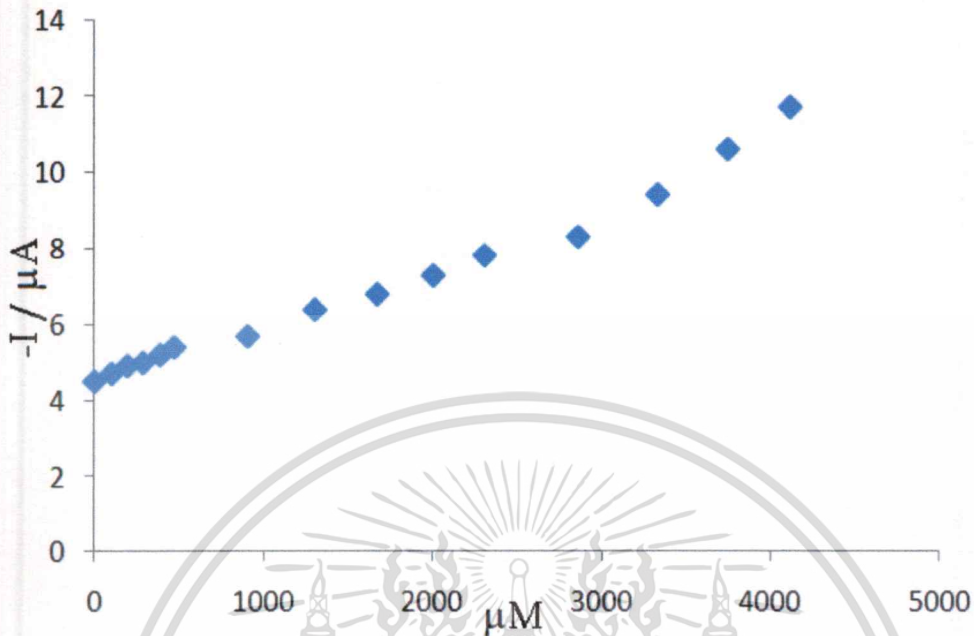
นำข้อมูลที่ได้จากผลการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยไซคลิกโวลแทมเมทรีมาใช้ในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ HRP เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลดขนาดนาโนโพลีอะนิลีน

ผลการวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรีที่ศักย์ไฟฟ้า  $-300$  มิลลิโวลต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  ดังนี้



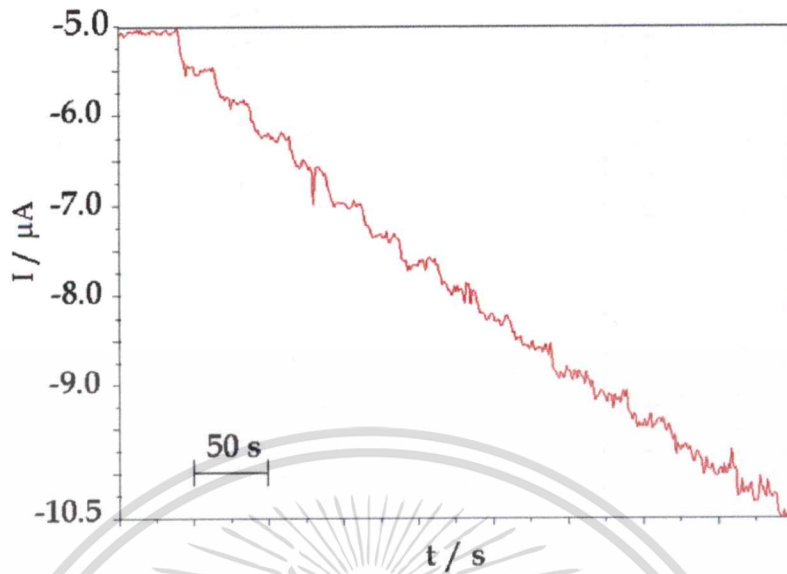
รูปที่ 4.31 แสดงแอมเพอโรแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับปรุงด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวลดขนาดนาโนโพทิสอนิติกในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ทำการเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร โดยที่ทำการปั่นกวาสารละลายตลอดเวลา



รูปที่ 4.32 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและกระแสที่ได้จากแอมเพอโรแกรมรูปที่ 4.31

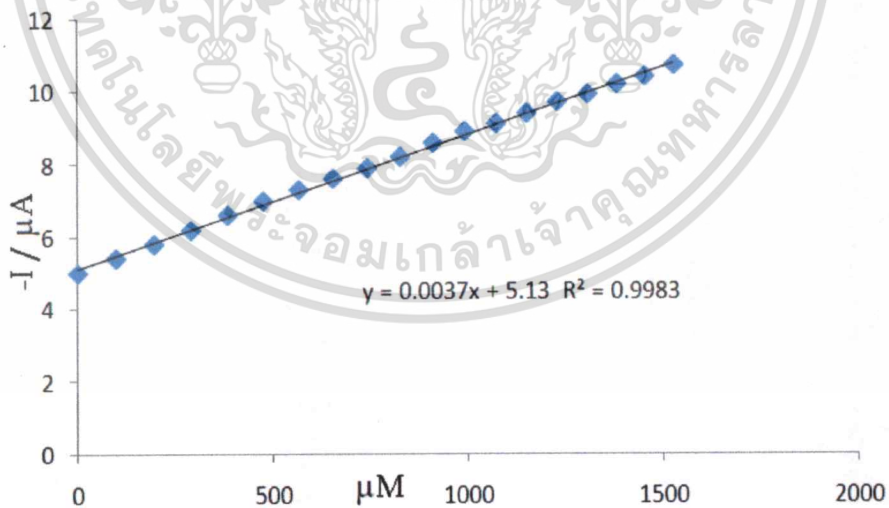
จากการตรวจวัดปริมาณความเข้มข้นต่างๆของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มาตรฐานด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีได้ผลแอมเพอโรแกรมดังแสดงในรูปที่ 4.31 ซึ่งเมื่อนำผลของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและกระแสที่วัดได้มาสร้างกราฟจะได้ผลดังรูปที่ 4.32 จากกราฟแสดงช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเห็นว่ามีความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 9.9 ไมโครโมลาร์ ถึง 4.1 มิลลิโมลาร์ ซึ่งแสดงรายละเอียดค่าความเข้มข้นและกระแสที่วัดได้ในภาคผนวก ก.ตารางที่ 6.3 ช่วงความเป็นเส้นตรงที่สามารถใช้งานได้ของขั้วไฟฟ้าในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นี้นั้นถือว่ามีความกว้าง



รูปที่ 4.33 แสดงแอมเพอโรแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับปรุงด้วยเอนไซม์

horseradish peroxidase เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวลดขนาดนาโน

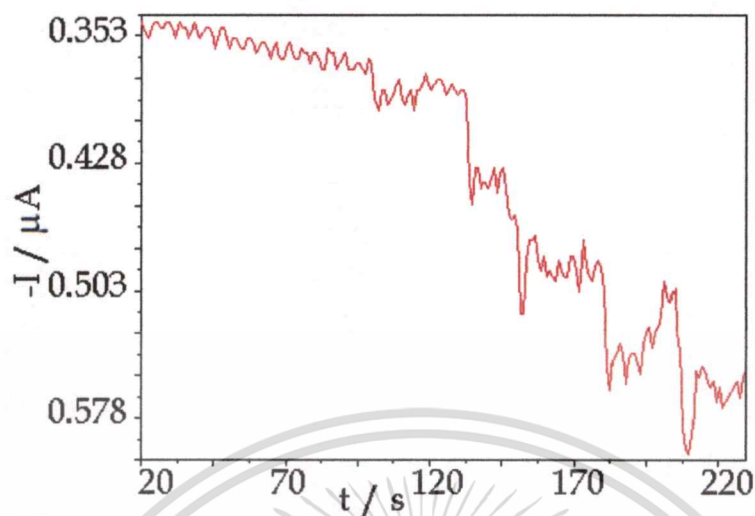
โพธิ์อะนิตินในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นช่วง 99 ไมโครโมลาร์ ถึง 1.5 มิลลิโมลาร์



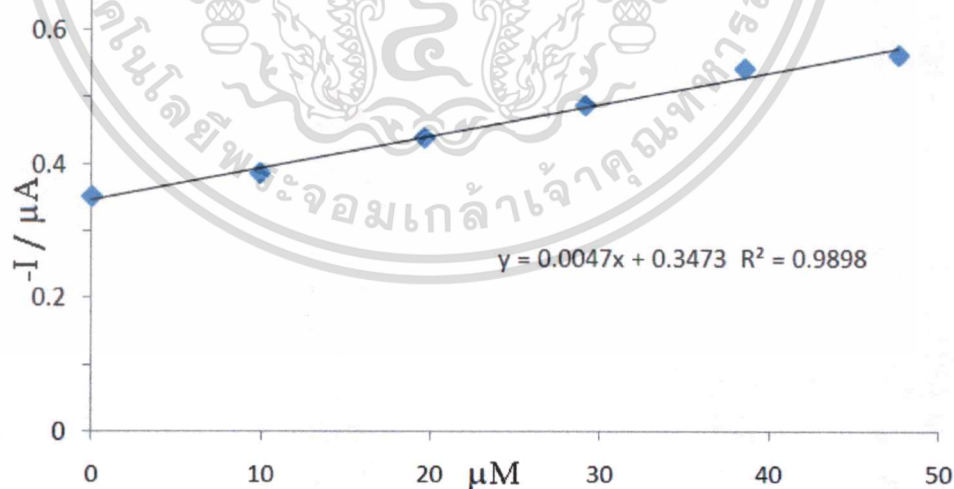
รูปที่ 4.34 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและกระแสที่ได้จากแอมเพอโรแกรมรูปที่

4.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.35 แสดงแอมเพอโรแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนปรับปรุงด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบบนอนุภาคนาโนซึ่งคือออกไซด์กระจายตัวควมนาโนโพธิอะนิตินในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นช่วง 10 ไมโครโมลาร์ ถึง 50 ไมโครโมลาร์ โดยใช้ศักย์ไฟฟ้าในการตรวจวัดที่ -100 มิลลิโวลต์



รูปที่ 4.36 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและกระแสที่ได้จากแอมเพอโรแกรมรูปที่ 4.35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลจากแอมเพอโรแกรมในรูปที่ 4.33 นำมาสร้างเป็นกราฟในรูปที่ 4.34 แสดงค่าของกระแสที่ตรวจวัดได้เทียบกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ศักย์ไฟฟ้า -300 มิลลิโวลต์ ซิดจำกัดในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์คำนวณจากข้อมูลที่ได้จากกราฟในรูปที่ 4.34 มีค่าเท่ากับ 4.35 ไมโครโมลาร์ (โดยวัดสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนที่มีค่าเท่ากับ 3 เท่า) ซึ่งแสดงวิธีการคำนวณและรายละเอียดค่าความเข้มข้นและกระแสในภาคผนวก ก. และตารางที่ 6.5

แอมเพอโรแกรมในรูปที่ 4.35 เป็นการทดลองวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยศักย์ไฟฟ้าคงที่ -100 มิลลิโวลต์ เนื่องจากที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำ ๆ (เข้าใกล้ 0.00 โวลต์) จะทำให้ลดการเกิดสัญญาณรบกวนตัวอื่นได้ [114-116] เช่น เมื่อนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดกลูโคส เป็นต้น

ผลการทดลองตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ -100 มิลลิโวลต์ ที่ความเข้มข้นช่วง 9.9 ไมโครโมลาร์ ถึง 4.8 ไมโครโมลาร์พบว่า ซิดจำกัดในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ได้ซึ่งคำนวณจากข้อมูลที่ได้จากกราฟในรูปที่ 4.35 มีค่าเท่ากับ 3.85 ไมโครโมลาร์ แสดงรายละเอียดการคำนวณในภาคผนวก ก. ซึ่งเมื่อทำการตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้าที่ต่ำลงจะพบว่า ซิดจำกัดในการตรวจวัดต่ำลง อาจเนื่องมาจากที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำจะลดการรบกวนการเกิดปฏิกิริยาของสารรบกวนได้มากขึ้นจึงทำให้มีสัญญาณรบกวนและกระแสพื้นน้อยลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่างของขั้วไฟฟ้าอันเนื่องมาจากการพิมพ์สกรีนด้วยมือด้วย

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

สามารถนำอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์และลวดนาโนโพลีอะนิลีนมาใช้ในการปรับปรุง ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ โดยใช้เอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบบนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ โดยอาศัยคุณสมบัติที่สามารถเกิดการถ่ายเท อิเล็กตรอนโดยตรงได้เป็นอย่างดีระหว่างเอนไซม์และอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ แล้วนำไปกระจาย ตัวอยู่บนลวดนาโนโพลีอะนิลีน ซึ่งลวดนาโนโพลีอะนิลีนได้มาจากการสังเคราะห์ขึ้นบนผิวหน้า ขั้วไฟฟ้าที่เป็นผงคาร์บอน โดยวิธี electrochemical polymerization ลวดนาโนโพลีอะนิลีนที่ได้มี ลักษณะเป็นโครงข่ายเชื่อมโยงกันตลอดรวมทั้งเชื่อมกับผิวหน้าขั้วไฟฟ้าและทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวของ หน้าขั้วไฟฟ้าได้เป็นอย่างดี

ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวด นาโนโพลีอะนิลีนที่สร้างขึ้นสามารถใช้ตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ โดยใช้เทคนิค ไซคลิกโวลแทมเมทรีในการศึกษาและใช้เทคนิค โครโนแอมเพอโรเมทรีในการทดสอบการตรวจวัด ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.300 โวลต์ ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงที่สามารถ ตรวจวัดได้คือ ระหว่างความเข้มข้น 9.9 ไมโครโมลาร์ ถึง 4.8 มิลลิโมลาร์ ค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด มีค่าเท่ากับ 4.35 ไมโครโมลาร์ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการปรับแต่งนี้ยังสามารถทำการ ตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ศักย์ไฟฟ้าที่ต่ำลงถึง -100 มิลลิโวลต์ โดยมีค่าขีดจำกัดในการ ตรวจวัดเท่ากับ 3.85 ไมโครโมลาร์

ตารางที่ 5.1 แสดงการเปรียบเทียบขั้วไฟฟ้าที่ใช้เอนไซม์ horseradish peroxidase ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ชื่อผู้วิจัย	เอนไซม์ที่ใช้	วัสดุที่ใช้ปรับแต่งขั้วไฟฟ้า	ขั้วไฟฟ้าใช้งาน	potential	Linear range	DL
Yongcheng Liu และคณะ [82]	HRP	ทำเป็นแผ่นเยื่อบาง โดยใช้ ฟิล์ม กลาสติคาร์บอน รีเจนเนอเรตเต็ดซิลค์ไฟบรอส (RSF) และ โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และ	คาร์บอนพิมพ์ สกรีน	-0.24 โวลต์	0.001 -1.5 มิลลิโมลาร์	5.0 $\mu\text{M}$
Y. J. Teng และคณะ [83]	HRP	ถ่ายเทอิเล็กตรอนโดยตรง ผงหมึกคาร์บอนที่มีลักษณะ โครงสร้างของคาร์บอนเป็นรูพรุน	คาร์บอนพิมพ์ สกรีน	-0.33 โวลต์	5.98 - 35.36 ไมโครโมลาร์	0.48 $\mu\text{M}$
Tamin Tangkuaram และคณะ [24]	HRP	อนุภาคทองนาโน โดยใช้ โคลโคซาน เป็นแม่เหล็กในการเคลือบ	คาร์บอนพิมพ์ สกรีน	-0.40 โวลต์	0.01 -11.3 มิลลิโมลาร์	0.65 $\mu\text{M}$
Aoife Morrin และคณะ [50]	HRP	อนุภาคนาโนโพติอะนิติน	คาร์บอนพิมพ์ สกรีน	-	-	-
Zhifeng Du และคณะ [86]	HRP	โคลโคซานและเส้นใยนาโนโพติอะนิติน	กลาสติคาร์บอน	-0.13 โวลต์	$1 \times 10^{-5}$ - $1.5 \times 10^3$ ไมโครโมลาร์	0.5 $\mu\text{M}$
Ntlaseng G. R. และคณะ [84]	HRP	โพติอะนิติน	เพดทินัม	CV	$2.5 \times 10^{-4}$	-
Emmanuel I. Iwuoha และคณะ [64]	HRP	ฟิล์มโพติอะนิตินเจือด้วยโพลิไวนิลซัลไฟเฟนต	งานเพดทินัม	-0.10 โวลต์	-	-

