

การเพิ่มประสิทธิภาพของกลูโคสไบโอเซนเซอร์
โดยการปรับปรุงชีวไฟฟ้าด้วย Prussian Blue



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเพิ่มประสิทธิภาพของกลูโคสไปโอเซนเซอร์
โดยการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วย Prussian Blue



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 107819
วัน,เดือน,ปี 14 พ.ค. 2553

b. 12211795
i.

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาเคมีอุตสาหกรรม - เครื่องมือวิเคราะห์
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Improvement of Glucose Biosensor by Modifying Electrode
with Prussian Blue**




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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การเพิ่มประสิทธิภาพของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ โดยการปรับปรุงขั้วไฟฟ้า
ด้วย Prussian Blue
โดย นายธีระพงศ์ วัฒนหงษ์ศิริ
นางสาวนภาพร ท่อชู
ภาควิชา เคมี
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา 2549
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

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



(รศ.ดร. ประสงค์ ดวงดี)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	การเพิ่มประสิทธิภาพของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ โดยการปรับปรุง ขั้วไฟฟ้าด้วย Prussian Blue
โดย	นายธีระพงษ์ วัฒนหงษ์ศิริ นางสาวนภาพร ท่อชู
ภาควิชา	เคมี
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2549
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของกลูโคสไบโอเซนเซอร์โดยการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วย Prussian Blue ซึ่งเริ่มจากการนำ Prussian blue มาเคลือบไว้บนโพลีไดเมทิลซิลิกอนและตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส สำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ด้วยเทคนิค Cyclic voltammetry เนื่องจาก Prussian blue เป็นตัวกลางในการส่งผ่านอิเล็กตรอนสามารถตรวจวัดกระแสไฟฟ้าของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากการเกิด Oxidation reaction ระหว่างกลูโคสกับกลูโคสออกซิเดส จากการศึกษาพบว่าสถานะ pH ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์คือ pH 5 ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีอายุการใช้งานมาก 30 ครั้ง มีขีดจำกัดความเข้มข้นตั้งแต่ 1.905 mM ถึง 6.352 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Improvement of Glucose biosensor By modifying electrode with Prussian Blue

Name Mr.Theeraphong Wattanahongsiri
Miss.Napaporn Torchoo

Department Chemistry

Academic Year 2006

ABSTRACT

The voltammetric analysis glucose biosensor base on glucose oxidase so Prussian Blue layer has been developed. Moreover the carbon stick or graphite stick were choose in to consider. According to detect hydrogen peroxide (H_2O_2) which product from oxidation reaction of glucose biosensor. The experimental results show that the optimum detection potential is 0.05 V (versus Ag/AgCl) and the optimum pH is 5.0. Under the selective condition the sensor exhibits excellent sensitivity of working electrode.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะแก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้าซาบซึ้งในความอนุเคราะห์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ. อรุณี กงศักดิ์ไพศาล และ รศ. ดร. เจริญไชย ไชยสิทธิ์ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ายิ่งในการเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะ ตลอดจนช่วยตรวจรายละเอียดต่างๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เป็นไปอย่างถูกต้อง

ขอขอบคุณภาควิชาเคมีและเจ้าหน้าที่ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ตลอดจนผู้มีส่วนเกี่ยวข้องกับทุกคนแห่ง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี เครื่องมือ สถานที่ และแนะนำสิ่งต่างๆ สำหรับการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวที่เคารพรักยิ่ง ที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนต่อผู้วิจัยตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ธีระพงศ์ วัฒนหงษ์ศิริ

นภาพร ท่อชู

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของโรงงานพิเศษ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโรงงานพิเศษ.....	2
1.3 ขอบเขตการศึกษาของโรงงานพิเศษ.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นใน Glucose biosensor.....	4
2.2 ไชคลิกโวลแทมเมทรี (Cyclic voltammetry ; CV)	4
2.3 พัลส์โวลแทมเมทรี (Pulse Voltammetry)	8
2.4 แอมเปอโรเมทรี.....	11
2.5 การแปรผล.....	11
2.6 หลักการของไบโอเซนเซอร์.....	12
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	13
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....	16
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.....	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.1 อุปกรณ์.....	16
3.1.2 สารเคมี.....	16
3.2 การสร้างขั้วไฟฟ้าจากไส้ดินสอด.....	17
3.3 การทดสอบประสิทธิภาพขั้ว.....	17
3.4 วิธีการทดลอง.....	17
3.4.1 การเตรียมขั้วไฟฟ้าที่ตรึงด้วย glucose oxidase	17
3.4.2 การหาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	18
3.4.2.1 การหา pH ที่เหมาะสมในการตรวจวัด.....	18
3.4.2.2 การศึกษาอัตราเร็วในการสแกน.....	18
3.4.3 การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้าที่ตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส.....	18
3.4.3.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นของกลูโคสที่เป็นเส้นตรง.....	18
3.4.3.2 การศึกษากระแสพื้น.....	19
3.4.3.3 การศึกษาสภาพไวของขั้ว.....	19
3.4.3.4 การศึกษาขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์กลูโคส.....	19
3.4.3.5 การศึกษาความเที่ยง.....	19
3.4.3.6 การหาอายุการใช้งานของขั้ว.....	19
3.4.3.7 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส.....	20
บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล.....	22
4.1 การสร้างขั้วไฟฟ้าจากไส้ดินสอดโดยเพิ่มประสิทธิภาพของขั้วด้วยการเคลือบด้วย Prussian Blue ($Fe^{2+} Fe^{3+}$).....	22
4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด H_2O_2	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.1 ค่า พี-เอช ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	23
4.2.2 อัตราการสแกน.....	25
4.2.3 จำนวนรอบการสแกน.....	27
4.3 การศึกษาสมบัติขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย- Prussian Blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส.....	28
4.3.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นของกลูโคสที่เป็นเส้นตรง.....	28
4.3.2 การศึกษากระแสพื้น.....	29
4.3.3 การศึกษาขีดจำกัดในการตรวจวัดสารละลายกลูโคส.....	29
4.3.4 การศึกษาความเที่ยงของขั้วไฟฟ้า.....	30
4.3.5 อายุการใช้งาน.....	31
4.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในสารตัวอย่าง ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี.....	31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	38
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	38
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	40
เอกสารอ้างอิง.....	41
ภาคผนวก.....	45
ภาคผนวก ก. การตั้งค่าการทำงานของโปรแกรม Auto Lab.....	45
ภาคผนวก ข. การเตรียมสารเคมี.....	51
ภาคผนวก ค. ผลการทดลอง.....	55
ภาคผนวก ง. การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด.....	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก จ. การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส- ในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่.....	65
---	----



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ค.1 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ H_2O_2 1.0 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 5 อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย Prussian blue ตรวจสอบด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	55
ค.2 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ H_2O_2 1.0 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 5 ที่อัตราสแกนต่างๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี	56
ค.3 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ใช้ อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี	57
ค.4 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ตรวจสอบทั้งหมด 30 ครั้ง.....	58
ง.1 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน ค่าความชัน และความเข้มข้นของสารละลาย จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 1 mM สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี	62
ง.2 ลักษณะของกระแสพื้นที่ได้จากการตรวจวัด สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส	63

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
<p>จ.1 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส ในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์) ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....66</p>	66
<p>จ.2 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส ในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ไอ-ไลต์ ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี..... 69</p>	69
<p>จ.3 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส ในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างชนิดผง กลูโคลิน กลูโคส-ดี ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี..... 72</p>	72
<p>จ.4 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส ในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส ด้วยวิธีการเติมสาร มาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี..... 75</p>	75
<p>จ.5 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส ในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง Glucose Injection 50% ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี..... 78</p>	78
<p>จ.6 สรุปผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง.....80</p>	80

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 โวลเทจโปรแกรมของไซคลิกโวลแทมเมทรี	5
2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของปฏิกิริยาผันกลับได้.....	6
3 สัญญาณกระตุ้นแบบต่างๆและโวลแทมโมแกรมที่.....	10
4 การแปรผลข้อมูลจากไซคลิกโวลแทมโมแกรม.....	11
4.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 0.002 M $K_3[Fe(CN)_6]$ ที่อัตราสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue.....	23
4.2 แอมเพโรแกรมของสารมาตรฐาน H_2O_2 เข้มข้น 9.8965 M ที่เติมลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.1 M ที่ pH 3 ถึง pH 8.....	24
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ต่างๆของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M กับกระแสออกซิเดชันที่ได้จากการตรวจวัดสารละลาย H_2O_2 เข้มข้น 0.001 M.....	24
4.4 ไซคลิกโวลแทมโมแกรม ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ที่อัตราการสแกนต่างๆ.....	25
4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชัน ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.15 V กับ อัตราการสแกนของการตรวจวัดสารละลาย H_2O_2	26
4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชัน กับรากที่สอง ของอัตราการสแกนของการตรวจวัดสารละลาย H_2O_2	27
4.7 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงจำนวนรอบการสแกนจากการตรวจวัด H_2O_2	28
4.8 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กลูโคสกับกระแสออกซิเดชัน ใช้อัตราการสแกน 0.05 V/s.....	29
4.9 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ ซี ไออาร์เอส-เอส (8 ออนซ์) ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue.....	32
4.10 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ เครื่องดื่มเกลือแร่ นีโอ-ไลต์ ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue.....	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.11 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ กลูโคลิน กลูโคส-ดี ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue.....	33
4.12 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue.....	33
4.13 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ Glucose Injection 50% ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue.....	34
ก.1- ก.9 การตั้งค่าการทำงานของโปรแกรม Autolab.....	45



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของงานพิเศษ

อุตสาหกรรมต่างๆ จำเป็นต้องใช้เครื่องมือตรวจวัดสถานะและวิเคราะห์สารต่างๆ ในกระบวนการผลิต ทั้งนี้เพื่อให้ทราบว่าจะควบคุมขั้นตอนการผลิตและติดตามข้อมูลและตัวแปรที่เกี่ยวข้องต่างๆ ให้เป็นไปตามที่ต้องการและได้ผลิตภัณฑ์ตามที่ตั้งเป้าได้อย่างไร หรือเพื่อให้ทราบว่าในกระบวนการผลิตต้องดำเนินการแก้ไขสิ่งใดบ้าง ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ที่ทำได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ และลงทุนไม่มาก จึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งในปัจจุบันและอนาคต ไบโอเซนเซอร์ (Ricci, F. and Palleschi, G., 2005). จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะตอบสนองความจำเป็นดังกล่าว นอกเหนือจากวิธีการ และอุปกรณ์เดิมที่มีอยู่ ซึ่งใช้เวลาค่อนข้างมาก ซับซ้อน และราคาสูง

การพัฒนาไบโอเซนเซอร์ในระยะแรก เป็นการศึกษาเกี่ยวกับกลูโคสไบโอเซนเซอร์เพื่อใช้ตรวจวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคส เนื่องจากกลูโคสเป็นสารเคมีที่มีความสำคัญต่อกลไกภายในร่างกายมนุษย์มาก โดยเฉพาะการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Wu, B. al., 2005). ในสมัยก่อนใช้การตรวจวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสในเลือดแบบดั้งเดิม ซึ่งใช้เวลามาก หากคนไข้มีอาการรุนแรงอาจให้การรักษาไม่ทันท่วงที การใช้กลูโคสไบโอเซนเซอร์จะทำให้ทราบผลได้อย่างรวดเร็วและช่วยลดปัญหาดังกล่าว

การประยุกต์ใช้ไบโอเซนเซอร์สามารถนำไปตรวจวิเคราะห์สารต่างๆ ได้มากมาย เช่น การวิเคราะห์หาโปรตีน ไวรัส สารภูมิคุ้มกัน ยาฆ่าแมลง สารระเหย อุลติทรีย์ ฮอร์โมน ฯลฯ ทั้งนี้เพียงอาศัยหลักที่ว่า การตรวจวัดสารตัวอย่างแต่ละชนิดจะใช้ตัวแปลงสัญญาณ และสารทางชีวภาพที่เฉพาะเจาะจงแตกต่างกันไป ซึ่งต้องอาศัยการวิจัย และพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันไบโอเซนเซอร์ได้รับการพัฒนาออกแบบให้มีความเหมาะสม และใช้ในการตรวจวัดสารต่างๆ เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีการตรึงสารชีวภาพ (Serra, B. F. et al., 2005). เทคนิคการปรับปรุงสารชีวภาพ และเทคโนโลยีการผลิตทรานส์ดิวเซอร์ รวมทั้งการพัฒนาไมโครคอมพิวเตอร์ที่มีประสิทธิภาพมาก ทำให้ไบโอเซนเซอร์ได้พัฒนารุดหน้าอย่างรวดเร็ว ในปัจจุบันไบโอเซนเซอร์ได้ถูกนำมาใช้เพื่อตรวจวัดสารต่างๆ ในงานหลัก 3 ประเภท ได้แก่

1. ด้านการแพทย์ การใช้ประโยชน์ไบโอเซนเซอร์ในด้านการแพทย์นี้จัดว่ามีศักยภาพที่มากที่สุด และมีการใช้ไบโอเซนเซอร์อย่างกว้างขวาง และเป็นที่ต้องการของตลาดเป็นอย่างมาก ปัจจุบันการใช้ไบโอเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสในเลือดในระบบของสิ่งมีชีวิต

ที่สามารถติดตามระดับน้ำตาลในเลือดอย่างต่อเนื่องโดยไม่จำเป็นต้องเจาะเลือดคนไข้ (Wu, B. et al., 2005). และที่กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก คือ ไบโอเซนเซอร์ที่ใช้แอนติบอดีเป็นสารชีวภาพในการตรวจวัดความผิดปกติของสารพันธุกรรมในร่างกาย ซึ่งเป็นสัญญาณแรกที่บ่งชี้การเกิดโรค ทำให้การตรวจรักษาโรคต่างๆ ทำได้อย่างทันท่วงทีในระยะต้นของโรค เป็นต้น

2. ด้านอุตสาหกรรม ส่วนใหญ่ไบโอเซนเซอร์มักจะถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมหมัก ซึ่งมีความจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจวัด และควบคุมอัตโนมัติเพื่อติดตามข้อมูลได้อย่างรวดเร็วในระหว่างการผลิต เพื่อให้กระบวนการผลิตดำเนินไปในทิศทางที่ต้องการ และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ การตรวจวัดทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ การตรวจวัดสารปนเปื้อน หรือสารพิษในวัตถุดิบ รวมทั้งสารปรุงแต่งในอาหารด้วย นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาไบโอเซนเซอร์ในอุตสาหกรรมการหมักมักจะถูกนำมาใช้ตรวจวัดชนิด และปริมาณของจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายๆ สปีชีส์ ส่วนการใช้ไบโอเซนเซอร์ในอุตสาหกรรมการหมักมักจะถูกนำมาใช้ตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ เพื่อควบคุมคุณภาพของไวน์ และโยเกิร์ต, การตรวจวัดปริมาณกรดอะมิโน รวมทั้งการควบคุมกระบวนการหมักเอทานอลในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เป็นต้น

3. ด้านสิ่งแวดล้อม การประยุกต์ใช้ในงานด้านสิ่งแวดล้อมมักจะนิยมพัฒนาขึ้นมาใช้งานในภาคสนามได้ มีขนาดเล็ก และสามารถส่งข้อมูลออนไลน์ (on-line) ไปยังระบบข้อมูลกลางได้ด้วยตัวอย่างที่ได้รับการยอมรับ ได้แก่ ไบโอเซนเซอร์ที่ใช้ตรวจวัดปริมาณไนโตรเจน/ไนเตรท ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง (activated sludge) โดยครึ่งเซลล์แบบที่เรียกว่าที่ส่วนหัววัดแล้วปิดผิวหน้าของหัววัดด้วยเยื่อเมมเบรน เมื่อไอออนของไนโตรเจน/ไนเตรทแพร่ผ่านเยื่อเมมเบรน แบบที่เรียกว่าเปลี่ยนไอออนดังกล่าว ให้กลายเป็นไนตรัสออกไซด์ (nitrous oxide) ที่สามารถตรวจวัดทางเคมีได้ นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้ในการตรวจวัดค่าบีโอดี (BOD) ของน้ำ, ตรวจวัดสารพิษที่ปนเปื้อนในสภาพแวดล้อม เช่น สารกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานพิเศษ

1.2.1 ศึกษาการตรวจวัดสารประกอบกลูโคสด้วยกลูโคสไบโอเซนเซอร์ โดยใช้วิธีแอมเพอโรเมทรีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวัด

1.2.2 เพื่อสร้างขั้วไฟฟ้าคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วย Prussian Blue (Ricci, F. and Pallechi, G., 2005). สำหรับการตรวจวัดกลูโคส

1.2.3 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดกลูโคสโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วย Prussian Blue

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.4 ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วย Prussian Blue

1.3 ขอบเขตการศึกษาของโครงการพิเศษ

1.3.1 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบด้วย Glucose sensor

1.3.2 ศึกษาประสิทธิภาพของ Glucose sensor ที่พัฒนาขึ้นมา ตลอดจนขีดจำกัดของการตรวจวัด และอายุการใช้งานของ Glucose sensor

1.3.3 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลในสารตัวอย่างด้วย Glucose sensor ที่พัฒนาขึ้นมา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 นำกลูโคสไบโอเซนเซอร์ไปใช้ตรวจวัดกลูโคสได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

1.4.2 สามารถสร้างขั้วไฟฟ้าใช้งานสำหรับการตรวจวัดกลูโคสได้

1.4.3 สามารถพัฒนาวิธีวิเคราะห์กลูโคสได้ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นใน glucose biosensor (Wu, B. al., 2005; Lu, B.W. and Chen, W.C., 2006; Oh, B. K., 2005; Chen, C. et al., 2007; Brett, C. M. A. et al., 2006; Liu, F. et al., 2007; Liu, G. and Lin, Y., 2006; Chough, S. H. et al., 2006; López, M. S. P. et al., 2006).



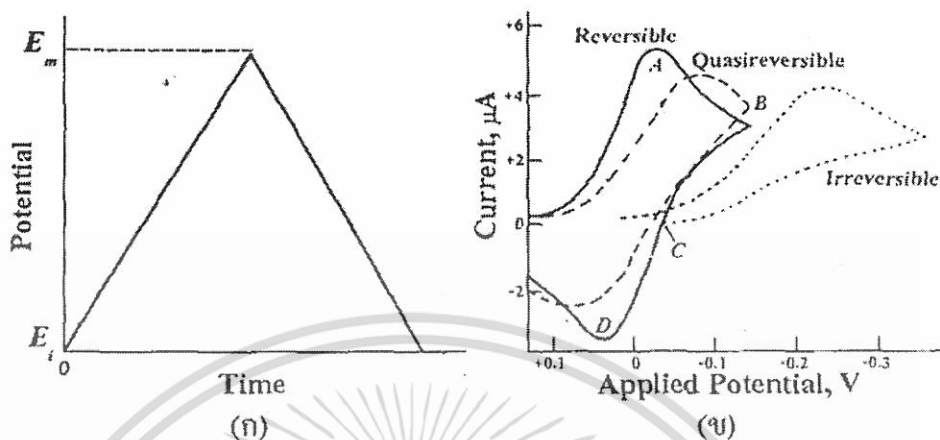
โดยจะวัดกระแสที่เกิดขึ้นจาก hydrogen peroxide ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยา oxidation จากปฏิกิริยาของ enzyme-catalyzes (Serra, B. F. et al., 2005; Liu, G. and Lin, Y., 2006; Mattos, I. L. and Cunha Areias, M. C., 2005; Maalouf, R. et al., 2006).

