

## บทที่ 4

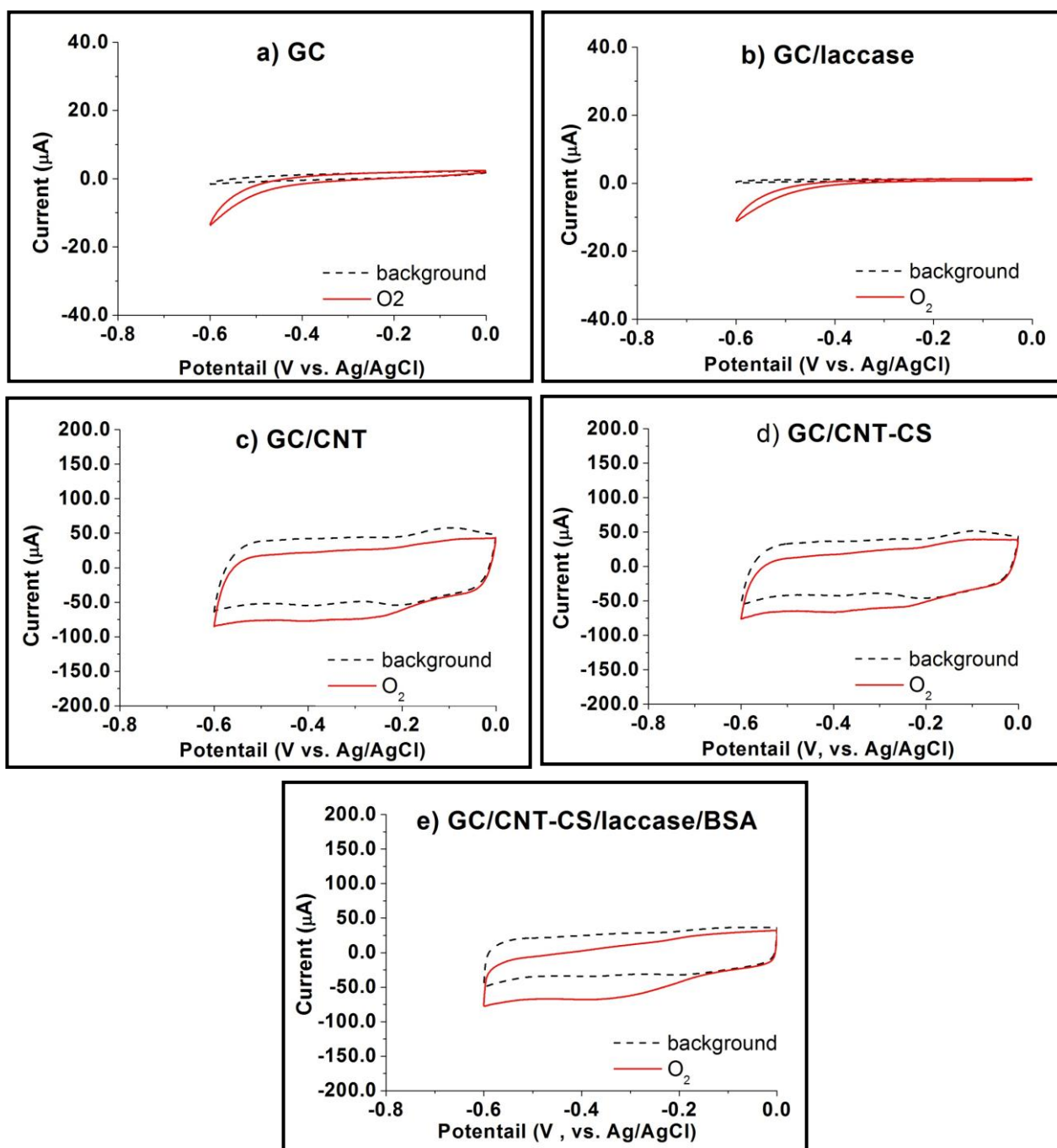
### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การพัฒนาขั้วไบโอแคโทดชนิดใหม่ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการทำให้ dioxygen ( $O_2$ ) เกิด electro-enzymatic reduction เป็นน้ำ ( $H_2O$ ) โดยใช้ nano-composite ของเอนไซม์ laccase

#### 4.1.1 การศึกษาหองค์ประกอบที่เหมาะสมของไบโอแคโทด

การศึกษาหองค์ประกอบที่เหมาะสมของไบโอแคโทดโดยใช้แลคเคสในการทำให้ dioxygen ( $O_2$ ) เกิด electro-enzymatic reduction เป็นน้ำ ( $H_2O$ ) จะศึกษาการเกิดปฏิกิริยาที่ขั้วไฟฟ้าทั้ง 5 ชนิด (a-e) ได้แก่ a: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GC), b: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยสารละลายเอนไซม์แลคเคส (GC/laccase), c: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ (GC/CNT), d: ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานคอมโพสิต (GC/CNT-CS) และ e: กลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานคอมโพสิต สารละลายเอนไซม์แลคเคส และสารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมิน (GC/CNT-CS/laccase/BSA) ผลการทดลองดังรูปที่ 4.1

พบว่าปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนเกิดที่ศักย์ไฟฟ้าสูงกว่า  $-0.6$  V เมื่อใช้ GC และ GC/laccase เป็นขั้วไฟฟ้า แต่เมื่อใช้ขั้ว GC/CNT, ขั้ว GC/CNT-CS และขั้ว GC/CNT-CS/laccase/BSA เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน ปฏิกิริยารีดักชันเกิดที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ  $-0.3$  ถึง  $-0.4$  V จากผลการทดลอง (ภาพที่ 4.1 c, d และ e) พบว่าค่ากระแสพื้น (background current; B) ของขั้วไฟฟ้า GC/CNT สูงที่สุดตามด้วย GC/CNT-CS และขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ตามลำดับ เมื่อพิจารณาที่ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA พบว่าให้สัญญาณ (Signal; S) จากค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจนเมื่อลบด้วยค่ากระแสพื้น (S/B) ที่มีค่ามากที่สุด แสดงว่ามีสภาพไวสูงที่สุด และให้ค่าศักย์ที่ยอดพีค ( $E_p$ ) ที่ศักย์ไฟฟ้า  $-0.35$  V แสดงว่าปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนถูก catalyzed ด้วยประสิทธิภาพสูงที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่มีพื้นที่ผิวสูงและนำไฟฟ้าได้ดี และสมบัติที่เข้ากันได้ดีกับสารชีวภาพของไคโตซานจึงทำให้สามารถตรึงเอนไซม์ได้ดี และส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ อีกทั้งยังสนับสนุนด้วยสารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมินที่ช่วยให้เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการทำงานมากขึ้น ส่งผลให้ค่ากระแสมีค่ามากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ที่เตรียมได้มีลักษณะทางกายภาพที่เสถียร คือเมื่อล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนทำการวัดจะไม่ทำให้เกิดการหลุดร่อนของสารละลายที่นำมาโมดิฟายด์ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า