ตารางที่ 5.1 (ต่อ)

ชื่อผู้วิจัย	เอนไซม์ที่ใช้	วัสดุที่ใช้รับแสงจิวไฟฟ้า	จิวไฟฟ้าใช้งาน	potential	Linear range	DL
Qin Xu และคณะ [74]	HRP	odered mesoporous polyaniline film	กลาสติคาร์บอน	-0.10 โวลต์	1.0 $\mu\text{M}$ - 2.0 มิลลิโมลาร์	0.63 $\mu\text{M}$
XiaoLi Zhu และคณะ [26]	microperoxidase	นาโนซิงค์ออกไซด์	pyrolytic graphite	CV	$1 \times 10^{-6}$ - $7 \times 10^{-4}$ โมลาร์	0.3 $\mu\text{M}$
Yan-Li Liu และคณะ [28]	HRP	flower-like ZnO ที่มีขนาดอยู่ในช่วงนาโนเมตร ร่วมกับโคโคซาน	กลาสติคาร์บอน	-0.20 โวลต์	$1 \times 10^{-5}$ - $1.8 \times 10^3$ โมลาร์	2.0 $\mu\text{M}$
Hui Ping Bai และคณะ [39]	HRP	ฟิล์ม multi-walled carbon nanotubes (MWNTs) และ zinc oxide nanoflowers	กลาสติคาร์บอน	-0.11 โวลต์	$9.9 \times 10^{-7}$ - $2.9 \times 10^{-3}$ โมลาร์	0.5 $\mu\text{M}$
งานวิจัยนี้	HRP	อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพตัสนิลีน	คาร์บอนพิมพ์ สกรีน	-0.30 โวลต์		4.35 $\mu\text{M}$

หมายเหตุ CV คือใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีในการตรวจวัด

- คือ ไม่มีรายงานข้อมูล

$\mu\text{M}$  คือ ไมโครโมลาร์

งานวิจัยชิ้นนี้มุ่งเน้นปรับปรุงการใช้งานขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนให้สามารถปรับแต่งขั้วไฟฟ้าได้ง่ายและใช้สารเคมีที่มีราคาถูกคือ nano-ZnO ซึ่งมีราคาถูกกว่าวัสดุนาโนชนิดอื่นที่นำมาใช้ร่วมกับเอนไซม์ [63] รวมทั้งมีขั้นตอนที่รวดเร็วและสะดวกกว่าวัสดุ nano-ZnO ที่ใช้ในงานที่ทำมาก่อนหน้านี้ [19,58,60]สามารถนำลวดนาโนโพลีอะนิลีนมาใช้ในการปรับแต่งขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนได้ [81]ซึ่งเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าที่ใช้วัสดุประเภทโพลีอะนิลีน ซิงค์ออกไซด์ และกับเอนไซม์ horseradish peroxidase ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังแสดงในตารางที่ 5.1

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในแต่ละช่วงของการทำงาน สามารถให้ข้อมูลในการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าในด้านต่างๆ ได้ดีขึ้น เช่น

- สามารถปรับปรุงความหนาของชั้นลวดนาโนโพลีอะนิลีนที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าซึ่งขึ้นอยู่กับเวลาในการสังเคราะห์
  - สามารถศึกษาปรับปรุงลักษณะรูปร่างของลวดนาโนโพลีอะนิลีนได้โดยการเปลี่ยนตัวทำละลาย
  - สามารถศึกษาปรับปรุงการกระจายตัวของอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์บนลวดนาโนโพลีอะนิลีน
  - สามารถศึกษาปรับปรุงเปอร์เซ็นต์การโหลดเอนไซม์ horseradish peroxidase บนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่กระจายตัวอยู่บนลวดนาโนโพลีอะนิลีนได้
  - สามารถศึกษาลักษณะของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าหลังการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงการเคลือบหรือทำนายความคงทนของการใช้งานขั้วไฟฟ้าได้ เป็นต้น
- จึงควรมีการศึกษาด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเป็นระยะ

5.2.2 การทดลองเพื่อปรับปรุงการลดสัญญาณรบกวน Noise จะสามารถทำให้ตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่านี้ได้

5.2.3 ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีค่ากว้างพอที่จะสามารถพัฒนาต่อให้สามารถใช้กับระบบควบคุมในอุตสาหกรรมได้

5.2.4 ควรการศึกษาลักษณะการเคลือบของเอนไซม์ horseradish peroxidase ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านเพิ่มเติม จะสามารถทำให้เข้าใจลักษณะที่เกิดขึ้นของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้ดีขึ้น เนื่องจากเอนไซม์มีขนาดเล็กอยู่ในช่วง 4 – 5 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2.5 ควรมีการศึกษาอายุการใช้งานและวิธีเก็บรักษาที่เหมาะสมก่อนนำไปประยุกต์ใช้งานด้านต่างๆ

5.2.6 ควรใช้การผลิตแผ่นขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนด้วยเครื่องอัตโนมัติเนื่องจากการพิมพ์สกรีนด้วยมือทำให้มีความแตกต่างของขั้วไฟฟ้าอันเนื่องมาจากแรงในการพิมพ์สกรีนอาจไม่สม่ำเสมอตลอด และการวางบล็อคลงด้วยมืออาจมีความคลาดเคลื่อนได้ ทำให้ส่งผลต่อลักษณะของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนโดยตรงในด้านของความหนาของหมึกและพื้นที่ผิวของผิวหน้าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

5.2.7 ควรมีการออกแบบขั้วไฟฟ้าให้เหมาะกับลักษณะการใช้งานเนื่องจากหากมีลักษณะการต่อใช้งานที่ลำบากเช่นผิวสัมผัสกับขั้ว conducting pad มีน้อยหรืออยู่ในแ่งมุมที่ต่อใช้งานยากจะมีผลต่อสัญญาณรบกวนทำให้สัญญาณรบกวนมีมากขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากพื้นที่ผิวสัมผัสน้อยหรือต่อไม่ครบวงจร



## เอกสารอ้างอิง

- [1] Shaolin M. and Jinqing K. "Bioelectrochemical activation and inhibition of polyaniline glucose oxidase electrode by cations" **Electrochim. Acta**, vol. 4, 1995. pp.241-246.
- [2] Skinner N. G. and Hall E. A.H. "Investigation of the origin of the glucose response in a glucose oxidase/polyaniline system" **J. Electroanal. Chem**, vol. 420, 1997. pp. 179-188.
- [3] Mu S. and Xue H. "Bioelectrochemical characteristics of glucose oxidase immobilized in a polyaniline film" **Sens. Actuators, B: Chem**, vol. 31, 1996. pp. 155-160.
- [4] Horng Y.Y., Hsu Y.K., Ganguly A., Chen C.C., Chen L.C. and Chen K.H. "Direct-growth of polyaniline nanowires for enzyme-immobilization and glucose detection" **Electrochem. Commun**, vol.11, 2009. pp. 850-853.
- [5] Zhou H., Chen H., Luo S., Chen J., Wei W. and Kuang Y. "Glucose biosensor based on platinum microparticles dispersed in nano-fibrous polyaniline" **Biosens. Bioelectron**, vol. 20, 2005. pp. 1305-1311.
- [6] Wang Y.T., Yu L., Zhu Z.Q., Zhang J., Zhu J.Z. and Fan C. "Improved enzyme immobilization for enhanced bioelectrocatalytic activity of glucose sensor" **Sens. Actuators, B: Chem**, vol. 136, 2009. pp. 332-337.
- [7] Hsu C.L., Chang Ku. and Kuo J. "Determination of hydrogen peroxide residues in aseptically packaged beverages using an amperometric sensor based on a palladium electrode" **Food Control**, vol. 19, 2008. pp.223-230.
- [8] Oungpipat, Alexander P. W. and Southwell-Keely P. "A reagentless amperometric biosensor for hydrogen peroxide determination based on asparagus tissue and ferrocene mediation" **Anal. Chim. Acta**, vol. 309,1995. pp. 35-45.
- [9] Huang I., Garceau M. E and Gao P. "Liquid chromatographic determination of residual hydrogen peroxide in pharmaceutical excipients using platinum and wired enzyme electrodes" **J. Pharm. Biomed. Anal**, vol. 31, 2003. pp. 1203-1210.
- [10] Akgöl S. and Dinçkaya E. "A novel biosensor for specific determination of hydrogen peroxide: catalase enzyme electrode based on dissolved oxygen probe" **Talanta**, vol. 48, 1999. pp. 363-367.
- [11] Tang B. and Wang Y. "Spectrofluorimetric determination of both hydrogen peroxide and ---O---O---H in polyethylene glycols (PEGs) using 2-hydroxy-1-naphthaldehyde

thiosemicarbazone (HNT) as the substrate for horseradish peroxidase (HRP) ”

**Spectrochim. Acta. A**, vol. 59, 2003. pp. 2867-2874.

- [12] Woo Y., Lim H., Kim H. and Chung H. “Determination of hydrogen peroxide concentration in antiseptic solutions using portable near-infrared system” **J. Pharm. Biomed. Anal.**, vol. 33,2003. pp.1049-1057.
- [13] Ma Q., Ma H., Wang Z., Su M., Xiao H. and Liang S. “Synthesis of a novel chemiluminescent reagent for the determination of hydrogen peroxide in snow waters” **Talanta**, vol. 53, 2001. pp. 983-990.
- [14] Yang X., Guo Y. and Mei Z. “Chemiluminescent determination of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> using 4-(1,2,4-triazol-1-yl)phenol as an enhancer based on the immobilization of horseradish peroxidase onto magnetic beads” **Anal. Biochem.**, vol. 393, 2009. pp. 56-61.
- [15] Liu J., Spencer M. Steinberg, and Brian J. J. “A high performance liquid chromatography method for determination of gas-phase hydrogen peroxide in ambient air using Fenton’s chemistry” **Chemosphere**, vol. 52, 2003. pp. 815-823.
- [16] Yue H., Bu X., Huang M. H., Young J. and Raglione T. “Quantitative determination of trace levels of hydrogen peroxide in crosopovidone and a pharmaceutical product using high performance liquid chromatography with coulometric detection” **Int. J. Pharm.**, vol. 375, 2009. pp.33-40.
- [17] Salimi A., Hallaj R., Soltanian S. and Mamkhezri H. “Nanomolar detection of hydrogen peroxide on glassy carbon electrode modified with electrodeposited cobalt oxide nanoparticles” **Anal. Chim. Acta**, vol. 594, 2007. pp. 24-31.
- [18] Thiagarajan S., Sua B. W. and Chen S. M. “Nano TiO<sub>2</sub>-Au-KI film sensor for the electrocatalytic oxidation of hydrogen peroxide” **Sens. Actuators, B: Chem.**, vol. 136, 2009. pp. 464-471.
- [19] Chandra S., Lokesh K.S., Nicolai A. and Lang H. “Dendrimer-rhodium nanoparticle modified glassy carbon electrode for amperometric detection of hydrogen peroxide” **Anal. Chim. Acta**, vol. 632, 2009. pp.63-68.
- [20] Chikae M., Idegami K., Kerman K., Nagatani N., Ishikawa M., Takamura Y. and Tamiya E. “Direct fabrication of catalytic metal nanoparticles onto the surface of a screen-printed carbon electrode” **Electrochem. Commun.**, vol. 8, 2006. pp. 1375-1380.

- [21] Endo T., Yanagida Y. and Hatsuzawa T. "Quantitative determination of hydrogen peroxide using polymer coated Ag nanoparticles" **Measurement**, vol. 41, 2008 pp. 1045-1053.
- [22] Liu S. and Ju H. "Renewable reagentless hydrogen peroxide sensor based on direct electron transfer of horseradish peroxidase immobilized on colloidal gold-modified electrode" **Anal. Biochem**, vol. 307, 2002. pp.110-116.
- [23] Lei C., Hu S., Shen G. and Yu R. "Immobilization of horseradish peroxidase to a nano-Au monolayer modified chitosan-entrapped carbon paste electrode for the detection of hydrogen peroxide" **Talanta**, vol. 59, 2003. pp. 981-988.
- [24] Tangkuaram T., Ponchio C., Kangkasomboon T., Katikawong P. and Veerasai W. "Design and development of a highly stable hydrogen peroxide biosensor on screen printed carbon electrode based on horseradish peroxidase bound with gold nanoparticles in the matrix of chitosan" **Biosens. Bioelectron**, vol. 22, 2007. pp. 2071-2078.
- [25] Liu J., Guo C., Li C. M., Li Y., Chi Q., Huang X., Liao L. and Yu T. "Carbon-decorated ZnO nanowire array: A novel platform for direct electrochemistry of enzymes and biosensing applications" **Electrochem. Commun**, vol. 11, 2009. pp. 202-205.
- [26] Zhu X., Yuri I., Gan X., Suzuki I. and Li G. "Electrochemical study of the effect of nano-zinc oxide on microperoxidase and its application to more sensitive hydrogen peroxide biosensor preparation" **Biosens. Bioelectron**, vol. 22, 2007. pp. 1600-1604.
- [27] Khan R., Kaushik A., Solanki P. R., Ansari A. A., Pandey M.K. and Malhotra B.D. "Zinc oxide nanoparticles-chitosan composite film for cholesterol biosensor" **Anal. Chim. Acta**, vol. 616, 2008. pp. 207-213.
- [28] Liu Y. L., Yang Y. H., Yang H. F., Liu Z. M., Shen G. L. and Yu R. Q. "Nanosized flower-like ZnO synthesized by a simple hydrothermal method and applied as matrix for horseradish peroxidase immobilization for electro-biosensing" **J. Inorg. Biochem**, vol. 99, 2005. pp. 2046-2053.
- [29] Zhang F., Wang X., Ai S., Sun Z., Wan Q., Zhu Z., Xian Y., Jin L. and Yamamoto K. "Immobilization of uricase on ZnO nanorods for a reagentless uric acid biosensor" **Anal. Chim. Acta**, vol. 519, 2004. pp. 155-160.
- [30] Xiang C., Zou Y., Sun L.X. and Xu F. "Direct electrochemistry and enhanced electrocatalysis of horseradish peroxidase based on flowerlike ZnO-gold nanoparticle-Nafion nanocomposite" **Sens. Actuators, B: Chem**, vol. 136, 2009. pp. 158-162.

