การห่อหุ้มเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสในวัสดุประกอบแต่งไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงิน

นางสาววิชุพร สุขสมพงษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ENTRAPMENT OF HORSERADISHPEROXIDASE IN CHITOSAN - SILVER NANOPARTICLE COMPOSITE

Miss Vichuporn Suksompong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

501837

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การห่อหุ้มเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสในวัสดุประกอบแต่งไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงิน
โดย	นางสาว วิชุพร สุขสมพงษ์
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สีรุ้ง ปรีชานนท์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. ดิเรก ลาวัณย์ศิริ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เหมือนเดือน พิศาลพงศ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สีรุ้ง ปรีชานนท์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จรัญ ฉัตรมานพ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อาทิวรรณ โชติพฤกษ์)

วิชุพร สุขสมพงษ์ : การห่อหุ้มเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสในวัสดุประกอบแต่งไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงิน (ENTRAPMENT OF HORSERADISHPEROXIDASE IN CHITOSAN - SILVER NANOPARTICLE COMPOSITE)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร. สีรุ้ง ปรีชานนท์ , 80 หน้า

งานวิจัยนี้ศึกษาการตรึงเอมไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสด้วยวิธีการห่อหุ้มในไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ เพื่อศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส ไคโตซาน และอนุภาคนาโนเงินต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูปในด้านความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา เสถียรภาพในการทำงานและการเก็บรักษา โดยในงานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็นสองส่วน งานวิจัยส่วนแรกศึกษาอิทธิพลของพีเอชของสารละลาย ไคโตซาน (4 , 5 และ 6) ขนาดของฟิล์มไคโตซาน (ตัดละเอียด 0.3 x 0.3 และ 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร) และความเข้มข้นของสารตั้งต้น (ไพโรแกลลอล 0.03 - 0.10 โมล่าร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.10 - 0.60 โมล่าร์) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ซึ่งทำให้ได้ค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะสูงสุด คือ พีเอชของสารละลายไคโตซานเท่ากับ 5 ขนาดของฟิล์มไคโตซาน 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร และความเข้มข้นของไพโรแกลลอล 0.075 โมล่าร์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.50 โมล่าร์ จากข้อมูลในส่วนแรกนำมาใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการตรึงรูปเอนไซม์ในวัสดุประกอบแต่งไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีการเติมตัวรีดิวซ์มีขนาดเฉลี่ยเท่ากับ 37 นาโนเมตร ด้วยระเบียบวิธีการออกแบบการทดลอง โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเอนไซม์ (0.05 , 0.10 และ 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ความเข้มเข้มข้นของไคโตซาน(0.5 , 1.0 และ 1.5 % น้ำหนัก/ปริมาตร) และความเข้มข้นของอนุภาคเงิน (0.4×10^{-2} , 0.8×10^{-2} และ 1.2×10^{-2} นาโนโมล่าร์) พบว่า ค่ากิจกรรมเอนไซม์จำเพาะสูงที่สุด คือ 230 ยูนิต/มิลลิกรัมเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส 0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นของไคโตซาน 0.5 % น้ำหนัก/ปริมาตร และความเข้มข้นของอนุภาคนาโนเงิน 0.4×10^{-2} นาโนโมล่าร์ แต่อย่างไรก็ตามกลับพบว่า การนำกลับมาใช้ใหม่ และการเก็บรักษาเอนไซม์ตรึงรูปในวัสดุประกอบแต่งที่ภาวะเหมาะสมนี้มีเสถียรภาพที่ต่ำมาก โดยพบว่า มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่เพียง 21.38 % หลังจากนำกลับมาใช้ใหม่เป็นครั้งที่ 3 ครั้ง และมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่เพียง 4.68 % และ 6.44 % หลังจากเก็บรักษาไว้ 2 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ตามลำดับ

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2550

4870467821 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING
KEY WORD: ENTRAPMENT / HORSERADISHPEROXIDASE / SILVER NANOPARTICLE
VICHUPORN SUKSOMPONG : (ENTRAPMENT OF HORSERADISHPEROXIDASE IN CHITOSAN - SILVER NANOPARTICLE COMPOSITE)
THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SEEROONG PRICHANONT, 80 pp.

