รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ปารเมศ ชุติมา. การออกแบบการทดลองทางวิศวกรรม. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.

กิติศักดิ์ พลอยพานิชเจริญ. สถิติสำหรับงานวิศวกรรม. เล่ม 1. สำนักพิมพ์สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี(ไทย-ญี่ปุ่น), 2545.

กิติศักดิ์ พลอยพานิชเจริญ. สถิติสำหรับงานวิศวกรรม. เล่ม 2. สำนักพิมพ์สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี(ไทย-ญี่ปุ่น), 2545.

ศิริชัย พงษ์วิชัย. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2548.

กิตติพล กสิภาร์. การผลิตพอลิ (บีตาไฮดรอกซีบิวทีเรต-โค-บีตา ไฮดรอกซีวาเลอเรต) จากกลูโคสและกรดโพรพิโอนิคด้วย *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบกึ่งต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.

ภาษาอังกฤษ

Caramori SS, Fernandes KF. Covalent immobilisation of horseradish peroxidase onto poly (ethylene terephthalate)–poly(aniline) composite. Process Biochemistry 39(2004) : 883–888.

Cetinus S , Nursevin Oztop H.N. Immobilization of catalase on chitosan film. Enzyme and Microbial Technology 26(2000): 497–50.

Chellapandian M, Krishnan MRV. Chitosan-poly (glycidyl methacrylate) copolymer for immobilization of urease.(1997)

Cheng J, Yu SM, Zuo P. Horseradish peroxidase immobilized on aluminum-pillared interlayered clay for the catalytic oxidation of phenolic wastewater .water research 40(2006): 283-290.

Delanoy G , Li Q , Yu J. Activity and stability of laccase in conjugation with chitosan. International Journal of Biological Macromolecules 35(2005): 89–95.

Fernandes KF, Lima CS, Pinho H, Collins CH. Immobilization of horseradish peroxidase onto polyaniline polymers .Process Biochemistry 38,(2003): 1379 - 1384.

Gaspara S , HabermuÈllerb K , CsoÈregia E , Schuhmann W. Hydrogen peroxide sensitive biosensor based on plant peroxidases entrapped in Os-modied polypyrrole. Sensors and Actuators B 72 (2001):63- 68.

Haizhen Huanga , Qiang Yuanb , Xiurong Yanga. Preparation and characterization of metal–chitosan nanocomposites. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 39(2004): 31–37 .

Hsieh B-C, Cheng T-J, Wang T-Y, Chen RLC . Use of chitosan membrane from the carapace of the soldier crab *Mictyris brevidactylus* for biosensor construction. Mar Biotechnol 5(2003): 119–125.

I.M. Yakutik , G.P. Shevchenko. Self-organization of silver nanoparticles forming on chemical reduction to give monodisperse spheres. Surface Science 566–568(2004) :414–418 .

Kashiwagi Y , Yamamoto M , Nakamoto M. Facile size-regulated synthesis of silver nanoparticles by controlled thermolysis of silver alkylcarboxylates in presence of alkylamines with different chain lengths. Journal of Colloid and Interface Science 300(2006): 169-175.

Krajewska B. Application of chitin and chitosan based materials for enzyme immobilizations. Enzyme and Microbial Technology 35(2004): 126–139.

Lei C-X, Hu SQ, Shen G-L, Yu R-Q. Immobilization of horseradish peroxidase to a nano-Au monolayer modified chitosan-entrapped carbon paste electrode for the detection of hydrogen peroxide. Talanta 59(2003): 981–988.

Liu Y, Wang M , Zhao F, Xu Z, Dong S. The direct electron transfer of glucose oxidase and glucose biosensor based on carbon nanotubes/chitosan matrix. Biosensors and Bioelectronics 21(2005): 984–988.

Luo X-L , Xu J-J , Zhang Q, Yang G-J , Chen H-Y. Electrochemically deposited chitosan hydrogel for horseradish peroxidase immobilization through gold nanoparticles self-assembly. Biosensors and Bioelectronics 21(2005): 190–196.