- [31] Liu Y. L., Yang Y. H., Yang H. F., Liu Z. M., Shen G. L. and Yu R. Q. "Nanosized flower-like ZnO synthesized by a simple hydrothermal method and applied as matrix for horseradish peroxidase immobilization for electro-biosensing" **J. Inorg. Biochem**, vol. 99, 2005. pp. 2046-2053.
- [32] Umar A., Rahman M. M., Vaseem M. and Hahn Y. B. "Ultra-sensitive cholesterol biosensor based on low-temperature grown ZnO nanoparticles" **Electrochem. Commun**, vol. 1, 2009. pp. 118-121.
- [33] Chen L., Gu B., Zhu G., Wu Y., Liu S. and Xu C. "Electron transfer properties and electrocatalytic behavior of tyrosinase on ZnO nanorod" **J. Electroanal. Chem**, vol. 617, 2008. pp. 7-13.
- [34] Khan R., Kaushik A., Solanki P. R., Ansari A. A., Pandey M. K. and Malhotra B. D. "Zinc oxide nanoparticles-chitosan composite film for cholesterol biosensor" **Anal. Chim. Acta**, vol. 616, 2008. pp. 207-213.
- [35] Zhang F., Wang X., Ai S., Sun Z., Wan Q., Zhu Z., Xian Y., Jin L. and Yamamoto K. "Immobilization of uricase on ZnO nanorods for a reagentless uric acid biosensor" **Anal. Chim. Acta**, vol. 519, 2004. pp. 155-160.
- [36] Umar A., Rahman M.M., Al-Hajry A. and Hahn Y. B. "Highly-sensitive cholesterol biosensor based on well-crystallized flower-shaped ZnO nanostructures" **Talanta**, vol. 78, 2009. pp. 284-289.
- [37] Li Y. F., Liu Z. M., Liu Y. L., Yang Y. H., Shen G. L. and Yu R. Q. "A mediator-free phenol biosensor based on immobilizing tyrosinase to ZnO nanoparticles" **Anal. Biochem**, vol. 349, 2006. pp. 33-40.
- [38] Dai Z., Shao G., Hong J., Bao J. and Shen J. "Immobilization and direct electrochemistry of glucose oxidase on a tetragonal pyramid-shaped porous ZnO nanostructure for a glucose biosensor" **Biosens. Bioelectron**, vol. 24, 2009. pp. 1286-1291.
- [39] Bai H.P., Lu X. X., Yang G. M. and Yang Y. H. "Hydrogen peroxide biosensor based on electrodeposition of zinc oxide nanoflowers onto carbon nanotubes film electrode" **Chin. Chem. Lett**, vol. 19, 2008. pp. 314-31.
- [40] Dai Z., Shao G., Hong J., Bao J. and Shen J. "Immobilization and direct electrochemistry of glucose oxidase on a tetragonal pyramid-shaped porous ZnO nanostructure for a glucose biosensor" **Biosens. Bioelectron**, vol. 24, 2009. pp. 1286-1291.

- [41] Kong T., Chen Y., Ye Y., Zhang K., Wang Z. and Wang X. "An amperometric glucose biosensor based on the immobilization of glucose oxidase on the ZnO nanotubes" **Sens. Actuators, B: Chem**, vol. 138, 2009. pp. 344-350.
- [42] Liu X., Hu Q., Wu Q., Zhang W., Fang Z. and Xie Q. "Aligned ZnO nanorods: A useful film to fabricate amperometric glucose biosensor" **Coll. Surf. B: Bioint**, vol. 74, 2009. pp. 154-158.
- [43] Ansari S. G., Wahab R., Ansari Z. A., Kim Y. S., Khang G., Al-Hajry A. and Shin H. S. "Effect of nanostructure on the urea sensing properties of sol-gel synthesized ZnO" **Sens. Actuators, B: Chem**, vol. 137, 2009. pp. 566-573.
- [44] Shi L., Liu X., Niu W., Li H., Han S., Chen J. and Xu G. "Hydrogen peroxide biosensor based on direct electrochemistry of soybean peroxidase immobilized on single-walled carbon nanohorn modified electrode" **Biosens. Bioelectron**, vol. 24, 2009. pp. 1159-1163.
- [45] Zhu S., Fan L., Liu X., Shi L., Li H., Han S. and Xu G. "Determination of concentrated hydrogen peroxide at single-walled carbon nanohorn paste electrode" **Electrochem. Commun**, vol. 10, 2008. pp. 695-698.
- [46] Huang J. and Tsai Y. "Direct electrochemistry and biosensing of hydrogen peroxide of horseradish peroxidase immobilized at multiwalled carbon nanotube/alumina-coated silica nanocomposite modified glassy carbon electrode" **Sens. Actuators, B: Chem**, vol. 140, 2009. pp. 267-272.
- [47] Adhikari B. and Majumdar S. "Polymers in sensor applications" **Prog. Polym. Sci**, vol. 29, 2004. pp. 699-766.
- [48] Gerarda M. and Malhotra B. D. "Application of polyaniline as enzyme based biosensor" **Curr. Appl. Phys**, vol. 5, 2005. pp. 174-177.
- [49] Du Z., Li C., Li L., Zhang M., Xu S. and Wang T. "Simple fabrication of a sensitive hydrogen peroxide biosensor using enzymes immobilized in processable polyaniline nanofibers/chitosan film" **Mater. Sci. Engi. : C**, vol. 29, 2009. pp. 1794-1797.
- [50] Morrin A., Wilbeer F., Ngamna O., Moulton S. E., Killard A. J., Wallace G. G. and M. R. Smyth "Novel biosensor fabrication methodology based on processable conducting polyaniline nanoparticles" **Electrochem. Commun**, vol. 7, 2005. pp. 317-322.

- [51] MATERIAL SAFETY DATA SHEET Hydrogen Peroxide (20 to 40%) MSDS Ref. No: 7722-84-1-3 Version: US/Canada Date Approved: 06/10/2002 Revision No: 6
- [52] Jones C. W. and Clark J. H. 1999. **Applications of Hydrogen Peroxide and Derivatives: (RSC Clean Technology Monographs)** The Royal Society of Chemistry.
- [53] Bagotsky V. S. 2006. **Fundamentals of Electrochemistry. 2nd Edition.** John Wiley & Sons, Inc.
- [54] Wang J. 2006. **Analytical Electrochemistry. 3rd Edition.** John Wiley & Sons, Inc.
- [55] Oldham K. B. and Myland J. C. 1994. **Fundamentals of Electrochemical Science.** Academic Press in San Diego.
- [56] Bard A. J. and Faulkner L. R. 2001. **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications. 2nd Edition.** Wiley New York.
- [57] Bartlett P. and Bartlett P. N. 2008. **Bioelectrochemistry: Fundamentals, Experimental Techniques and Applications,** John Wiley & Sons, Inc.
- [58] Belluzo M. S., Ribone M. E. and Lagier C. M. "Assembling amperometric biosensors for clinical diagnostics" *Sensors*, vol. 8, 2008. pp. 1366-1399.
- [59] Ellmer K., Klein A. and Rech B. 2008. **Transparent Conductive Zinc Oxide Basics and Applications in Thin Film Solar Cells.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- [60] Nickel N. H., Terukov E. 2005. **Zinc Oxide - A Material for Micro - and Optoelectronic Applications.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- [61] Jagadish C. 2006. **Zinc Oxide Bulk, Thin Films and Nanostructures: Processing, Properties, and Applications.** Stephen Pearton.
- [62] Morkoç H. and Özgür Ü. 2009. **Zinc Oxide Fundamentals, Materials and Device Technology.** Weinheim : Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA.
- [63] Luo Y. C. and Do J. S. "Urea biosensor based on PANi(urease)-Nafion<sup>®</sup>/Au composite electrode" *Biosens. Bioelectron*, vol. 20, 2004. pp. 15-23.
- [64] Iwuoha E. I, Villaverde D.S., Garcia N. P., Smyth M. R. and Pingarron J. M. "The amperometric behaviour of horseradish peroxidase immobilised on a platinum electrode modified with an electrosynthetic polyaniline film" *Biosens. Bioelectron*, vol. 12, 1997. pp. 749-761.

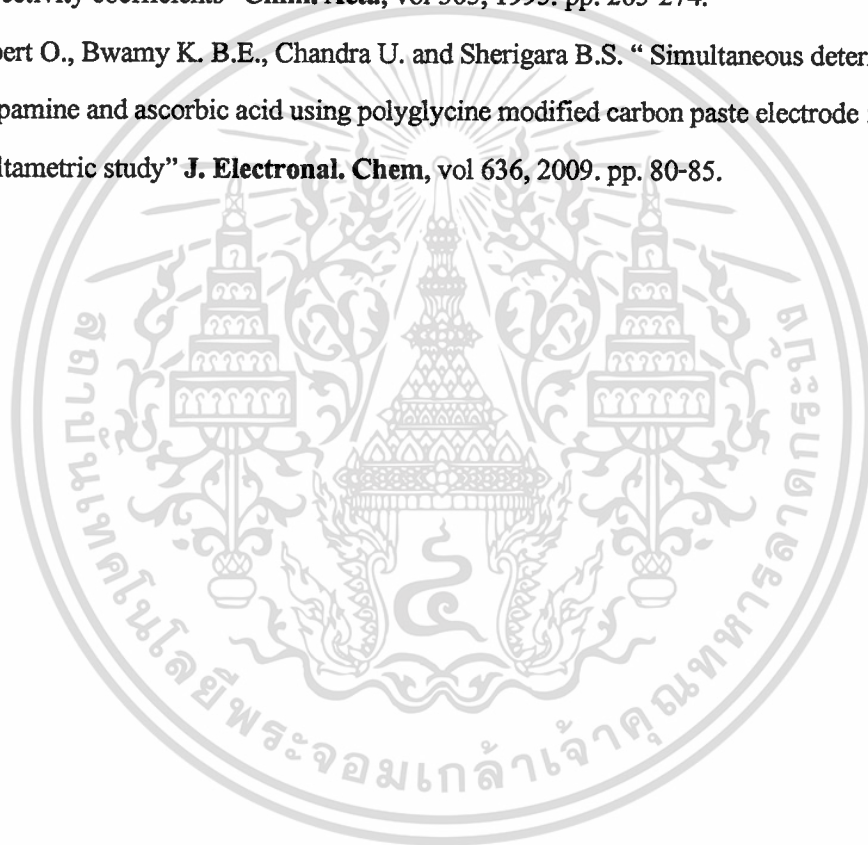
- [65] Xu Q., Zhu J. J. and Hu X. Y. "Ordered mesoporous polyaniline film as a new matrix for enzyme immobilization and biosensor construction" **Anal. Chim. Acta**, vol. 597, 2007. pp. 151-156.
- [66] Wallace G. G., Spinks G. M, Kane-Maguire L. A. P., Teasdale P.R. 2009. **Conductive Electroactive Polymers Intelligent Polymer Systems**. New York : CRC Press Taylor & Francis Group.
- [67] Wan M., Verlag B. and Verlag S. 2008. **Conducting Polymers with Micro or Nanometer Structure**. New York : GmbH Berlin Heidelberg.
- [68] Guicun Li and Zhikun Zhang, "Synthesis of dendritic polyaniline nanofibers in a surfactant gel" **Macromolecules**, vol. 37, 2004. pp. 2683-2685.
- [69] Stejskal J. "Polyniline preparation of a conducting polymer" **Pure. Appl. chem**, vol. 74, 2002. pp. 857-867.
- [70] Westbroek P., Temmerman E. and Kiekens P. "Measurement and control of hydrogen peroxide concentration in alkaline solution by means of amperometric sensor system" **Anal. Chim. Acta**, vol. 385, 1999. pp. 423-428.
- [71] Matos R. C., Pedrotti J. J. and Angnes L. "Flow-injection system with enzyme reactor for differential amperometric determination of hydrogen peroxide in rainwater" **Anal. Chim. Acta**, vol. 441, 2001. pp. 73-79.
- [72] Peña R. M., Garcia S., Herrero C. and Lucas T. "Measurements and analysis of hydrogen peroxide rainwater levels in a Northwest region of Spain" **Atmospheric Environment**, vol. 35, 2001. pp. 209-219.
- [73] Campanella L., Roversi R., Sammartino M. P. and Tomassetti M. "Hydrogen peroxide determination in pharmaceutical formulations and cosmetics using a new catalase biosensor" **J. Pharm. Biomed. Anal**, vol. 18, 1998. pp. 105-116.
- [74] Qin W., Zhang Z., Li B. and Liu S. "Chemiluminescence flow-sensing system for hydrogen peroxide with immobilized reagents" **Anal. Chim. Acta**, vol. 327, 1998. pp. 357-363.
- [75] Banerjee D., Madhusoodanan U. K., Nayak S. and Jacob J. "Urinary hydrogen peroxide: a probable marker of oxidative stress in malignancy" **Clinica Chimica Acta**, vol. 334, 2003. pp. 205-209.

- [76] Longa L. H., Patrica J., Evansb and Halliwell B. "Hydrogen peroxide in human urine: implications for antioxidant defense and redox regulation" **Biochem. Biophys. Res. Commun**, vol. 262, 1999. pp. 605-609.
- [77] Hurdis E. C., Hendrik and Romeyn. "Accuracy of determination of hydrogen peroxide by cerate oxidimetry" **Anal. Chem**, vol. 26, 1954. pp. 320-325.
- [79] Matsubara C., Kudo K., Kawashita T. and Takamura K. "Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide with titanium 2-((5-bromopyridyl)azo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino)phenol reagent and its application to the determination of serum glucose using glucose oxidase" **Anal. Chem**, vol. 57, 1985. pp. 1107-1109.
- [80] Nakashima K., Kuroda N., Kawaguchi S., Wada M. and Akiyama S. "Peroxyoxalate chemiluminescent assay for oxidase activities based on detecting enzymatically formed hydrogen peroxide" **J. Biolum. Chemilum**, vol. 10, 2005. pp. 185-191.
- [81] Yue H, Bu X, Huang MH, Young J, Raglione T. "Quantitative determination of trace levels of hydrogen peroxide in crosprovidone and a pharmaceutical product using high performance liquid chromatography with coulometric detection" **Int. J. Pharm**, vol. 22, 2009. pp. 33-40.
- [82] Liu Y., Qian J., Fu X., Liu H., Deng J. and Yu T. "Immobilization of horseradish peroxidase onto a composite membrane of regenerated silk fibroin and polyvinyl alcohol and its application to a new methylene blue-mediated sensor for hydrogen peroxide" **Enzyme. Microb. Technol**, vol. 21, 1997. pp. 154-159.
- [83] Teng Y.J., Zuo S.H. and Lan M.B. "Direct electron transfer of horseradish peroxidase on porous structure of screen-printed electrode" **Biosens. Bioelectron**, vol. 24, 2009. pp. 1353-1357.
- [84] Ngamna O., Morrin A., Moulton S. E., Killard A. J., Smyth M. R. and Wallace G. G. "An HRP based biosensor using sulphonated polyaniline" **Synthetic Metals**, vol. 153, 2005. pp. 185-188.
- [85] Chen C. C. and Gu Y. "Enhancing the sensitivity and stability of HRP/PANI/Pt electrode by implanted bovine serum albumin" **Biosens. Bioelectron**, vol. 23, 2008. pp. 765-770.
- [86] Zhifeng D., Chengchao L., Limiao L., Ming Z., Shoujiang X., Taihong W., "Simple fabrication of a sensitive hydrogen peroxide biosensor using enzymes immobilized in