In this research, the immobilization of horseradish peroxidase into the chitosan incorporated silver nanoparticles with entrapment method was studied. The focus was given on the study of effects of horseradish peroxidase, chitosan, and silver nanoparticles concentrations on efficiency of immobilized enzyme based on reaction rate , maintenance and storage stability. In this study, the experiment was divided into two parts. First , the effect of pH of chitosan solution (4 , 5 and 6), size of chitosan film (delicately cut , 0.3 x 0.3 and 0.5 x 0.5 cm^2), and substrate concentrations (pyrogallol, 0.03 - 0.10 M and hydrogenperoxide, 0.10 - 0.60 M) were studied . The optimum conditions for enzyme activity were determined at pH 5 of chitosan solution, 0.5 x 0.5 cm^2 of chitosan film size, 0.075 M pyrogallol , and 0.50 M hydrogenperoxide . Data from the first part were further applied to investigate with experimental design for optimum conditions of enzyme immobilization in chitosan incorporated silver nanoparticles. The silver nanopartilces , synthesized using reducing agents, had average size of 37 nm. The concentrations of enzyme solution (0.05, 0.10, and 0.15 mg/ml), chitosan solution (0.5, 1.0, and 1.5% w/v), and silver nanoparticles (0.4 $x10^{-2}$, 0.8 $x10^{-2}$, and 1.2 $x10^{-2}$nM) were studied. The optimum conditions for enzyme reaction was found at 0.15 mg/ml of horseradish peroxidase, 0.5% w/v of chitosan , and 0.4 $x10^{-2}$ nM of silver nanoparticles with the specific activity of 230 U/mg-enzyme. However, maintenance and storage stability of immobilized enzyme under this optimum conditions was quite low. The residue activity of immobilized enzyme was 21.38 % after 3 cycles of operation. After storing the immobilized enzyme at 4 °C and room temperature for 2 weeks, the residue activity were determined at 4.68 % and 6.44 %, respectively.

Department Chemical Engineering Student's signature.....
Field of study Chemical Engineering Advisor's signature.....
Academic year 2007

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายๆท่าน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์ ที่ได้ให้คำแนะนำวิธีการทำงานวิจัย ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

อาจารย์กิตติพล กสิภาร์ ที่ได้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับเรื่อง experimental design และการใช้โปรแกรม minitab

คุณเนาวรัตน์ และคุณสุขเกษม จากบริษัท สินไทยเอนเตอร์ไพรส์ จำกัด ที่กรุณาเป็นธุระในการสั่งซื้อเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสในราคาที่เป็นกันเอง

คุณวิไลวรรณ ช่วยยก (พี่หมุด) ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย และให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

งานวิจัยนี้จะสำเร็จลงไม่ได้ถ้าขาดบุคคลเหล่านี้ นางสาวจุฑามาส รุจิสมนภาที่ให้คำปรึกษาข้อแนะนำในการทำงานวิจัยและช่วยประกอบอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย นางสาวเลิศลักษณ์ แก้ววิมล นางสาวปัทมา กาบคำ สำหรับคำแนะนำในการเขียนวิทยานิพนธ์และการใช้คอมพิวเตอร์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา เพื่อนพ้องทั้งหลายสำหรับกำลังใจและให้ความสนับสนุนในการศึกษาตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ฌ
สารบัญรูป.....ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ที่มาของงานวิจัย.....1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3
1.4 ขอบเขตงานวิจัย.....3
บทที่ 2 ทฤษฎี.....5
2.1 เอนไซม์.....5
2.2 เอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส.....10
2.3 ไคโตซาน.....11
2.4 อนุภาคนาโนเงิน.....12
2.5 ไบโอเซนต์เซอร์.....14
บทที่ 3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....17
3.1 ไคโตซาน.....17
3.2 อนุภาคนาโนของโลหะ.....18
3.3 คาร์บอนนาโนทิวบ์และวัสดุอื่นๆ.....20
บทที่ 4 อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง.....22
4.1 อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์.....22
4.2 วิธีการทดลอง.....23
บทที่ 5 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง.....28
5.1 ขนาดอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้.....28
5.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยา.....32