ดังสมการต่อไปนี้



2.2 ไชคลิกโวลแทมเมตรี (Cyclic voltammetry ; CV)

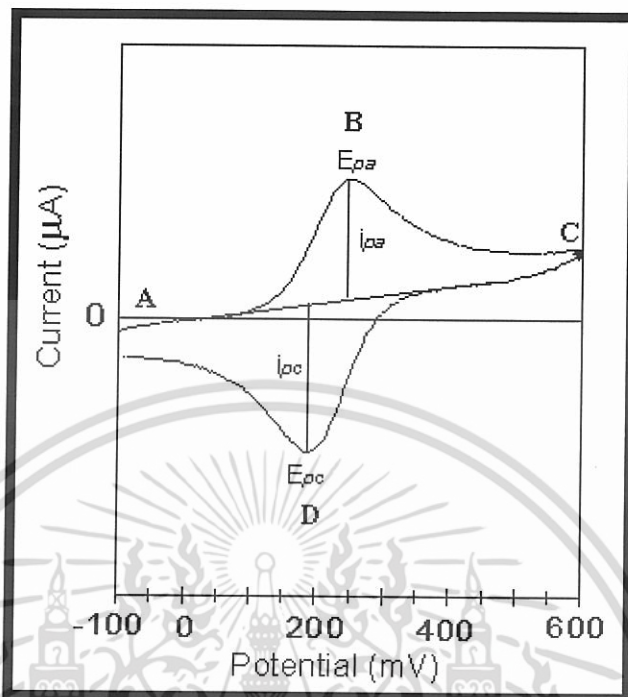
เป็นเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่อาศัยความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับศักย์ไฟฟ้า โดยการให้ศักย์ไฟฟ้าจากภายนอกกับขั้วไฟฟ้าและปราศจากการคนสารละลาย ทำให้เกิดกระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากับตัวรีดอกซ์หรือตัวออกซิไดซ์ในสารละลายเป็นผลให้มีสารละลายเกิดขึ้น



รูปที่ 1 (ก) โวลเทจโปรแกรมของไซคลิกโวลแทมเมทรี (ข) ไซคลิกโวลแทมโมแกรม จากรูปจะเห็นได้ว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นศักย์ไฟฟ้าจะเพิ่มขึ้นจากนั้นจะค่อยๆลดต่ำลงด้วยอัตราเร็วที่เท่ากัน โวลแทมโมแกรมที่ได้มีลักษณะดังรูปที่ 1(ข) เมื่อเริ่มสแกนศักย์ไฟฟ้าก็มีกระแสเกิดขึ้นเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าจนถึงจุดยอดของสามเหลี่ยมก็จะมีกระแสเนื่องจากเกิดปฏิกิริยารีดักชันเกิดขึ้นสูงสุด (กรณีที่ให้ศักย์ไฟฟ้าจากบวกไปลบ) เรียกว่าฟีก เมื่อลดศักย์ไฟฟ้าลงด้วยอัตราเร็วเท่าเดิมกระแสจะค่อยๆลดลงจนถึงต่ำสุดเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาในทิศทางตรงกันข้าม ลักษณะของกระแสที่ได้จะมีฟีกคล้ายกับฟีกแรกแต่มีทิศทางตรงกันข้าม เฉพาะในกรณีที่ปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ (Reversible) แต่จะไม่เกิดฟีกถ้าปฏิกิริยานั้นผันกลับไม่ได้ (Irreversible) ส่วนปฏิกิริยาที่ผันได้ไม่สมบูรณ์ (Quasireversible) จะได้ฟีกที่มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างฟีกของปฏิกิริยาที่ผันกลับได้และปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้

ในการคำนวณที่หาค่ากระแสที่วัดได้จากโวลแทมโมแกรมทำได้โดยหาความสูงของฟีกสามารถแสดงในรูปที่ 2 สามารถหาความสูงได้โดยการลากเบสไลน์ (Baseline) แล้ววัดส่วนสูงที่สุดมาถึงเส้นเบสไลน์ ส่วนกระแสฟีกที่วัดได้ (i_p) คำนวณได้จากสมการของ Randles-Sevick ดังสมการ 1 ซึ่งใช้ปฏิกิริยาที่ผันกลับได้

ส่วนตำแหน่งศักย์ฟีก (E_p) และความสูงของกระแสฟีก (i_p) ของปฏิกิริยา Quasireversible และ Irreversible โดยใช้สมการ 2 และ 3



รูปที่ 2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของปฏิกิริยาผันกลับได้แสดงวิธีการหาความสูงของกระแสฟลักเมื่อ i_{pc} และ E_{pc} คือความสูงของกระแสและตำแหน่งศักย์ฟลักที่เกิดปฏิกิริยารีดักชันตามลำดับ ส่วน i_{pa} และ E_{pa} คือความสูงของกระแสและตำแหน่งศักย์ฟลักที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันตามลำดับ

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

เมื่อ i_p คือ การแสฟลัก (A)

n คือ จำนวนอิเล็กตรอนในปฏิกิริยา

C คือ ความเข้มข้นของสารในสารละลายบัลค์ (mol/cm^3)

D คือ สัมประสิทธิ์การแพร่ของสาร (cm^2/s)

V คือ อัตราการสแกน (V/s)

A คือ พื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (cm^2)

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha n_a F} \left[0.78 - \ln \frac{k^0}{D^{1/2}} + \ln \left(\frac{\alpha n_a F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ α คือ สัมประสิทธิ์ในการแลกเปลี่ยนประจุ
 n_e คือ จำนวนอิเล็กตรอนในการแลกเปลี่ยนประจุ
 k^0 คือ ค่าคงที่อัตรามาตรฐาน

$$i_p = 2.99 \times 10^5 n (\alpha n_e)^{1/2} ACD^{1/2} \nu^{1/2} \quad (3)$$

เมื่อนำค่า i_p มาเขียนพลอตกับค่า $\nu^{1/2}$ ถ้าได้กราฟที่เป็นเส้นตรงแสดงว่ากระบวนการนี้เป็นแบบ Diffusion-control คือกระแสที่ได้จากปฏิกิริยาเป็นกระแสที่ถูกควบคุมโดยการแพร่หมายความว่าปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเกิดขึ้นได้เร็วจนไม่ได้เป็นขั้นกำหนดปฏิกิริยาแต่ไอออนโมเลกุลหรืออนุภาคของ Electroactive species เคลื่อนที่จากชั้นสารละลายบัลค์ (Bulk solution) โดยการแพร่เข้าสู่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้เร็วกว่าการเกิดปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากระแสที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยจึงขึ้นอยู่กับ การแพร่เข้ามาของ ไอออนโมเลกุลหรืออนุภาคของ Electroactive species ดังกล่าว ดังนั้นจึงเรียกปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นว่าเป็นแบบ Diffusion-control

ในกรณีที่มีการเกิดสารผลิตภัณฑ์หรือมี Electroactive species ติดอยู่ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า กระแสฟลักที่เกิดขึ้นสามารถหาได้จากสมการ 4

$$i_p = \frac{n^2 F^2 A \Gamma \nu}{4RT} \quad (4)$$

เมื่อ i_p คือ การแสฟลัก (A)
 Γ คือ ปริมาณฟิล์มเชิงเส้นพื้นที่ผิว (mol/cm^2)

เมื่อนำ i_p มาพลอตกราฟกับค่า ν ถ้าได้กราฟที่เป็นเส้นตรงแสดงว่ากระบวนการเป็นแบบ Surface-control หมายความว่า ปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเกิดขึ้นเป็นขั้นกำหนดความเร็วของปฏิกิริยาเพราะว่าไอออน โมเลกุลหรืออนุภาคของ Electroactive species ที่เคลื่อนที่ได้เร็วพอๆ กับการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้างั้น กระแสที่เกิดขึ้นจึงถูกควบคุมโดยความเร็วของปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าจึงเรียกปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นว่าเป็นแบบ Surface-control

การแยกฟลักว่าเป็นปฏิกิริยาแบบ Diffusion-control หรือว่าเป็นปฏิกิริยาแบบ Surface-control ทำได้โดยการพลอตกราฟระหว่าง $\log i_p$ กับ $\log \nu$ ซึ่งจะได้กราฟที่เป็นเส้นตรงแล้วพิจารณาจากความชันของเส้นกราฟ ถ้าเส้นกราฟมีความชันเท่ากับ 0.5 แสดงว่าปฏิกิริยาเป็นแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Diffusion-control และถ้าเส้นกราฟมีความชันเป็น 1 แสดงว่าปฏิกิริยาเป็นแบบ Surface-control ถ้ากราฟมีความชันเท่ากับ 1 ที่อัตราการสแกนต่ำและมีความชันเท่ากับ 0.5 ที่อัตราการสแกนสูง หมายความว่าปฏิกิริยาเป็นแบบผสมระหว่าง Surface-control กับ Diffusion-control

2.3 พัลส์โวลแทมเมทรี (Pulse Voltammetry)

พัลส์โวลแทมเมทรีเป็นเทคนิคหนึ่งของเทคนิคโวลแทมเมทรี ซึ่งถูกพัฒนาขึ้นในช่วง ค.ศ. 1950 โดยการปรับปรุงด้านสัญญาณกระตุ้นจากลิเนียร์สแกนในเทคนิคโพลาร์โกราฟีซึ่งมีข้อเสียคือใช้เวลาในการวิเคราะห์ค่อนข้างนาน การจัดตั้งเครื่องมือไม่ค่อยสะดวกและมีขีดความสามารถในการวิเคราะห์ต่ำ เมื่อเทียบกับเทคนิคการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี จึงมีการพัฒนาสัญญาณกระตุ้นจากเดิมซึ่งเป็นการเพิ่มศักย์ให้กึ่งวงจรไปเรื่อยๆจนเสร็จสิ้นการวิเคราะห์ (ลิเนียร์สแกน) มาเป็นแบบการให้สัญญาณกระตุ้นเป็นช่วงสั้นๆเรียกว่า พัลส์ ร่วมกับการพัฒนาขั้วไฟฟ้าจุลภาค ซึ่งต่อมาการใช้ขั้วไฟฟ้าอื่นๆแทนขั้วไฟฟ้าหยดปรอท เกิดเป็นเทคนิควิธีต่างๆในพัลส์โวลแทมเมทรี

สัญญาณกระตุ้นแบบพัลส์

การให้ศักย์กึ่งวงจรหรือขั้วไฟฟ้าหยดปรอทเป็นช่วงสั้นๆ(พัลส์) ทำได้ 3 ลักษณะ

1. พัลส์ปกติทั่วไป (Normal pulse)

เป็นการให้ศักย์กับขั้วไฟฟ้าในเวลาสั้นๆ โดยศักย์ที่ให้นี้มีขนาดเพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรงกับเวลาดังรูปที่ 3(ก) ในกรณีขั้วไฟฟ้าหยดปรอทจะให้ศักย์กับขั้วไฟฟ้านานประมาณ 40-60 ms ต่อทุกหนึ่งหยดของหยดปรอท (2 s/drop) โดยศักย์ที่ให้นี้มีขนาดเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงกับเวลา (ทั่วไปประมาณ 2 mV/s) และวัดค่ากระแสของหยดปรอทที่ครึ่งหลังของทุกช่วงศักย์ที่ให้ (ประมาณ 20-30 ms ของพัลส์) ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่หยดปรอทใกล้จะหยดออกจากปลายหลอดแก้ว

2. ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ (Differential pulse)

สัญญาณกระตุ้นแบบดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์เป็นการเพิ่มศักย์ที่คงที่ในลักษณะของพัลส์ให้กับขั้วไฟฟ้าที่มีการให้ศักย์ในแบบลิเนียร์สแกนอยู่แล้วดังแสดงในรูปที่ 3(ข) ฐานของแต่ละพัลส์เป็นเส้นศักย์ที่ปกติของวงจรซึ่งค่อยๆเพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรง ส่วนของศักย์ที่อยู่สูงพื้นฐานคือพัลส์แต่ละพัลส์ซึ่งเกิดจากการเพิ่มศักย์ขนาดคงที่แก่วงจรในช่วงเวลาสั้นๆ ในกรณีขั้วไฟฟ้าหยดปรอทจะมีการเพิ่มศักย์อย่างเป็นเส้นตรงในอัตรา 5 mV/sและมีการให้ศักย์ในรูปแบบพัลส์โดยเพิ่มศักย์ขนาดคงที่ระหว่าง 20 -100 mV แก่วงจรในช่วงเวลาสั้นๆประมาณ 60 ms ก่อนหยดปรอทหยดหลุดจากปลายหลอด (1-2 s/drop) กระแสจะถูกวัด 2 ครั้งต่อ 1 หยดปรอทครั้งแรกที่ประมาณ 20 ms

ก่อนการเพิ่มศักย์แต่ละพัลส์ครั้งที่ 2 ประมาณ 20 ms ก่อนสิ้นสุดแต่ละพัลส์นั้นค่าผลต่างของกระแสที่วัดได้ถูกบันทึกตามการเพิ่มศักย์ของวงจร

การให้สัญญาณกระตุ้นในลักษณะของพัลส์นั้นทั้งแบบพัลส์ปกติและคิฟเฟอร์เรนเซียลพัลส์สามารถเพิ่มขีดความสามารถในการวิเคราะห์สารได้เนื่องจากให้ศักย์กับวงจรในช่วงสั้นๆเป็นการเร่งการเกิดกระแสฟาราเดอิก ในรูปกระแสจำกัด ขณะเดียวกันเป็นการลดการตกค้างซึ่งเป็นกระแสนอนฟาราเดอิก ในกรณีของขั้วไฟฟ้าหยดปรอททอริบายได้ดังนี้ การเพิ่มศักย์ให้กับวงจรในช่วงสั้นๆระหว่างอายุแต่ละหยดปรอทเป็นเหมือนการกระตุ้นให้ชั้นของสารละลายที่ถูกควบคุมด้วยการแพร่ซึ่งเป็นชั้นระหว่างผิวหน้าหยดปรอทกับสารตัวอย่างมีความหนาแน่นน้อยมากๆทำให้การแพร่ของสารตัวอย่างสู่ผิวหน้าหยดปรอทเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเป็นไปอย่างรวดเร็ว การเกิดของกระแสจำกัดซึ่งเป็นผลของปฏิกิริยาซึ่งเกิดขึ้นได้รวดเร็วเช่นกัน และเป็นการวัดค่ากระแสก่อนปรอทหยดจากปลายหลอดซึ่งเป็นช่วงที่ปรอทมีพื้นที่ผิวมากที่สุด กระแสขณะนั้นจึงมีค่าสูงสุดผลของการเกิดกระแสอย่างรวดเร็วและการวัดกระแสสูงสุดทำให้กระแสจากสัญญาณกระตุ้นแบบพัลส์มีค่าสูงกว่าสัญญาณกระตุ้นแบบลิเนียร์สแกนหลายเท่าตัว เมื่อให้ศักย์ในรูปของพัลส์กับวงจรหรือขั้วไฟฟ้าทำให้เกิดกระแสตกค้างซึ่งเป็นกระแสนอนฟาราเดอิกเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน แต่กระแสนี้จะลดลงอย่างเอกโพเนนเชียลตามเวลาจนมีค่าเกือบเป็นศูนย์เมื่อหยดปรอทใกล้หลุดจากปลายหลอด ดังนั้นการวัดกระแสในช่วงเวลานี้ของในแต่ละหยดปรอททำให้ได้รับผลจากกระแสตกค้างน้อยที่สุดนั่นคือผลของการใช้สัญญาณในลักษณะของพัลส์เพิ่มขีดความสามารถในการวิเคราะห์ได้มากกว่าการทำโพลารोगราฟีแบบคลาสสิกมาก

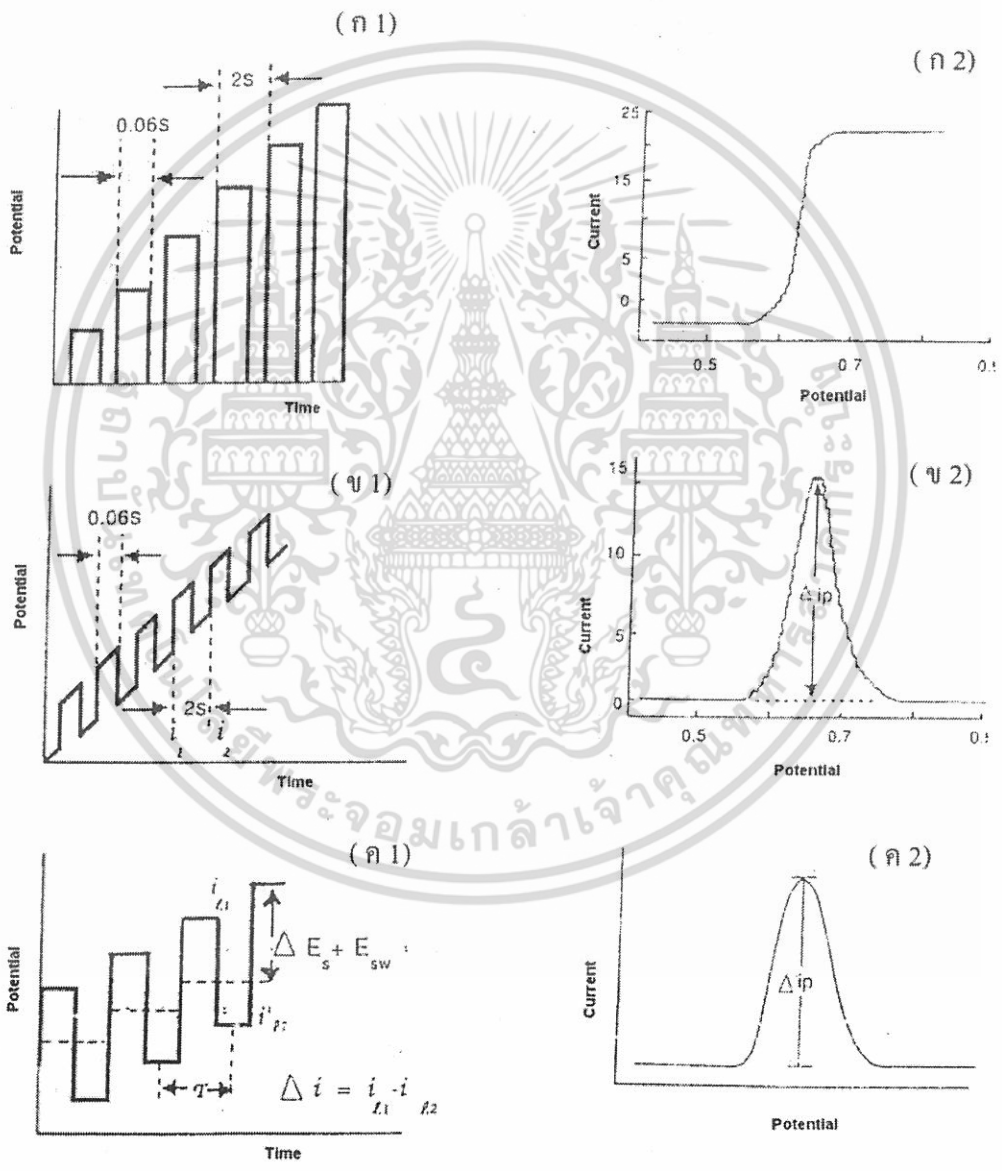
3. สแควร์-เวฟ (Square-wave)