- processable polyaniline nanofibers/chitosan film” **Mater. Sci. Eng**, vol. 29, 2009. pp. 1794-1797.
- [87] Gerard M. and Malhotra B. D. “Application of polyaniline as enzyme based biosensor” **Curr. Appl. Phys**, vol. 5, 2005. pp. 174-177.
- [88] Fernandes K. F., Lima C.S., Pinho H. and Collins C. H. “Immobilization of horseradish peroxidase onto polyaniline polymers” **Proc. Biochem**, vol. 38, 2003. pp. 1379-1384.
- [89] Fernandes K. F., Lima C. S., Lopes F. M. and Collins C. H. “Properties of horseradish peroxidase immobilised onto polyaniline” **Proc. Biochem**, vol. 39, 2004. pp. 957-962.
- [90] Mathebe N. G. R., Morrin A. and Iwuoha E. I. “Electrochemistry and scanning electron microscopy of polyaniline/peroxidase-based biosensor” **Talanta**, vol. 64, 2004. pp. 115-120.
- [91] Palaniappan S. and John A. “Polyaniline materials by emulsion polymerization pathway” **Prog. Polym. Sci**, vol. 33, 2008. pp. 732-758.
- [92] Gupta V. and Miura N. “Large-area network of polyaniline nanowires prepared by potentiostatic deposition process” **Electrochem. Commun**, vol. 7, 2005. pp. 995-999.
- [93] Zhang H., Wang J., Wang Z., Zhang F. and Wang S. “Electrodeposition of polyaniline nanostructures : A lamellar structure” **Synth. Met**, vol. 159, 2009. pp. 277-281.
- [94] Huang J. and Kaner R. “The intrinsic nanofibrillar morphology of polyaniline” **Chem. Commun**, 2006, pp. 367-376.
- [95] Guo Y. and Zhou Y. “Polyaniline nanofibers fabricated by electrochemical polymerization: A mechanistic study” **Europ. Polym. J.**, vol. 43, 2007. pp. 2292-2297.
- [96] Zhou H., Wen J., Ning X., Fu C., Chen J. and Kuang Y. “Electrosynthesis of polyaniline films on titanium by pulse potentiostatic method” **Synth. Met**, vol. 157, 2007. pp. 98-103.
- [97] Langer J. J., Framski G. and Joachimiak R. “Polyaniline nano-wires and nano-networks” **Synth. Met**, vol. 121, 2001. pp. 1281-1282.
- [98] Zhang X., Goux W. J. and Manohar S. K. “Synthesis of polyaniline nanofiber by nanofiber seeding” **J. AM. Chem. SOC**, vol. 126, 2004. pp. 4502-4503.
- [99] Martin C. R. “Membrane-based synthesis of nanomaterials” **Chem. Mater**, vol. 8, 1996. pp. 1739-1746.

- [100] Roy S., Kargupta K., Chakraborty S. and Ganguly S. "Preparation of polyaniline nanofibers and nanoparticles via simultaneous doping and electro-deposition" **Mater. Lett**, vol. 62, 2008. pp. 2535-2538.
- [101] Bhadra S., Khastgir D., Singha N. K. and Lee J. H. "Progress in preparation, processing and applications of polyaniline" **Prog. Polym. Sci**, vol. 34, 2009. pp. 783-810.
- [102] Jeng J.r, Chen T. Y., Lee C. F., Liang N. Y. and Chiu W. Y. "Growth mechanism and pH-regulation characteristics of composite latex particles prepared from Pickering emulsion polymerization of aniline/ZnO using different hydrophilicities of oil phases" **Polymer**, vol. 49, 2008. pp. 3265-3271.
- [103] Yongjun He. "Preparation of polyaniline/nano-ZnO composites via a novel Pickering emulsion route" **Powder Technology**, vol. 147, 2004. pp. 59-63.
- [104] Yongjun He. "A novel emulsion route to sub-micrometer polyaniline/nano-ZnO composite fibers" **App. Surf. Sci**, vol. 249, 2005. pp. 1-6.
- [105] Xu F., Lu Y., Xie Y. and Liu Y. "Controllable morphology evolution of electrodeposited ZnO nano/micro-scale structures in aqueous solution" **Mater. Des**, vol. 30, 2009. pp. 1704-1711.
- [106] Chander R. and Raychaudhuri A.K. "Electrodeposition of aligned arrays of ZnO nanorods in aqueous solution" **Sol. Stat. Commun**, vol. 145, 2008. pp. 81-85.
- [107] Elias, Tena-Zaera R. and Lévy-Clément C. "Electrodeposition of ZnO nanowires with controlled dimensions for photovoltaic applications: Role of buffer layer" **Thin Solid Films**, vol. 515, 2007. pp. 8553-8557.
- [108] Mo G. Q., Ye J. S. and Zhang W. D. "Unusual electrochemical response of ZnO nanowires-decorated multiwalled carbon nanotubes" **Electrochim. Acta**, vol. 55, 2009. pp. 511-515.
- [109] Ren X., Jiang C. H., Li D. D. and He L. "Fabrication of ZnO nanotubes with ultrathin wall by electrodeposition method" **Mater. Lett**, vol. 62, 2008. pp. 3114-3116.
- [110] Eco Chemie B. V. Utrecht. 2001. **User Manual for Frequency Response Analysis (FRA) for Windows**. Netherlands.
- [111] Eco Chemie B. V., Utrecht. 2001. **User Manual for General Purpose Electrochemical System (GPES) for Windows**. Netherlands.

- [112] Kumar S. A., Cheng H.W. and Chen S.M. "Electroanalysis of ascorbic acid (vitamin C) using nano-ZnO/poly(luminol) hybrid film modified electrode" **React. Func. Polym.**, vol. 69, 2009. pp. 364-370.
- [113] Patil R. C. and Radhakrishnan S. "Conducting polymer based hybrid nano-composites for enhanced corrosion protective coatings" **Prog. Org. Coat.**, vol. 57, 2006. pp. 332-336.
- [114] van Os P. J. H. J., Bult A. and van Bennekom W. P. "A glucose sensor, interference free for ascorbic acid" **Anal. Chim. Acta**, vol 305, 1995. pp. 18-25.
- [115] Macca C. and Wang J. "Experimental procedures for determination of amperometric selectivity coefficients" **Chim. Acta**, vol 305, 1995. pp. 265-274.
- [116] Gibert O., Bwamy K. B.E., Chandra U. and Sherigara B.S. " Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid using polyglycine modified carbon paste electrode : A cyclic voltametric study" **J. Electronal. Chem**, vol 636, 2009. pp. 80-85.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



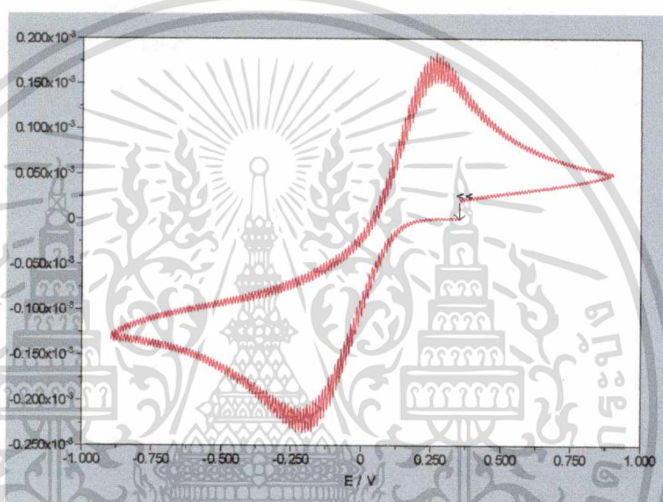
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก.

## การคำนวณ

การคำนวณหาค่ากระแส  $i_{p,r}$  และ  $i_{p,f}$

ตัวอย่างการคำนวณค่ากระแส  $i_{p,r}$  และ  $i_{p,f}$  ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่า โดยใช้ค่าที่ได้จากโปรแกรม GPES

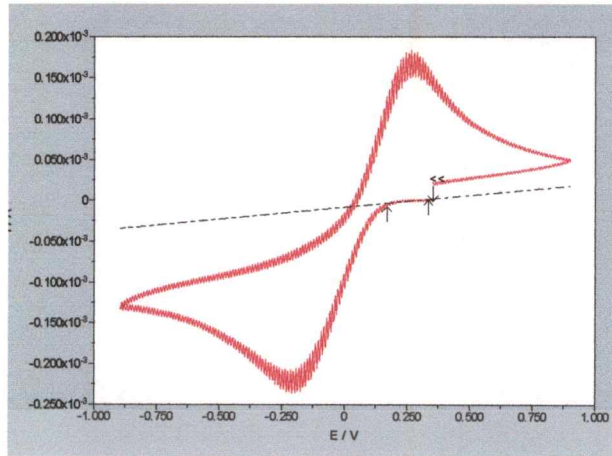


รูปที่ ก.1 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าโดยวัดในสารละลาย 30 มิลลิโมลาร์  $K_3(Fe(CN)_6)$  1 โมลาร์ KCl 50 ไมโครลิตร ที่อัตราเร็วการสแกน 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

Minimum and Maximum		
Results		Commands
	Min.	Max.
E / V	-0.197	0.266
i / A	-2.361e-4	1.835e-4

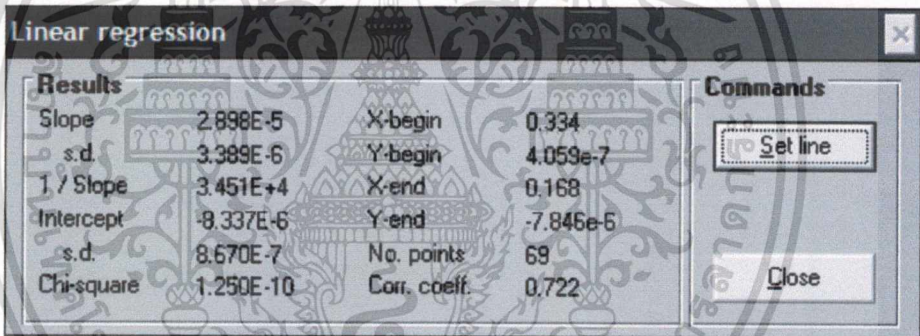
รูปที่ ก.2 แสดงหน้าต่าง Minimum and Maximum ที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าในรูปที่ 6.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.3 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าที่ใช้คำสั่ง

Linear regression



รูปที่ ก.4 แสดงหน้าต่างข้อมูลที่ได้จากการใช้คำสั่ง Linear regression

ใช้คำสั่ง Find minimum and maximum จะได้นหน้าต่าง Minimum and Maximum ซึ่งแสดงข้อมูลค่ากระแสสูงสุดค่ากระแสต่ำสุดและศักย์ไฟฟ้าตรงตำแหน่งกระแสนั้นๆ ดังแสดงในรูปที่ 6.1 และรูปที่ 6.2

จากนั้นใช้คำสั่ง Linear regression เพื่อหากระแสเบสไลน์ จะได้ข้อมูลของสมการเส้นตรงของเส้นกระแสเบสไลน์ดังรูปที่ 6.3 และรูปที่ 6.4

จากข้อมูลที่ได้สามารถหาค่าเบสไลน์ที่ศักย์ไฟฟ้าที่ต้องการได้จากสมการเส้นตรง

$$\text{จาก } y = ax + b$$

ที่ศักย์ไฟฟ้าที่ตำแหน่งกระแสฟิค  $-2.361 \times 10^{-4}$  A มีค่าเท่ากับ  $-0.197$

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น หากมีการนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

$$\text{แทนค่าได้ } y = (2.898 \times 10^{-5} x - 0.197) - 8.337 \times 10^{-6}$$

$$Y = (-0.570906 - 0.8337) \times 10^{-5}$$

$$Y = -1.4046 \times 10^{-5}$$

จะได้ค่ากระแสเบสไลน์ที่จุดศักย์ไฟฟ้าพีคกระแสมีค่าเท่ากับ  $-1.4046 \times 10^{-5}$

### การคำนวณหาค่ากระแส $i_{p,r}$

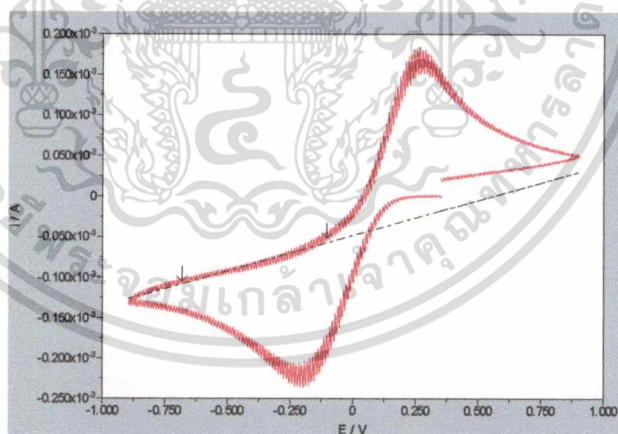
กระแส  $i_{p,r}$  มีค่าเท่ากับค่ากระแสตรงตำแหน่งศักย์พีคด้วยค่ากระแสเบสไลน์ที่ตำแหน่งศักย์พีคเดียวกัน

กระแสพีค  $-2.361 \times 10^{-4}$  ค่ากระแสเบสไลน์ที่จุดศักย์ไฟฟ้ามีเดียวกันมีค่าเท่ากับ  $-1.4046 \times 10^{-5}$

จะได้กระแส  $i_{p,r}$  มีค่าเท่ากับ  $-2.361 \times 10^{-4} - (-1.4046 \times 10^{-5})$

$$= -2.2205 \times 10^{-4}$$

สำหรับการคำนวณหาค่ากระแส  $i_{p,r}$  ก็สามารถคำนวณได้ในวิธีการเดียวกัน



**รูปที่ ก.5** แสดงตัวอย่างการใช้คำสั่ง Linear regression ใน โปรแกรมเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคำนวณหาค่ากระแสเบสไลน์เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่า  $i_{p,r}$  ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Linear regression			
Results		Commands	
Slope	8.720E-5	X-begin	-0.682
s.d.	1.690E-6	Y-begin	-1.052e-4
1 / Slope	1.147E+4	X-end	-0.104
Intercept	-4.858E-5	Y-end	-5.167e-5
s.d.	7.219E-7	No. points	238
Chi-square	4.500E-9	Corr. coeff.	0.958

รูปที่ ก.6 แสดงหน้าต่างข้อมูลจากการใช้คำสั่ง Linear regression ในโปรแกรมเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคำนวณหาค่ากระแส  $i_{p,r}$  ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่า

Minimum and Maximum		
Results	Min.	Max.
E / V	-0.359	0.461
i / A	-1.444e-4	1.444e-4

รูปที่ ก.7 แสดงตัวอย่างเพิ่มเติมในการใช้คำสั่ง Find minimum and maximum เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคำนวณหาค่ากระแส  $i_{p,r}$  และ  $i_{p,r}$  ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์กระจายตัวบนลวดนาโนโพลีอะนิลีน

ซึ่งจากข้อมูลของกระแสสูงสุดและต่ำสุดเมื่อพิจารณาประกอบกับไซคลิกโวลแทมโมแกรม นับว่าเป็นข้อมูลพอที่จะสามารถทำนายความสมมาตรหรือความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับคร่าวๆได้ แต่หากต้องการค่าที่ละเอียดต้องทำการคำนวณดังแสดงในตัวอย่าง