หน้า

5.3 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส ในวัสดุประกอบแต่งไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบ box-behnken.....42
5.4 ลักษณะของวัสดุประกอบแต่งที่สภาวะเหมาะสม.....57
5.5 เสถียรภาพของเอนไซม์ในวัสดุประกอบแต่งที่สภาวะเหมาะสม.....58
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....62
6.1 สรุปผลการทดลอง.....62
6.2 ข้อเสนอแนะ.....64
รายการอ้างอิง.....65
ภาคผนวก.....70
ภาคผนวก ก ข้อมูลผลการทดลอง.....71
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....80

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงการตรึงรูปเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนซ์บนวัสดุตรึง....8
ตารางที่ 2.2 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะที่แตกต่างกันของการตรึงรูปเอนไซม์ด้วยวิธีการต่างๆ....9
ตารางที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารตั้งต้นทั้งกรณีเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป....26
ตารางที่ 4.2 แสดงตัวแปรและระดับของตัวแปร....26
ตารางที่ 5.1 แสดงกิจกรรมเอนไซม์ที่ได้จากการทดลองตามวิธีออกแบบการทดลองแบบ box-benhken....43
ตารางที่ 5.2 แสดงลักษณะแบบจำลองพื้นผิวผลตอบแบบต่างๆ....44
ตารางที่ 5.3 แสดงค่าสถิติต่างๆในแต่ละแบบจำลอง....45
ตารางที่ 5.4 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรต่าง....45
ตารางที่ 5.5 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดลองด้วยโปรแกรม MINITAB....47
ตารางที่ 5.6 แสดงค่าสถิติทดสอบ $F\alpha_{,9,5}$ ที่ระดับนัยสำคัญต่างๆ....47
ตารางที่ 5.7 แสดงค่าสถิติทดสอบ $F\alpha_{3,2}$ ที่ระดับนัยสำคัญต่างๆ....48
ตารางที่ ก.1 แสดงขนาดของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์....72
ตารางที่ ก.2 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ตรึงรูปในไคโตซานที่ปราศจากอนุภาคนาโนเงินที่พีเอช 4 5 และ 6....73
ตารางที่ ก.3 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์อิสระที่ความเข้มข้นของไพโรแกลลอลต่างๆ....74
ตารางที่ ก.4 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์อิสระที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ....74
ตารางที่ ก.5 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปที่ความเข้มข้นของไพโรแกลลอลต่างๆ....75
ตารางที่ ก.6 แสดงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ....76
ตารางที่ ก.7 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ตรึงรูปในไคโตซานที่ปราศจากอนุภาคนาโนเงินที่ขนาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบตัดละเอียด , 0.3x0.3 และ 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร....76

หน้า

ตารางที่ ก.8 แสดงกิจกรรมเอนไซม์ที่ได้จากการทดลองตามวิธีออกแบบการทดลอง
แบบ box-behnken.....77

ตารางที่ ก.9 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ของเอนไซม์ตรึงรูปที่มีอนุภาคนาโนเงิน
และไม่มีอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ หลังจากใช้ทดสอบการเร่งปฏิกิริยา
ในแต่ละครั้ง.....78

ตารางที่ ก.10 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ของเอนไซม์ตรึงรูป และเอนไซม์อิสระ
ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้องในแต่ละสัปดาห์ 79

ตารางที่ ก.11 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ของเอนไซม์ตรึงรูป และเอนไซม์อิสระ
ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้องในแต่ละสัปดาห์.....79