Luo X-L , Xu J-J , Du Y, Chen H-Y. A glucose biosensor based on chitosan–glucose oxidase–gold nanoparticles biocomposite formed by one-step electrodeposition. Analytical Biochemistry 334(2004):284–289.

Miao Y, Chia LS, Goh NK, Tan SN. Amperometric glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in chitosan matrix cross-linked with glutaraldehyde. Electroanalysis 13(2001): 347–349 .

Ozyilmaz G, Tukel S S , Alptekin O. Activity and storage stability of immobilized glucose oxidase onto magnesium silicate. Journal of Molecular Catalysis B 35(2005): 154 – 160.

Qian L, Yang X . Composite film of carbon nanotubes and chitosan for preparation of amperometric hydrogen peroxide biosensor. Talanta 68(2006): 721–727.

Ramanavicius A ,Kausaite A, Ramanaviciene A. Polypyrrole-coated glucose oxidase nanoparticles for biosensor design. Sensors and Actuators B 111–112(2005): 532–539

Rauf S, Ihsan A , Akhtar K , Ghauri MA, Rahman M, Anwar MA Khalid AM. Glucose oxidase immobilization on a novel cellulose acetate– polymethylmethacrylate membrane. Journal of Biotechnology 121(2006): 351-360.

Ren X , Meng X , Chen D, Tang F, Jiaob J. Using silver nanoparticle to enhance current response of biosensor. Biosensors and Bioelectronics 21(2005): 433–43.

Ren X , Meng X , Tang F . Preparation of Ag–Au nanoparticle and its application to glucose biosensor . Sensors and Actuators B110(2005): 358–363.

Salimia A , Comptonb RG, Hallaja R. Glucose biosensor prepared by glucose oxidase encapsulated sol-gel and carbon-nanotube-modified basal plane pyrolytic graphite electrode. Analytical Biochemistry 333(2004):49–56.

Sean B , Dyer N, Anthony G . Polypyrrole-hydrogel composites for the construction of clinically important biosensors. Biosensors Bioelectronics 17 (2002): 53–59.

Sugawara K, Takano T, Fukushi H, Hoshi S, Akatsuka K,Kuramitz H. Glucose sensing by a carbon-paste electrode containing chitin modified with glucose oxidase. Jounal of Electroanal Chem (2000):81-86.

Takahashi H, Li B, Sasaki T, Miyazaki C, Kajino T, Inagaki S. Immobilized enzymes in ordered mesoporous silica materials and improvement of their stability and catalytic activity in an organic solvent. Micropor and Mesopor Mater 44-45(2001):755-762 .

Tanin Tangkuaram , Chatchai Ponchio, Thippayawadee Kangkasomboon,Panadda Katikawong, Waret Veerasai . Design and development of a highly stable hydrogen peroxide biosensor on screen printed carbon electrode based on horseradish peroxidase bound with gold nanoparticles in the matrix of chitosan . Biosensors and Bioelectronics (2006)

Taniai T, Sakuragawa A, Okutani T. Fluorometric determination of glucose by flow injection analysis using immobilized enzyme-reactor columns prepared by coupling glucose oxidase and peroxidase onto chitosan bead. Anal Sci 16(2000): 517–521.

Tang Z-X , Qian J-Q , Shi L-E . Characterizations of immobilized neutral proteinase on chitosan nano-particles . Process Biochemistry 41(2006): 1193–1197.

Wang G, Xu J-J , Chen H-Y , Lu Z-H . Amperometric hydrogen peroxide biosensor with sol-gel/chitosan network-like film as immobilization matrix . Biosensors and Bioelectronics 18(2003): 335 - 343 .

Wang G, Xu J-J, Ye L-H, Zhu J-J , Chen H-Y. Highly sensitive sensors based on the immobilization of tyrosinase in chitosan. Bioelectrochemistry 57(2002): 33– 38.

