

## บทที่ 6

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 6.1 สรุปผลการทดลอง

##### 6.1.1 ขนาดอนุภาคนาโนเงิน

1. ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยการเติมตัวรีดิวซ์ คือ สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 0.001 โมลาร์ และสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 0.01 โมลาร์ โดยจะมีขนาดของอนุภาคนาโนเงินเฉลี่ย 37 นาโนเมตร

##### 6.1.2 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยา

1. พีเอชของโคโตซานที่เหมาะสมสำหรับการห่อหุ้มเอนไซม์ในโคโตซานที่ปราศจากอนุภาคนาโนเงิน คือ พีเอช 5 ซึ่งให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุด 2.33 ยูนิต/ มิลลิกรัมเอนไซม์
2. ความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยาเอนไซม์อิสระ 0.012 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเอนไซม์ตรึงรูป 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร คือ ไพโรแกลลอล 0.075 โมลาร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 โมลาร์ ซึ่งให้ค่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์สูงสุด 604.60 และ 70.75 ยูนิต/ มิลลิกรัมเอนไซม์ ตามลำดับ
3. ขนาดของฟิล์มโคโตซานที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยาเอนไซม์ตรึงรูป คือ ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร โดยให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุด 76.00 ยูนิต/ มิลลิกรัมเอนไซม์

##### 6.1.3 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสในวัสดุประกอบแต่งโคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบ box-behken

1. ลำดับของตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อกิจกรรมเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสที่ถูกห่อหุ้มในโคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ คือ ความเข้มข้นของโคโตซาน ความเข้มข้นของเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส และความเข้มข้นของอนุภาคนาโนเงิน ตามลำดับ
2. แบบจำลองแบบ full quadratic เป็นแบบจำลองที่อธิบายความสัมพันธ์ของกิจกรรมเอนไซม์กับตัวแปรต่างๆที่ได้จากการออกแบบการทดลองแบบ box-behken ได้เหมาะสมที่สุดที่ระดับความเชื่อมั่น 97.5 % โดยมีรูปแบบจำลองที่ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{กิจกรรมเอนไซม์} = & 332.159 - 436.008\text{Chitosan} - 220.853\text{Agnano} + \\ & 207.024\text{HRP} + 182.246\text{Chitosan}^2 + 58.781\text{Agnano}^2 \\ & - 19.797\text{HRP}^2 + 2.987\text{Chitosan}*\text{Agnano} \\ & - 61.573\text{Chitosan}*\text{HRP} + 5.834\text{Agnano}*\text{HRP} \end{aligned}$$

3. สภาวะที่เหมาะสมในการห่อหุ้มเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสในไลโดซานที่มีอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ คือ ความเข้มข้นของไลโดซาน 0.5 % น้ำหนัก/ปริมาตร ความเข้มข้นของเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นของอนุภาคนาโนเงิน  $0.4 \times 10^{-2}$  นาโนโมลาร์ โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ประมาณ 230 ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์ โดยสภาวะที่เหมาะสมนี้จะนำไปใช้ในการศึกษาลักษณะทางกายภาพและเสถียรภาพของวัสดุประกอบดังกล่าว

#### 6.1.4 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของวัสดุประกอบแต่งที่เหมาะสมด้วย TEM

1. รูปร่างของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะคล้ายรูปทรงกลม โดยมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 37 นาโนเมตร และการกระจายตัวของอนุภาคนาโนเงินส่วนใหญ่เป็นอนุภาคเดี่ยวๆ ค่อนข้างสม่ำเสมอในไลโดซาน

#### 6.1.5 ศึกษาเสถียรภาพของวัสดุประกอบแต่งที่เหมาะสม

1. การนำกลับมาใช้ใหม่ของเอนไซม์ตรึงรูปทั้งที่มีอนุภาคนาโนเงินและไม่มีอนุภาคนาโนเงินมีเสถียรภาพที่ต่ำมาก ทั้งนี้มีกิจกรรมเอนไซม์ลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่ 3 ครั้งแรก และลดลงจนเกือบหมดในครั้งที่ 5 ทุกกรณี
2. การเก็บรักษาของเอนไซม์ตรึงรูปทั้งที่มีอนุภาคนาโนเงินและไม่มีอนุภาคนาโนเงิน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้องนั้นมีเสถียรภาพต่ำมากตั้งแต่สัปดาห์แรก โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ในช่วง 20 % จากเริ่มต้นทุกกรณี และลดลงเกือบหมดในสัปดาห์ที่ 3 ทุกกรณี

## 6.2 ข้อเสนอแนะ

1. จากการทดลองที่ใช้ระเบียบวิธีในการออกแบบการทดลอง พบว่า สภาวะเหมาะสมที่ได้นั้นอยู่ที่ริมขอบเขตของตัวแปรทั้ง 3 ตัวแปร จึงอาจเป็นไปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมนั้นอาจจะไม่ใช่ค่าที่ดีที่สุด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปอีกเพื่อให้ได้ค่าที่เหมาะสมที่แท้จริง
2. จากการทดลองเสถียรภาพการนำกลับมาใช้ใหม่และการเก็บรักษาของเอนไซม์ ครึ่งรูปในงานวิจัยนี้พบว่ามีเสถียรภาพค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับเสถียรภาพของ เอนไซม์อิสระ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับวัสดุที่จะช่วยในการรักษาเสถียรภาพเอนไซม์ และควรมีการปรับปรุงรูปแบบการเก็บรักษาให้มีความเหมาะสมต่อไป