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1.1 แสดงแผนการดำเนินการวิจัย....4
รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะความจำเพาะของเอนไซม์กับสารตั้งต้น....5
รูปที่ 2.2 แสดงการครอสลิงค์ของโมเลกุลเอนไซม์....7
รูปที่ 2.3 แสดงการกักและห่อหุ้มเอนไซม์....7
รูปที่ 2.4 แสดงตัวอย่างปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส....10
รูปที่ 2.5 แสดงโครงสร้างของไคติน....11
รูปที่ 2.6 แสดงโครงสร้างของไคโตซาน....11
รูปที่ 2.7 แสดงกระบวนการสังเคราะห์อนุภาคนาโนผสมระหว่างทองกับเงินในรีเวิสไมเซลล์....13
รูปที่ 2.8 แสดงการสังเคราะห์อนุภาคนาโนด้วยวิธีควบคุมด้วยความร้อน....14
รูปที่ 2.9 แสดงหลักการทำงานของไบโอเซนเซอร์....15
รูปที่ 5.1 แสดงลักษณะของสารละลายของอนุภาคนาโนเงินที่อัตราส่วนของ
ความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรตต่อความเข้มข้นของโซเดียมโบโรไฮไดร์....29
รูปที่ 5.2 แสดงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคนาโนเงินที่ได้จากการสังเคราะห์....31
รูปที่ 5.3 แสดงภาพTEMของอนุภาคนาโนเงินที่วัดด้วยเครื่อง particle size analyzer....31
รูปที่ 5.4 แสดงลักษณะของสารละลายไคโตซานที่ (ก) พีเอช 5 และ (ข) พีเอช 7....33
รูปที่ 5.5 แสดงการเปรียบเทียบค่ากิจกรรมเอนไซม์ตรึงรูปในไคโตซาน
ที่ปราศจากอนุภาคนาโนเงินที่พีเอช 4 5 และ 6....33
รูปที่ 5.6 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์อิสระ
ที่ความเข้มข้นของไพโรแกลลอลต่างๆ....34
รูปที่ 5.7 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์อิสระ
ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ....35
รูปที่ 5.8 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูป
ที่ความเข้มข้นของไพโรแกลลอลต่างๆ....37
รูปที่ 5.9 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูป
ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ....38
รูปที่ 5.10 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์อิสระ
ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.001 , 0.006 , 0.012 และ 0.018 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร....39

หน้า

รูปที่ 5.11 แสดงการเปรียบเทียบค่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปในไคโตซาน ที่ปราศจากอนุภาคนาโนเงินที่ขนาดของแผ่นฟิล์มไคโตซานแบบตัดละเอียด , 0.3 x0.3 และ 0.5 x 0.5 ตารางเซนติเมตร.....40

รูปที่ 5.12 แสดงสีของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ (ก) มีเอนไซม์ตรึงรูป (ข) ไม่มีเอนไซม์ตรึงรูป หลังจากผ่านการทดสอบการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ และ (ค) แผ่นฟิล์มไคโตซาน ที่มีเอนไซม์ตรึงรูปที่ยังไม่ผ่านการทดสอบการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์.....41

รูปที่ 5.13 แสดงกราฟวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนระหว่างแบบจำลอง full quadratic กับผลการทดลอง.....49

รูปที่ 5.14 แสดง surface plot และ contour plot ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ระดับต่างๆ.....52

รูปที่ 5.15 แสดง surface plot และ contour plot ที่ความเข้มข้นของไคโตซานระดับต่างๆ 54

รูปที่ 5.16 แสดง surface plot และ contour plot ที่ความเข้มข้นของอนุภาคนาโนเงินระดับต่าง.....56

รูปที่ 5.17 แสดงภาพ TEM ของอนุภาคนาโนเงินในวัสดุประกอบแต่งที่สภาวะเหมาะสม ที่กำลังขยาย (ก) 8000 เท่า และ(ข) 20000 เท่า.....57

รูปที่ 5.18 แสดงการเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ของเอนไซม์ตรึงรูป ที่มีอนุภาคนาโนเงินและไม่มีอนุภาคนาโนเงินเป็นองค์ประกอบ หลังจากใช้ทดสอบการเร่งปฏิกิริยาในแต่ละครั้ง.....59

รูปที่ 5.19 แสดงการเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ของเอนไซม์ตรึงรูป และเอนไซม์อิสระ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้องในแต่ละสัปดาห์.....60

รูปที่ 5.20 แสดงความเสถียรภาพการเก็บรักษาเอนไซม์อิสระฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส ที่พีเอชต่างๆ.....61