Wang SG, Zhang Q, Wang R , Yoon SF. A novel multi-walled carbon nanotube-based biosensor for glucose detection. Biochemical and Biophysical Research Communications 311(2003): 572 –576.

Wang Y, Zhu J, Zhu R, Zhu Z, Lai Z, Chen Z . Chitosan/Prussian blue-based biosensors. Meas Sci Technol 14(2003): 831–836.

Xi-Liang Luo, Jing-Juan Xu , Qing Zhang, Gong-Jun Yang, Hong-Yuan Chen . Electrochemically deposited chitosan hydrogel for horseradish peroxidase immobilization through gold nanoparticles self-assembly . Biosensors and Bioelectronics 21(2005): 190–196.

Xua J-Z , Zhangb Y, Lia G-X , Zhub J-J . An electrochemical biosensor constructed by nanosized silver particles doped sol–gel film . Materials Science and Engineering 24(2004): 833–836 .

Xu J-J , Luo X-L , Du Y, Chen H-Y. Application of MnO2 nanoparticles as an eliminator of ascorbate interference to amperometric glucose biosensors. Electrochemistry Communications 6(2004): 1169–1173.

Xu Q, Mao C, Liu N-N , Zhu J-J , Sheng J . Direct electrochemistry of horseradish peroxidase based on biocompatible carboxymethyl chitosan–gold nanoparticle nanocomposite. Biosensors and Bioelectronics (2006)

Xu Q ,Mao C , Liu N-N , Zhu J-J , Jian Shen . Immobilization of horseradish peroxidase on O -carboxymethylated chitosan/sol –gel matrix. Reactive &Functional Polymers (2006)

Yang M , Jiang J, Yang Y , Chen X , Shen G , Yu R. Carbon nanotube/cobalt hexacyanoferrate nanoparticle-biopolymer system for the fabrication of biosensors. Biosensors and Bioelectronics (2005)

Yang Y, Yang H, Yang M, Liu Y, Shen G, Yu R . Amperometric glucose biosensor based on a surface treated nanoporous ZrO2/Chitosan composite film as immobilization matrix. Analytica Chimica Acta 525(2004): 213–220.

Yang M , Yang Y, Yang H, Shen G, Yu R. Layer-by-layer self-assembled multilayer films of carbon nanotubes and platinum nanoparticles withpolyelectrolyte for the fabrication of biosensors. Biomaterials 27(2006): 246–255.

Zhou G-J, Wang G, Xu J-J, Chen H-Y. Reagentless chemiluminescence biosensor for determination of hydrogen peroxide based on the immobilization of horseradish peroxidase on biocompatible chitosan membrane. Sens Actuators B 81(2002): 334–339.

Zhu J, Zhu Z, Lai Z, Wang R, Guo X, Wu X, et al. Planar. Amperometric glucose sensor based on glucose oxidase immobilized by chitosan film on Prussian blue layer. Sensors 2(2002): 127–136.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ข้อมูลผลการทดลอง

ภาคผนวก ก

ก.1 ขนาดอนุภาคนาโนเงิน

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยการเติมตัวรีดิวซ์ คือ โซเดียมโบโรไฮไดร์ 0.01 โมล่าร์ลงไปในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 0.001 โมล่าร์ ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและรีดักชั่น เปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีขาวใสไปเป็นสีเขียวเข้ม จากนั้นจึงนำสารละลายที่ได้นี้ไปวัดขนาดของอนุภาคนาโนเงินด้วยเครื่อง particle size analyzer โดยจะมีขนาดของอนุภาคนาโนเงินดังนี้

ตารางที่ ก.1 แสดงขนาดของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที เป็นเวลา 90 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.2)

ขนาด (นาโนเมตร)	จำนวน (%)	ขนาด (นาโนเมตร)	จำนวน (%)
20-22	0.36	80-89	8.08
22-25	1.22	89-100	6.56
25-28	2.15	100-112	5.13
28-32	3.13	112-126	3.84
32-36	4.17	126-142	2.77
36-40	5.26	142-159	1.89
40-45	6.42	159-178	1.21
45-50	7.62	178-200	0.72
50-56	8.89	200-224	0.36
56-63	10.16	224-252	0.12
63-71	10.50	252-283	0.03
71-80	9.41	283-317	0.00