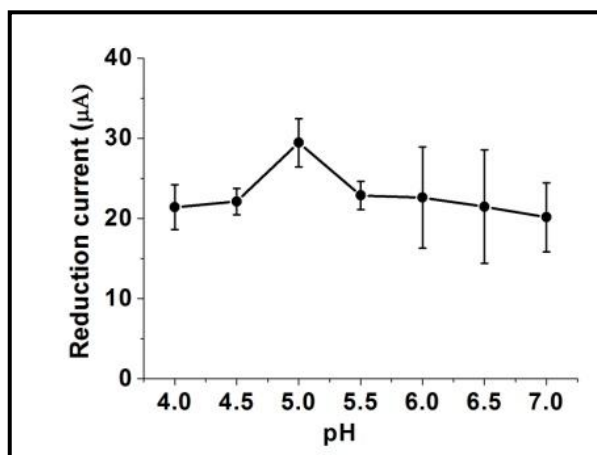


รูปที่ 4.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ (a) ขั้วไฟฟ้า GC ในสถานะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจน (เส้นประ) และในสถานะที่มีออกซิเจน (เส้นทึบ), (b) ขั้วไฟฟ้า GC/laccase, (c) ขั้วไฟฟ้า GC/CNT, (d) ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS และ (e) ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ซีเทรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.0 (อัตราการไหลของออกซิเจนเหนือสารละลายเป็น 40 มิลลิลิตรต่อนาที)

#### 4.1.2 การศึกษาหาองค์ประกอบสารละลายที่ใช้โม่ดีฟายด์ข้าวไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนและสภาวะที่เหมาะสมของการวัดค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจน

##### การศึกษาหาพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือที่เหมาะสม

ข้าวไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA จะถูกนำไปตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนในสารละลายซีเทรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่พีเอช 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ผลการทดลองดังรูปที่ 4.2 ค่ากระแสรีดักชันในรูปแบบค่าเฉลี่ยจาก ข้าวไฟฟ้าที่เตรียมขึ้น 3 ข้าวไฟฟ้า ส่วนแถบความคลาดเคลื่อน (error bar) แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) จากการวัด



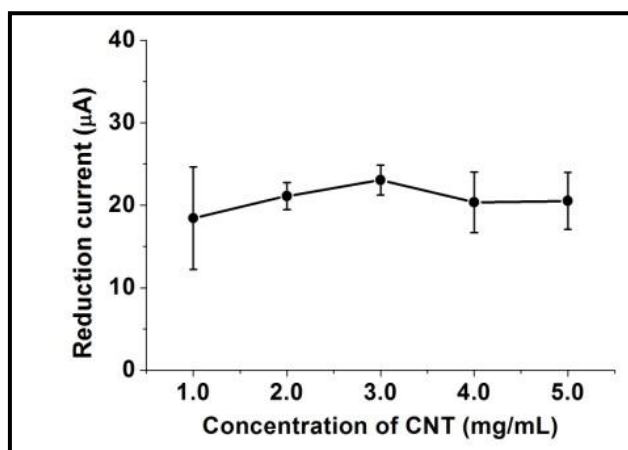
รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน กับค่าพีเอช ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 โมลาร์ ซีเทรตบัฟเฟอร์

พบว่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ที่พีเอช 5.0 ให้ค่ากระแสที่สูงที่สุด แสดงว่าเอนไซม์แลคเคสทำงานได้ดีในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ พีเอช 5.0 สอดคล้องกับผลการทดลองของ B. Haghighi<sup>28</sup> และ M. Portaccio<sup>29</sup> ซึ่งใช้เอนไซม์แลคเคสในการพัฒนาไบโอเซนเซอร์สำหรับวัดสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และพบว่าเอนไซม์แลคเคสสามารถทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอช 5.0

เมื่อเพิ่มพีเอชของสารละลายให้สูงขึ้นค่ากระแสที่ได้ลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ S. K. Lee และคณะ<sup>30</sup> และ R. Santucci และคณะ<sup>31</sup> ซึ่งพบว่าในขั้นตอนการเร่งปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนไปเป็นน้ำของแลคเคส การเกิดรีดักชันของออกซิเจนที่ตำแหน่ง T2 และ T3 ไฮดรอกซิลและไฮยาโนด์สามารถยับยั้งการเข้าไปจับของออกซิเจนกับคอปเปอร์ที่ตำแหน่ง T2 และ T3 ของเอนไซม์แลคเคสได้ ทำให้แลคเคสสูญเสียสมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ค่ากระแสจึงลดลงเมื่อพีเอชของสารละลายเพิ่มขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกพีเอช 5.0 เป็นพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือที่เหมาะสม

### การศึกษาปริมาณคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่เหมาะสมในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานคอมโพสิต

ในการศึกษาหาปริมาณคาร์บอนนาโนทิวบ์ในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานที่เหมาะสม จะเตรียม ไบโอสเซนเซอร์ GC/CNT-CS/laccase/BSA โดยใช้สารละลายของคาร์บอนนาโนทิวบ์ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.0% ผลของปริมาณคาร์บอนนาโนทิวบ์ ต่อการตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนแสดงดังรูปที่ 4.3

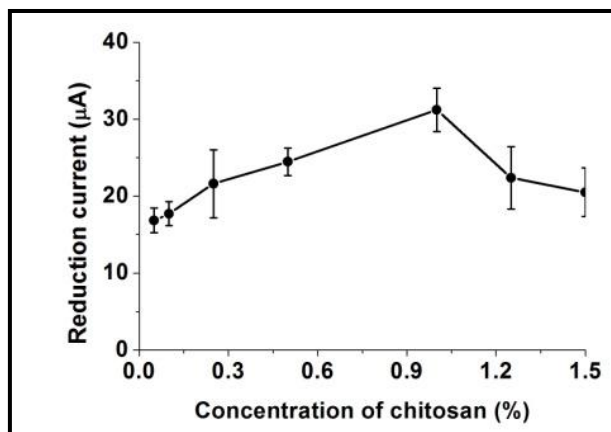


รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนกับความเข้มข้นของคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ใช้ในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซาน

จากผลการทดลอง เมื่อปริมาณของคาร์บอนนาโนทิวบ์เพิ่มขึ้นจาก 1- 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่ากระแสที่ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากสมบัติของคาร์บอนนาโนทิวบ์ซึ่งเป็นสารที่มีพื้นที่ผิวสูงและมีความสามารถในการนำไฟฟ้าได้ดี เมื่อมีปริมาณของคาร์บอนนาโนทิวบ์มากขึ้นจึงทำให้สามารถตรึงเอนไซม์ได้มากขึ้น ค่ากระแสที่ได้จึงมีค่าเพิ่มสูงขึ้น แต่ถ้าปริมาณของคาร์บอนนาโนทิวบ์มีมากเกินไปกลับทำให้ค่ากระแสลดลง ซึ่งเป็นผลจากการนำไฟฟ้าได้ดีของคาร์บอนนาโนทิวบ์ ทำให้ค่ากระแสพื้น (background; B) มีขนาดใหญ่ขึ้น สัญญาณ (Signal; S) จากค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจนเมื่อลบด้วยค่ากระแสพื้น (S/B) จึงมีค่าลดลง ดังนั้นจึงเลือกปริมาณคาร์บอนนาโนทิวบ์ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ค่ากระแสที่สูงที่สุดใช้ในการทดลองต่อไป

### การศึกษาปริมาณไคโตซานที่เหมาะสมในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานคอมโพสิต

ในการศึกษาหาปริมาณของไคโตซานที่เหมาะสมในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซาน ใช้ปริมาณของไคโตซานเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 และ 1.5 % ในคาร์บอนนาโนทิวบ์ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.4

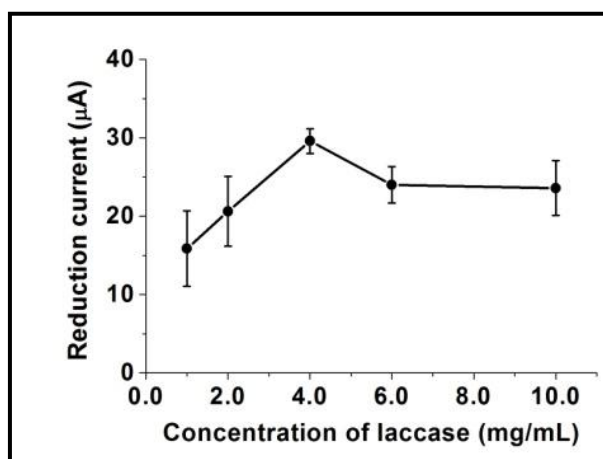


**รูปที่ 4.4** ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน กับความเข้มข้นของไคโตซานในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซาน

พบว่าเมื่อความเข้มข้นของไคโตซานเพิ่มมากขึ้นค่ากระแสที่ได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากสมบัติที่เข้ากันได้ดีของไคโตซานกับสารชีวภาพ จึงช่วยส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์แลคเคส ค่ากระแสที่ได้จึงเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นมากกว่า 1.0 % พบว่าค่ากระแสเริ่มลดลง เนื่องจากถ้ามีปริมาณไคโตซานมากขึ้นจะมีความหนืดเพิ่มขึ้นและมีความสามารถในการนำไฟฟ้าลดลง ปริมาณไคโตซานที่มากขึ้นกว่า 1.0% ทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ลดลง ดังนั้นจึงเลือก 1.0% ไคโตซานซึ่งให้ค่ากระแสที่สูงที่สุดเป็นค่าที่เหมาะสม

#### การศึกษาผลของปริมาณเอนไซม์แลคเคส

เมื่อได้อัตราส่วนของเมทริกซ์วัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานที่เหมาะสมแล้ว จึงทำการศึกษาผลของปริมาณเอนไซม์แลคเคส ความเข้มข้นที่ศึกษา คือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงรูปที่ 4.5

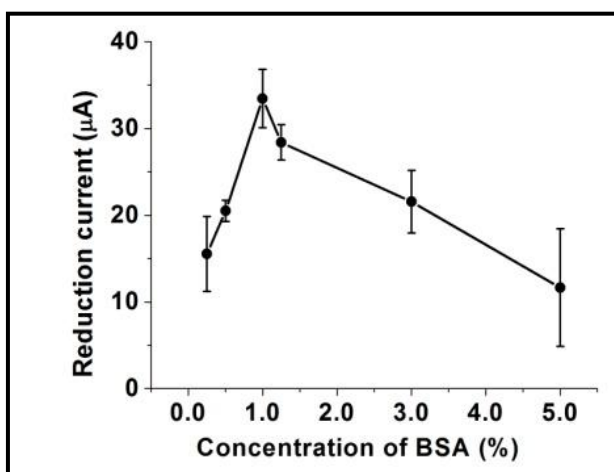


**รูปที่ 4.5** ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน กับความเข้มข้นของเอนไซม์แลคเคสที่ใช้ในการเตรียมขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.5 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์แลคเคสจาก 1 - 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะได้ค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจนที่สูงขึ้น เนื่องจากปริมาณเอนไซม์สูงขึ้นช่วยเร่งปฏิกิริยาได้ดีขึ้น จึงเพิ่มความสามารถในการตรวจวัดสูงขึ้น ค่ากระแสที่ได้จึงสูงขึ้น โดยปริมาณเอนไซม์ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะให้ค่ากระแสที่มากที่สุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้นมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่ากระแสได้ไม่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากพื้นที่ผิวในการตรึงเอนไซม์แลคเคสในเมทริกซ์วัสดุเชิงประกอบมีปริมาณจำกัด ดังนั้นปริมาณที่เติมมากเกินไปของเอนไซม์แลคจึงไม่มีผลต่อค่ากระแส หรืออาจเกิดเนื่องมาจากปริมาณเอนไซม์ที่เติมเพิ่มมากเกินไป ส่งผลให้เกิดการต้านทานการถ่ายเทอิเล็กตรอนได้ ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของเอนไซม์แลคเคสที่ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองต่อไป

#### การศึกษาผลของปริมาณสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน

การศึกษาปริมาณสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน จะใช้ความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมิน 0.25, 0.5, 1.0, 1.25, 3 และ 5% ผลของปริมาณสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินต่อค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจน แสดงดังรูปที่ 4.6