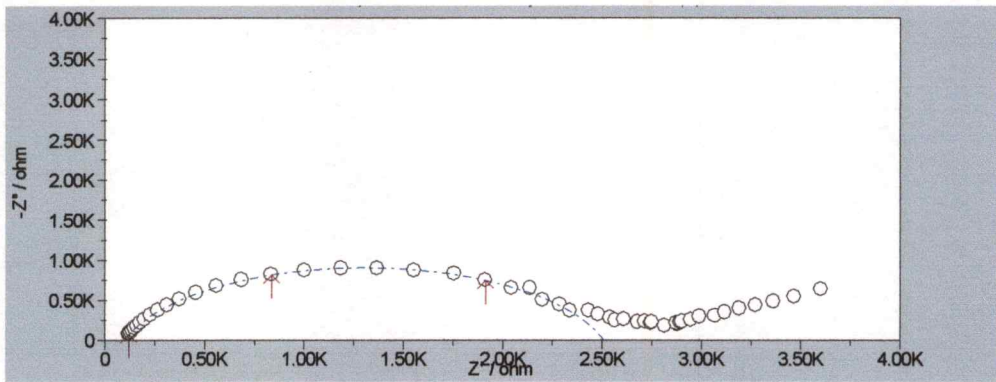
ข้อมูลจากการคำนวณค่า  $i_{p,r}/i_{p,r}$  ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนแสดงดังตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 แสดงข้อมูลในการคำนวณค่า  $i_{p,r}/i_{p,r}$  ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

ชนิดขั้วไฟฟ้า		Min	Max	$i_{p,r}/i_{p,r}$
PANI-NWs	E / V	-0.402	0.522	
	I / A	-0.0002367	0.002176	
	slope / a	0.00003169	0.00004854	
	y (I baseLine) / A	-1.72094E-05	1.33979E-05	
	Intercept / b	-0.00000447	-0.00001194	
	I correct	<b>-0.000219491</b>	<b>0.000204202</b>	<b>-1.0749</b>
PANI-NWs/nano-ZnO	E / V	-0.359	0.461	
	I / A	-0.0001444	0.0001444	
	slope / a	0.00007299	0.00006828	
	y (I baseLine) / A	-3.50844E-05	2.34361E-05	
	Intercept / b	-0.000008881	-0.000008041	
	I correct	<b>-0.000109316</b>	<b>0.000120964</b>	<b>-0.9037</b>
ZnO-PANI composite	E / V	-0.057	0.202	
	I / A	-0.00009637	0.00006116	
	slope / a	0.0000182	0.000005352	
	y (I baseLine) / A	-3.72374E-05	-4.69896E-07	
	Intercept / b	-0.0000362	-0.000001551	
	I correct	<b>5.91326E-05</b>	<b>6.16299E-05</b>	<b>-0.95948</b>
Bare	E / V	-0.197	0.266	
	I / A	-0.0002361	0.0001835	
	slope / a	0.00002898	0.0000872	
	y (I baseLine) / A	-1.40461E-05	-2.53848E-05	
	Intercept / b	-0.000008337	-0.00004858	
	I correct	<b>-0.000222054</b>	<b>0.000208885</b>	<b>-1.06304</b>

#### การคำนวณหาค่าอิมพีแดนซ์

การวัดอิมพีแดนซ์เป็นการวัดที่สามารถใช้ข้อมูลเพื่อทำนายผลหรือปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นกับระบบที่ไม่เป็นเชิงเส้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับระบบ electrochemical interface ตัวอย่างการหาค่าอิมพีแดนซ์จากการวัดโดยใช้คำสั่ง Find Circle จะได้ข้อมูลดังแสดงในรูปตัวอย่าง เป็นตัวอย่างการหาค่าอิมพีแดนซ์ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่า โดยใช้ Randles equivalent circuit ซึ่งจะได้ค่าอิมพีแดนซ์เท่ากับ  $2.413 \times 10^3$  ohm นอกจากนั้นแล้วยังทราบค่า  $R_s$  และค่าความจุประจุที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเนื่องจาก double layer ด้วย ซึ่งมีผลต่อการเกิดกระแสที่ตรวจวัดได้เช่นกัน



รูปที่ ก.8 แสดงตัวอย่างการใช้คำสั่ง Find Circle ของหาค่าอิมพีแดนซ์สเปกตรัมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าที่วัดโดยใช้สารละลาย 50 ไมโครลิตร ในสารละลาย 30 มิลลิโมลาร์  $K_3(Fe(CN)_6)$  1 โมลาร์ KCl หยดลงหน้าขั้วไฟฟ้า



รูปที่ ก.9 แสดงข้อมูลที่ได้จากการใช้คำสั่ง Find Circle

ข้อมูลจากการคำนวณค่าอิมพีแดนซ์ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดังแสดงในตารางที่ ก.2

ตารางที่ ก.2 แสดงข้อมูลจากการคำนวณค่าอิมพีแดนซ์ของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน

ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่ง	Rs /ohm	Rp /ohm	CPE / F
PANI-NWs	106.741	1505.01	1.72588E-07
	100.219	1532.82	1.88778E-07
	114.755	1487.31	1.62511E-07
	<b>Average</b>	<b>107.2383333</b>	<b>1508.38</b>
PANI-NWs / nano-ZnO	71.0575	1664.27	1.52513E-06
	95.0492	1481.67	8.53781E-07
	90.519	1523.77	9.6536E-07
	<b>Average</b>	<b>85.5419</b>	<b>1556.57</b>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Bare</b>	97.1997	2413	1.48903E-06
	98.526	2387.97	1.44275E-06
	100.183	2361.52	1.43432E-06
	<b>Average</b>	<b>98.63623333</b>	<b>2387.496667</b>
<b>PANI-NWs / nano-ZnO/HRP / Naf</b>	1156.42	70987.5	5.42063E-06
	1157.1	70986.98	5.42099E-06
	1155.74	70988.02	5.42027E-06
	<b>Average</b>	<b>1156.42</b>	<b>70987.5</b>
<b>ZnO-PANI composite</b>	120.206	2077.23	3.93541E-06
	123.41	2209.2	4.17007E-06
	117.603	2214.44	4.6226E-06
	<b>Average</b>	<b>120.4063333</b>	<b>2166.956667</b>

### การคำนวณขีดจำกัดการตรวจวัด

การทดสอบและการคำนวณเพื่อหาขีดจำกัดการตรวจวัดนั้นทำการทดสอบจากการป้อนศักย์ที่เหมาะสมในแต่ละครั้ง โดยทำการทดสอบและคำนวณตามวิธีการของ International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

#### 1 สูตรการคำนวณและวิธีการทดสอบ

- เตรียมสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นที่แน่นอนต่างๆแล้วนำไปทำการทดลอง นำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับปริมาณกระแสที่วัดได้ จะได้กราฟเส้นตรง จากนั้นนำมาคำนวณหาความชันตามสมการ

$$Y = aX + b$$

$$a = \frac{Y - b}{X}$$

เมื่อ  $a$  คือ ความชันของเส้นกราฟ

$b$  คือ จุดตัดแกนกระแส

- เมื่อสามารถหาค่าความชันของเส้นกราฟได้แล้ว นำสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) 6.8 นำไปทำการทดลอง ( เป็นจำนวนอย่างน้อย 20 ครั้ง ) แล้วจึงนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{Standard Deviation of Blank}(SD_B) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{n_B} (Y_{Bj} - \bar{Y}_B)^2}{(n_B - 1)}}$$

3. ค่าที่ได้ทั้งหมดนำมาคำนวณหาค่าสัญญาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้และค่าขีดจำกัดการตรวจหา ดังนี้

$$\text{สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้}(Y_L = \bar{Y}_B + 3(S_B))$$

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

$$\text{ขีดจำกัดการตรวจหา}(C_L) = \frac{(Y_L - \bar{Y}_B)}{a}$$

$$\text{หรือ } C_L = \frac{3(S_B)}{a}$$

$Y_L$  คือ สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้

$\bar{Y}_B$  คือ ค่าเฉลี่ยของสัญญาณจาก blank

$S_B$  คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ blank

$C_L$  คือ ขีดจำกัดการตรวจหา

ค่ากระแสของปฏิกิริยารีดักชันที่ได้แอมเพอโรแกรมรูปที่ 4.33 สำหรับใช้คำนวณหาขีดจำกัดการตรวจวัดดังแสดงในตารางที่ก.3

ตารางที่ก.3 แสดงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกระแสที่วัดได้จากแอมเพอโรแกรมในรูปที่รูปที่ 4.33

ความเข้มข้น $\mu\text{M}$	กระแส $-I / \mu\text{A}$
0	5
99	5.4
196	5.8
291	6.2
385	6.6
476	7
566	7.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

654	7.6
740.7	7.9
825.69	8.2
909.09	8.6
990.99	8.9
1071.43	9.1
1150.44	9.4
1228.07	9.7
1304.35	9.9
1379.31	10.2
1452.99	10.4
1525.42	10.7

ความชันที่ได้จากกราฟรูปที่ 4.34 มีค่าเท่ากับ 0.0037

จุดตัดแกนที่ได้จากกราฟรูปที่ 4.34 มีค่าเท่ากับ 5.31

ค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของกระแสไฟ

ตารางที่ ก.4 แสดงค่ากระแสไฟที่ทำการตรวจวัด

กระแสไฟ -I <sub>μA</sub>
0.463
0.464
0.461
0.461
0.463
0.457
0.457
0.460
0.462
0.458
0.451
0.455
0.452
0.455
0.452
0.455
0.456
0.457
0.441
0.455

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

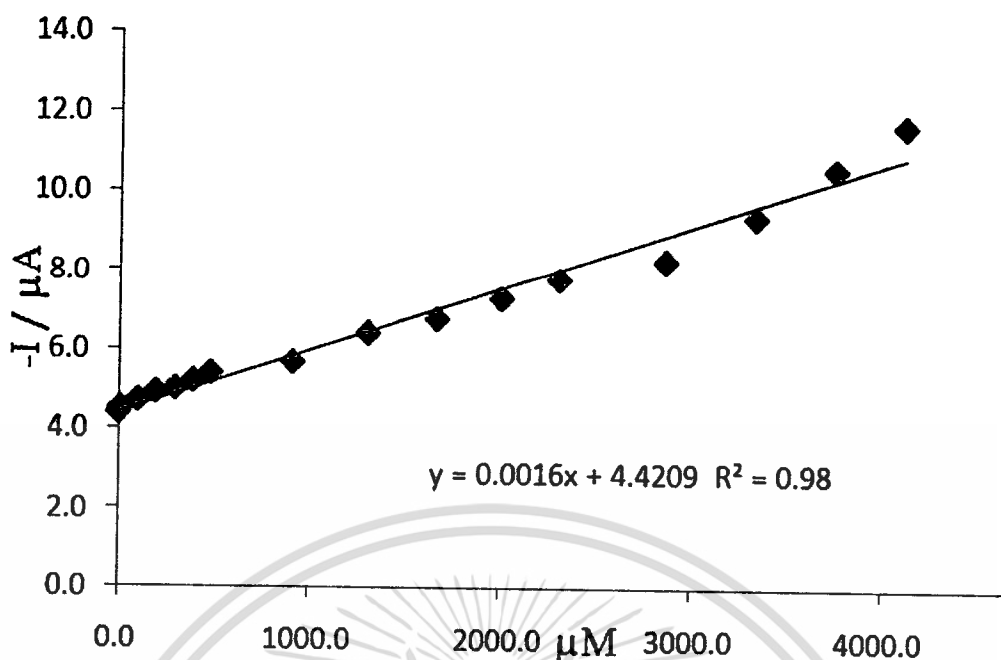
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่า = 0.005359

ขีดจำกัดการตรวจวัดมีค่า =  $(3 \times 0.005359) / 0.0037$   
= 4.35 ไมโครโมลาร์

ตารางที่ ก.5 แสดงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกระแสที่วัดได้จากแอมเพอโรแกรมในรูปที่รูปที่ 4.31 ซึ่งใช้ในการสร้างกราฟเพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด

ความเข้มข้น $\mu\text{M}$	กระแส $-I / \mu\text{A}$
0.0	4.4
9.9	4.5
99	4.7
196	4.9
291	5
385	5.2
476	5.4
909.09	5.7
1304.35	6.4
1666.67	6.8
2000	7.3
2307.69	7.8
2857.14	8.3
3333.33	9.4
3750	10.6
4117.65	11.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.10 แสดงความสัมพันธ์ของกระแสและความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากแอมเพอโรแกรมในรูปที่ 4.31

ตารางที่ ก.6 แสดงความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกระแสที่วัดได้จากแอมเพอโรแกรมในรูปที่ 4.35 ซึ่งใช้ในการสร้างกราฟเพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด

ค่ากระแสที่วัดได้ (ไมโครแอมแปร์)	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)				
	9.9	19.6	29.1	38.5	47.6
1	0.385	0.449	0.475	0.548	0.563
2	0.394	0.431	0.49	0.546	0.561
3	0.392	0.44	0.482	0.538	0.568
4	0.378	0.43	0.497	0.548	0.562
5	0.392	0.446	0.487	0.536	0.566
6	0.374	0.431	0.494	0.540	0.558
ค่าเฉลี่ย	0.386	0.438	0.488	0.543	0.563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.7 แสดงค่ากระแสพื้นที่ทำการตรวจวัดจากแอมเพอโรแกรมในรูปที่รูปที่ 4.35

กระแส- $\mu\text{A}$

0.356

0.342

0.354

0.345

0.348

0.345

0.354

0.345

0.348

0.354

0.345

0.354

0.348

0.360

0.348

0.360

0.354

0.360

0.354

0.362

เฉลี่ย 0.3518

ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่า = 0.006031

ขีดจำกัดการตรวจวัดมีค่า =  $(3 \times 0.006031) / 0.0047$   
= 3.85 ไมโครโมลาร์

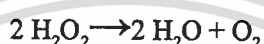
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข.