ก.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยา

1. พีเอชของไคโตซานต่อเอนไซม์ตรึงรูป

การทดลองหาค่าพีเอชของไคโตซานที่เหมาะสมสำหรับการห่อหุ้มเอนไซม์ฮอร์สแรดิช เปอร์ออกซิเดสในไคโตซานที่ปราศจากอนุภาคนาโนเงิน โดยจะทำการตรึงเอนไซม์ 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในไคโตซานที่พีเอช 4 5 และ 6 แล้วทิ้งให้แห้งเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นไพโรแกลลอล 0.013 โมล่าร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.050 โมล่าร์ ซึ่งจะมีผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ ก.2 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ตรึงรูปในไคโตซานที่ปราศจากอนุภาคนาโนเงินที่พีเอช 4 5 และ 6 โดยทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.5)

ค่าพีเอชของไคโตซาน	กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์)
4	0.73
5	2.33
6	0.66

2. ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่อการทำงานของเอนไซม์อิสระ

การทดลองหาความเข้มข้นของสารตั้งต้นไพโรแกลลอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์อิสระที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.012 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยจะทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้นดังนี้

2.1 ความเข้มข้นของไพโรแกลลอล

ทดลองศึกษาความเข้มข้นของไพโรแกลลอลทั้งหมด 7 ค่า คือ 0.030 , 0.040 , 0.050 , 0.060 , 0.075 , 0.085 และ 0.100 โมล่าร์ โดยมีความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์คงที่ที่ 0.50 โมล่าร์ ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์มีดังนี้

ตารางที่ ก.3 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์อิสระที่ความเข้มข้นของไพโรแกลลอลต่างๆ โดยที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์คงที่ที่ 0.50 โมล่าร์ และวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.6)

ความเข้มข้นของไพโรแกลลอล (โมล่าร์)	อัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์)
0.030	344.60
0.040	486.00
0.050	530.26
0.060	542.00
0.075	604.60
0.085	410.20
0.100	349.46

2.2 ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ทดลองศึกษาความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทั้งหมด 4 ค่า คือ 0.10 , 0.25 , 0.50 และ 0.60 โมล่าร์ โดยที่ความเข้มข้นของไพโรแกลลอลคงที่ที่ 0.075โมล่าร์ (จากข้อ 2.1) ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์มีดังนี้

ตารางที่ ก.4 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์อิสระที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ โดยมีความเข้มข้นของไพโรแกลลอลคงที่ที่ 0.075 โมล่าร์ และวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.7)

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (โมล่าร์)	อัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์)
0.10	93.73
0.25	114.83
0.50	604.60
0.60	405.00

3. <u>ความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่อการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูป</u>

การทดลองหาความเข้มข้นของสารตั้งต้นไพโรแกลลอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ตรึงรูปที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยจะทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้นดังนี้

3.1 ความเข้มข้นของไพโรแกลลอล

ทดลองศึกษาความเข้มข้นของไพโรแกลลอลทั้งหมด 5 ค่า คือ 0.060 , 0.065 ,0.070 , 0.075 และ 0.100 โมล่าร์ โดยมีความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์คงที่ที่ 0.50 โมล่าร์ ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์มีดังนี้

ตารางที่ ก.5 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปที่ความเข้มข้นของไพโรแกลลอลต่างๆ โดยมีความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์คงที่ 0.50 โมล่าร์ และวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.8)

ความเข้มข้นของไพโรแกลลอล (โมล่าร์)	อัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์)
0.060	56.56
0.065	54.73
0.070	60.16
0.075	70.75
0.100	48.50