เป็นสัญญาณกระตุ้นที่ให้กับวงจรเป็นช่วงสั้นๆในรูปแบบขั้นบันไดดังแสดงในรูปที่ 3(ค) ในกรณีขั้วไฟฟ้าหยดปรอทการวิเคราะห์ตัวอย่างทำได้ภายในเวลาของการหยดปรอท 1 หยดในการทำหน้าที่เป็นขั้วไฟฟ้าโดยทั่วไปของการหยด 1 หยดของปรอทถูกปรับให้หนาขึ้น (ประมาณ 5 s หรือมากกว่า) สัญญาณกระตุ้น 2 รูปแบบถูกให้กับวงจรพร้อมๆกันในช่วงเวลาครึ่งหลังของอายุหยดปรอท ศักย์ถูกเพิ่มให้กับวงจรครั้งละ $10 \text{ mV} (\Delta E_s)$ ทุก $5 \text{ ms} (\tau)$ ในช่วงศักย์ 1 V ซึ่งกินเวลา 0.50 s ศักย์ที่มีลักษณะเป็นขั้นบันไดดังเส้นประในรูปที่ 3(ค) ขณะเดียวกันศักย์ในลักษณะของสแควร์-เวฟ (E_{sw}) ถูกให้กับวงจรในความเร็วประมาณ 200 Hz (โดยทั่วไปอาจใช้ความเร็วระหว่าง $100-1000 \text{ Hz}$) ด้วยขนาดศักย์ประมาณ 50 mV ในเวลา $5 \text{ ms} (\tau)$ เท่ากับ 1 ขั้นบันไดศักย์ในรูปแบบสแควร์-เวฟนี้ซ่อนอยู่ในศักย์ขั้นบันไดทำให้ผลลัพธ์ของพัลส์เป็นสแควร์-เวฟที่ชันขึ้นตามแต่ละขั้นบันไดของศักย์นั้น ขนาดของศักย์ที่ให้กับวงจรนี้เพียงพอที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่างที่ผิวหน้าหยดปรอทได้กระแสถูกวัดค่า 2 ครั้งต่อ 1 สแควร์-เวฟ คือที่จุดสิ้นสุดของสแควร์-เวฟเป็น $i_{1,1}$ และที่จุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนเกิดเวฟพัลส์ใหม่เป็น $i_{1,2}$ ผลต่างของกระแส ($\Delta i_p = i_{1,1} - i_{1,2}$) ถูกบันทึกพร้อมกับศักย์เคลื่อนที่ให้กับแต่ละพัลส์ที่วัดค่า ข้อมูลทั้งหมดได้จากเสี้ยวอายุของหยดปรอทเท่านั้น

พัลส์ทั้งสามลักษณะที่กล่าวมานี้ใช้ได้กับขั้วไฟฟ้าหยดปรอทและเรียกเทคนิควิธีวิเคราะห์นี้ว่าพัลส์โพลารोगราฟี ในกรณีที่ประยุกต์ใช้กับขั้วไฟฟ้าแบบอื่นๆเช่น ขั้วไฟฟ้าจุลภาคที่เป็นโลหะหรือของแข็งอื่นๆเรียกว่า พัลส์โวลแทมเมตรี



รูปที่ 3 สัญญาณกระตุ้นแบบต่างๆและ โวลแทมโมแกรมที่ได้ (ก) พัลส์ปกติ (ข) ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ (ค) สแควร์-เวฟ

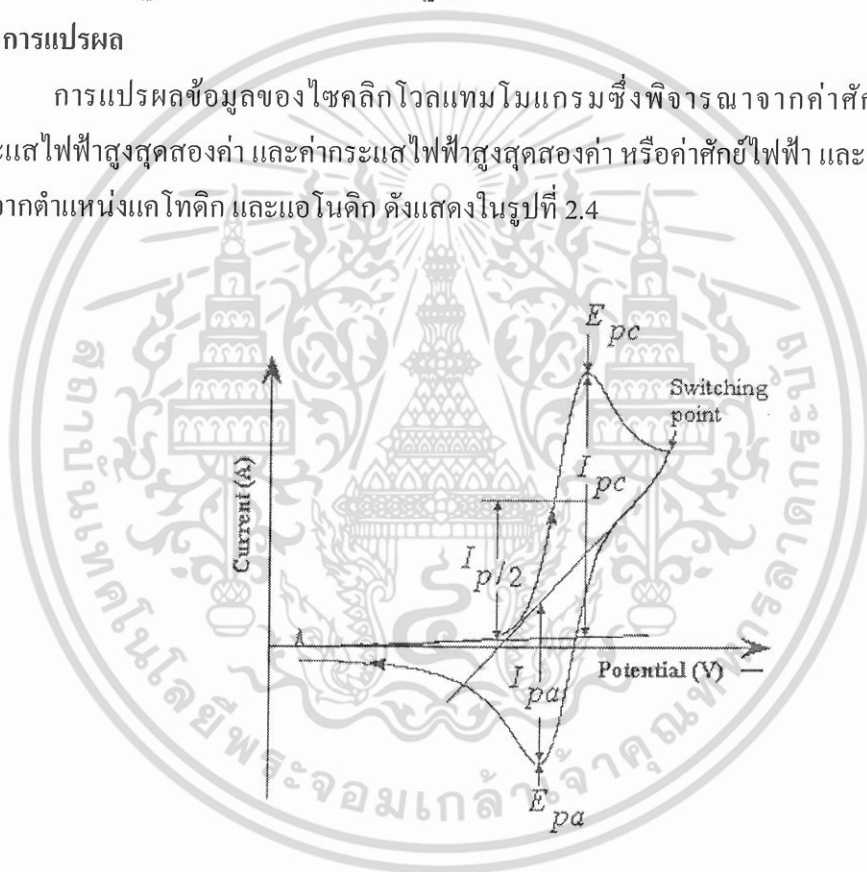
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 แอมเปโรเมทรี (Liu, G. Y. L., 2006).

เป็นเทคนิคที่ประยุกต์หลักการของโวลแทมเมทรี โดยควบคุมศักย์ไฟฟ้าให้คงที่แก่ขั้วไฟฟ้าจุดภาคที่เพียงพอในการทำให้เกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่างที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า แล้ววัดค่ากระแสจำกัด (limiting current) กระแสจำกัดนี้เป็นกระแสที่เกิดภายในเซลล์ถึงแม้ว่าจะเพิ่มศักย์ไฟฟ้าให้แก่เซลล์อีกก็ไม่ทำให้กระแสการแพร่สูงขึ้น กระแสจำกัดนี้จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารที่เกิดปฏิกิริยา ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างสามารถทำได้โดยการสร้างกราฟเทียบมาตรฐานหรือการเติมสารมาตรฐาน

2.5 การแปรผล

การแปรผลข้อมูลของไซคลิกโวลแทมโมแกรมซึ่งพิจารณาจากค่าศักย์ไฟฟ้าที่ทำให้กระแสไฟฟ้าสูงสุดสองค่า และค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดสองค่า หรือค่าศักย์ไฟฟ้า และกระแสไฟฟ้าที่ได้จากตำแหน่งแคโทดิก และแอนโอดิก ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 4 การแปรผลข้อมูลจากไซคลิกโวลแทมโมแกรม

การวัดกระแส i_{pc} และ i_{pa} ที่เกิดขึ้นจากไซคลิกโวลแทมโมแกรมสามารถทำได้โดยต่อเส้นฐาน (Base line) ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาแต่ละชนิด โดยการประมาณค่าแนวโน้มที่เป็นไปได้แล้ววัดระยะระหว่างส่วนยอดของพีคถึงฐาน สำหรับปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ไม่สมบูรณ์ (กราฟเส้นประเข้มในรูป 2.3) และปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ (กราฟเส้นประจางในรูป 2.3) สามารถทำการวิเคราะห์ได้จากการวัดค่ากระแส i_{pc} เท่านั้น เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยามีผลต่อโวลแทมโมแกรมจึงทำให้วิธีการ

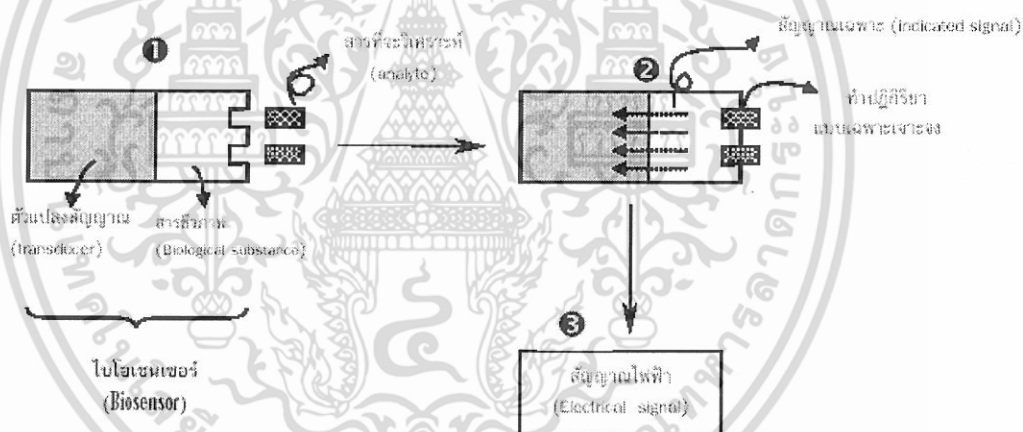
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของไซคลิกโวลแทมเมตริกกลายเป็นเครื่องมือสำคัญในการศึกษากลไกของปฏิกิริยา และอัตราเร็วในกระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในปฏิกิริยาของสารประกอบอินทรีย์

2.6 หลักการของไบโอเซนเซอร์

ไบโอเซนเซอร์เป็นอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลายชนิด โดยรวมแล้ว ประกอบด้วยอุปกรณ์ต่างๆ 2 ส่วน

1. ตัวแปลงสัญญาณ (transducer) เป็นอุปกรณ์สำหรับแปลงสัญญาณเฉพาะต่างๆ เช่น อิเล็กตรอน แสง เป็นสัญญาณไฟฟ้า เพื่อเป็นดัชนีระบุถึงปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์
2. สารชีวภาพ (Biological substance) เป็นสารที่มีความสามารถทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์อย่างจำเพาะเจาะจง



1. ตรึงสารชีวภาพเข้ากับตัวแปลงสัญญาณเพื่อสร้าง ไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์สารที่ต้องการ
2. สารที่ต้องการวิเคราะห์จับกับไบโอเซนเซอร์ที่ตำแหน่งจำเพาะเจาะจงตรงส่วนของสารชีวภาพ ซึ่งเรียกขั้นตอนนี้ว่า กลไกการจดจำทางชีวภาพ (Biological recognition mechanism) จากการเข้าจับกันทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีและมีการถ่ายทอดสัญญาณเฉพาะ ซึ่งอาจเป็น อิเล็กตรอน โพรตอน แสง และอื่นๆ เข้าสู่ตัวแปลงสัญญาณ
3. ตัวแปลงสัญญาณรับ และเปลี่ยนสัญญาณเฉพาะเป็นสัญญาณไฟฟ้าทำให้สามารถอ่านค่าได้ เรียกขั้นตอนนี้ว่า เทคนิคของการรับ และแปลงสัญญาณทางกายภาพ (Physical transduction technique)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประยุกต์ใช้ไบโอเซนเซอร์

จากหลักการข้างต้นสามารถวิจัย เพื่อนำไบโอเซนเซอร์ไปประยุกต์ใช้ตรวจวิเคราะห์สารต่างๆ ได้มากมาย เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส โปรตีน ไวรัส สารภูมิคุ้มกัน ยาฆ่าแมลง สารระเหย จุลินทรีย์ สอร์โอมอน ฯลฯ ทั้งนี้เพียงอาศัยหลักที่ว่า การตรวจวัดสารตัวอย่างแต่ละชนิด จะใช้ตัวแปลงสัญญาณ และสารทางชีวภาพที่เฉพาะเจาะจงแตกต่างกันไป ซึ่งต้องอาศัยการวิจัย และพัฒนาอย่างต่อเนื่อง

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

R. Maalouf (2005) Diamond-like carbon (DLC) electrodes ได้ทำการศึกษาค้นคว้าเพื่อสร้างขั้ว glucose oxidase (GOD) biosensors โดยใช้ขั้ว glassy carbon (GC) เป็นขั้วทำงานโดยสัญญาณที่ได้จากขั้วเอนไซม์ เกิดจากปฏิกิริยา electro-oxidation ให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ออกมา งานวิจัยชิ้นนี้แสดงให้เห็นขีดความสามารถของการวัดกลูโคสด้วยขั้ว GOD/GC ที่ 20 μM จนถึง 50 μM ความว่องไวของขั้ว GOD/GC เมื่อผ่านไป 8 วัน ความว่องไวจะลดลง 4% และให้ค่าการวัดซ้ำดีสำหรับการวัดในวันเดียวกันที่ทำการทดลอง (Maalouf, R. et al., 2006).

Guodong Liu (2005) ได้ใช้เทคนิค flow injection amperometric ในการศึกษา glucose biosensor โดยใช้ carbon nanotube (CNT) ตรึงด้วย GOx โดยทำการตัดแปลงขั้ว glassy carbon ตรึงด้วย Gox บนประจุลบบริเวณพื้นผิวของ CNT ด้วยเทคนิค flow injection amperometric ซึ่งสามารถตรวจวัดกลูโคสได้ที่ศักย์ไฟฟ้า -100 mV โดย Ag/AgCl เป็นขั้วอ้างอิง ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.05 M pH 7.4 มีช่วงความเป็นเส้นตรง 15 μM ถึง 6 mM และมีขีดจำกัดของการตรวจวัดเป็น 7 μM (Liu, G. Y. L., 2006).

F. Ricci (2005) ได้ใช้ไบโอเซนเซอร์ชนิด oxidase enzyme-based biosensor เพื่อนำไปใช้สำหรับการวิเคราะห์อาหาร โดยการเปลี่ยนแปลงผิวหน้าของขั้ว ด้วย Prussian Blue ซึ่งจะช่วยให้สามารถวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดปฏิกิริยารีดักชันได้ โดยใช้ขั้วอ้างอิงเป็น Ag/AgCl ซึ่งขั้วชนิดนี้สามารถนำไปใช้ร่วมกับเอนไซม์ออกซิเดสได้ โดยจะช่วยกำจัดหรือลดสิ่งรบกวนต่างๆ ได้ งานวิจัยฉบับนี้จะใช้วิเคราะห์หาปริมาณ กลูโคส, แลคเตด, คลอเรสเตอรอล และกาแลคโทสไบโอเซนเซอร์ โดยใช้พื้นฐานของ Prussian Blue ได้ ซึ่งได้ผลคล้ายกันกับการวิเคราะห์โดยใช้ choline probe (Ricci, F. and Palleschi, G., 2005).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yuezhong Xian (2005) ได้ใช้ glucose biosensor ที่มีองค์ประกอบพื้นฐานของ Au nanoparticles (NPs)-conductive polyaniline (PANI) nanofibers ทำการตรึงด้วย glucose oxidase (GOx) และ Nafion บริเวณผิวหน้าขั้ว nanocomposite ซึ่งจะอ่องไว และเฉพาะเจาะจงกับกลูโคส โดยวัดจากการเกิดออกซิเดชันในทางเคมีไฟฟ้าของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ glucose biosensor สามารถแสดงผลออกมาเป็นกราฟเส้นตรงในช่วงระหว่าง 1.0×10^{-6} ถึง 8.0×10^{-4} mol/L และค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด ($S/N = 3$) ที่กระแส 2.3 mA/M คือ 5.0×10^{-7} M glucose biosensor จะให้ค่าความเที่ยง ดี (ต่ำกว่า 5% R.S.D.) และมีความเสถียรที่ดีเช่นกัน (มากกว่า 2 อาทิตย์) (Xian, Y. al., 2005).

M. Castellarnau (2006) ได้สร้าง biosensor เพื่อศึกษาขบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียหลังจากการเติมกลูโคสด้วยองค์ประกอบคือ ขั้ว dielectrophoretic, ion-sensitive field-effect-transistors (ISFETs) และ pseudo-reference electrode โดยใช้เทคโนโลยี nMOS silicon ซึ่งในการศึกษาได้พิจารณาถึงการติดตามความสามารถของการเกิดเมแทบอลิซึมในแบคทีเรียหลายชนิดและศึกษาถึงผลของ pH ที่แตกต่างกัน จากการศึกษาพบว่าขั้วที่สร้างขึ้นสามารถศึกษาขบวนการเมแทบอลิซึมในแบคทีเรียได้ดี (Castellarnau, M. et al., 2006).

Sung Hyo Chough (2006) ได้พัฒนา biosensor และตรึงด้วย amyloglucosidase เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาแป้งในพืชที่ได้จาก ข้าว, ข้าวโพด, มันฝรั่ง, มันเทศ, ข้าวสาลี, กัญชง, เกาลัด และ สาเกที่ทำจากมันฝรั่ง เป็นต้น ในพืชเหล่านี้จะประกอบด้วย amylase ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในแป้ง ในการศึกษานี้ได้ใช้ glucose biosensor ในสารละลาย 0.6 M phosphate buffer ที่ pH 6.5 และที่อุณหภูมิ 37 °C หลังจากนั้นก็ให้ความร้อนกับแป้งที่อุณหภูมิ 55 ถึง 60 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ (Chough, S. H. et al., 2006).

Bo-Wen Lu (2006) ได้สร้าง nanoparticles Magnetic Fe_3O_4 (Nano- Fe_3O_4) ซึ่งเตรียมโดยวิธีการตกตะกอนและการถ่ายเท glucose biosensor โดยหยดสารละลายผสม ferricyanide (Ferri)-Nano- Fe_3O_4 ลงบนบริเวณผิวหน้าของ screen-printed carbon electrodes (SPCEs) ลักษณะเฉพาะทางเคมีไฟฟ้าของ SPCEs สามารถวิเคราะห์ได้โดยวิธี cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS) และ chronoamperometry (CA) ผลการศึกษาพบว่า glucose biosensors ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ได้รวดเร็ว (<15 s) และมีความไว (ca. $1.74 \mu\text{A mM}^{-1}$) ด้วยช่วงที่กว้างถึง 33.3 mM (600 mg dL^{-1}) (Lu, B. W. and Chen, W. C., 2006).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

M. Sánchez-Paniagua López (2006) ได้ใช้ glucose amperometric biosensor ที่มี GOx อยู่ในสารละลายซึ่งเตรียมได้จากขบวนการโพลิเมไรเซชันของสารละลายไอออนิก 1-vinyl-3-ethyl-imidazolium bromide ($\text{ViEtIm}^+\text{Br}^-$) โดยอาศัยความเข้มข้นของอิมัลชันที่สามารถกระจายตัวอยู่ใน เอนไซม์ ที่มีอยู่ใน ionic liquid monomer, provides poly($\text{ViEtIm}^+\text{Br}^-$) microparticles นอกจากนี้ การตรึงด้วย GOx จะเกิดปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยน ไอออน ซึ่งสามารถสังเคราะห์ microparticles ของ poly ($\text{ViEtIm}^+(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}^-$) และ poly($\text{ViEtIm}^+\text{BF}_4^-$) โดยใช้วิธี enzyme immobilization ที่สภาวะ pH 4.0 ซึ่งทำให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างซีรัม เช่น ยูริกและกรดแอสคอบิกได้ (López, M. S. P. et al., 2006).