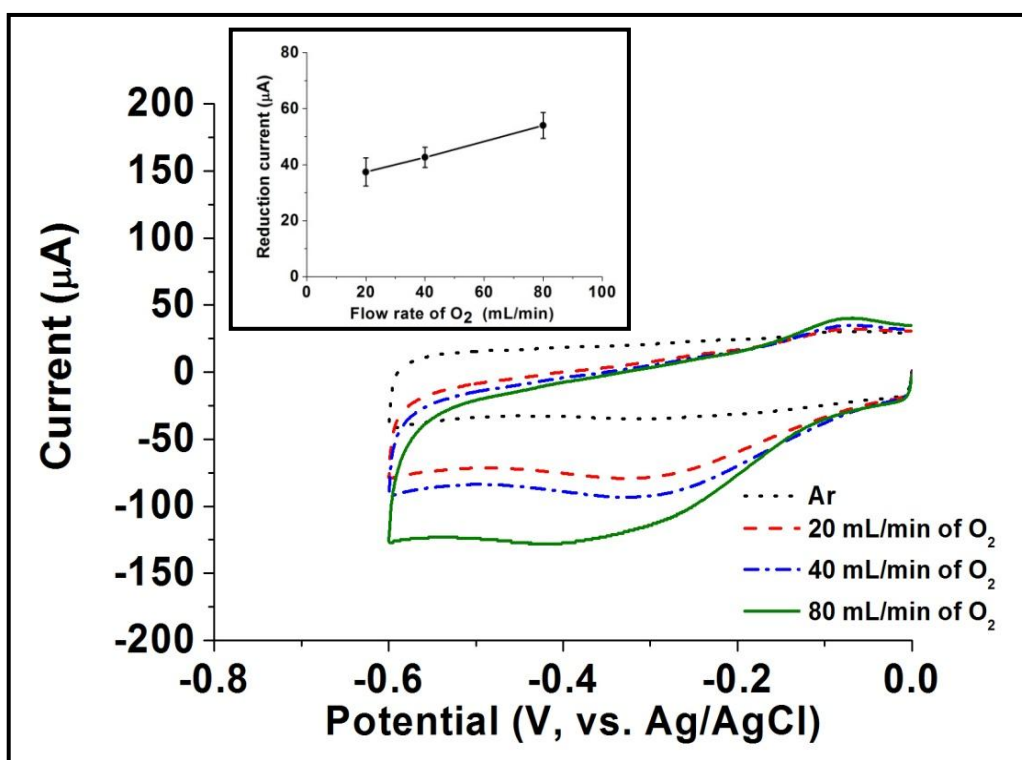
รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนกับความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินที่ใช้ในการเตรียมไบโอเซนเซอร์

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินจาก 0.25 จนถึง 1.0% จะได้ค่ากระแสที่เพิ่มขึ้น (เพิ่มขึ้นจากเดิมถึงประมาณ 120%) โดยค่าความเข้มข้นที่ 1.0% ให้ค่ากระแสสูงสุด แสดงว่าสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินมีส่วนช่วยในการทำงานของเอนไซม์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ J. Kulys และคณะ<sup>32</sup> ซึ่งใช้แลคเคสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ methyl syringates และพบว่าโบวินซีรัมอัลบูมินสามารถป้องกันการเกิด inactivate ของเอนไซม์แลคเคส

จากการทดลองเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากกว่า 1.0% ค่ากระแสที่ได้กลับลดลง ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากปริมาณของโบวินซีรัมอัลบูมินที่มีมากเกินไปทำให้เกิดการขัดขวางการถ่ายเทอิเล็กตรอนได้ ค่ากระแสที่ได้จึงลดลง ดังนั้นจึงเลือกใช้ 1% โบวินซีรัมอัลบูมินในการดัดแปรขั้วไฟฟ้า

#### 4.13 การศึกษาสัญญาณการตอบสนองของขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ต่อปริมาณแก๊สออกซิเจน

จากผลการทดลองในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม พบว่าองค์ประกอบต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการเตรียมขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA คือใช้สารละลายของคาร์บอนนาโนทิวบ์ 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1.0% นำมาหยดบนขั้วไฟฟ้ากาสซีคาร์บอน 20 ไมโครลิตร ที่งอในแท่งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาตรึงเอนไซม์โดยการหยดเอนไซม์แลคเคสความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรปริมาตร 40 ไมโครลิตร ที่งอให้แท่งที่อุณหภูมิห้อง และหยดสารละลายโบวินซีรัมอัลบูมินความเข้มข้น 1% ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ที่งอให้แท่งที่อุณหภูมิห้อง จะได้ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA เมื่อนำขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA มาศึกษาการตอบสนองต่อปริมาณแก๊สออกซิเจน โดยในการทดลองจะควบคุมอัตราการไหลของออกซิเจนเหนือระดับสารละลายที่ 20, 40 และ 80 มิลลิลิตรต่อนาที ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ รูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนกับอัตราการไหลของแก๊สออกซิเจน

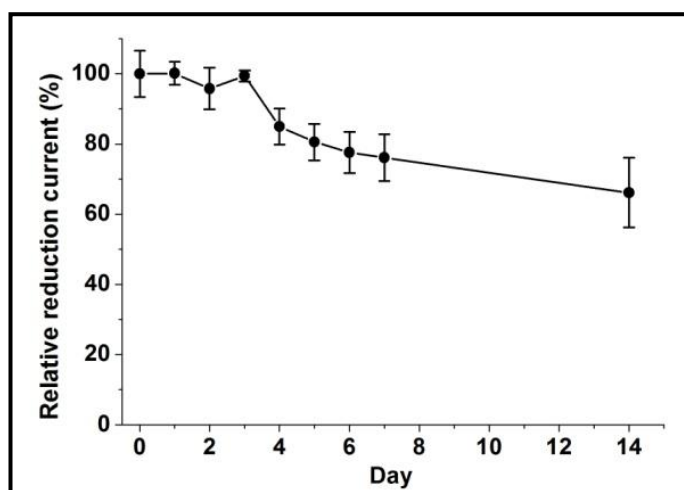
ค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจนจะสัมพันธ์กับอัตราการไหลของแก๊สออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรง ( $r^2 = 0.9996$ , ค่าความชันของสมการเส้นตรงเป็น 0.279) ที่ช่วงของอัตราการไหลที่ทำการทดลอง 20 – 80 มิลลิลิตรต่อนาที ค่ากระแสที่ได้จากการวัดซ้ำ ๆ มีความเที่ยง (precision) ดีมากคือให้ค่า %RSD เท่ากับ 3.89 (n=5 )

ผลการทดลองจากเทคนิคเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี แสดงให้เห็นว่า ขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ที่พัฒนาขึ้นตอบสนองต่อปริมาณออกซิเจน สามารถใช้เป็นตัวตรวจวัดออกซิเจน และอาจนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัวตรวจวัดในการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนในระบบที่มีการไหลด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรี เพื่อพัฒนาให้เป็นระบบวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่สะดวก รวดเร็ว และใช้สารปริมาณน้อย ต่อไป

#### 4.14 ศึกษาความเสถียรของไบโอเซนเซอร์

ศึกษาความเสถียรของขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA โดยการเตรียมขั้วไฟฟ้า 3 ขั้ว และนำมาวัดค่ากระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน หลังจากเตรียมขั้วไฟฟ้าไว้เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, และ 14 วัน

จากรูปที่ 4.8 พบว่าขั้วไฟฟ้าGC/CNT-CS/laccase/BSA มีความเสถียร โดยค่ากระแสรีดักชันของออกซิเจนที่ได้จากการวัดเมื่อเตรียมได้ใหม่ ๆ หลังจากเตรียมไบโอเซนเซอร์ไว้ 1, 2 และ 3 วัน มีค่าที่ค่อนข้างคงที่และใกล้เคียงกับค่าเริ่มต้น (~100%) และเริ่มลดลงเมื่อวัดในวันที่ 4 โดยวัดค่ากระแสได้ประมาณ 85% และเมื่อทิ้งไว้ 7 วันค่ากระแสลดลงเหลือประมาณ 76% และลดลงเหลือประมาณ 70% เมื่อทิ้งไว้ 14 วัน



รูปที่ 4.8 ความเสถียรของขั้วไฟฟ้า GC/CNT-CS/laccase/BSA ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการเก็บรักษา (เก็บที่อุณหภูมิ 4°C)

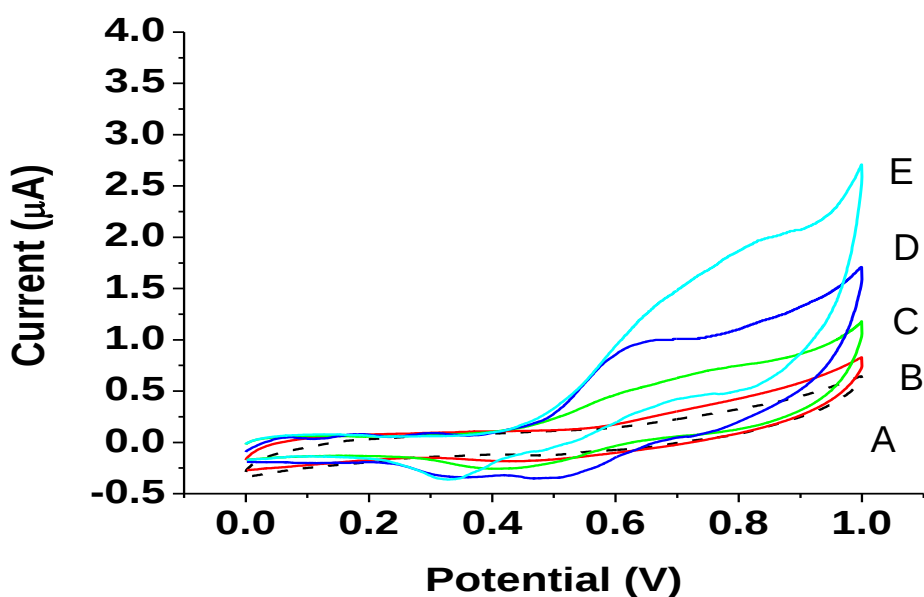
เมื่อเปรียบเทียบกับความเสถียรของชีวไฟฟ้า จากงานวิจัยของ H. L. Pang<sup>33</sup> ซึ่งศึกษาชีวไฟฟ้า 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่ 1 กลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์และเอนไซม์แลคเคส (GC/CNT/laccase) และชีวไฟฟ้าชนิดที่ 2 ชีวไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็น 1-aminopyrene (CNT-AP) และนำมาตรึงเอนไซม์แลคเคสโดยใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นตัวช่วย (GC/CNT-AP/laccase) ซึ่งพบว่าเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 7 วัน ค่ากระแสที่ได้จากการวัดชีวไฟฟ้าชนิดที่ 1 จะลดลงเหลือประมาณ 69.3% และในชีวไฟฟ้าชนิดที่ 2 เหลือประมาณ 85.3 % ชีวไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ซึ่งตรึงเอนไซม์ในเมทริกซ์ของคาร์บอนนาโนทิวบ์ -ไคโตซานที่มีโบวีนซีรัมอัลบูมินจึงมีความเสถียรดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตรึงเอนไซม์ในคาร์บอนนาโนทิวบ์ (ชีวไฟฟ้าชนิดที่ 1 , GC/CNT/laccase) และมีความเสถียรน้อยกว่าชีวไฟฟ้าชนิดที่ 2 (GC/CNT-AP/laccase) เล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบวิธีการในการเตรียมชีวไฟฟ้าซึ่งในชีวไฟฟ้าชนิดที่ 2 ต้องมีขั้นตอนในการเตรียมคาร์บอนนาโนทิวบ์ให้มีหมู่ฟังก์ชันเป็น 1-aminopyrene (CNT-AP) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ค่อนข้างยุ่งยาก ซับซ้อน ชีวไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้จึงมีความสะดวก และง่ายในการเตรียมมากกว่า ชีวไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นมีความเสถียรดีสามารถใช้เป็นตัวตรวจวัดออกซิเจน และอาจจะนำมาประยุกต์ใช้เป็นไบโอแคโทดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้

## 4.2 การพัฒนาชีวไบโอแอโนดชนิดใหม่ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการ catalyze ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส

### 4.2.1 การพัฒนาชีวไบโอแอโนดโดยใช้โพลิเมอร์ชนิด polyaniline (co-m-ferrocenylaniline) ในการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส

#### 4.2.1.1 ศึกษาองค์ประกอบที่เหมาะสมของไบโอแอโนด

งานวิจัยในส่วนนี้ใช้โพลิเมอร์นำไฟฟ้าชนิด polyaniline (co-m-ferrocenylaniline) หรือ PFcAni, ไคโตซาน และเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสมาใช้ในการโม่ติฟายด์ชีวไฟฟ้าชนิดกลาสซีคาร์บอนเพื่อพัฒนาใช้ในการตรวจวัดปริมาณของน้ำตาลกลูโคส โดยในการศึกษาองค์ประกอบที่เหมาะสมจะศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสที่ชีวไฟฟ้าทั้ง 5 ชนิด (A-E) คือ A: ชีวไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GC), B : ชีวไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โม่ติฟายด์ด้วยโพลิเมอร์ PFcAni (GC/PFcAni), ชีวไฟฟ้า C : ชีวไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โม่ติฟายด์ด้วยโพลิเมอร์ PFcAni และกลูโคสออกซิเดส (GC/PFcAni/GOx), D : ชีวไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โม่ติฟายด์ด้วยไคโตซาน, โพลิเมอร์ PFcAni และเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GC/CS/PFcAni/GOx) และชีวไฟฟ้า E : ชีวไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โม่ติฟายด์ด้วยไคโตซาน, โพลิเมอร์ PFcAni, อนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) และกลูโคสออกซิเดส (GC/CS/PFcAni/AuNPs/GOx) โดยทำการศึกษาในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ทดลองภายใต้บรรยากาศก๊าซอาร์กอน) ผลการศึกษาหาองค์ประกอบที่เหมาะสมของไบโอเซนเซอร์ แสดงได้ดังรูปที่ 4.9

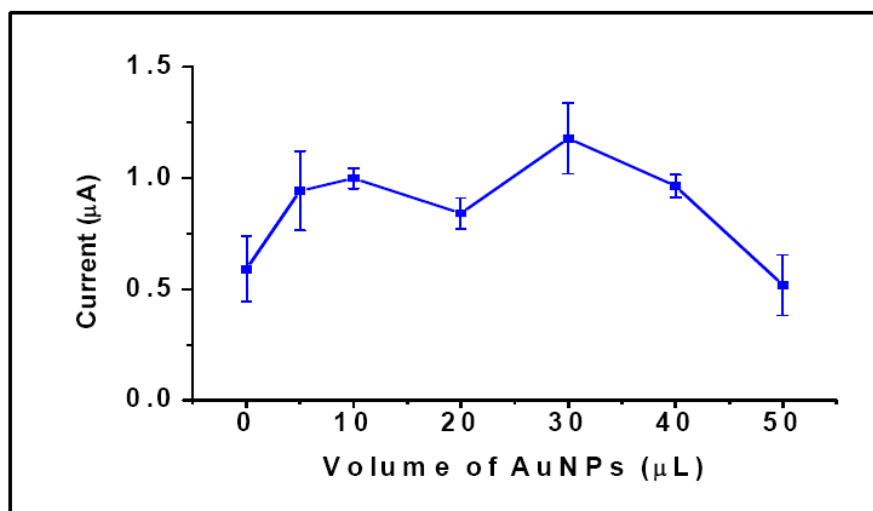


รูปที่ 4.9 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10 mM ที่ขั้วไฟฟ้า (A) กลาสซีคาร์บอน ; GC (เส้นประ) และขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยวัสดุนาโนเชิงประกอบต่าง ๆ (B) GC/PfCAni, (C) GC/PfCAni/GOx, (D) GC/CS/PfCAni/GOx และ (E) GC/CS/PfCAni/AuNPs/GOx

พบว่าที่ขั้วไฟฟ้าชนิด A (GC) และขั้วไฟฟ้าชนิด B (GC/PfCAni) กลูโคสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าสูง และไม่เห็นสัญญาณค่ากระแสแอโนดิกในช่วงที่สแกน ส่วนขั้วไฟฟ้าชนิด C (GC/PfCAni/GOx) กลูโคสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้า +0.65 V และให้ค่ากระแสแอโนดิกเป็น 0.50  $\mu\text{A}$  แสดงให้เห็นว่าโพลิเมอร์ PfCAni และเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของกลูโคส ทำให้ปฏิกิริยาเกิดที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำลง ส่วนขั้วไฟฟ้าชนิด D (GC/CS/PfCAni/GOx) ออกซิเดชันของกลูโคสเกิดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.61 V และให้ค่ากระแสแอโนดิกเป็น 0.90  $\mu\text{A}$  แสดงให้เห็นว่าการโมดิฟายด์ขั้วไฟฟ้า โดยเพิ่มโคโตซานจากเดิมที่มีเฉพาะโพลิเมอร์ PfCAni และเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสช่วยให้ขั้วไฟฟ้ามีสภาพไวขึ้น ส่วนขั้วไฟฟ้าชนิด E (GC/CS/PfCAni/AuNPs/GOx) ให้ค่ากระแสแอโนดิกที่สูงที่สุดคือ 1.20  $\mu\text{A}$  ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.60 V แสดงให้เห็นว่า AuNPs เป็นตัวช่วยทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสเกิดได้ดีขึ้นทำให้ค่ากระแสแอโนดิกสูงขึ้น ดังนั้นขั้วไฟฟ้า E (GC/CS/PfCAni/AuNPs/GOx) จึงเป็นขั้วไฟฟ้าที่มีสภาพไวในการตรวจวัดที่สูงที่สุด เหมาะกับการพัฒนาเป็นกลูโคสไบโอเซนเซอร์ดังนั้นจึงเลือกขั้วไฟฟ้าชนิด E เป็นองค์ประกอบที่เหมาะสมของไบโอแอโนด

#### 4.2.1.2 ศึกษาผลของปริมาณอนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) ในการโม่ติฟายด์ชีวไฟฟ้า

ในการทดลองนี้จะทำการศึกษาหาปริมาณ AuNPs ที่เหมาะสมในการโม่ติฟายด์ชีวไฟฟ้า ชนิด GC/PFCAni/AuNPs/CS/GOx ผลการทดลองในการศึกษาหาปริมาณ AuNPs ที่เหมาะสมในการโม่ติฟายด์ชีวไฟฟ้าจากกลูโคสคาร์บอน แสดงดังรูปที่ 4.10