### การเตรียมสารเคมี

#### การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

หน่วยของความเข้มข้นที่นิยมใช้สำหรับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์คือหน่วยvolume ซึ่งหมายถึงปริมาตรของแก๊สออกซิเจนเนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถสลายตัวได้เป็นน้ำและแก๊สออกซิเจนดังสมการ



สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 110volume หมายความว่าในสารละลาย 1 ลิตรจะสามารถให้ออกซิเจนได้ทั้งหมดปริมาตร 110 ลิตร

ออกซิเจน 110 ลิตรเท่ากับ  $110/22.4$  โมล ออกซิเจน  
เท่ากับ 4.910714 โมล ออกซิเจน

จากสมการจะได้ว่า 1 โมลของ  $\text{O}_2 = 2$  โมลของ  $\text{H}_2\text{O}_2$

ดังนั้น สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 110volume หมายความว่าในสารละลาย 1 ลิตร

มีออกซิเจน 4.910714 โมล คือมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เท่ากับ เท่ากับ 9.82143 โมล  
ในสารละลาย 1 ลิตร หรือเท่ากับ 9.82143 โมลาร์

จากนั้นสามารถเตรียมสารละลายมาตรฐาน  $\text{H}_2\text{O}_2$  ความเข้มข้นเป็นหน่วย โมลาร์ ได้จากสูตร

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

โดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1โมลาร์ ค่าความเป็นกรด - ค่าง (pH) 6.8 ใช้แก๊สไนโตรเจนในการไล่ออกซิเจนออก เป็นเวลา 30 นาทีก่อนนำมาปรับปริมาตรตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ต้องการ

#### การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์(phosphate buffer solutions)

เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ตามวิธีของGomori[111]ดังนี้

1. เตรียมโดยผสมสารละลาย A และ B ตามพีเอชที่ต้องการและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลาย A : 0.05 โมลาร์ dibasic sodium phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  7.80 กรัม ใน น้ำกลั่น 1 ลิตร)

สารละลาย B : 0.05 โมลาร์ monobasic sodium phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  8.90 กรัม ใน น้ำกลั่น 1 ลิตร)

ตารางที่ข.1 แสดงอัตราส่วนของสารในการเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรด - ค่า (pH) ต่างๆ

ค่าความเป็นกรด - ค่า (pH)	A(มิลลิลิตร)	B(มิลลิลิตร)
5.8	4	46
6	6.15	43.85
6.2	9.25	40.75
6.4	13.25	36.75
6.6	18.75	31.25
6.8	24.5	25.5
7	30.5	19.5
7.2	36	14
7.4	40.5	9.5
7.6	43.5	6.5
7.8	45.75	4.25
8	47.35	2.65

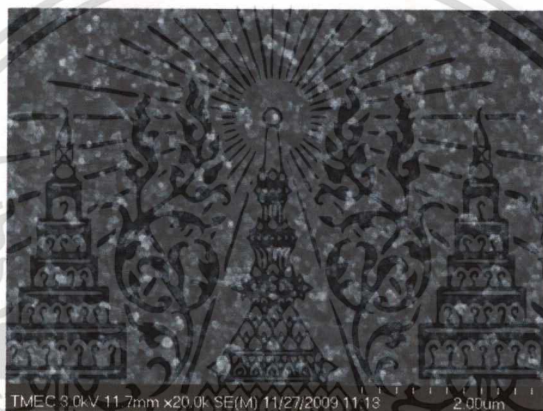
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค.

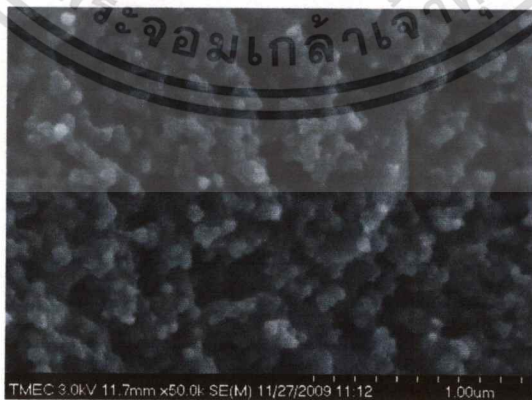
### ผลเพิ่มเติม

ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเพิ่มเติม

การเทียบขนาดของภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดสามารถเทียบได้จาก มุมด้านล่างขวา ซึ่งจะบอกขนาดของช่องสี่เหลี่ยม เช่น รูปที่ ค.1 ขนาดของทั้งสี่เหลี่ยมมีขนาดเท่ากับ 2.00 ไมโครเมตร โดยขนาดของแต่ละช่อง (ระหว่างจุดสองจุดที่อยู่ใกล้กัน) จะมีขนาด 200 นาโนเมตร



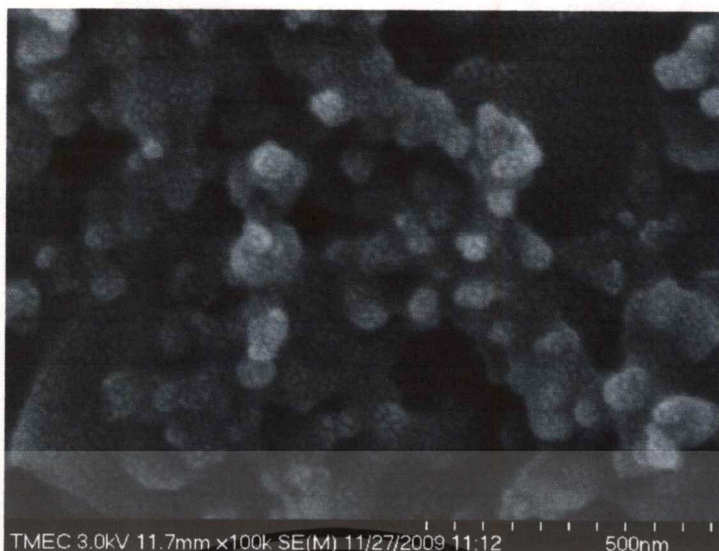
รูปที่ ค.1 ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าหลังจากการล้างจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราดที่กำลังขยาย 20,000 เท่า



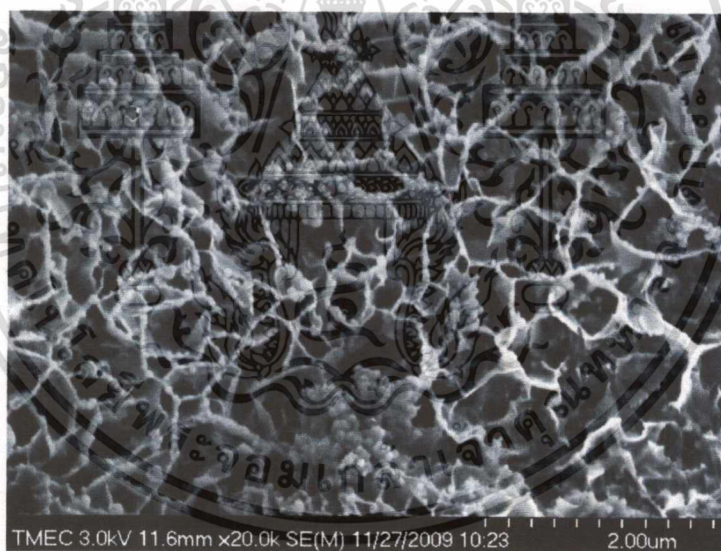
รูปที่ ค.2 ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าหลังจากการล้างจากกล้องจุลทรรศน์

อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 50,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

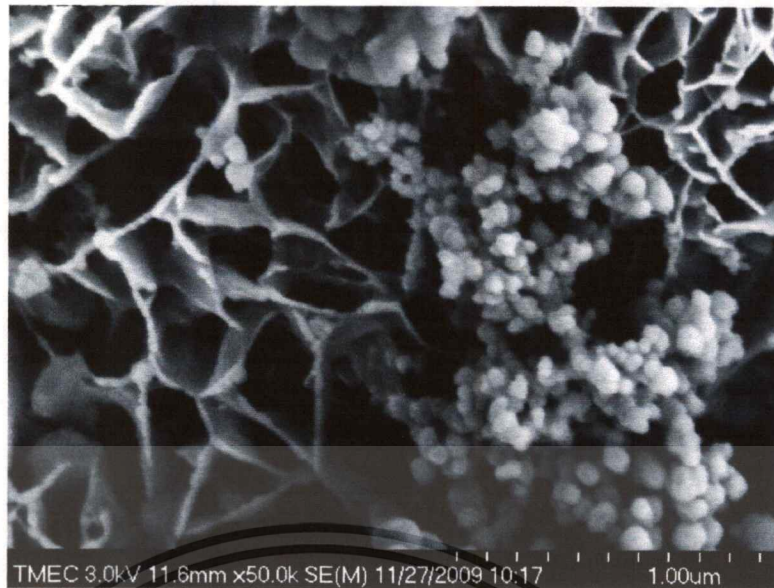


รูปที่ ก.3 ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าหลังจากการล้างจากห้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 100,000 เท่า

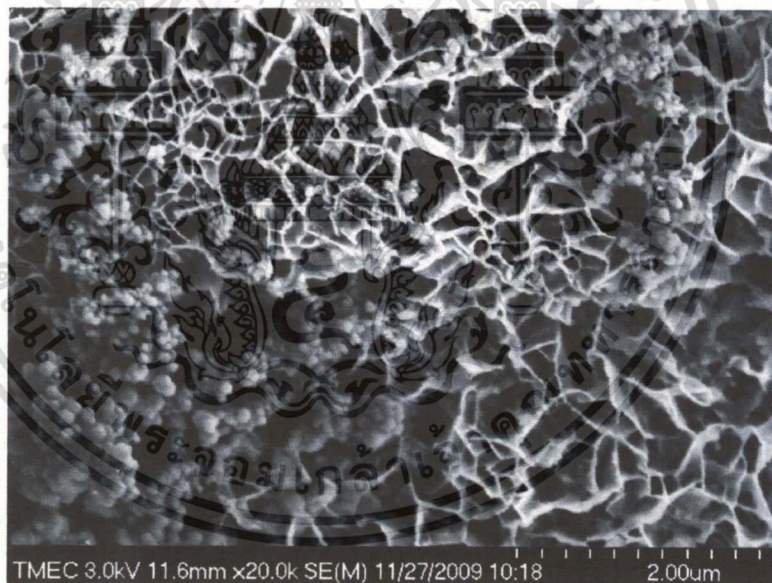


รูปที่ ก.4 ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการเคลือบ ZnO ด้วยศักย์ไฟฟ้า +1 เป็นเวลา 20 นาทีที่กำลังขยาย 20,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

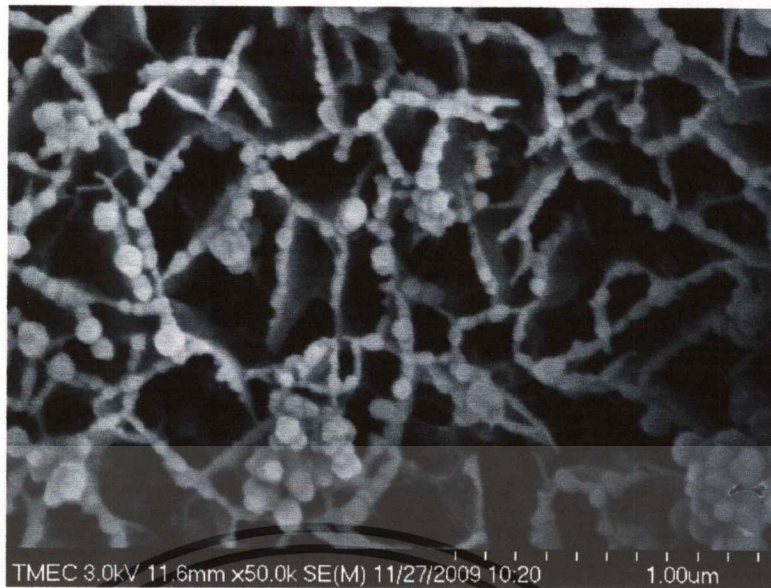


รูปที่ ๓.๕ ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการเคลือบ ZnO ด้วยศักย์ไฟฟ้า +1 โวลต์เป็นเวลา 20 นาทีที่กำลังขยาย 50,000 เท่า



รูปที่ ๓.๖ ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการเคลือบ ZnO ด้วยศักย์ไฟฟ้า +1 โวลต์เป็นเวลา 20 นาทีที่กำลังขยาย 20,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

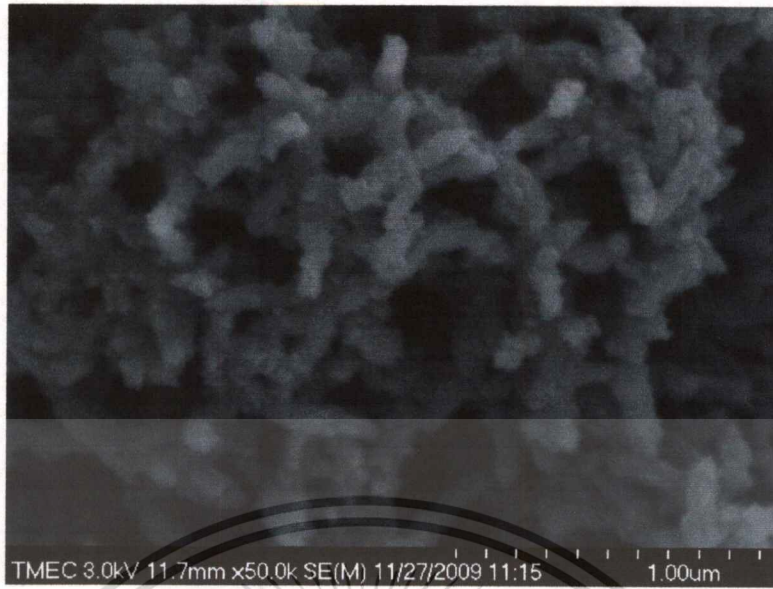


รูปที่ ค.7 ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการเคลือบ ZnO ด้วยศักย์ไฟฟ้า +1 โวลต์เป็นเวลา 20 นาทีที่กำลังขยาย 50,000 เท่า

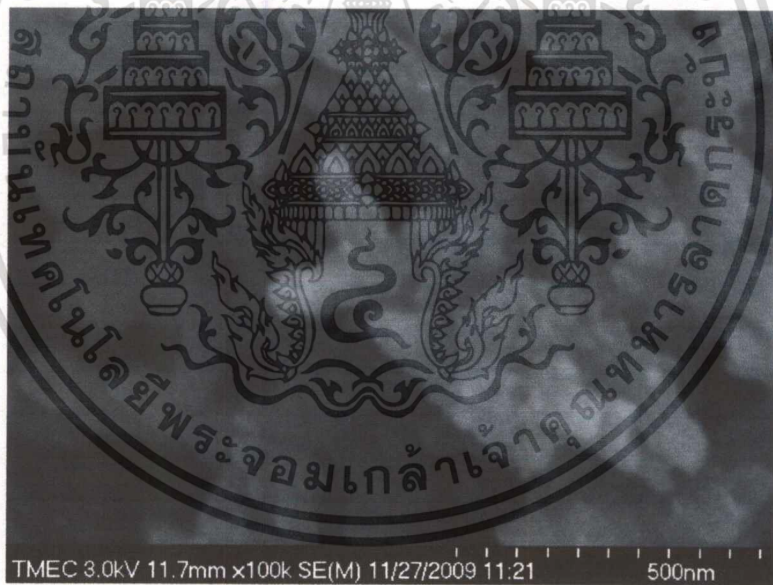


รูปที่ ค.8 ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ทำการเคลือบ ZnO ด้วยศักย์ไฟฟ้า +1 โวลต์เป็นเวลา 20 นาทีที่กำลังขยาย 100,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