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1. เครื่อง 663 VA Stand Voltammetric analyzer (Metrohm, Herisau, Switzerland) ที่ประกอบด้วย potentiostat (Auto lab PG STAT 20, 2)
2. เครื่องคอมพิวเตอร์แบบตั้งโต๊ะที่มีระบบปฏิบัติการวินโดวส์เอ็กพี และ General Purpose Electrochemical System Software (GPES)
3. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด (Denver Instrument Company)
4. เครื่องอัลตราโซนิก (รุ่น Eltrasonic type 0.7 profi, USA)
5. ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน (Metrohm, Switzerland,)
6. ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl(ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน (Metrohm, Switzerland,)
7. ไม้คินสอ Staedtler รุ่น Mars carbon ความเข้ม 2B
8. กระดาษทราย เบอร์ 0

3.1.2 สารเคมี

1. โปแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต (III) (Analytical grade, Merck)
2. โปแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต (II) (Analytical grade, Carlo Erba)
3. เฟอร์ริกคลอไรด์ (Analytical grade, Carlo Erba)
4. กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น (Analytical grade, Merck)
5. โปแทสเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.1 M (Analytical grade, Merck) ปรับด้วยกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 M เป็น pH 4
6. โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Analytical grade, Carlo Erba)
7. ไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Analytical grade, Carlo Erba)
8. D-Glucose (BDH AnalaR) ความบริสุทธิ์ 98-99 %
9. กลูโคสออกซิเดส (963 U/ml, Fluka)
10. Nafion Solution (ความหนาแน่น 0.87 g/cm³ เข้มข้น 5%, R&D, Fluka, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Laboratory reagent grade Fisher เข้มข้น 9.89563 M, Scientific)

3.2 การสร้างขั้วไฟฟ้าจากไส้ดินสอด

3.2.1 การสร้างขั้วไฟฟ้า

3.2.1.1 นำไส้ดินสอดที่ผูกปลายด้วยลวดทองแดงพันกับเกลียวที่ใช้สำหรับขั้วทำงาน

3.2.1.2 ทำการเคลือบไส้ดินสอดโดยใช้สารละลาย Prussian Blue 25 ml โดยจุ่มขั้วดินสอดให้สารละลายท่วมประมาณ 1 cm สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0 V ถึง +0.5 V อัตราเร็วการสแกน 0.05 V/s พ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที โดยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี ทำการสแกน 2 รอบ

3.2.1.3 ทำให้ขั้วดินสอดเสถียรด้วยสารละลาย KCl เข้มข้น 0.1 M pH 4 สแกนในช่วง -0.2 V ถึง +0.5 V อัตราเร็วการสแกน 0.05 V/s พ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที โดยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี จนกว่าจะได้กราฟมีความเสถียร (เส้นกราฟซ้อนกัน)

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพขั้ว

3.3.1 นำขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue ที่ผูกปลายด้วยลวดทองแดง ไปพันกับเกลียวที่ใช้สำหรับขั้วทำงาน

3.3.2 นำขั้วไฟฟ้าในข้อ 3.3.1 มาทดสอบในสารละลาย $K_3[Fe(CN)_6]$ เข้มข้น 0.002 M ปริมาตร 25 ml สแกนในช่วง -0.75 V ถึง +1.25 V อัตราเร็วการสแกน 0.05 V/s พ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ทำการสแกน 1 ครั้ง

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมขั้วไฟฟ้าที่ตรึงด้วย glucose oxidase

นำขั้วไฟฟ้าจาก 3.2.1.3 มาจุ่มลงใน nafion เข้มข้น 0.1 % จุ่มลงในสารละลายสูงประมาณ 1 cm เป็นเวลา 60 วินาที ปลอ่ยให้แห้ง (ประมาณ 10 นาที) หลังจากนั้นนำขั้วไฟฟ้าที่ได้จุ่มลงใน glucose oxidase เข้มข้น 125 U/ml (ในสารละลายโซเดียมอะซิเตต pH 4.0 เข้มข้น 0.1 M) เป็นเวลา 60 วินาที แล้วปลอ่ยให้แห้ง (ประมาณ 10 นาที)

3.4.2 การหาสถานะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue (ข้อ 3.2.1)

3.4.2.1 การหา pH ที่เหมาะสมในการตรวจวัด

ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue (ข้อ 3.2.1) ทำการวัดกระแสไฟฟ้าของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี กำหนดศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 1 V โดยพ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 หลังจากนั้นกวนสารละลายด้วยเครื่องปั่นกวน ความเร็วรอบ 2000 รอบต่อนาที เติมสารละลาย H_2O_2 เข้มข้น 0.001 M ครั้งละ 25 μ l ทุกๆ 100 วินาที ใช้เวลาในการวัดทั้งสิ้น 1000 วินาที

3.4.2.2 การศึกษาอัตราเร็วในการสแกน

ทำการวัด H_2O_2 เข้มข้น 0.001 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 4.3.2.1 โดยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V อัตราเร็วการสแกน 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 และ 0.75 V/s พ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง

3.4.2.3 การศึกษา scan number

ทำการวัด H_2O_2 ความเข้มข้น 1.0 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ที่ pH ที่เหมาะสม สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V โดยใช้อัตราเร็วในการสแกนที่เหมาะสม พ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที เปลี่ยนค่า scan number ไปเรื่อยๆ ตั้งแต่ 1, 5, 10, 15 ไปจนค่ากระแสลดลงครึ่งหนึ่งของครั้งแรก

3.4.3 การศึกษาสมบัติของขั้วไฟฟ้าที่ตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส

3.4.3.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นของกลูโคสที่เป็นเส้นตรง

ตรวจวัดกลูโคส โดยใช้สถานะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด H_2O_2 มาใช้กับกลูโคส โดยเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M เติมลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม ปริมาตร 25 ml โดยเติมครั้งละ 25 μ l สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -1 V ถึง +1 V โดยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

พลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ของกระแสออกซิเดชัน และความเข้มข้นของกลูโคส เลือกกราฟช่วงที่เป็นเส้นตรง เพื่อเป็นกราฟมาตรฐานของกลูโคสต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3.2 การศึกษากระแสพื้น

ทำการวัดสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ (blank) ในสภาวะที่เหมาะสม อัตราเร็วในการสแกนที่เหมาะสม วัด blank ด้วยขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้ สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V โดยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี วัดค่ากระแสไฟฟ้าพื้นซ้ำ 30 ครั้ง

3.4.3.3 การศึกษาสภาพไวของขั้ว

หาความชันของกราฟการตอบสนองเชิงเส้นที่ได้จากการตรวจวัดในข้อ 3.4.3.1 ความชันที่ได้จากการตอบสนองเชิงเส้นโดยใช้ขั้วทำงานแต่ละชนิดจะมีสภาพไวของขั้วไฟฟ้าชนิดนั้นๆ (ความชันได้จากสัมประสิทธิ์นำหน้าค่าความเข้มข้นในสมการที่ได้จากการพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นกับกระแสที่คจากโปรแกรม Microsoft Excel)

3.4.3.4 การศึกษาขีดจำกัดความเข้มข้นในการวิเคราะห์กลูโคส

ตรวจวัดกระแสพื้นของสารละลาย blank โดยทำการวัดฟอสเฟตบัพเฟอร์ ในสภาวะที่เหมาะสมทั้งหมด 30 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าขีดจำกัดในการวิเคราะห์กลูโคส

3.4.3.5 การศึกษาความเที่ยง

ทำการวัดกลูโคสเข้มข้น 0.001 M ในสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ที่ pH 5 สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V โดยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ทำซ้ำ 30 ครั้ง โดยทุกครั้งี่วัดให้เปลี่ยนขั้วใหม่ทุกครั้ง แล้วหาค่า %RSD (เปอร์เซ็นต์ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์)

3.4.3.6 การหาอายุการใช้งานของขั้ว

นำขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue มาตรวจวัดสารละลายกลูโคสเข้มข้น 0.001 M ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ใช้อัตราสแกนที่เลือกจากข้อ 3.4.2.2 ทำการทดลองซ้ำโดยไม่ต้องทำความสะอาดขั้วหลังการตรวจวัด บันทึกกระแสที่เกิดขึ้นจนกระทั่งกระแสลดต่ำกว่า 50% ของกระแสที่ได้จากการตรวจวัดครั้งแรก จำนวนครั้งที่ตรวจวัดจนทำให้กระแสลดลงเหลือครึ่งหนึ่ง จะเป็นครึ่งชีวิตของขั้วไฟฟ้า

3.4.3.7 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง

3.4.3.7.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์)

ชั่งสารตัวอย่าง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์) 0.5 กรัม ละลายด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M เทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตร 25 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M นำมาตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V ทำการตรวจวัดด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l ทำทั้งหมด 5 ครั้ง

3.4.3.7.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ไอ-ไลต์

ชั่งสารตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ไอ-ไลต์ 0.5 กรัม ละลายด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M เทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตร 25 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M นำมาตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V ทำการตรวจวัดด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l ทำทั้งหมด 5 ครั้ง

3.4.3.7.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต-พลัส

ปิเปตสารตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต-พลัส 1.0 ml เทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตร 25 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M นำมาตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V ทำการตรวจวัดด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l ทำทั้งหมด 5 ครั้ง

3.4.3.7.4 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง กลูโคลิน กลูโคส-ดี

ชั่งสารตัวอย่าง กลูโคลิน กลูโคส-ดี 0.5 กรัม ละลายด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M เทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตร 25 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M นำมาตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V ทำการตรวจวัดด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l ทำทั้งหมด 5 ครั้ง

3.4.3.7.5 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง Glucose Injection 50%

ปีเปตสารตัวอย่าง Glucose Injection 50% 1.0 ml เทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตร 25 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M นำมาตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี สแกนในช่วง -1 V ถึง +1 V ทำการตรวจวัดด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l ทำทั้งหมด 5 ครั้ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง และอภิปรายผล

การเตรียม Prussian Blue

ปีเปตสารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์ต (III) ความเข้มข้น 0.002 M ปริมาตร 0.3 ml และ สารละลายไอออน (III) คลอไรด์ ความเข้มข้น 0.002 M ปริมาตร 0.5 ml ใส่ในขวดวัด ปริมาตร 25 ml ปรับปริมาตรด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 M pH 2 จะได้ สารละลาย Prussian Blue ที่มีสีน้ำเงิน

4.1 การสร้างขั้วไฟฟ้าจากไส้ดินสอดำโดยเพิ่มประสิทธิภาพของขั้วด้วยการเคลือบด้วย

Prussian Blue (Fe^{2+} , Fe^{3+})

4.1.1 กำหนดสถานะของตัวแปรในการทดลองไว้ดังนี้

พ่นแก๊สไนโตรเจน	300	วินาที
อัตราการสแกน	0.05	V/s
ช่วงศักย์ไฟฟ้า	0 ถึง +0.5	V
มีขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคือ	Ag/AgCl	
ขั้วไฟฟ้าช่วยคือ	ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน	
ขั้วไฟฟ้าใช้งานคือ	ไส้ดินสอดำที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue (Fe^{2+} , Fe^{3+})	

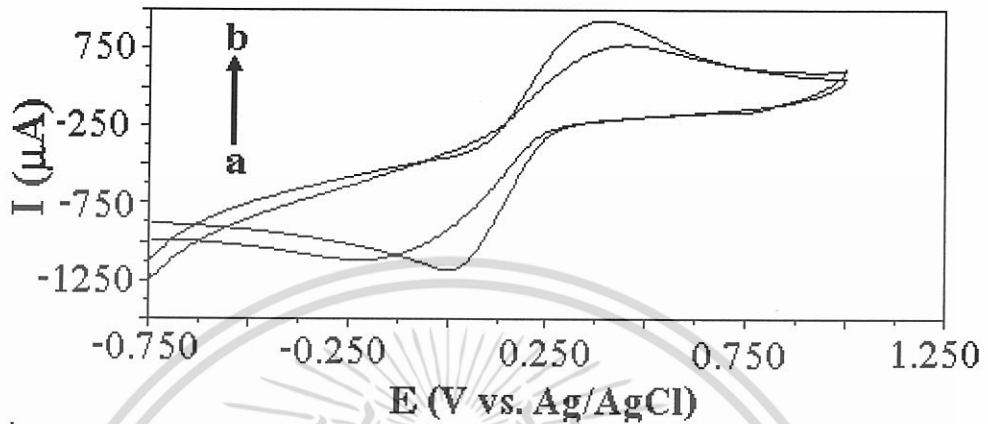
4.1.2 ทดสอบความใช้ได้ของขั้ว

กำหนดสถานะของตัวแปรในการทดลองไว้ดังนี้

สารละลาย $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	0.002	M
พ่นแก๊สไนโตรเจน	300	วินาที
อัตราการสแกน	0.05	V/s

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 0.002 M $K_3[Fe(CN)_6]$ แสดงดังรูปที่ 4.1



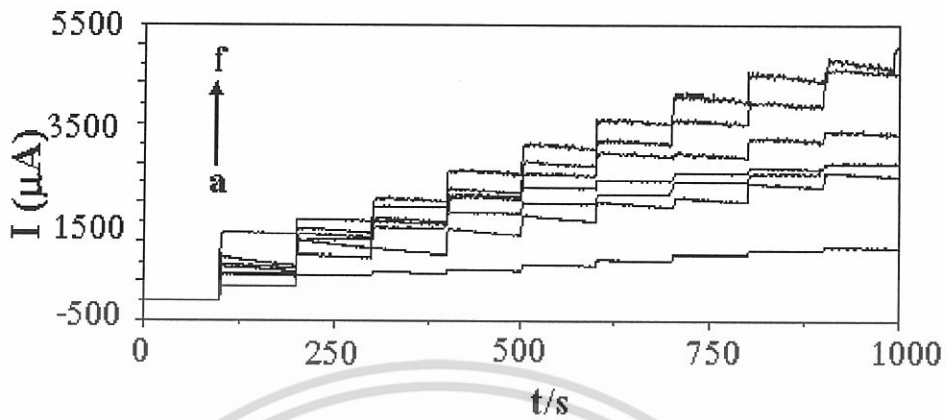
รูปที่ 4.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 0.002 M $K_3[Fe(CN)_6]$ ที่อัตราสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue จากกราฟแสดงถึงการเกิดออกซิเดชันของเหล็กที่ศักย์ไฟฟ้า 0.380 V และการเกิดรีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0 V (a) ขั้วที่ยังไม่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue, (b) ขั้วที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue

จากรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่า ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากขั้วที่ยังไม่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue จะให้กระแสไฟฟ้าออกซิเดชันที่ต่ำกว่า ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากขั้วที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue เนื่องจากสารละลาย Prussian Blue เกิดจากการเตรียม สารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์ต (III) และสารละลายไอออน (III) คลอไรด์ ซึ่งมี Fe^{2+}/Fe^{3+} เป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่เป็นตัวกลางแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนที่บริเวณผิวหน้าขั้วทำให้เกิดการนำไฟฟ้าได้ดีขึ้น

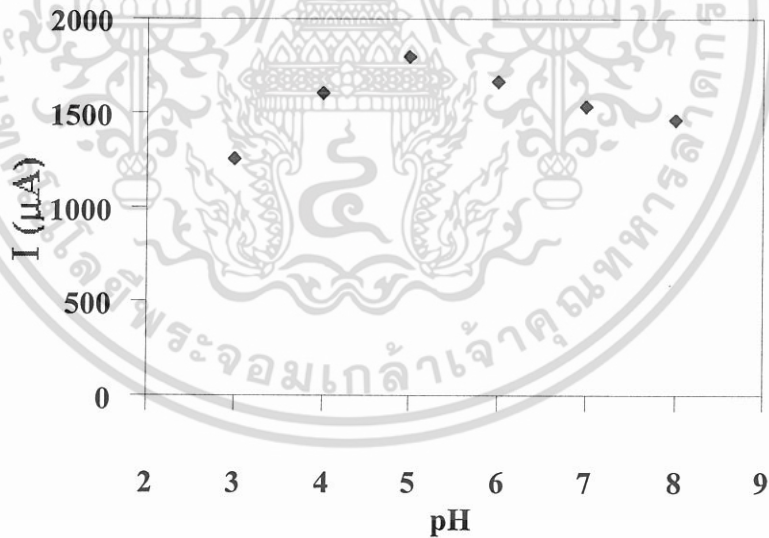
4.2 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด H_2O_2

4.2.1 ค่า พี-เอช ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

จากการตรวจวัดสารละลาย H_2O_2 เข้มข้น 0.001 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แอมเพโรแกรมของสารมาตรฐาน H_2O_2 เข้มข้น 9.8965 M ที่เติมลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.1 M ที่ pH 3 ถึง pH 8 ปริมาตร 25 ml โดยเติมสารละลาย H_2O_2 ครั้งละ 25 μl ทุกๆ 100 วินาที วัดกระแสออกซิเดชัน ที่ศักย์ไฟฟ้า 1 V ในช่วงเวลา 1000 วินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue (a) pH 3, (b) pH 4, (c) pH 5, (d) pH 6, (e) pH 7 และ (f) pH 8



รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ต่างๆของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M กับกระแสออกซิเดชันที่ได้จากการตรวจวัดสารละลาย H_2O_2 เข้มข้น 0.001 M ที่ตำแหน่ง 200 วินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue

จากรูปที่ 4.3 เมื่ออ่านกระแสที่ได้ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 พบว่าที่ pH 5 ให้กระแสมากที่สุดคือ 1800 μA เมื่อความเป็นกรดลดลงก็จะ

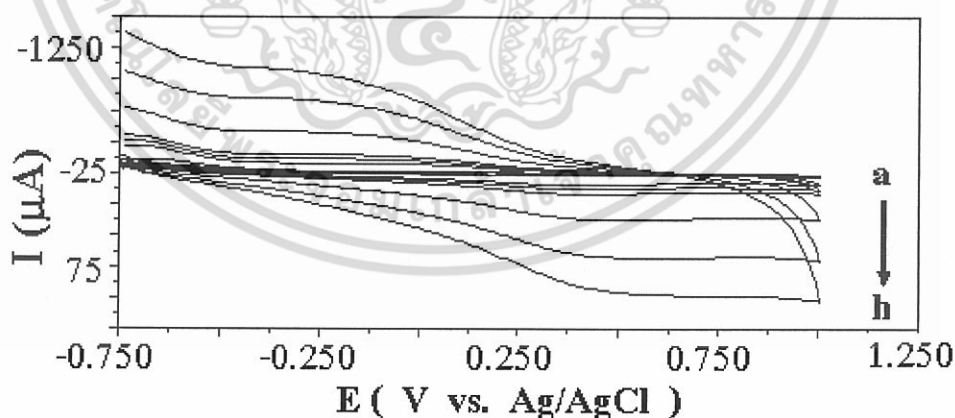
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้กระแสออกซิเดชันที่วัดได้มีแนวโน้มสูงขึ้นจนถึง pH 5 หลังจากนั้นกระแสออกซิเดชันที่วัดได้จะมีแนวโน้มที่ลดลง

ผลการศึกษา pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสความเข้มข้น 1.0 mM ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH ต่างๆ และเมื่อพลอตค่า pH เทียบกับศักย์ไฟฟ้าที่ให้ และปริมาณกระแสไฟฟ้า ดังแสดงในรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าเมื่อ pH สูงขึ้นปริมาณกระแสเพิ่มขึ้นจนกระทั่งสูงสุดที่ pH 5.0 แล้วปริมาณกระแสไฟฟ้าก็จะลดลง ส่วนศักย์ไฟฟ้านั้นจะค่อยๆ ลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้น เพราะว่า Prussian blue ที่เคลือบบนขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุง เมื่ออยู่ในสภาวะกรดทำให้ได้ไฮโดรเจนไซยาไนด์เกิดเป็นไซยาไนด์ไอออน และเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นเบสจะทำให้เกิดตะกอนสีฟ้าเนื่องจาก Prussian blue ที่เคลือบอยู่จะหลุดออกจากขั้ว และทำให้สารละลายกลูโคสเกิดตะกอนด้วย ทำให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อน ดังนั้นจึงเลือกใช้ pH 5.0 เป็นค่าที่เหมาะสมเพราะได้กระแสสูงสุด และไม่เกิดตะกอน (ทุกครั้งที่เปลี่ยนแปลงค่า pH ทำการล้างและทำขั้วใหม่ทุกครั้ง)

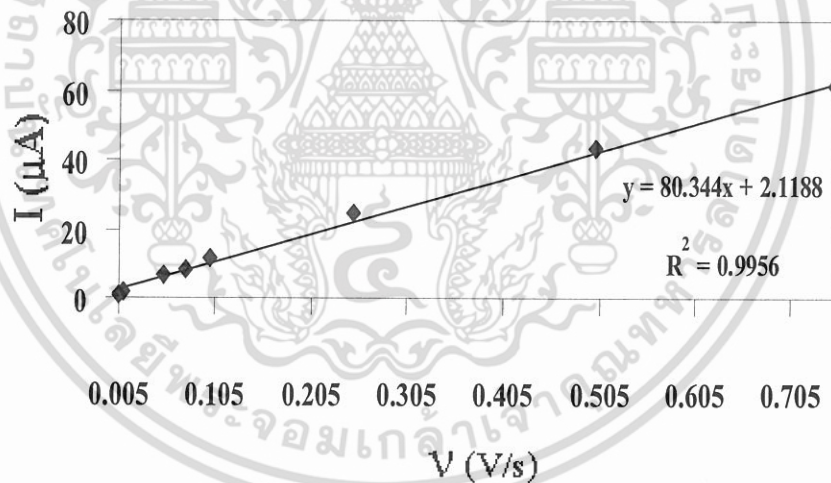
4.2.2 อัตราการสแกน

จากการใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue ตรวจวัด H_2O_2 ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยเริ่มสแกนตั้งแต่ศักย์ไฟฟ้า -0.75 V ถึง +1.0 V ด้วยอัตราการสแกนต่างๆ ไซคลิกโวลแทมโมแกรม ที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 0.001 M H_2O_2 ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ที่อัตราการสแกนต่างๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue (a) 0.005 V/s, (b) 0.01 V/s, (c) 0.05 V/s, (d) 0.075 V/s, (e) 0.1 V/s, (f) 0.25 V/s, (g) 0.5 V/s, (h) 0.75 V/s