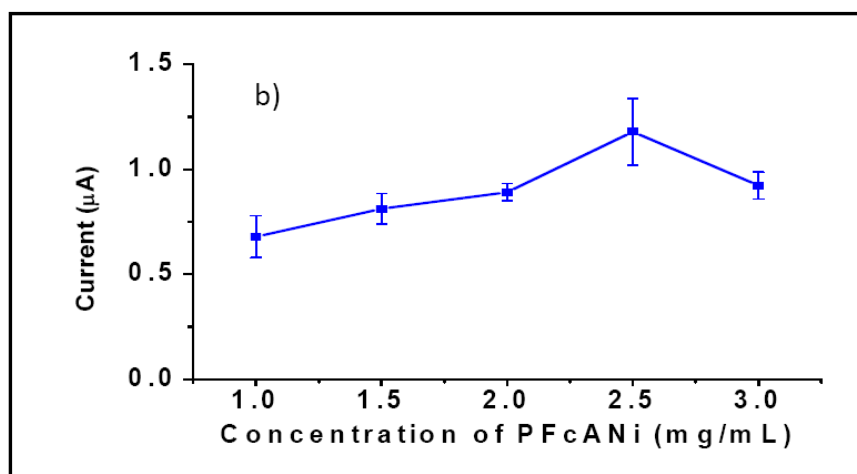


รูปที่ 4.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (สัญญาณจาก 3 ชั่วไฟฟ้า) ของกลูโคส ความเข้มข้น 10 mM กับปริมาตรของ AuNPs ที่ในการโม่ติฟายด์ชีวไฟฟ้า GC/PFCAni/AuNPs/CS/GOx

จากรูป 4.10 พบว่าเมื่อปริมาณของ AuNPs เพิ่มขึ้น จาก 0 -30  $\mu\text{L}$  ค่ากระแสที่ได้มีแนวโน้มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก AuNPs มีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าและเร่งปฏิกิริยาทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสเกิดได้ดีขึ้นค่ากระแสที่ได้จึงเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อเพิ่มปริมาณ AuNPs มากขึ้นกว่า 30  $\mu\text{L}$  สัญญาณของกลูโคสมีแนวโน้มลดลง อาจเนื่องจากพื้นที่ผิวหน้าของชีวไฟฟ้าสามารถบรรจุ AuNPs ได้จำกัด เมื่อเพิ่มปริมาณ AuNPs ให้มีปริมาณมากขึ้นเกิน 30  $\mu\text{L}$  ค่ากระแสที่ได้จึงมีค่าลดลง ผลการศึกษาพบว่าปริมาตรของ AuNPs ที่ใช้ในการโม่ติฟายด์ชีวไฟฟ้า 30  $\mu\text{L}$  เป็นค่าที่เหมาะสม

#### 4.2.1.3 ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลาย polyaniline (co-ferrocenylaniline) ในการโม่ติฟายด์ชีวไฟฟ้า

การทดลองนี้จะศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายโพลิ PFCAni ที่ในการโม่ติฟายด์ชีวไฟฟ้า GC/PFCAni/AuNPs/CS/GOx โดยจะวัดสัญญาณของกลูโคส โดยใช้ชีวไฟฟ้าโม่ติฟายด์ด้วยสารละลายโพลิเมอร์ PFCAni (ใน THF) ความเข้มข้นต่าง ๆ 1, 1.5, 2, 2.5 และ 3 mg/mL ปริมาตร 40  $\mu\text{L}$  ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.11

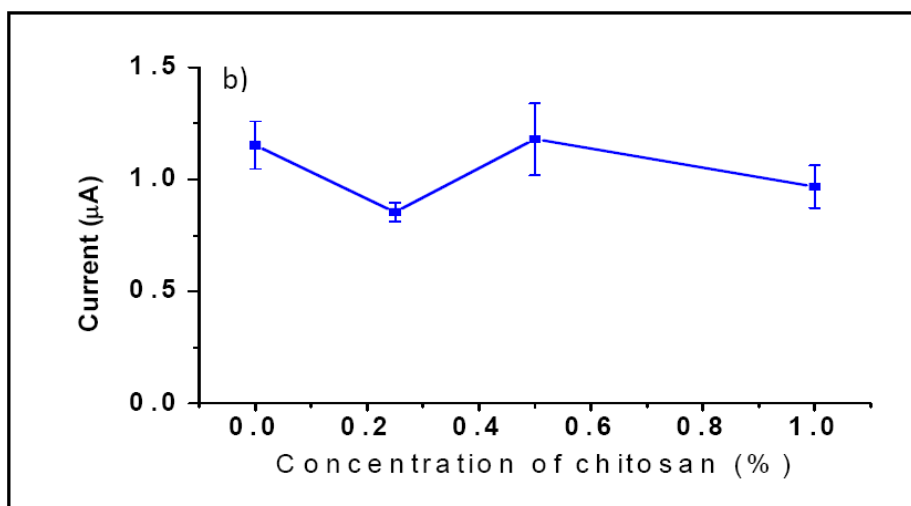


**รูปที่ 4.11** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (สัญญาณจาก 3 ขั้วไฟฟ้า) ของกลูโคส ความเข้มข้น 10 mM กับความเข้มข้นของโพลิเมอร์ PFCANI ในการโม่ติฟายด์ขั้วไฟฟ้า GC/PFCANI/AuNPs/CS/GOx

ผลการทดลองในรูปที่ 4.11 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโพลิเมอร์ PFCANI จาก 1.0 ถึง 2.5 mg/mL ค่ากระแสอาโนดิกที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น และให้ค่ากระแสสูงที่สุดที่ความเข้มข้น 2.5 mg/mL ทั้งนี้เนื่องจากโพลิเมอร์ PFCANI มีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าที่ดี มีความสามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาทางไฟฟ้าได้ดี และในโพลิเมอร์ยังมีเฟอร์โรซีนผสมอยู่ ซึ่ง เฟอร์โรซีนเป็นสารนำส่งอิเล็กตรอน ช่วยให้กลูโคสสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำๆ ได้ดีขึ้น ผลจากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของโพลิเมอร์ PFCANI ที่เหมาะสม คือ 2.5 mg/mL

#### 4.2.1.4 ศึกษาผลของความเข้มข้นของไคโตซานที่ใช้ในการโม่ติฟายด์ขั้วไฟฟ้า

ในการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานไคโตซาน หรือ CS ที่ในการโม่ติฟายด์ขั้วไฟฟ้า GC/PFCANI/AuNPs/CS/GOx ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.12