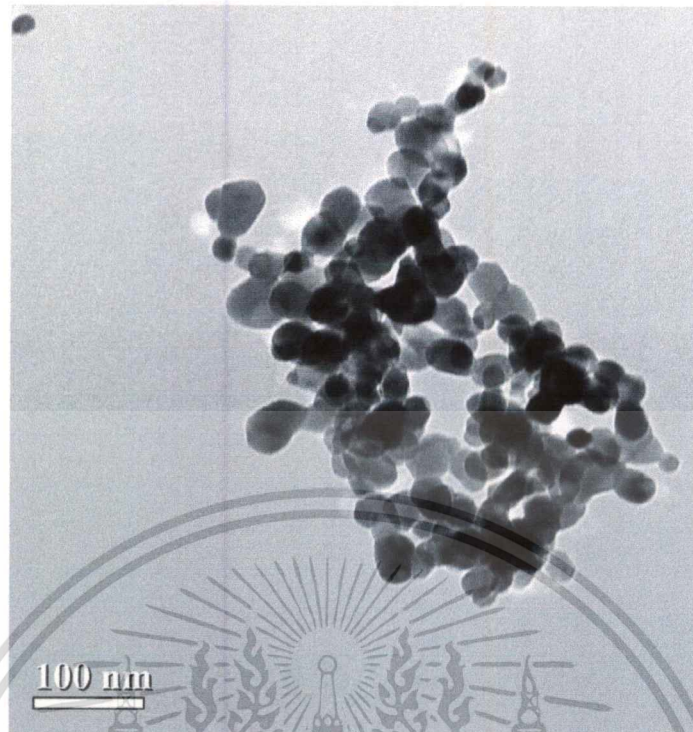


รูปที่ ค.9 ภาพแสดงลักษณะลวดนาโน โพลีอะนิตินเพิ่มเติมที่กำลังขยาย 50,000 เท่า

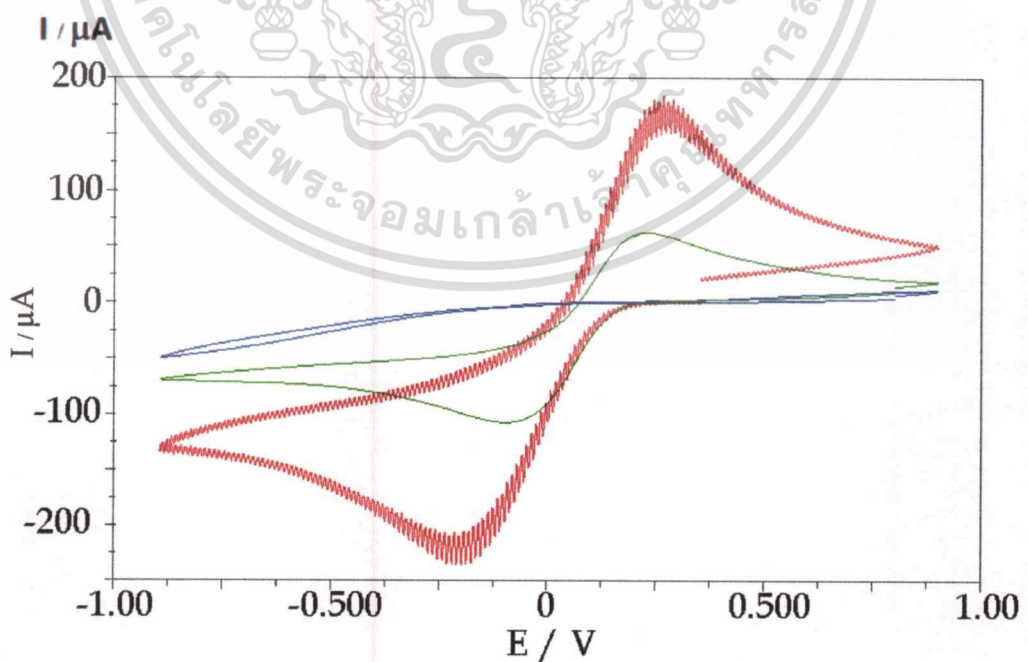


รูปที่ ค.10 ภาพแสดงลักษณะลวดนาโน โพลีอะนิตินเพิ่มเติมที่กำลังขยาย 100,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



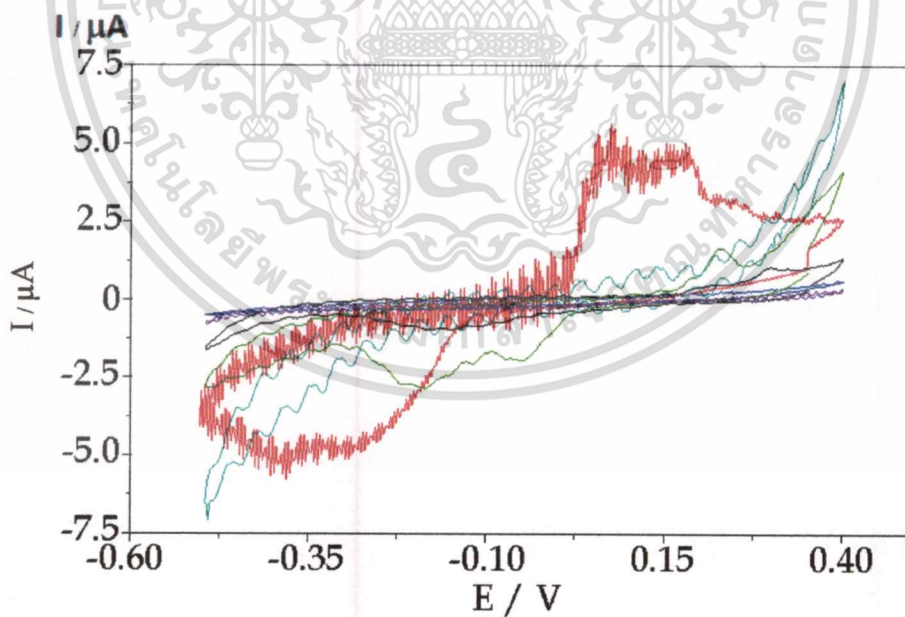
รูปที่ ค.11 ภาพแสดงลักษณะอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ใช้ในงานวิจัย ZoNoP® Zinc Oxide Nano Particles จากบริษัทนาโนเมททีเรียลส์เทคโนโลยีจำกัด (Thailand)



เอกสารรูปที่ ค.12 ไซคลิกโวลต์แอมเพอแกรมแสดงเปรียบเทียบข้อมูลไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่า (สีแดง) กับไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase โดยใช้เนฟิออน 2 เปอร์เซ็นต์ ( สีเขียว) และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase โดยใช้เฉพาะสารละลายเอนไซม์ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ค่าความเป็นกรด - ค่าง (pH) 6.8 ปริมาตร 2 ไมโครลิตร โดยไม่ได้ผสมเนฟิออนลงไปด้วย ปิเปตลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงาน ( สีน้ำเงิน )

จากไซคลิกโวลเทมโมแกรมรูปที่ ค.12 ทำการ แสแกนที่อัตราเร็ว 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ในสารละลาย 30 มิลลิโมลาร์  $K_3(Fe(CN)_6)$  1 โมลาร์ KCl ซึ่งจะพบว่า การเคลือบเฉพาะเอนไซม์ horseradish peroxidase หรือเคลือบเอนไซม์ horseradish peroxidase โดยใช้เนฟิออน ทำให้ลดความสามารถในการถ่ายเท อิเล็กตรอน อาจเนื่องมาจากการถ่ายเทอิเล็กตรอนของเอนไซม์เองต้องเกิดผ่านปฏิกิริยาที่ใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และการมีสภาพความต้านทานสูงของตัวเอนไซม์เอง ซึ่งหากทำการลดปริมาณ โทลด์ของเอนไซม์ที่เคลือบอาจจะช่วยให้เกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนดีขึ้นได้เล็กน้อย แต่จะทำให้ลดสัญญาณในการตรวจวัด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ด้วยเช่นกัน



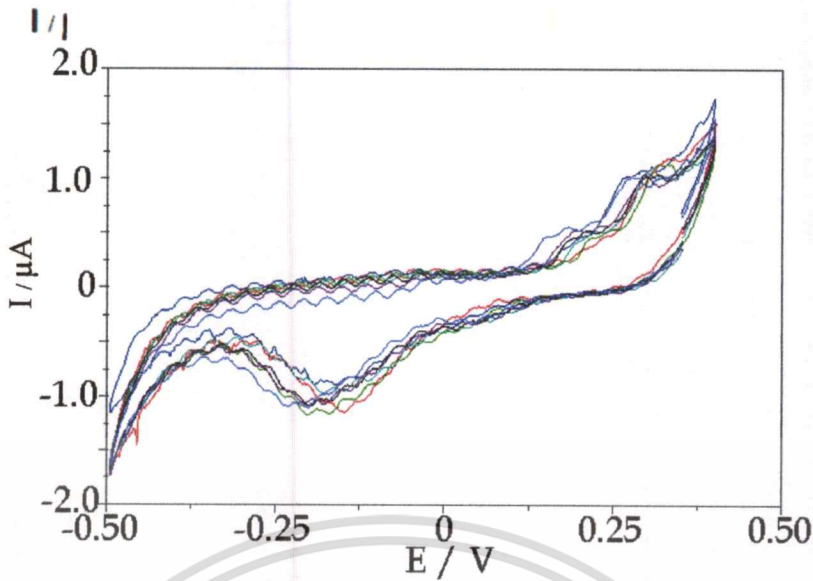
รูปที่ ค.13 ไซคลิกโวลเทมโมแกรมที่ได้จากการวัด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3.33

มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

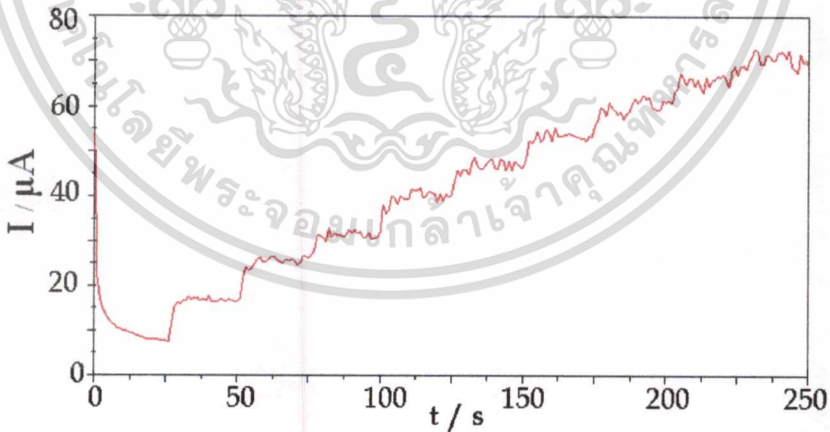
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ด้วยอัตราการสแกน 0.050 โวลต์ต่อวินาที ช่วง -0.50 ถึง 0.40 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase เคลือบอยู่บนอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO / HRP / Naf, สีเขียวเข้ม) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าที่ไม่ได้ปรับแต่ง (Bare, สีแดง), ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase โดยใช้เนฟิออน 2 เปอร์เซนต์ (HRP / Naf, สีเขียวฟ้า), ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีเอนิลีนคอมโพสิตโดยไม่ใช้เนฟิออน (ZnO-PANI composite, สีม่วงเข้ม), ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยซิงค์ออกไซด์โพลีเอนิลีนคอมโพสิตที่เคลือบด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase (ZnO-PANI composite / HRP / Naf, สีม่วงน้ำเงิน) และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase โดยใช้เฉพาะสารละลายเอนไซม์ในฟอสเฟสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.8 ปริมาตร 2 ไมโครลิตร โดยไม่ได้ผสมเนฟิออน ลงไปด้วย ปิเปตลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงาน (Bare electrode, สีดำ)

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยขั้วไฟฟ้าต่างๆ พบว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าให้กระแสที่มากที่สุดแต่มีสัญญาณรบกวน (Noise) จำนวนมาก และเมื่อทำการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นจึงจะให้ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ตอบสนองต่อความเข้มข้นได้

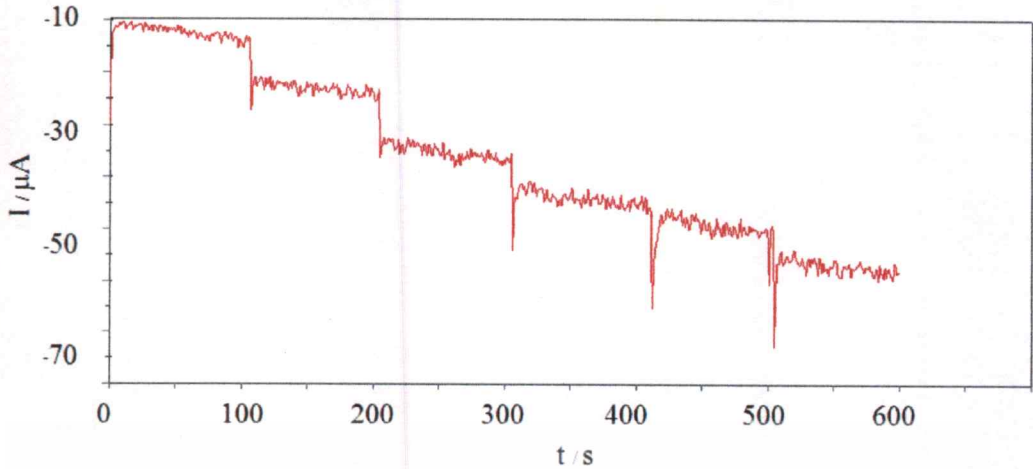


รูปที่ ๑.๑๔ ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับปรุงด้วยซิงค์ออกไซด์ โพลีอะนิลีนคอมโพสิตเคลือบด้วยเอนไซม์ horseradish peroxidase ในการวัดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 10.0, 15.0 มิลลิโมลาร์ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ที่อัตราเร็วการสแกน 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

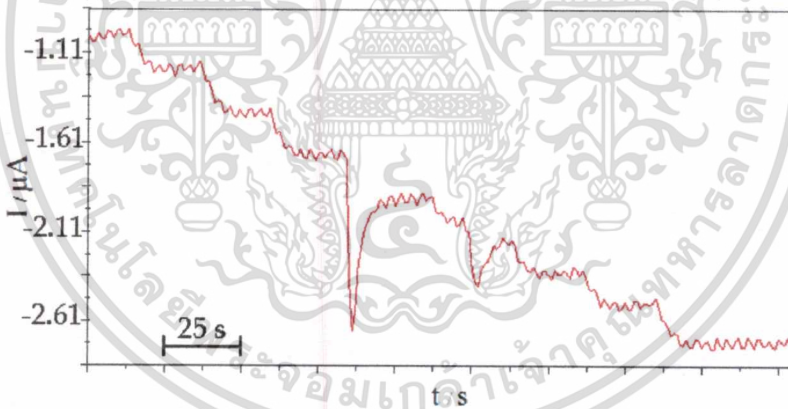


รูปที่ ๑.๑๕ แสดงแอมเพอโรแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล้าในการวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.900 โวลต์โดยทำการเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตรครั้งละ 10 ไมโครลิตรลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร จำนวน 9 ครั้ง และทำการปั่นกวานสารละลายตลอดเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.16 แสดงแอมเพอโรแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเปล่าในการวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.900 โวลต์โดยทำการเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตรครั้งละ 10 ไมโครลิตรลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร จำนวน 5 ครั้ง และทำการปั่นกวสารละลายตลอดเวลา



รูปที่ ค.17 แสดงแอมเพอโรแกรมของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งด้วย ZnO-PANI composite ในการวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.900 โวลต์โดยทำการเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตรครั้งละ 10 ไมโครลิตรลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร จำนวน 8 ครั้งและทำการปั่นกวสารละลายตลอดเวลา