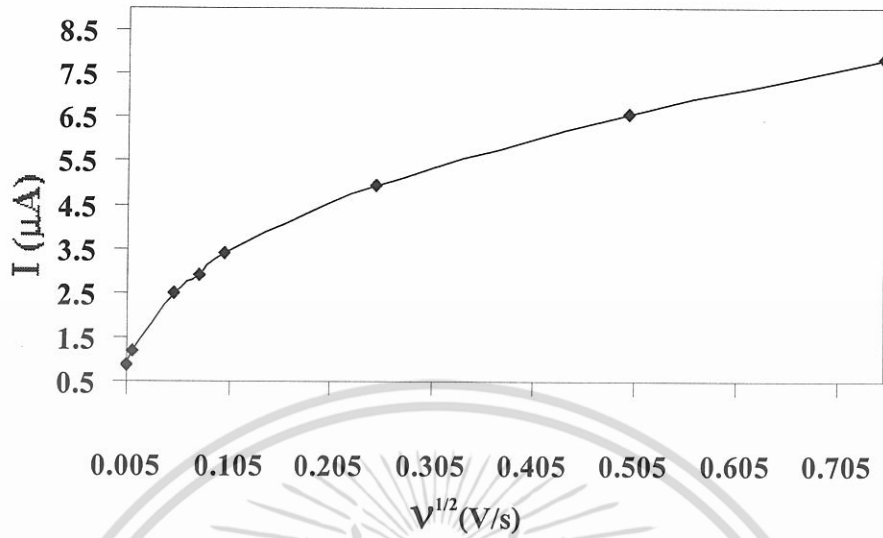
อัตราการสแกนมีผลต่อไซคลิกโวลแทมโมแกรม เมื่อเพิ่มอัตราการสแกนในช่วงศักย์ไฟฟ้า -0.75 ถึง +1.0 V ส่งผลทำให้กระแสไฟฟ้าออกซิเดชัน (อ่านที่ศักย์ไฟฟ้า 0.15 V) เพิ่มขึ้น ค่าของกระแสออกซิเดชัน และอัตราการสแกน เมื่อนำมาพลอตกราฟได้ดังรูปที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสออกซิเดชันกับอัตราการสแกน 0.005 V/s ถึง 0.75 V/s จะได้ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง ดังสมการ $y = 80.344x + 2.118$ และ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9956 พบว่าอัตราการสแกน 0.75 V/s ให้กระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ชัดเจนที่สุด เนื่องจากขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue มี H_2O_2 เกิดการรวมตัวกัน หรือเกาะตัวกันที่บริเวณผิวหน้าขั้วมากขึ้นทำให้วัดกระแสไฟฟ้าออกซิเดชันได้มากขึ้นตามลำดับ ซึ่งสามารถทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่าง Prussian blue และผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue ที่เรียกว่า adsorbtion control จากรูปที่ 4.5 พบว่า เมื่ออัตราการสแกนเพิ่มขึ้นในช่วง 0.005 V/s ถึง 0.75 V/s ทำให้ได้กระแสเพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสจำกัดโดย adsorbtion control



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชัน ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.15 V กับ อัตราการสแกนของการตรวจวัดสารละลาย H_2O_2 เข้มข้น 0.001 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

แก้ทั้งรูป

เมื่อพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสออกซิเดชัน กับรากที่สองของอัตราการสแกน 0.005 V/s ถึง 0.75 V/s พบว่าความสัมพันธ์มีลักษณะเป็นเส้นโค้ง ดังรูปที่ 4.6

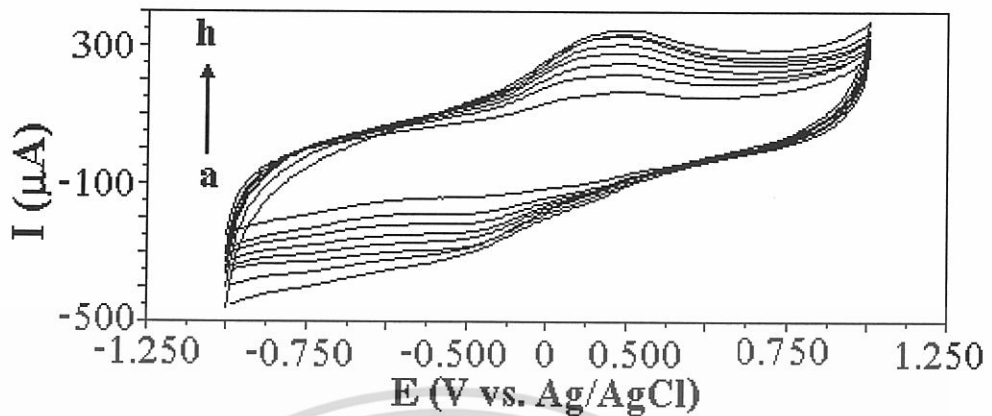


รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชัน กับรากที่สองของอัตราการสแกนของการตรวจวัดสารละลาย H_2O_2 เข้มข้น 0.001 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

จากรูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับกระแสจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ H_2O_2 จะมีลักษณะเป็นเส้นตรง จากนั้นพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับรากที่สองของอัตราการสแกน พบว่าได้กราฟเป็นเส้นโค้ง ซึ่งเป็นการยืนยันว่าเกิดการยึดติดของสารที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (adsorption control) ก่อนเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

4.2.3 จำนวนรอบของการสแกน

เมื่อเปรียบเทียบการสแกนในรอบที่ 1 จนถึงรอบที่ 200 พบว่า กระแสไฟฟ้าจะเพิ่มขึ้นตามจำนวนรอบของการสแกนที่เพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.7 แสดงว่าเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แล้ว จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นออกซิเจนต่อไป โดยไม่เกิดเป็นฟิล์มปะติดที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า



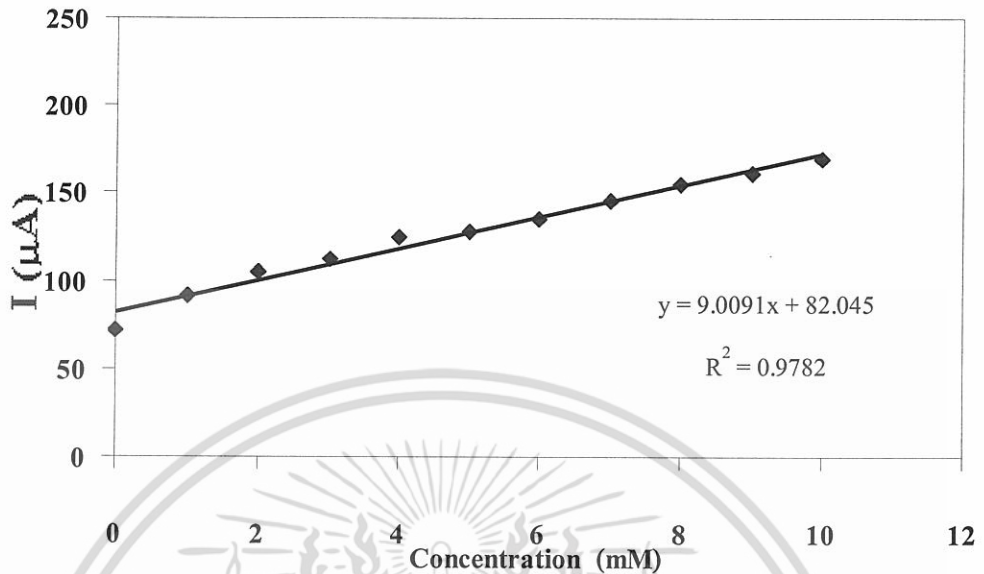
รูปที่ 4.7 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงจำนวนรอบการสแกนจากการตรวจวัด H_2O_2 เข้มข้น 0.001 M อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue (a) 0.005 V/s, (b) 0.01 V/s, (c) 0.05 V/s, (d) 0.075 V/s, (e) 0.1 V/s, (f) 0.25 V/s, (g) 0.5 V/s, (h) 0.75 V/s รอบที่ 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200

4.3 การศึกษาสมบัติขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส

4.3.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นของกลูโคสที่เป็นเส้นตรง

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม พบว่าในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด H_2O_2 ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับ กลูโคสออกซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ถูกตรึงบริเวณผิวหน้าขั้ว และการตรึงเอนไซม์สามารถระยะเวลา ในการวิเคราะห์ ทำให้สะดวก รวดเร็วขึ้น เนื่องจากสารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอเรต (III) และสารละลายไอออน (III) คลอไรด์ (Fe^{3+}) ที่มีอยู่ในสารละลาย Prussian Blue โดยมี $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ เป็นองค์ประกอบ มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ H_2O_2 มีหน้าที่เป็นตัวกลาง แลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนที่บริเวณผิวหน้าขั้วทำให้เกิดการนำไฟฟ้าได้ดีขึ้น

จากรูป 4.8 ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue ให้กระแสออกซิเดชันที่ สัมพันธ์กับความเข้มข้นของกลูโคสเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.001 M ถึง 0.010 M โดยมี สมการความสัมพันธ์คือ $y = 9.0091x + 82.045$ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9782 และค่าความชันเท่ากับ 9.0091



รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสกับกระแสออกซิเดชัน ใช้อัตราการสแกน 0.05 V/s ในช่วง -1 V ถึง +1 V ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

4.3.2 การศึกษากระแสพื้น

การศึกษากระแสพื้นของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจสอบด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ทั้งหมด 30 จุด ซึ่งค่ากระแส 30 ค่า ดังแสดงในตารางที่ ค.4 ภาคผนวก ค.

4.3.3 การศึกษาขีดจำกัดในการตรวจวัดสารละลายกลูโคส

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

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

โดย SD. = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจาก Background (วัด 30 ครั้ง)

และ Slope = ความชันของกราฟมาตรฐานของกลูโคส การคำนวณแสดงในภาคผนวก ข.

ได้ผลดังตารางที่ 4.1

$$\begin{aligned} \text{ค่า Detection Limit (mM)} &= (3 \times \text{SD.}) / \text{Slope} \\ &= (3 \times 5.723 \mu\text{A}) / (9.009 \mu\text{A} / \text{mM}) \\ &= 1.905 \text{ mM} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned}
 \text{ค่า Quantification Limit (mM)} &= (10 \times \text{SD.}) / \text{Slope} \\
 &= (10 \times 5.723 \mu\text{A}) / (9.009 \mu\text{A} / \text{mM}) \\
 &= 6.352 \text{ mM}
 \end{aligned}$$

ตารางที่ 4.1 Detection Limit และ Quantification Limit ของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian blue

ค่าที่ได้จากการทดลอง	ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส
ค่า LOD (mM)	1.905
ค่า LOQ (mM)	6.352

4.3.4 การศึกษาความเที่ยงของขั้วไฟฟ้า

จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 0.001 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้อัตราการสแกน 0.05 V/s ในช่วง -1 V ถึง +1 V ทั้งหมด 30 ครั้ง วัดกระแสออกซิเดชัน 30 ค่า (ภาคผนวก ค.) กำหนดค่า %RSD ของขั้วไฟฟ้าได้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่ากระแสฟลักซ์ออกซิเดชันเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ %RSD ของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 0.001 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M อัตราการสแกน 0.05 V/s ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

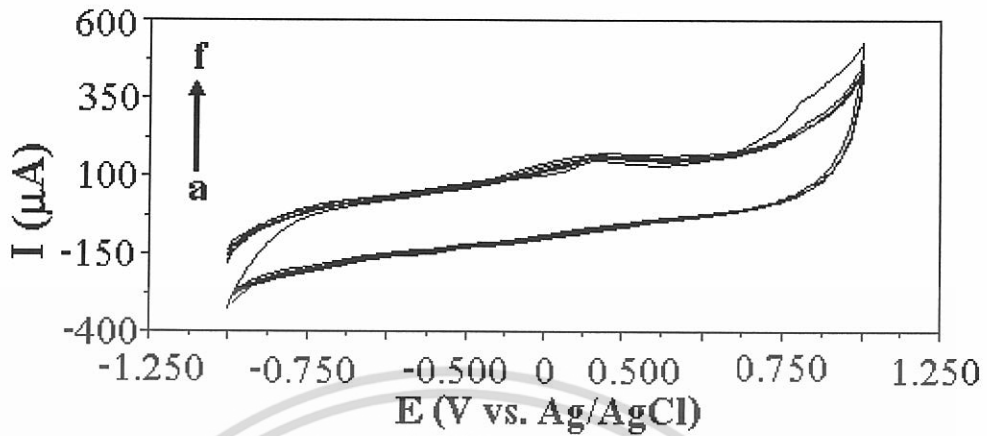
ค่าที่ได้จากการทดลอง	ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส
กระแสฟลักซ์เฉลี่ย (μA)	180.733
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	5.723
% RSD	3.166

4.3.5 อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้า

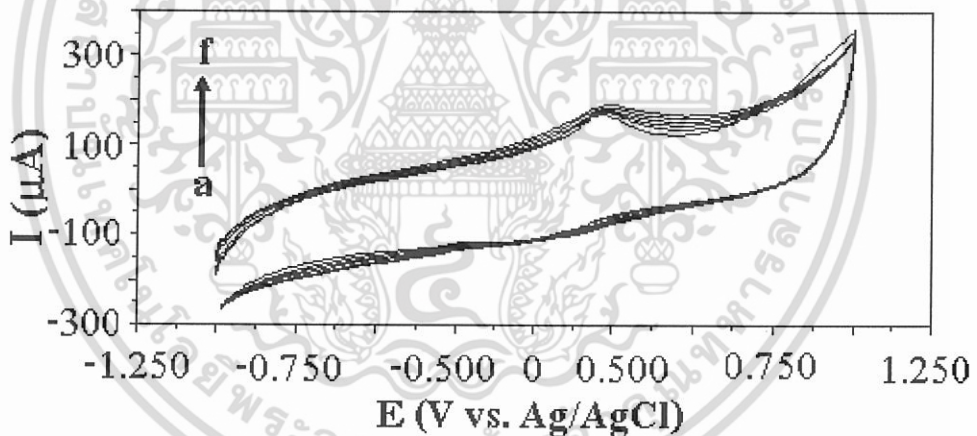
ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue เมื่อใช้ตรวจวัดสารละลายกลูโคส เข้มข้น 0.001 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M อัตราการสแกน 0.05 V/s ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี พบว่าขั้วไฟฟ้าสามารถใช้งานได้มากกว่า 30 ครั้ง (ใช้ขั้วเดิม) ก็ยังได้กระแสไฟฟ้าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสไม่ทำให้เกิดฟิล์มบนผิวหน้าขั้ว จึงไม่เกิดการสะสมของสาร ที่เป็นอุปสรรคในการใช้ขั้วเดิมสำหรับการวิเคราะห์ครั้งต่อไป

4.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในสารตัวอย่างด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

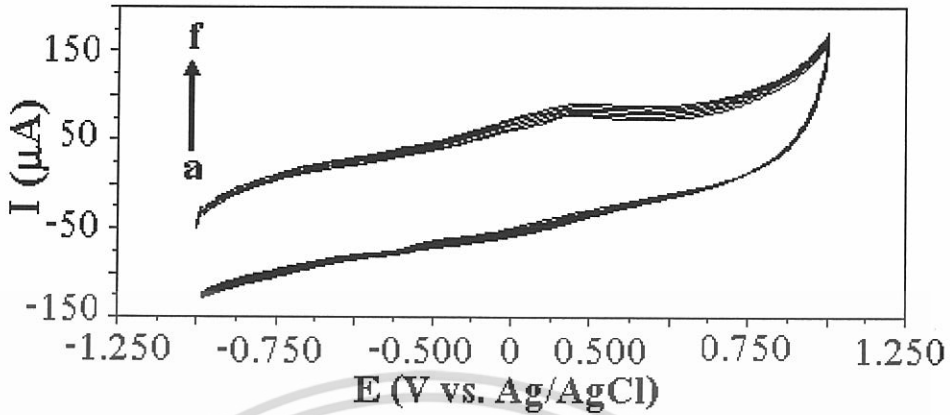
จากการตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่างด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μl ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue โดยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี อัตราการสแกน 0.05 V/s ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M จำนวน 25 ml จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า % Recovery ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.3



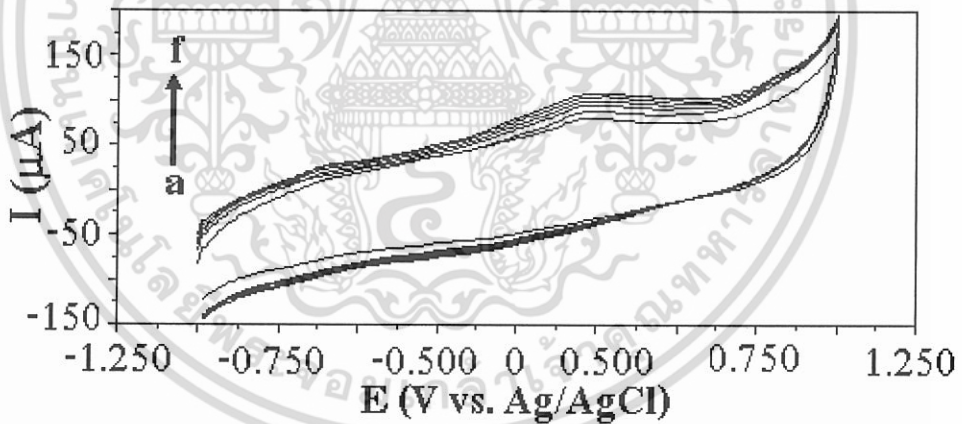
รูปที่ 4.9 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ ซี ไออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์) ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วย
 ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue โดยทำการเติมสารละลายมาตรฐาน
 กลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เต็มครั้งที่
 1, (c) เต็มครั้งที่ 2, (d) เต็มครั้งที่ 3, (e) เต็มครั้งที่ 4 และ (f) เต็มครั้งที่ 5



รูปที่ 4.10 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ เครื่องดื่มเกลือแร่ นีโอ-โพลต์ ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วย
 ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue โดยทำการเติมสารละลายมาตรฐาน
 กลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เต็มครั้งที่
 1, (c) เต็มครั้งที่ 2, (d) เต็มครั้งที่ 3, (e) เต็มครั้งที่ 4 และ (f) เต็มครั้งที่ 5

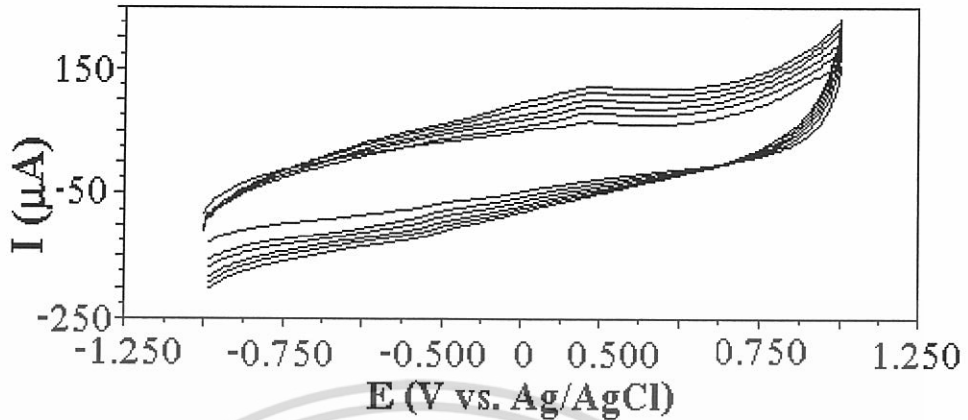


รูปที่4.11 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ กลูโคลิน กลูโคส-ดี ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue โดยทำการเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เติมครั้งที่ 1, (c) เติมครั้งที่ 2, (d) เติมครั้งที่ 3, (e) เติมครั้งที่ 4 และ (f) เติมครั้งที่ 5