3.2 ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ทดลองศึกษาความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทั้งหมด 5 ค่า คือ 0.10 , 0.25 , 0.50 และ 0.60 โมล่าร์ โดยมีความเข้มข้นของไพโรแกลลอลคงที่ที่ 0.075โมล่าร์ (จากข้อ 3.1) ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์มีดังนี้

ตารางที่ ก.6 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ โดยมีความเข้มข้นของไพโรแกลลอลคงที่ที่ 0.075 โมล่าร์ และวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.9)

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (โมล่าร์)	อัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์)
0.10	47.70
0.25	50.76
0.40	56.46
0.50	70.70
0.60	50.36

4. <u>ขนาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานต่อการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูป</u>

การทดลองหาขนาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาเอนไซม์ โดยทำการตรึงเอนไซม์ 0.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในไคโตซานที่พีเอช 5 ซึ่งปราศจากอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ แล้วทิ้งให้แห้งเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาตัดแบ่งเป็น 3 ขนาด คือ ตัดละเอียด 0.3 x 0.3 และ 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นไพโรแกลลอล 0.075 โมล่าร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.50 โมล่าร์ ซึ่งจะได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ ก.7 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ตรึงรูปในไคโตซานที่ปราศจากอนุภาคนาโนเงินที่ขนาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบตัดละเอียด 0.3 x 0.3 และ 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร โดยทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.11)

ขนาดของแผ่นฟิล์มไคโตซาน(เซนติเมตร^2)	กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์)
ตัดละเอียด	58.83
0.3 x 0.3	69.50
0.5 x 0.5	76.00

ก.3 สภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสในวัสดุประกอบแต่งไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบ box-behnken

ในการทดลองตอนนี้จะเป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสในวัสดุประกอบแต่งไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินด้วยการออกแบบการทดลองแบบ box-behnken ด้วยโปรแกรม minitab ซึ่งมีตัวแปรที่สำคัญ 3 ตัวแปร คือ ความเข้มข้นของไคโตซาน (0.5 – 1.5 %น้ำหนัก/ปริมาตร) ความเข้มข้นของเอนไซม์ (0.05- 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และความเข้มข้นของอนุภาคนาโนเงิน (0.4×10^{-2} - 1.2×10^{-2}นาโนโมล่าร์) แล้วทำการตรึงเอนไซม์ตามที่โปรแกรมได้ออกแบบไว้ จากนั้นนำไปวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โดยจะมีผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ ก.8 แสดงกิจกรรมเอนไซม์ที่ได้จากการทดลองตามวิธีออกแบบการทดลองแบบ box-behnken

การทดลองที่	ความเข้มข้นของตัวแปร			กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัม)
	ไคโตซาน (%น้ำหนัก/ปริมาตร)	อนุภาคนาโนเงิน (นาโนโมล่าร์)	เอนไซม์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	
1	0.5	1.2×10^{-2}	0.10	147.46
2	1.0	1.2×10^{-2}	0.05	71.46
3	1.0	0.4×10^{-2}	0.05	76.66
4	0.5	0.8×10^{-2}	0.05	78.86
5	0.5	0.8×10^{-2}	0.15	231.83
6	1.0	1.2×10^{-2}	0.15	22.66
7	1.5	1.2×10^{-2}	0.10	8.65
8	1.0	0.4×10^{-2}	0.15	23.20
9	1.5	0.8×10^{-2}	0.05	18.26
10	1.5	0.4×10^{-2}	0.10	13.36
11	1.5	0.8×10^{-2}	0.15	9.66
12	1.0	0.8×10^{-2}	0.10	37.46
13	0.5	0.4×10^{-2}	0.10	226.56
14	1.0	0.8×10^{-2}	0.10	51.60
15	1.0	0.8×10^{-2}	0.10	43.06