## ภาคผนวก ง.

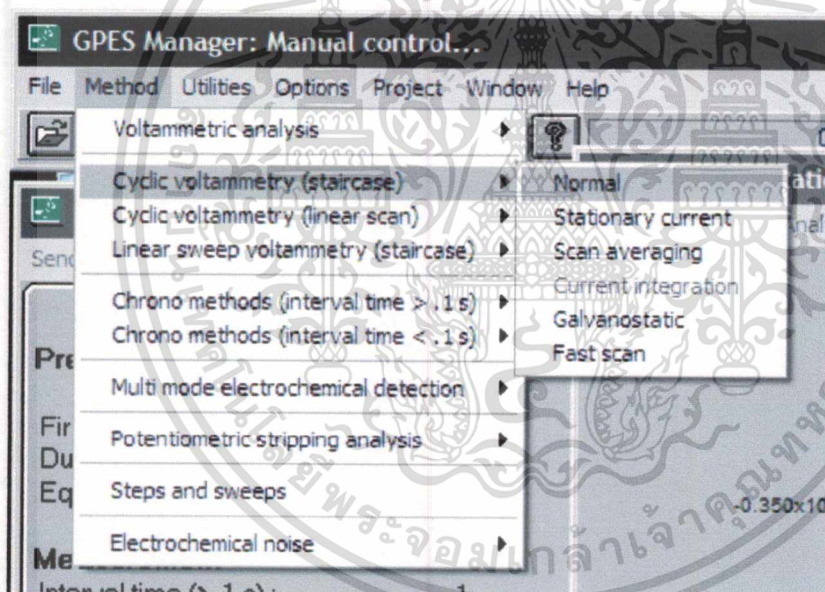
## ขั้นตอนการใช้โปรแกรม GPES

ขั้นตอนการใช้โปรแกรม GPES ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

1. เปิดโปรแกรม GPES ขึ้นมาโดยคลิกเลือกที่ Gpes



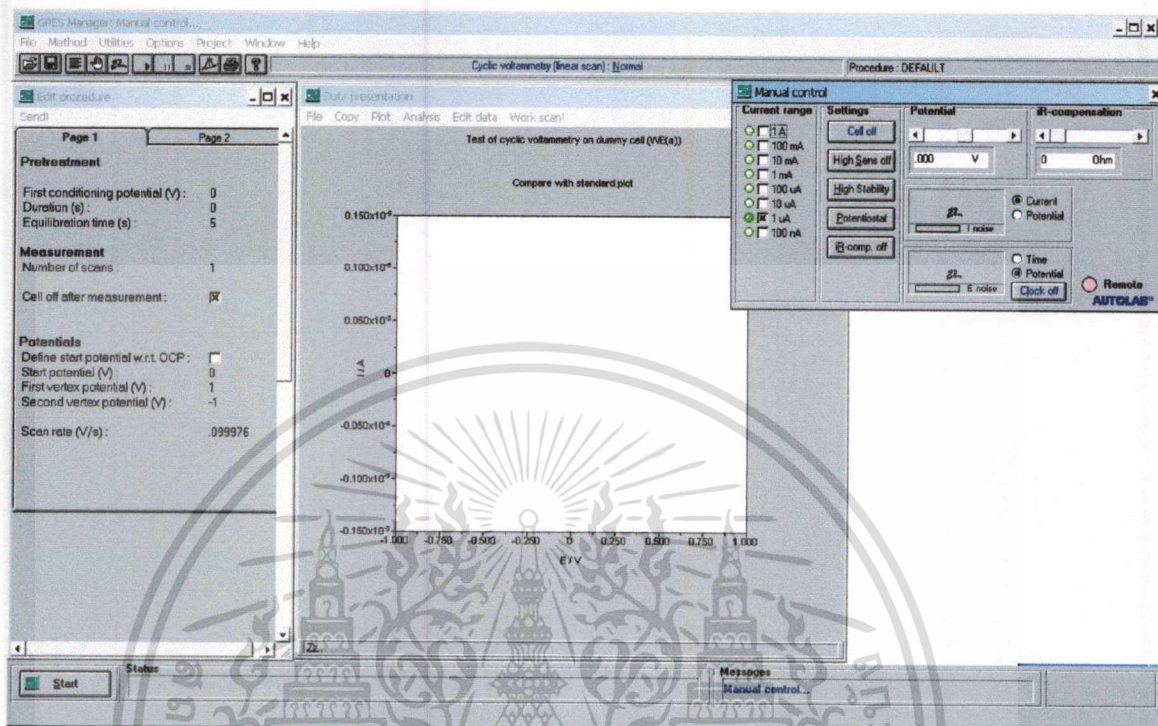
จากนั้นเลือกโหมดที่ต้องการใช้งาน โดยเลือกที่ Method จะปรากฏโหมดต่างๆ ให้เลือกดังรูป



เช่นต้องการใช้งานโหมด Cyclic voltammetry (staircase) ให้เลือกดังภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. จากนั้นหน้าต่างการใช้งานของโปรแกรมจะปรากฏดังนี้



3. จากนั้นกรอกค่าตัวแปรต่างๆตามสถานะที่ต้องการใช้งานลงไปในหน้าต่าง Edit procedure

The screenshot shows the "Edit procedure" window in the AUTOLAB software. The window is divided into two pages, Page 1 and Page 2. The parameters are as follows:

Pretreatment	
First conditioning potential (V) :	0
Duration (s) :	0
Equilibration time (s) :	5
Measurement	
Number of scans :	1
Cell off after measurement :	<input checked="" type="checkbox"/>
Potentials	
Define start potential w.r.t. OCP :	<input type="checkbox"/>
Start potential (V) :	0
First vertex potential (V) :	1
Second vertex potential (V) :	-1
Scan rate (V/s) :	.099976

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าที่จำเป็นที่ต้องตั้งคือ

Start potential (V) คือ ค่าศักย์ไฟฟ้าจุดเริ่มต้นการสแกน

First vertex potential (V) คือ ค่าศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นของช่วงการสแกน

Second vertex potential potential (V) คือ ค่าศักย์ไฟฟ้าสุดท้ายของช่วงการสแกน

Scan rate (V/s) คือ ค่าอัตราเร็วการสแกน

4. เมื่อตั้งค่าครบตามที่ต้องการเรียบร้อยแล้ว จากนั้นก็กด Start เพื่อให้โปรแกรมเริ่มต้นทำงาน



5. หลังจากได้ข้อมูลการวิเคราะห์ที่ต้องการแล้วสามารถนำไปแปลผลโดยใช้โปรแกรมดังตัวอย่างในภาคผนวก ก. เป็นต้น



**ภาคผนวก จ.****เอกสารเพิ่มเติม**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**SIGMA-ALDRICH**

**Certificate of Analysis**

<b>Product Name</b>	Peroxidase from horseradish, Type VI, essentially salt-free, lyophilized powder, 250-330 units/mg solid (using pyrogallol)	
<b>Product Number</b>	P8375	
<b>Product Brand</b>	Sigma	
<b>CAS Number</b>	9003-99-0	
<b>Storage Temp</b>	2-8°C	
<b>TEST</b>	<b>SPECIFICATION</b>	<b>LOT 078K7675 RESULTS</b>
<b>APPEARANCE</b>	RED-BROWN POWDER	RED-BROWN POWDER
<b>SOLUBILITY</b>	CLEAR AMBER-BROWN SOLUTION AT 10 MG/ML OF 0.1 M PHOSPHATE BUFFER, PH6.0	CLEAR BROWN
<b>ENZYMATIC ACTIVITY</b>	250 TO 330 UNITS/MG SOLID	256 UNITS/MG SOLID
<b>UNIT DEFINITION</b>	ONE UNIT WILL FORM 1.0MG PURPUGOGALLIN FROM PYROGALLOL IN 20 SECONDS AT PH6.0 AT 20DEGC.	
<b>RZ</b>	APPROX. 3.0 THE RZ IS DEFINED AS THE RATIO OF THE ABSORBANCE AT 403NM TO THE ABSORBANCE AT 275NM. THIS VALUE IS AN EXPRESSION OF THE RATIO OF HEMIN TO PROTEIN CONTENT.	3.1
<b>RECOMMENDED RETEST</b>	4 YEARS	JULY 2012
<b>QC RELEASE DATE</b>		JULY 2008

Rodney Burbach, Supervisor  
 Analytical Services  
 St. Louis, Missouri USA

## Product Information

**Peroxidase from horseradish**  
Sigma Type VI

Catalog Number **P8375**  
Storage Temperature 2–8 °C

EC 1.11.1.7

QAS RN 9003-99-0

Synonym: Hydrogen peroxide oxidoreductase; HRP

### Product Description

Horseradish peroxidase (HRP) is isolated from horseradish roots (*Amaracia rusticana*) and belongs to the ferroporphyrin group of peroxidases. HRP readily combines with hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and the resultant [HRP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] complex can oxidize a wide variety of hydrogen donors.



Peroxidase will oxidize a variety of substrates (see Table 2): chromogenic, chemiluminescent (luminol and isoluminol), and fluorogenic (tyramine, homovanillic acid, and 4-hydroxyphenyl acetic acid).

HRP is a single chain polypeptide containing four disulfide bridges. It is a glycoprotein containing 18% carbohydrate. The carbohydrate composition consists of galactose, arabinose, xylose, fucose, mannose, mannosamine, and galactosamine, depending upon the specific isozyme.<sup>1</sup>

Total molecular mass:<sup>3</sup> ~44 kDa  
polypeptide chain: 33,890 Da  
hemin plus Ca<sup>2+</sup>: ~700 Da  
carbohydrate: 9,400 Da

Extinction coefficient:<sup>2</sup> E<sup>mM</sup> = 100 (403 nm)

Optimal pH range:<sup>5</sup> 6.0–6.5  
(activity at pH 7.5 is 84% of the maximum) The enzyme is most stable in the pH range of 5.0–9.0.

Isoelectric point:<sup>1</sup> isozymes range from 3.0–9.0  
(At least seven isozymes)

Inhibitors:<sup>4</sup> sodium azide, cyanide, L-cystine, dichromate, ethylenethiourea, hydroxylamine, sulfide, vanadate, *p*-aminobenzoic acid, and Cd<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, and Pb<sup>2+</sup> ions

Horseradish peroxidase is a widely used label for immunoglobulins in many different immunochemistry applications including ELISA, immunoblotting, and immunohistochemistry. HRP can be conjugated to antibodies by several different methods including glutaraldehyde, periodate oxidation, through disulfide bonds, and also via amino and thiol directed cross-linkers. HRP is the most desired label for antibodies, since it is the smallest and most stable of the three most popular enzyme labels (HRP,  $\beta$ -galactosidase, and alkaline phosphatase) and its glycosylation leads to lower non-specific binding.<sup>6</sup> A review of glutaraldehyde and periodate conjugation methods has been published.<sup>7</sup>

Peroxidase is also utilized for the determination of glucose<sup>8</sup> and peroxides<sup>9</sup> in solution.

This product is supplied as an essentially salt free lyophilized powder.

Specific Activity: 250–330 units/mg solid  
(pyrogallol as substrate)

Unit definition (purpurogallin): One unit will form 1 mg of purpurogallin from pyrogallol in 20 seconds at pH 6.0 at 20 °C. This unit is equivalent to ~18  $\mu$ M units per minute at 25 °C.

RZ: ~3.0

RZ (Reinheitzzahl) is the absorbance ratio A<sub>403</sub>/A<sub>275</sub> determined at 0.5–1.0 mg/ml in deionized water. It is a measure of hemin content, not enzymatic activity. Even preparations with high RZ values may have low enzymatic activity.

### Precautions and Disclaimer

This product is for R&D use only, not for drug, household, or other uses. Please consult the Material Safety Data Sheet for information regarding hazards and safe handling practices.

**Table 2.**  
Peroxidase Substrates

Substrate	Catalog Number	Color Reaction	End Product	Applications
2,2'-Azino-bis(3-Ethylbenzthiazoline-6-Sulfonic Acid) (ABTS)	A3219	Green	Soluble	ELISA
	A9941			
<i>o</i> -Phenylenediamine (OPD)	P9187	Orange	Soluble	ELISA
3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB)	T8665	Blue	Soluble	ELISA
	T3405			
	T0565			
<i>o</i> -Dianisidine	D9154	Deep Blue	Insoluble	Blotting
5-Aminosalicylic Acid (5AS)	A6178	Yellow-Orange	Soluble	ELISA
	A6178	Brown	Soluble	ELISA
3,3'-Diaminobenzidine (DAB)	D7304	Brown	Insoluble	Blotting Histochemistry
	D5905			
	D4168			
	D4293			
	D4418			
	D7679			
4-Chloro-1-Naphthol (4C1N)	D0426	Blue-Black	Insoluble	Blotting
	C6788	Blue		
3-Amino-9-Ethylcarbazole (AEC)	AEC101	Red	Insoluble	Blotting
	A6926			
CPS-1	CPS160	Chemiluminescent	Soluble	Blotting
	CPS1120			
	CPS1300			
CPS-3	CPS350	Chemiluminescent	Soluble	Blotting
	CPS3100			
	CPS3500			
QPS-2	CPS260	Chemiluminescent	Soluble	ELISA
	CPS2120			
	CPS2300			

Sigma brand products are sold through Sigma-Aldrich, Inc.

Sigma-Aldrich, Inc. warrants that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product(s) for their particular use. Additional terms and conditions may apply. Please see reverse side of the invoice or packing slip.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### Preparation Instructions

Soluble in water or 0.1 M phosphate buffer, pH 6.0.

### Storage/Stability

Store the product at 2–8 °C. The enzyme remains active for at least 4 years. The product may also be stored at –20 °C, if desired. The lyophilized powder will retain at least 80% of its activity after two weeks at 37 °C.

A 1 mg/ml solution in 0.1 M phosphate buffer, pH 6.0, remains active for at least two weeks at room temperature.

### Related Products

Table 1.

Other Grades of HRP available

Catalog Number	RZ value	Specific Activity
P6782	~3.0	250-330 units/mg solid
P2088	~3.0	200-300 units/mg solid
P8415	>3.0	250-330 units/mg solid
P8125	~1.0	~80 units/mg solid
P8250	~2.0	150-250 units/mg solid
P6140	~3.0	~250 units/mg protein
P1014	~3.0	≥70 units/mg solid

### References

1. Shannon, L.M., et al., *J. Biol. Chem.*, **241**, 2166-2172 (1966).
2. Delincee, H. and Radola, B.J., *Eur. J. Biochemistry*, **52**, 321-330 (1975).
3. Welinder, K.G., *Eur. J. Biochem.*, **96**, 483-502 (1978).
4. Zollner, H., *Handbook of Enzyme Inhibitors*, 2<sup>nd</sup> Ed., Part A: 367-368 (1993).
5. Schomberg, D., Salzmann, M., and Stephan, D., *Enzyme Handbook 7*, EC 1.11.1.7:1-6 (1993).
6. Deshpande, S.S., *Enzyme Immunoassays, From Concept to Product Development*, Chapman and Hall, 169-171 (1996).
7. Harlow, E. and Lane, D., *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 346-348 (1988).
8. Bergmeyer, H.U., et. Al., (1974) *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.U., ed.), 1205-1227.
9. Bernt, E. and Bergmeyer, H.U., (1974) *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.U., ed.), 2246-2248.

RBG,MAM 07/08-1

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายวีรชน ภูหินกอง
วัน เดือน ปี เกิด	9 พฤศจิกายน 2521
ที่อยู่	185 หมู่ 2 ตำบลสระคู อำเภอ สุวรรณภูมิ จังหวัด ร้อยเอ็ด 45130
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี ศึกษาศาสตร์บัณฑิต สาขา การสอนวิทยาศาสตร์ (เคมี) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ประวัติการทำงาน	ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้