รูปที่4.12 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue โดยทำการเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เติมครั้งที่ 1, (c) เติมครั้งที่ 2, (d) เติมครั้งที่ 3, (e) เติมครั้งที่ 4 และ (f) เติมครั้งที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ Glucose Injection 50% ที่อัตราสแกน 0.05 V/s ด้วย ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue โดยทำการเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เติมครั้งที่ 1, (c) เติมครั้งที่ 2, (d) เติมครั้งที่ 3, (e) เติมครั้งที่ 4 และ (f) เติมครั้งที่ 5

ตารางที่ 4.3 ค่าการตรวจวัดกลูโคสในตัวอย่างด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1.0 M ครั้งละ 25 μ l ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue โดยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี อัตรา สแกน 0.05 V/s ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M จำนวน 25 ml

ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์	ความเข้มข้นของ กลูโคสที่ตรวจวัดได้	%Recovery
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์)	19.354 %(w/w)	96.77
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ไอ-ไลต์	13.540 %(w/w)	70.94
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างชนิดผง กลูโคลิน กลูโคส-ดี	15.750%(w/w)	75.00
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส	4.918 %(w/v)	70.42
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง Glucose Injection 50%	2.497 %(w/v)	97.46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วงความเข้มข้นของสารตัวอย่าง 2.497 % ถึง 19.354 % ค่า Percent Recovery ที่ยอมรับอยู่ในช่วง 98 % ถึง 102 % จากการทดลองได้ค่า Percent Recovery จากการตรวจวัดผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์), ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ไอโอ-ไลต์, ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างชนิดผง กลูโคลิน กลูโคส-ดี, ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส และ ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง Glucose Injection 50% มีค่าเท่ากับ 96.77 %, 70.94 %, 75.00 %, 64.57 % และ 97.46 % ตามลำดับ ดังนั้นสรุปได้ว่าค่า Percent Recovery จากผลการทดลองอยู่ในช่วงที่ไม่สามารถยอมรับได้ เนื่องจากค่าที่ได้มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ สาเหตุที่ทำให้ค่า Percent Recovery มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ อาจเกิดจากใช้ไมโครปิเปตเติมสารละลายมาตรฐานลงในสารละลายตัวอย่าง แล้วกดสารละลายมาตรฐานออกมาไม่หมดจึงทำให้ค่าที่ได้คลาดเคลื่อนออกไป (ภาคผนวก จ. ตารางที่ จ. 7)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณกระแสปฏิบัติกริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์) ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิค ไชคลิกโวลแทมเมทรี วัดกระแสที่ 0.351 V.

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μA)
0	133
1	147
2	147
3	151
4	158
5	165

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ปริมาณกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ นีโอ-โพลต์ ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี วัดกระแสที่ 0.450 V.

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μA)
0	125
1	137
2	146
3	152
4	162
5	168

ตารางที่ 4.6 ปริมาณกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างชนิดผง กลูโคลิน กลูโคส-ดี ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี วัดกระแสที่ 0.400 V.

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μA)
0	66
1	76
2	81
3	84
4	85
5	88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐานในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี วัดกระแสที่ 0.400 V.

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μ A)
0	62
1	85
2	93
3	98
4	102
5	105

ตารางที่ 4.8 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง Glucose Injection 50% ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐานในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี วัดกระแสที่ 0.450V

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μ A)
0	60
1	76
2	86
3	97
4	109
5	117

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส พร้อมทั้งศึกษาถึงสภาวะในการทดสอบ และศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของกลูโคสไบโอเซนเซอร์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ซึ่งสรุปผลการวิจัยได้ดังนี้

5.1.1 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ คือ ตรวจวัดสารละลายกลูโคสใน ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 ความเข้มข้น 0.1 M ใช้อัตราการสแกน 0.05 V/s สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -1 V ถึง +1 V

5.1.2 จากการทดลองใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue พบว่าความสัมพันธ์ ระหว่างอัตราการสแกนกับกระแสจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส จะมีลักษณะเป็นเส้นตรง แสดงว่ากระบวนการนี้เกิดมีสารติดที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าก่อนการเกิดออกซิเดชัน

5.1.3 ผลการทดสอบสมบัติขั้วไฟฟ้า โดยการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองพบว่า ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue เป็นขั้วไฟฟ้าที่มีความเหมาะสมในการตรวจวัดกลูโคสแสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 สมบัติของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue

Parameter	ค่าที่ตรวจวัดได้
อัตรากระแสแกน	0.05 V/s
pH	5
ช่วงความเป็นเส้นตรง	$y=9.0091x+82.045$
กระแสฟิสิกเคมี (μA)	180.733
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	5.723
Quantification Limit	6.352 mM
Detection Limit	1.905 mM
%RSD	3.166
อายุการใช้งาน	> 30 ครั้ง

ตารางที่ 5.2 ปริมาณกลูโคสที่ตรวจวัดได้ด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue

ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์	ความเข้มข้นของ กลูโคสที่ตรวจวัดได้ (mM)	%Recovery
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์)	19.354 %(w/w)	96.77
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ไอ-ไลต์	13.540 %(w/w)	70.94
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างชนิดผง กลูโคลิน กลูโคส-ดี	15.750 %(w/w)	75.00
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส	4.918 %(w/v)	70.42
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง Glucose Injection 50%	2.497 %(w/v)	97.46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 5.2.1 ควรศึกษาการปรับปรุงขั้วไฟฟ้า เพื่อเพิ่มสมบัติขั้วในการตรวจวิเคราะห์
- 5.2.2 ในการเตรียมขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยสารละลาย Prussian Blue การทำให้ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าแห้งอาจใช้วิธีการพ่นก๊าซไนโตรเจนก็ได้
- 5.2.3 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องอายุการเก็บรักษาขั้วไฟฟ้า (storage time)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] Oh, B. K., Robbins, M. E., Nablo, B. J. and Schoenfisch, M. H. “Miniaturized glucose biosensor modified with a nitric oxide-releasing xerogel microarra” **Biosensors and Bioelectronics.**, vol. 21, 2005. pp. 749-757.
- [2] Brett, C. M. A., Fiorito, P. A. and Torresi, S. I. C. “Polypyrrole copper hexacyanoferrate hybrid as redox mediator for glucose biosensors” **Talanta** vol. 69, 2006. pp. 403-408.
- [3] Chen, C., Jiang, Y. and Kan, J. “Anoninterference polypyrrole glucose biosensor ” **Biosensors and Bioelectronics.** vol. 21, 2005. pp. 389-407.
- [4] Chough, S. H., Kim, K. S., Hyung, K. W., Cho, H. I., Park, H. R., Choi, O. J., Song, S. H. and Rogers, K. R., “Identification of botanical origins of starches using a glucose biosensor and amyloglucosidase” **Sensors and Actuators B: Chemical.**, vol. 114, 2006. pp. 573-577.
- [5] Curulli, A., Valentini, F., Paleschi, G., Terranova, M. L. and Orlanduci, S. “Pt based enzyme electrode probes assembled with Prussian Blue and conducting polymer nanostructures” **Biosensors and Bioelectronics.**, vol. 20, 2004. pp. 1223-1232.
- [6] Dékány, I., and Hornok, V. “Synthesis and stabilization of Prussian blue nanoparticles and application for sensors” **Journal of Colloid and Interface Science.**, vol. 309, 2007. pp. 176-182.

- [7] Fritz, S., González, Lara, G. L. and Kahlert, H. “Catalytic reduction of hydrogen peroxide at metal hexacyanoferrate composite electrodes and applications in enzymatic analysis” **Electrochimica Acta.**, vol. 52, 2007. pp. 1968-1974.
- [8] Haghighi, B., Alizadeh, F. M., Gorton, L., Varma, S. and Yigzaw, Y. “ Prussian blue modified glassy carbon electrodes-study on operational stability and its application as a sucrose biosensor” **Talanta.**, vol. 64, 2004. pp. 3-12.
- [9] Kafi, A.K.M., Yin, F., Shin, H. K. and Kwon, Y. S. “Amperometric thiol sensor based on Prussian blue-modified glassy carbon electrode” **Current Applied Physics.**, vol. 7, 2007. pp. 496-499.
- [10] Liu, F., Feng L., Jin. L., Xian, Y., Hu, Y. and Xian, Y. “Template synthesis of highly ordered Prussian blue array and its application to the glucose biosensing” **Biosensors and Bioelectronics.**, vol. 22, 2007. pp. 2827-2833.
- [11] Liu, G. and Lin, Y. “Amperometric glucose biosensor based on self-assembling glucose oxidase on carbon nanotubes” **Electrochemistry Communications.**, vol. 8, 2006. pp. 251-256.
- [12] López, M. S. P., Mecerreyes, D., Cabarco, E. L. and Ruiz, B. L. “Amperometric glucose biosensor based on polymerized ionic liquid microparticles” **Biosensors and Bioelectronics.**, vol. 21, 2006. pp. 2320-2328.

- [13] Lu, B. W. and Chen, W. C. “A disposable glucose biosensor based on drop-coating of screen-printed carbon electrodes with magnetic nanoparticles” **Journal of Magnetism and Magnetic Materials.**, vol. 304, 2006. pp. e400-e402.
- [14] Maalouf , R., Soldatkin, A., Vittori, O., Sigaud, M., Saikali, Y., Chebib, H., Loir, A.S., Garrelie. F., Donnet, C. and Renault, N. J. “ Study of different carbon materials for amperometric enzyme biosensor development” **Materials Science and Engineering: C.**, vol. 26, 2006. pp. 564-567.
- [15] Mattos, I. L. and Cunha Areias, M. C. “Automated determination of glucose in soluble coffee using Prussian Blue–glucose oxidase–Nafion modified electrode” **Talanta.**, vol. 66, 2005. pp. 1281-1286.
- [16] Ricci, F. and Palleschi, G. “Sensor and biosensor preparation, optimisation and applications of Prussian Blue modified electrodes” **Biosensors and Bioelectronics.**, vol. 21, 2005. pp. 389-407.
- [17] Serra, B. F., Tzoris, A. and Hall, E. A. H. “Manometric transduction in enzyme biosensors ” **Biosensors and Bioelectronics.** vol. 21, 2005. pp. 389-407.
- [18] Sun, G., and Jia, Z. “Preparation of prussian blue nanoparticles with single precursor ” **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.**, vol. 302, 2007. pp. 326-329.
- [19] Wu, B., Zhang, G., Zhang, Y., Shuang, S. and Choi, M. F. “ Measurement of glucose concentrations in human plasma using a glucose biosensor ” **Analytical Biochemistry .**, Vol. 340, 2005. pp. 181-183.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [20] Xu F., Sun, L. X. and Zou, Y. “Biosensor based on polyaniline–Prussian Blue/multi-walled carbon nanotubes hybrid composites” **Biosensors and Bioelectronics.**, vol. 22, 2007. pp. 2669-2674.

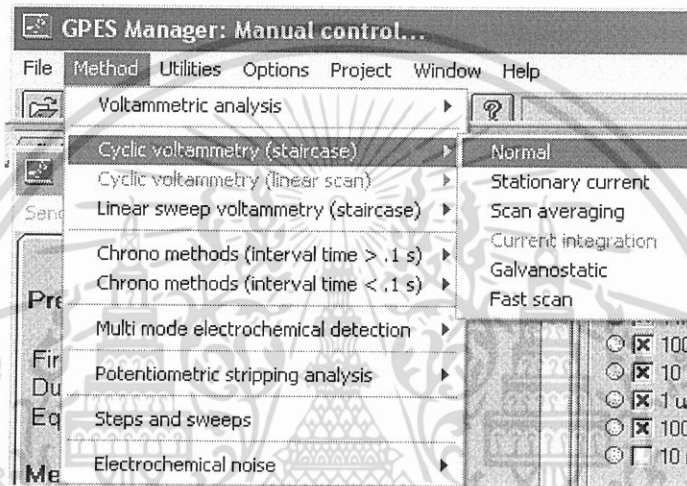


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

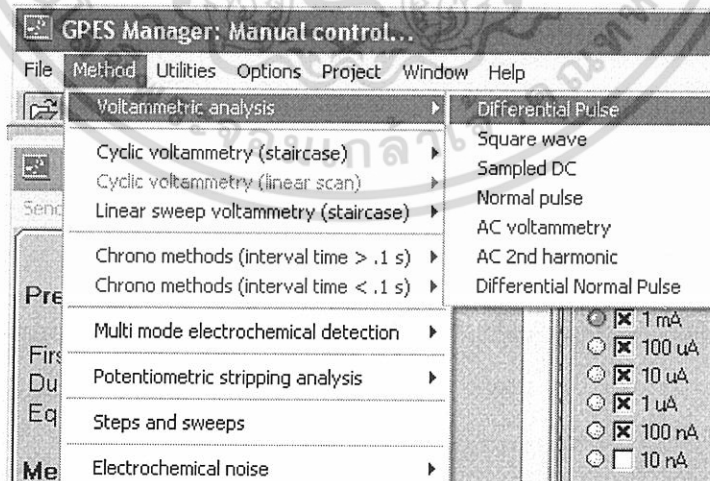
ภาคผนวก ก. การตั้งค่าการทำงานของโปรแกรม Autolab

รูปที่ ก.1 การเลือกเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัด

- เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

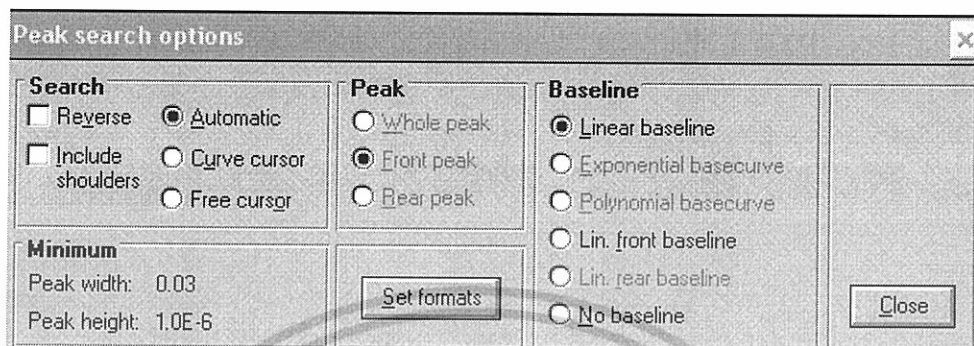


- เทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวลแทมเมตรี

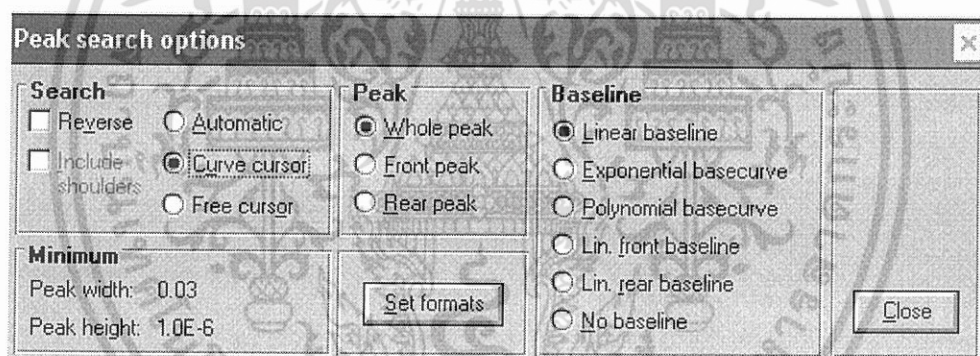


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

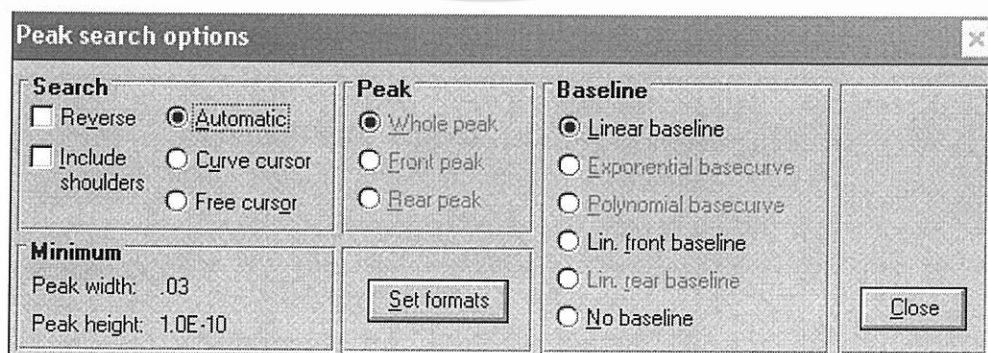
รูปที่ ก.2 การหาค่าสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิค ไซคลิก โวลแทมเมทรีแบบอัตโนมัติ



รูปที่ ก.3 การหาค่าสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิค ไซคลิก โวลแทมเมทรีแบบกำหนด cursor จุดเอง

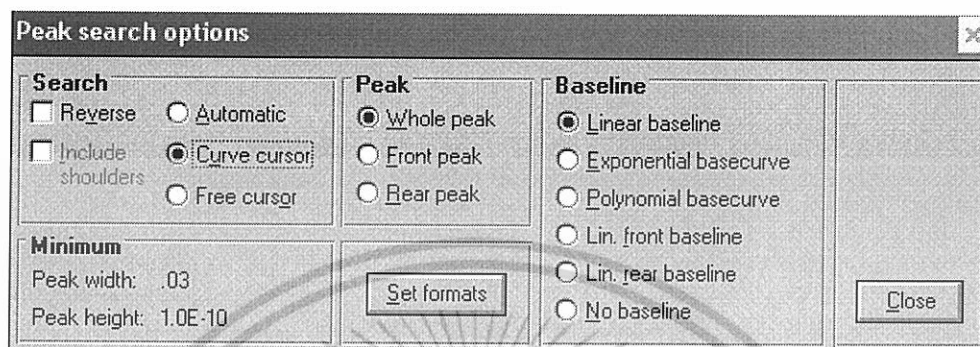


รูปที่ ก.4 การหาค่าสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิคฟิโพรเรนเชียลพัลส์ โวลแทมเมทรีแบบอัตโนมัติ

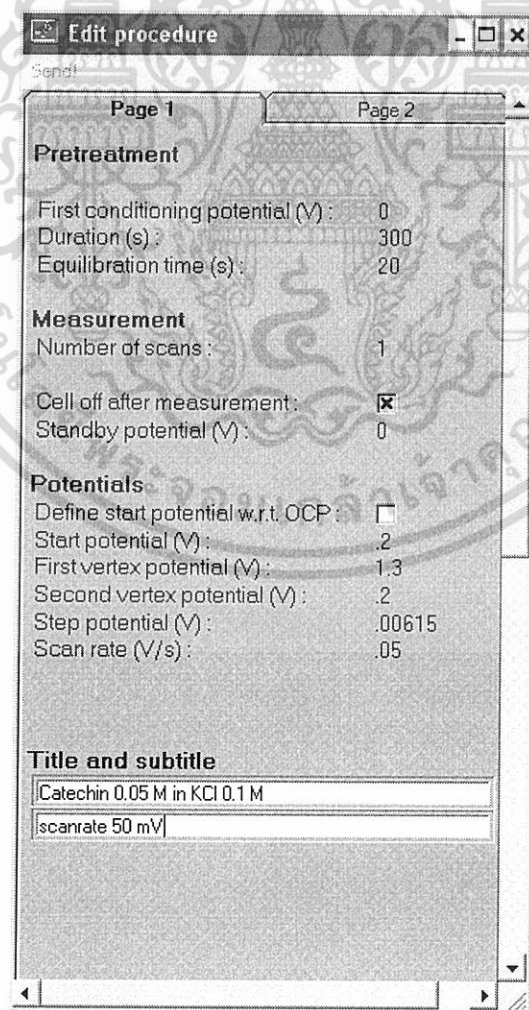


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก.5 การหาค่าสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิคโฟลโรเรสเซนซ์ด้วยซอฟต์แวร์
แบบกำหนดเอง