ก.4 เสถียรภาพการนำกลับมาใช้ใหม่ของเอนไซม์

การทดลองนี้จะเป็นการศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของเอนไซม์ตรึงรูปที่สภาวะเหมาะสม (จากการทดลองหัวข้อ 5.3) โดยตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของสารละลายไคโตซาน ในไคโตซาน 0.5 % น้ำหนัก/ปริมาตรซึ่งมีอนุภาคนาโนเงิน 0.4×10^{-2} นาโนโมล่าร์ แล้วนำไปวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ซ้ำไปเรื่อยๆ ซึ่งจะมีผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ ก.9 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ของเอนไซม์ตรึงรูปที่มีอนุภาคนาโนเงินและไม่มีอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ หลังจากใช้ทดสอบการเร่งปฏิกิริยาในแต่ละครั้ง ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.18)

ครั้งที่	เอนไซม์ตรึงรูปที่มีอนุภาคนาโนเงิน		เอนไซม์ตรึงรูปที่ไม่มีอนุภาคนาโนเงิน	
	กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัม เอนไซม์)	กิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือ(%)	กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัม เอนไซม์)	กิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือ(%)
1	221.33	100.00	206.04	100.00
2	139.64	63.09	117.51	57.03
3	47.33	21.38	38.48	18.68
4	6.97	3.15	4.57	2.22
5	0.31	0.14	0.24	0.12

ก.5 เสถียรภาพการเก็บรักษาของเอนไซม์

การทดลองนี้จะศึกษาเสถียรภาพการเก็บรักษาของวัสดุตรึงเอนไซม์ที่สภาวะเหมาะสม(จากการทดลองหัวข้อ 5.3) ซึ่งจะเตรียมเอนไซม์ตรึงรูปตามหัวข้อ 5.5.1 แล้วเก็บรักษาเอนไซม์ตรึงรูปในแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ และเอนไซม์อิสระไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ตรึงรูปและเอนไซม์อิสระที่เก็บรักษาไว้นั้นทุกๆสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 30 วัน

ตารางที่ ก.10 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ของเอนไซม์ตรึงรูป และเอนไซม์อิสระที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้องในแต่ละสัปดาห์ ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.19)

สัปดาห์	กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์)					
	เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส			เก็บที่อุณหภูมิห้อง		
	เอนไซม์อิสระ	เอนไซม์ตรึงรูป		เอนไซม์อิสระ	เอนไซม์ตรึงรูป	
		อนุภาคนาโนเงิน	ไม่มีอนุภาคนาโนเงิน		อนุภาคนาโนเงิน	ไม่มีอนุภาคนาโนเงิน
0	426.55	231.53	206.04	426.55	231.53	206.04
1	423.11	57.26	42.57	400.88	49.20	40.44
2	414.22	10.85	11.62	358.44	14.92	10.88
3	402.22	0.60	0.76	219.66	0.80	0.71
4	334.77	0.48	0.46	183.44	0.49	0.57

ตารางที่ ก.11 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ของเอนไซม์ตรึงรูป และเอนไซม์อิสระที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้องในแต่ละสัปดาห์ ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร บนเครื่องปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 170 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6 (ข้อมูลดิบประกอบรูปที่ 5.19)

สัปดาห์	กิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือ (%)					
	เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส			เก็บที่อุณหภูมิห้อง		
	เอนไซม์อิสระ	เอนไซม์ตรึงรูป		เอนไซม์อิสระ	เอนไซม์ตรึงรูป	
		อนุภาคนาโนเงิน	ไม่มีอนุภาคนาโนเงิน		อนุภาคนาโนเงิน	ไม่มีอนุภาคนาโนเงิน
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
1	99.19	24.73	20.66	93.98	21.25	19.62
2	97.10	4.68	5.64	84.03	6.44	5.28
3	94.29	0.25	0.37	51.54	0.34	0.34
4	78.48	0.20	0.22	43.00	0.21	0.278

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววิชุพร สุขสมพงษ์ เกิดวันที่ 11 มิถุนายน พ.ศ. 2526 จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาที่โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยรามคำแหง และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โดยสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2547 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปีการศึกษา 2548