รูปที่ ก.6 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรี

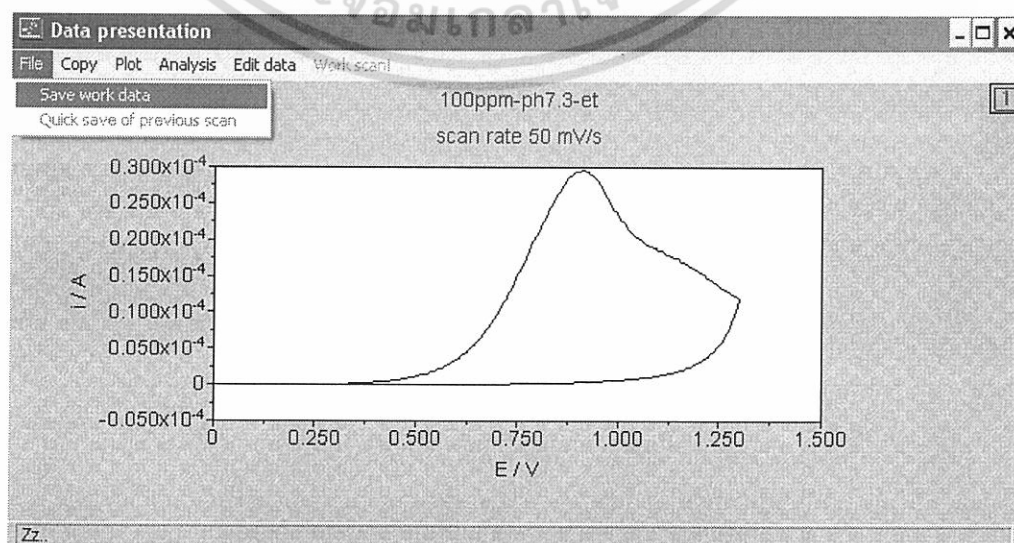


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

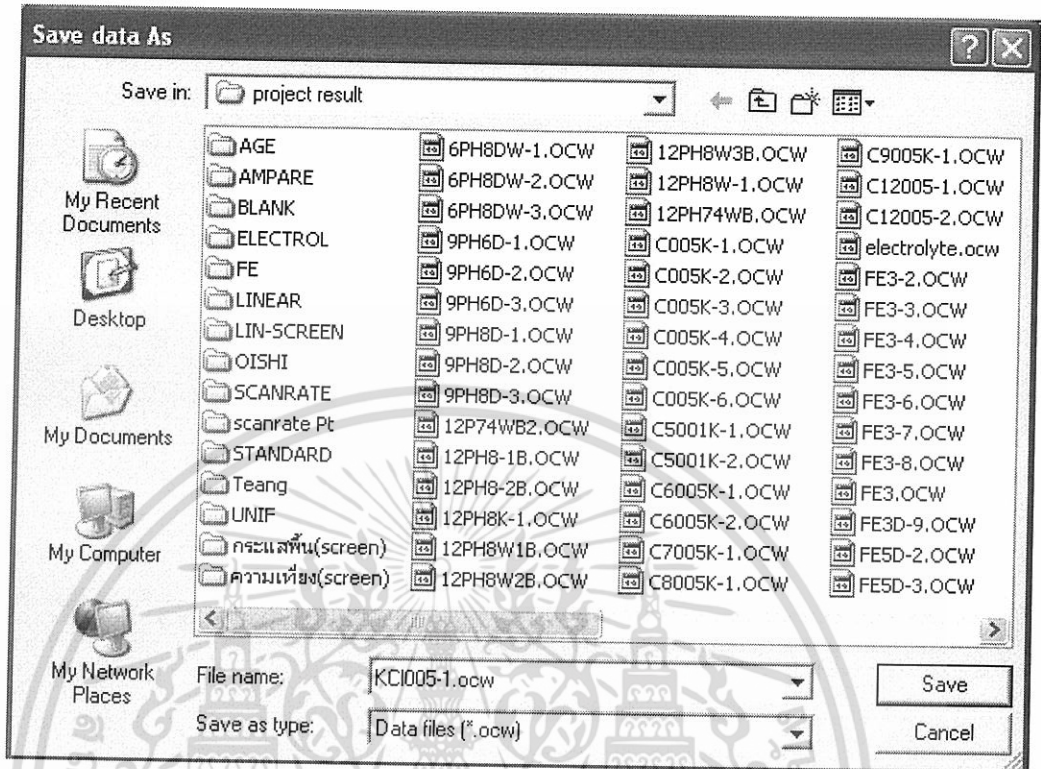
รูปที่ ก.7 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดด้วยเทคนิคไฟฟ้าเฟอเรนเชียลพัลส์โวลแทมเมตรี

Page 1		Page 2
Pretreatment		
Conditioning potential (V) :	0	
Duration (s) :	0	
Deposition potential (V) :	0	
Duration (s) :	0	
Equilibration time (s) :	20	
Measurement		
Cell off after measurement :	<input checked="" type="checkbox"/>	
Modulation time (>= 0.002 s) :	.05	
Interval time (>= 0.10 s) :	.5	
Potentials		
Initial potential (V) :	0	
End potential (V) :	1.3	
Step potential (V) :	49995	
Modulation amplitude (V) :	07005	
Standby potential (V) :	0	
Title and subtitle		
catechin 0.05 M		
scanrate 0.5 V/s		

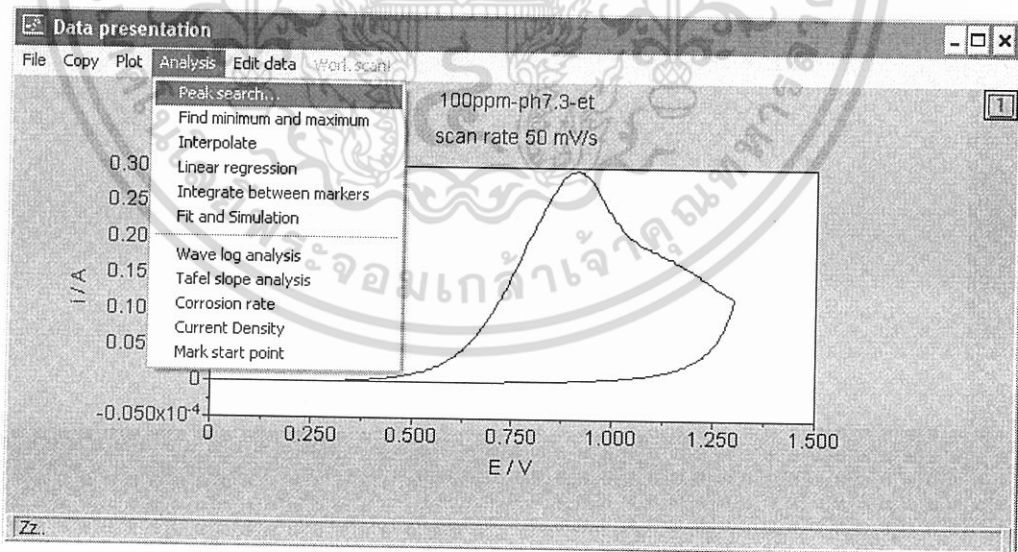
รูปที่ ก.8 การบันทึกผลการวิเคราะห์



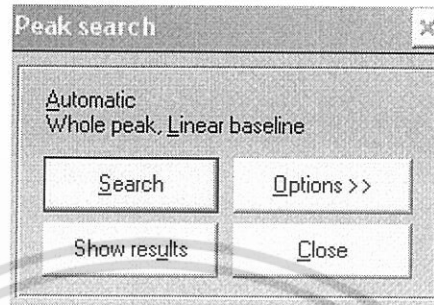
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.9 การเรียกดูผลการวิเคราะห์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสารเคมี

ข.1 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4 : น้ำหนักโมเลกุล 136.09) 6.8045 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน นำไปโซนิคเททำให้โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.2 การเตรียมสารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ชั่งไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4 : น้ำหนักโมเลกุล 174.18) 8.709 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน นำโซนิคเทให้ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

ข.3 การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ปีเปตกรดฟอสฟอริกเข้มข้น (87% w/w ความหนาแน่น 1.695 g/ml) 33 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำปราศจากไอออนอยู่ประมาณ 200 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 500 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดสีชา

ข.4 การเตรียมสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ปีเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% w/w ความหนาแน่น 1.18 g/ml) 40 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำปราศจากไอออนอยู่ประมาณ 200 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 500 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดสีชา

ข.5 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 2.0 ถึง pH 4.0

เทสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่เตรียมไว้แล้ว ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 70- 80 มิลลิลิตร นำไปวัดค่า pH ด้วย เครื่อง pH meter ใช้สารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปรับค่า pH ตามที่ต้องการ

ข.6 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 5.0 ถึง pH 8.0

เทสารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่เตรียมไว้แล้ว ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 70- 80 มิลลิลิตร นำไปวัดค่า pH ด้วย เครื่อง pH meter ใช้สารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปรับค่า pH ตามที่ต้องการ

ข.7 การเตรียมสารโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ (น้ำหนักโมเลกุล 74.543) 3.72715 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 500 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดพลาสติกที่ทำจากพอลิโพรพิลีน

ข.8 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 4

เทสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่เตรียมไว้แล้ว ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 50- 60 มิลลิลิตร นำไปวัดค่า pH ด้วย เครื่อง pH meter ใช้สารละลายกรดกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปรับค่า pH ให้ได้ pH 4

ข.9 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 2

เทสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่เตรียมไว้แล้ว ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 50- 60 มิลลิลิตร นำไปวัดค่า pH ด้วย เครื่อง pH meter ใช้สารละลายกรดกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปรับค่า pH ให้ได้ pH 4

ข.10 การเตรียมสารละลายกรดซัลฟริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ปิเปตกรดซัลฟริกเข้มข้น (98% w/w ความหนาแน่น 1.835 g/ml) 27.8378 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำปราศจากไอออนอยู่ประมาณ 200 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 500 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดสีชา

ข.11 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์ต (III) ความเข้มข้น 0.002 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์ต (III) (น้ำหนักโมเลกุล 329.26) 16.463 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 25 มิลลิลิตร

ข.12 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์ต (II) ความเข้มข้น 0.0015 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์ต (II) (น้ำหนักโมเลกุล 422.41) 63.3615 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดสีชา

ข.13 การเตรียมสารละลายไอออน (III) คลอไรด์ ความเข้มข้น 0.002 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งไอออน (III) คลอไรด์ (น้ำหนักโมเลกุล 270.30) 54.06 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดสีชา

ข.14 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (น้ำหนักโมเลกุล 56.11) 5.611 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดสีชา

ข.15 การเตรียมสารละลายกลูโคส ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ชั่งดี-กลูโคส (น้ำหนักโมเลกุล 180.16) 9.008 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 50 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.16 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 10, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัม ปริมาตร 25 มิลลิกรัม

ปีเปตสารละลายกลูโคส ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.25, 1.25, 2.5, 3.75 และ 5 มิลลิกรัม สำหรับสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 10, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ pH 4 จนปริมาตรสารละลายเป็น 25 มิลลิกรัม

ข.17 การเตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิกรัม

ชั่งโซเดียมอะซิเตต (น้ำหนักโมเลกุล 136.08) 1.3608 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 100 มิลลิกรัม

ข.18 การเตรียมสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิกรัม

ปีเปตกรดอะซิติกเข้มข้น (99.8% w/w ความหนาแน่น 1.05 g/ml) 1.4326 มิลลิกรัม ลงในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนปริมาตรสารละลายเป็น 25 มิลลิกรัม

ข.19 การเตรียมสารละลายกลูโคสออกซิเดส ความเข้มข้น 125 ยูนิท ปริมาตร 25 มิลลิกรัม

ปีเปตสารละลายกลูโคสออกซิเดส (ความเข้มข้น 963 ยูนิท) ปริมาตร 1.2980 มิลลิกรัม ลงในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วย โซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 4 จนปริมาตรสารละลายเป็น 25 มิลลิกรัม

ข. 20 การเตรียมสารละลาย nafion 0.1% ปริมาตร 25 มิลลิกรัม

ปีเปต nafion เข้มข้น 5 % ปริมาตร 0.5 มิลลิกรัม ลงในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล เก็บสารที่เตรียมไว้ในตู้เย็น

ภาคผนวก ค

ผลการทดลอง

ค.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดสารละลายกลูโคส

ค.1.1 ค่า pH สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม

ตารางที่ ค.1 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ H_2O_2 1.0 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 5 อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย Prussian blue ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

ค่า pH	กระแส (μA)
3	1250
4	1600
5	1800
6	1660
7	1530
8	1460

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1.2 อัตราการสแกนที่เหมาะสม

ตารางที่ ก.2 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ H_2O_2 1.0 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 5 ที่อัตราการสแกนต่างๆ โดยใช้หัวไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

อัตราการสแกน (V/s)	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
0.005	0.150	0.842
0.010	0.150	1.157
0.050	0.150	2.509
0.075	0.150	2.915
0.100	0.150	3.405
0.250	0.150	4.929
0.500	0.150	6.557
0.750	0.150	7.810

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.2 สมบัติของขั้วทำงาน

ก.2.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของความเข้มข้นในการวิเคราะห์

ตารางที่ ก.3 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ใช้อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมทรี

สารละลายมาตรฐานกลูโคส (mM)	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
0.0	-0.130	72.0
1.0	-0.130	91.0
2.0	-0.130	105.0
3.0	-0.130	112.0
4.0	-0.130	125.0
5.0	-0.130	128.0
6.0	-0.130	135.0
7.0	-0.130	145.0
8.0	-0.130	155.0
9.0	-0.130	161.0
10.0	-0.130	169.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2.2 การศึกษาความเที่ยง

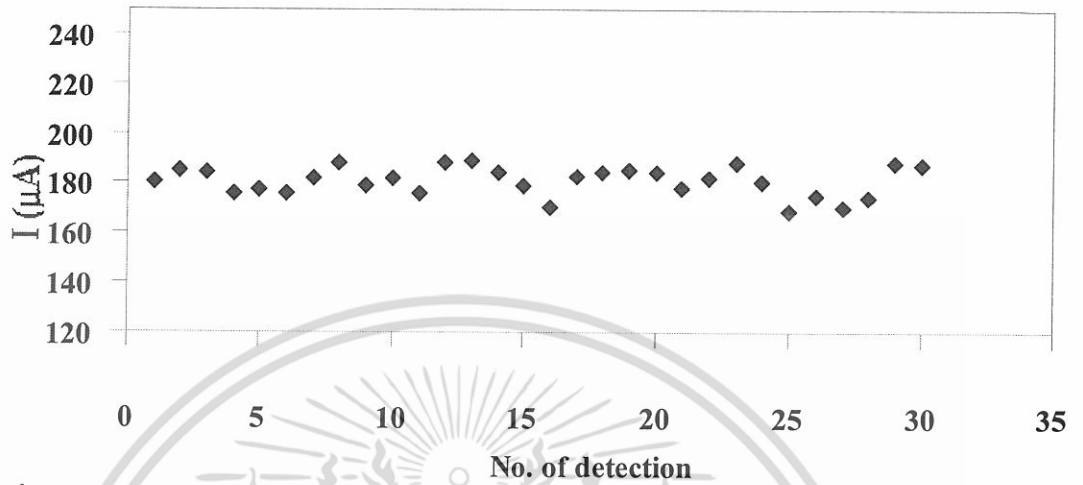
ตารางที่ ค.4 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโวลแทมโมแกรมของ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ตรวจวัดทั้งหมด 30 ครั้ง

จำนวนครั้ง	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
1	-0.130	180.0
2	-0.130	185.0
3	-0.130	184.0
4	-0.130	176.0
5	-0.130	177.0
6	-0.130	176.0
7	-0.130	182.0
8	-0.130	188.0
9	-0.130	179.0
10	-0.130	182.0
11	-0.130	176.0
12	-0.130	188.0
13	-0.130	189.0
14	-0.130	184.0
15	-0.130	179.0
16	-0.130	170.0
17	-0.130	183.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนครั้ง	สัญญาณที่ตรวจวัดได้	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	กระแส (μA)
18	-0.130	184.0
19	-0.130	185.0
20	-0.130	184.0
21	-0.130	178.0
22	-0.130	182.0
23	-0.130	188.0
24	-0.130	180.0
25	-0.130	169.0
26	-0.130	175.0
27	-0.130	170.0
28	-0.130	174.0
29	-0.130	188.0
30	-0.130	187.0
ค่าเฉลี่ย		180.733
SD.		5.723
% RSD		3.166

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.1 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสปฏิริยาออกซิเดชันกับจำนวนครั้งของการตรวจวัดสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ตรวจวัดทั้งหมด 30 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด

การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัดตามวิธีของ International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

สูตรการคำนวณและวิธีการทดสอบ

1. สร้างกราฟความสัมพันธ์ของการตรวจวัดสารในช่วงที่เป็นเส้นตรง นำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับปริมาณกระแสที่ตรวจวัดได้ จะได้กราฟเส้นตรง จากนั้นนำมาคำนวณหาความชันของกราฟ จากสมการ

$$Y = mX + c$$

เมื่อ m แทน ความชันของเส้นกราฟ

c แทน จุดตัดแกนตั้ง

X แทน ความเข้มข้น

Y แทน กระแส

2. เมื่อสามารถหาค่าความชันของเส้นกราฟได้แล้วนำสารละลาย ฟอสเฟตบัพเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M มาวัดกระแสพื้น สุ่มเลือกสัญญาณของกระแสพื้น 30 ค่า แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจากแบลงค์

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

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

3. นำค่าที่ได้ทั้งหมดมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด

$$\text{ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ } (C_L) = 3(S_B) / m$$

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.1 กำหนดหาขีดจำกัดในการตรวจวัดสารละลายกลูโคส

1. หาค่าความชันกราฟ

ตารางที่ ง.1 ค่าปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน ค่าความชัน และความเข้มข้นของสารละลายจากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 1 mM สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

สารละลายมาตรฐานกลูโคส(mM)	กระแส (μ A)
0.0	72.0
1.0	91.0
2.0	105.0
3.0	112.0
4.0	125.0
5.0	128.0
6.0	135.0
7.0	145.0
8.0	155.0
9.0	161.0
10.0	169.0
ความชัน	9.009
จุดตัดแกนตั้ง	82.045

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจากเบลงค์

ตารางที่ ง.2 สัญญาณของกระแสพื้นที่ได้จากการตรวจวัด สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี อัตราการสแกน 0.05 V/s โดยใช้โดย ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส

ครั้งที่ตรวจวัด	กระแส (μA)	ครั้งที่ตรวจวัด	กระแส (μA)
1	180.0	16	170.0
2	185.0	17	183.0
3	184.0	18	184.0
4	176.0	19	185.0
5	177.0	20	184.0
6	176.0	21	178.0
7	182.0	22	182.0
8	188.0	23	188.0
9	179.0	24	180.0
10	182.0	25	169.0
11	176.0	26	175.0
12	188.0	27	170.0
13	189.0	28	174.0
14	184.0	29	188.0
15	179.0	30	187.0
		ค่าเฉลี่ย	180.733
		SD.	5.723

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. คำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด

$$\begin{aligned} \text{ค่า Detection Limit (mM)} &= (3 \times \text{SD.}) / \text{Slope} \\ &= (3 \times 5.723 \mu\text{A}) / (9.009 \mu\text{A} / \text{mM}) \\ &= 1.905 \text{ mM} \end{aligned}$$

โดย SD. = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจาก Background (วัด 30 ครั้ง)

และ Slope = ความชันของกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส

4. คำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณ

$$\begin{aligned} \text{ค่า Quantification Limit (mM)} &= (10 \times \text{SD.}) / \text{Slope} \\ &= (10 \times 5.723 \mu\text{A}) / (9.009 \mu\text{A} / \text{mM}) \\ &= 6.352 \text{ mM} \end{aligned}$$

โดย SD. = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจาก Background (วัด 30 ครั้ง)

และ Slope = ความชันของกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส

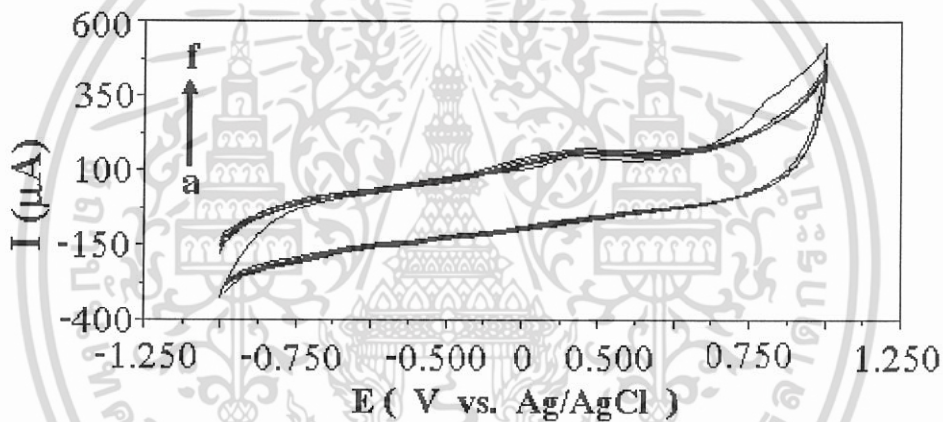
ภาคผนวก จ.

การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่

1. ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ชนิดผง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์)

จ.1 กระแสที่ได้จากการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน

◆ ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



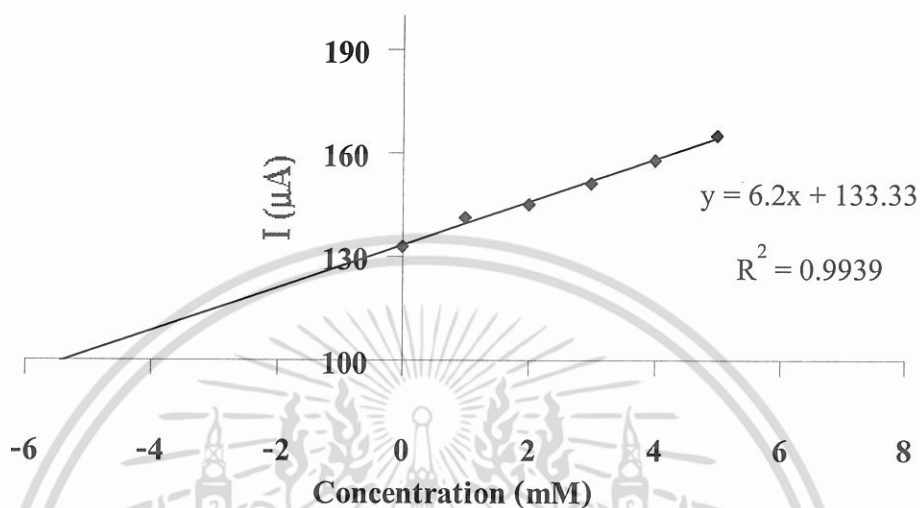
รูปที่ จ.1 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เติมครั้งที่ 1, (c) เติมครั้งที่ 2, (d) เติมครั้งที่ 3, (e) เติมครั้งที่ 4 และ (f) เติมครั้งที่ 5 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี วัดกระแสที่ 0.351 V

ตารางที่ จ.1 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง ซี โออาร์เอส-เอช (8 ออนซ์) ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี วัดกระแสที่ 0.351 V.

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μA)
0	133
1	147
2	147
3	151
4	158
5	165

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



รูปที่ จ.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคส โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

$$y = 6.2x + 133.33$$

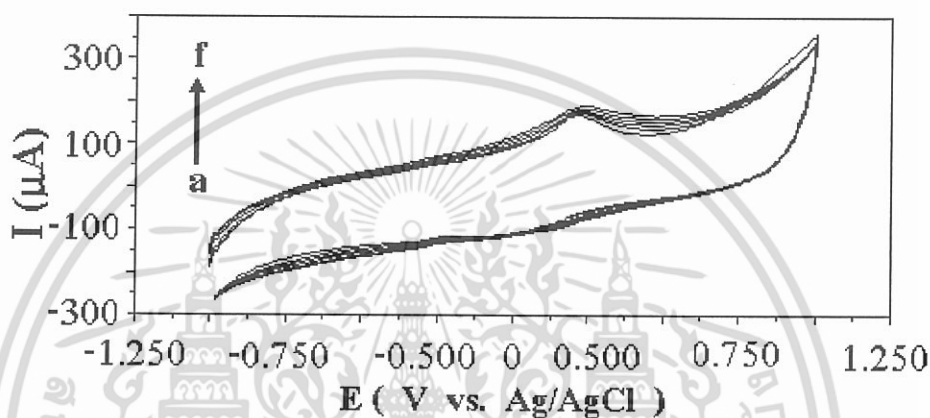
แทนค่า $y = 0$ จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 21.5048 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ เครื่องดื่มเกลือแร่ นีโอ-ไลต์

จ.2 กระแสที่ได้จากการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน

◆ ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



รูปที่ จ.3 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เติมครั้งที่ 1, (c) เติมครั้งที่ 2, (d) เติมครั้งที่ 3, (e) เติมครั้งที่ 4 และ (f) เติมครั้งที่ 5 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิค ไชคลิกโวลแทมเมทรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

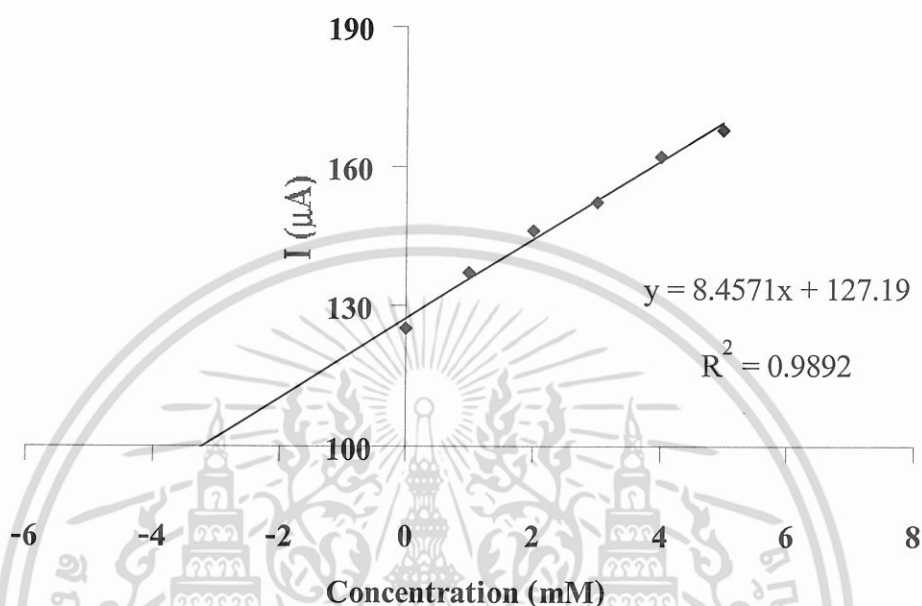
ตารางที่ จ.2 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่ไอโอ-ไลต์ ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี วัดกระแสที่ 0.450 V.

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μA)
0	125
1	137
2	146
3	152
4	162
5	168



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



รูปที่ จ.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคส โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

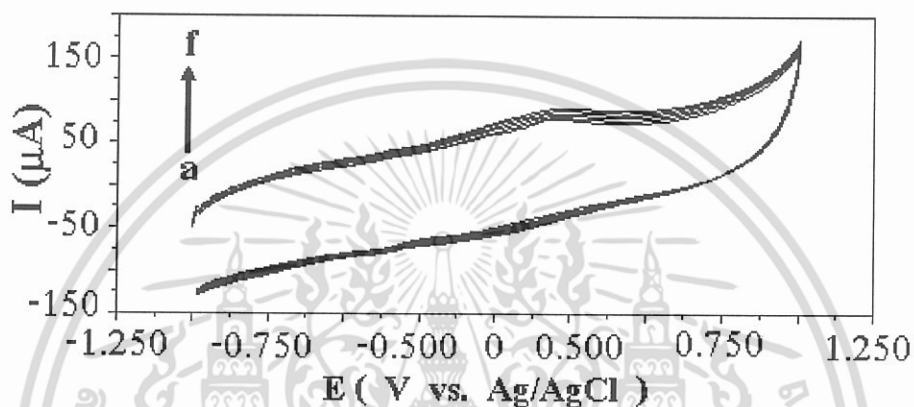
$$y = 8.4571x + 127.19$$

แทนค่า $y = 0$ จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 15.0394 mM

3. ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ชนิดผง กลูโคลิน กลูโคส-ดี

จ.3 กระแสที่ได้จากการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน

◆ ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



รูปที่ จ.5 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เติมครั้งที่ 1, (c) เติมครั้งที่ 2, (d) เติมครั้งที่ 3, (e) เติมครั้งที่ 4 และ (f) เติมครั้งที่ 5 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

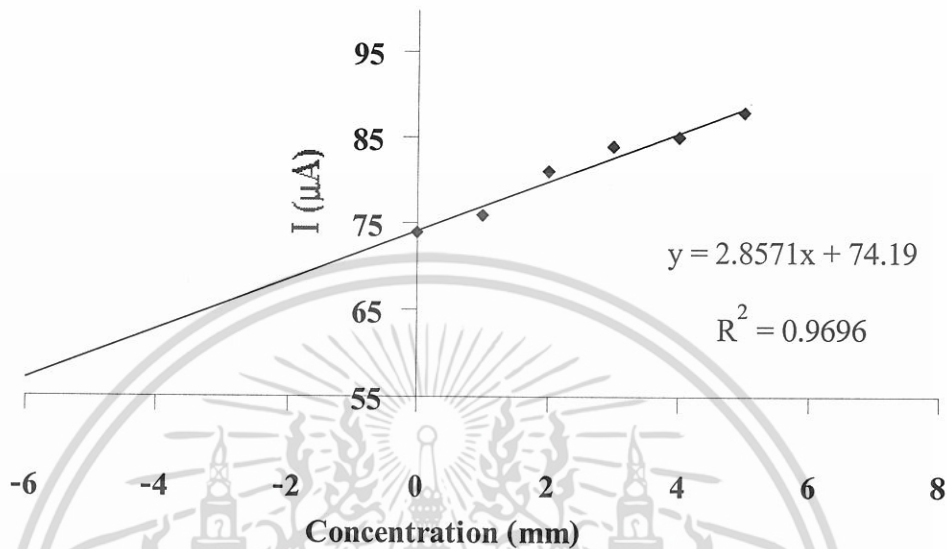
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ.3 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างชนิดผง กลูโคลิน กลูโคส-ดี ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐานในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี วงกระแสที่ 0.400 V.

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μA)
0	66
1	76
2	81
3	84
4	85
5	88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



รูปที่ ๖.๖ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสปฏิริยาออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคส โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

$$y = 2.8571x + 74.19$$

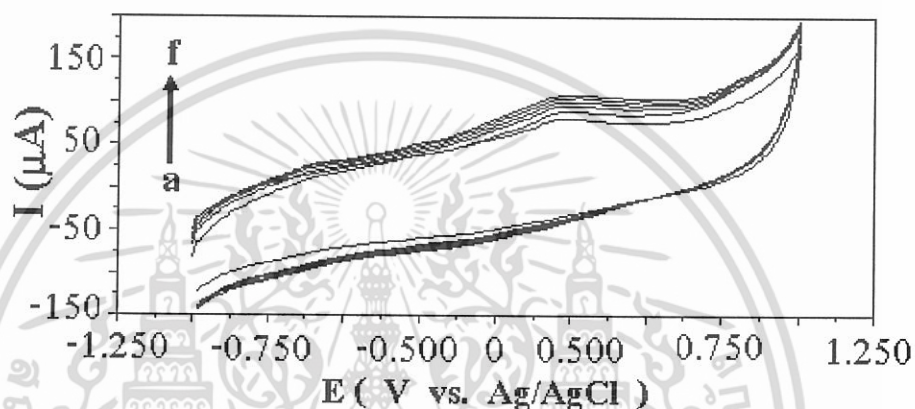
แทนค่า $y = 0$ จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 17.5 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส

จ.4 กระแสที่ได้จากการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน

◆ ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



รูปที่ จ.7 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เติมครั้งที่ 1, (c) เติมครั้งที่ 2, (d) เติมครั้งที่ 3, (e) เติมครั้งที่ 4 และ (f) เติมครั้งที่ 5 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไชคลิกโวลแทมเมทรี

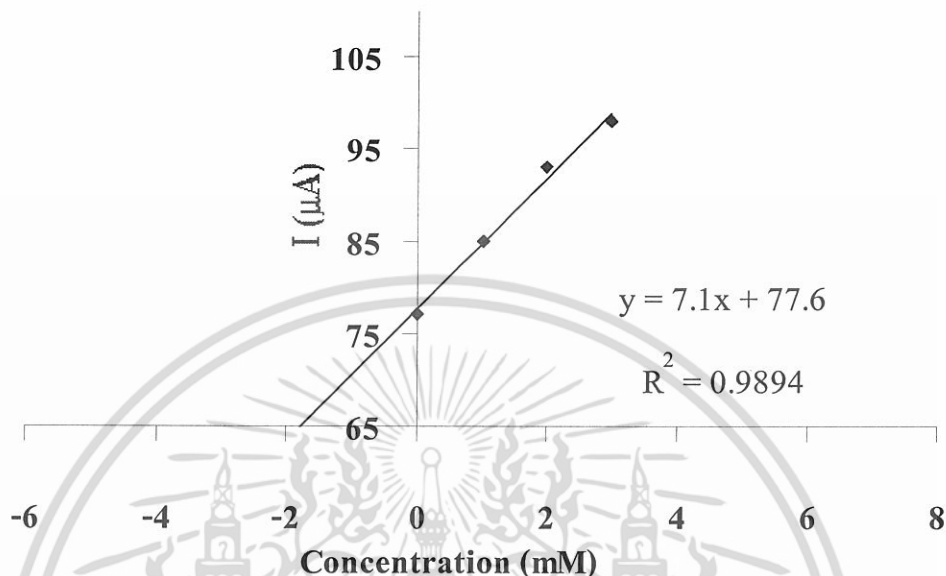
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑.4 ปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง เครื่องดื่มเกลือแร่เอ็มสปอร์ต พลัส ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐานในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี วัดกระแสที่ 0.400 V.

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μA)
0	62
1	85
2	93
3	98
4	102
5	105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



รูปที่ จ.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคส โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

$$y = 7.1x + 77.6$$

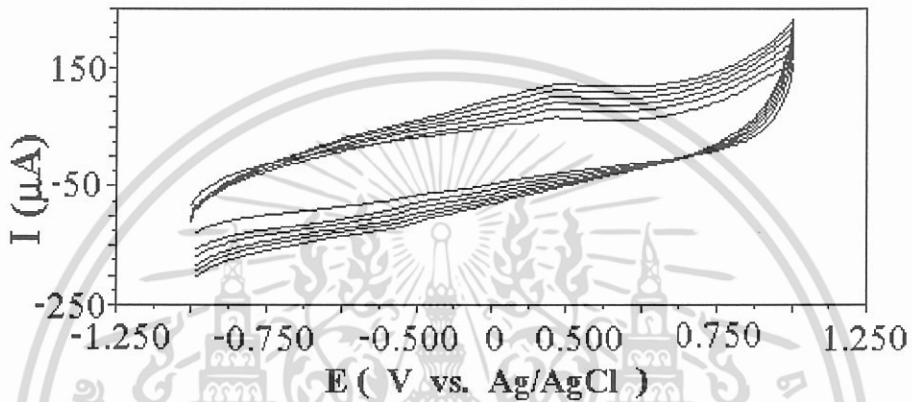
แทนค่า $y = 0$ จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 10.9296 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ Glucose Injection 50%

จ.5 กระแสที่ได้จากการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่างด้วยวิธีเดิม
ตามมาตรฐาน

◆ ใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส

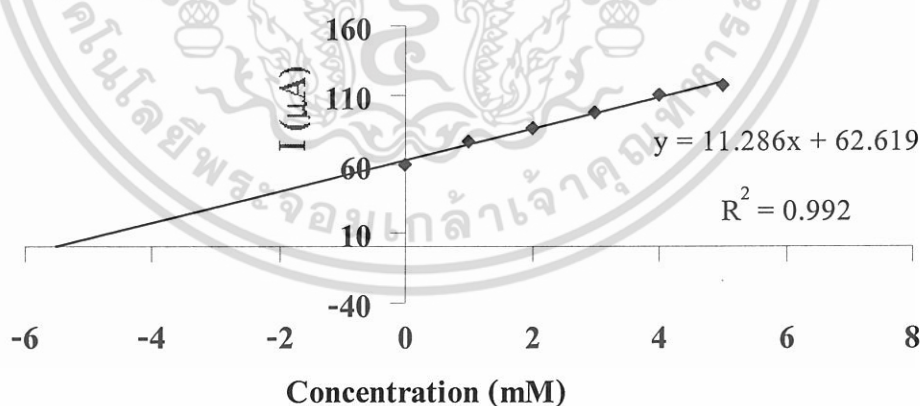


รูปที่ จ.9 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง โดยวิธีการเดิมตามมาตรฐาน ซึ่งเตรียมสารละลายความเข้มข้น 1.0 M ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M ครั้งละ 25 μ l เป็นจำนวน 5 ครั้ง (a) ตัวอย่าง 25 ml, (b) เต็มครั้งที่ 1, (c) เต็มครั้งที่ 2, (d) เต็มครั้งที่ 3, (e) เต็มครั้งที่ 4 และ (f) เต็มครั้งที่ 5 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

ตารางที่ ๑.5 ปริมาณกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันของการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง Glucose Injection 50% ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 5 เข้มข้น 0.1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี วัดกระแสที่ 0.450V

สารละลายกลูโคสที่เติม (mM)	กระแส (μA)
0	60
1	76
2	86
3	97
4	109
5	117

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส



รูปที่ ๑.10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคส โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน กับกระแสที่ตรวจวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย Prussian blue และตรึงด้วยกลูโคสออกซิเดส ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

$$y = 11.286x + 62.619$$

แทนค่า $y = 0$ จะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เท่ากับ 5.5484 mM



รูปที่ จ.11 ภาพวาดกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยวิธีเติมสารมาตรฐาน

♦ การคำนวณ Percent recovery

สามารถคำนวณได้ดังสมการ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ.6 สรุปผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	สมการที่ได้	Percent Recovery
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ชนิดผง ซี โออาร์เอส-เอส (8 ออนซ์)	$y = 6.2x + 127.13$	96.77
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ เครื่องดื่มเกลือแร่ นีโอ-ไลต์	$y = 8.4571x + 118.73$	70.94
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ชนิดผง กลูโคลิน กลูโคส-ดี	$y = 2.8571x + 71.333$	75.00
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ เครื่องดื่มเกลือแร่ เอ็มสปอร์ต พลัส	$y = 5.6x + 73.733$	70.42
ผลิตภัณฑ์เสริมเกลือแร่ Glucose Injection 50%	$y = 11.286x + 51.333$	97.46

ตารางที่ จ.7 แสดงเกณฑ์ที่ยอมรับของความถูกต้องเฉลี่ย

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้