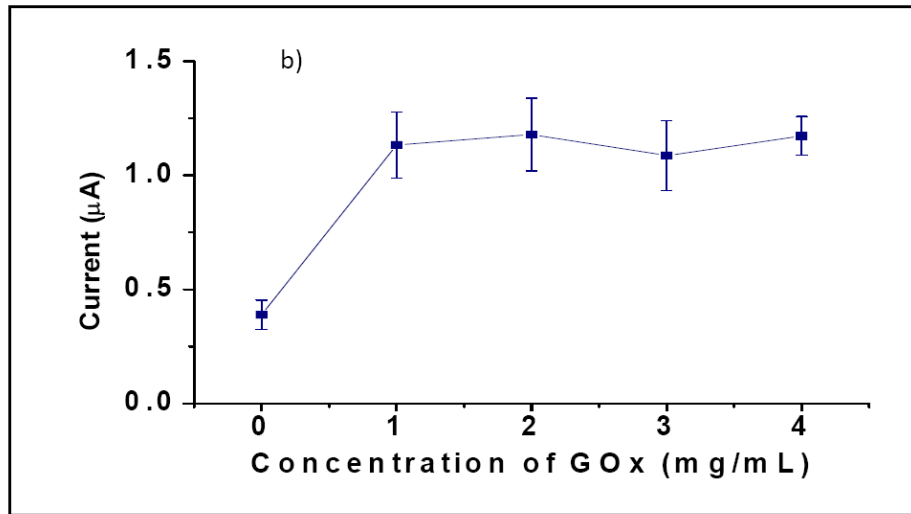
**รูปที่ 4.12** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (สัญญาณจาก 3 ขั้วไฟฟ้า) ของกลูโคสความเข้มข้น 10 mM กับความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน ในการโม่ติฟายด์ขั้วไฟฟ้า GC/PFcAni/AuNPs/CS/GOx

ผลการทดลองในรูปที่ 4.12 พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 0.5% จะให้ค่ากระแสที่มากที่สุด คือ 1.18  $\mu\text{A}$  โดยปกติหากความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานมากขึ้นจะทำให้ความสามารถในการตรวจวัดสูงขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติที่เข้ากันได้ดีของไคโตซานกับสารชีวภาพ ช่วยให้เอนไซม์มีความคงตัวมากขึ้นและส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส แต่เมื่อความเข้มข้นสูงมากเกินไป ค่ากระแสจะลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากถ้ามีปริมาณไคโตซานมากขึ้นจะมีความหนืดเพิ่มขึ้นและมีความสามารถในการนำไฟฟ้าลดลง ความเข้มข้นของไคโตซานที่เหมาะสมในการโม่ติฟายด์ขั้วไฟฟ้าคือ 0.5 %

#### 4.2.1.5 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GOx)

ในการทดลองนี้จะศึกษาผลของความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (Gox) ที่ใช้ในการโม่ติฟายด์ขั้วไฟฟ้า GC/PFcAni/AuNPs/CS/GOx ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.13

ผลจากการทดลองจากรูปที่ 4.12 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสจาก 1 เป็น 2 mg/mL จะได้ค่ากระแสที่เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากพื้นที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าสามารถจุเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสได้เพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสมากขึ้น (2-4 mg/mL) พบว่าค่ากระแสที่ได้เริ่มคงที่ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าสามารถจุเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสได้ในปริมาณจำกัด การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสในสารละลายที่ใช้ในการโม่ติฟายด์จึงไม่มีผลต่อค่ากระแส ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสที่เหมาะสมคือ 2 mg/mL

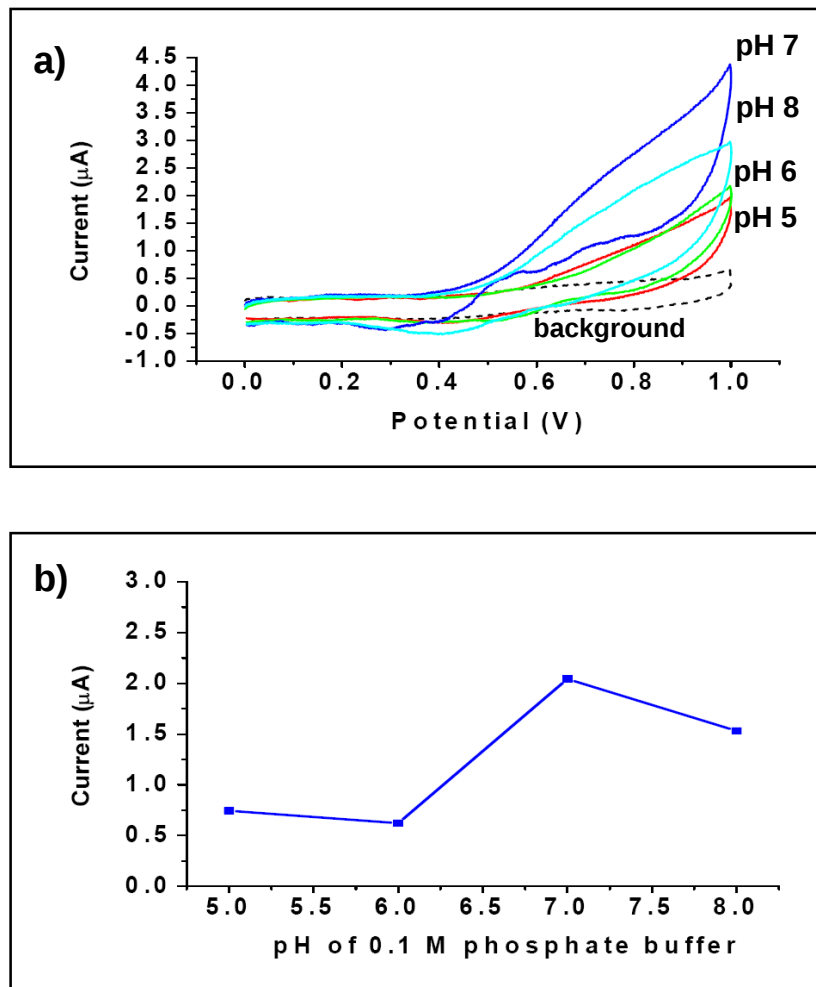


รูปที่ 4.13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (สัญญาณจาก 3 ขั้วไฟฟ้า) ของกลูโคสความเข้มข้น 10 mM กับความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสในการโม่ติฟายด์ขั้วไฟฟ้า GC/PFcANI/AuNPs/CS/GOx

#### 4.2.1.6 ศึกษาผลของ pH ที่เหมาะสมของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนูน (supporting electrolyte)

ผลจากการศึกษา pH ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนูน แสดงดังรูปที่ 4.12

จากรูปที่ 4.14 a) พบว่าในการปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสจะเกิดที่ศักย์ไฟฟ้าที่ต่ำลง เมื่อ pH ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนูนเพิ่มขึ้น แสดงว่าความเป็นกรด-เบส ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนูนมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ จากรูปที่ 4.14 b) พบว่าสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนูน pH 7.0 จะให้ค่ากระแสที่สูงที่สุด แสดงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสที่นำมาใช้ในการพัฒนาเป็นกลูโคสไบแอโนดนี้ สามารถทำงานได้ดีในพอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0

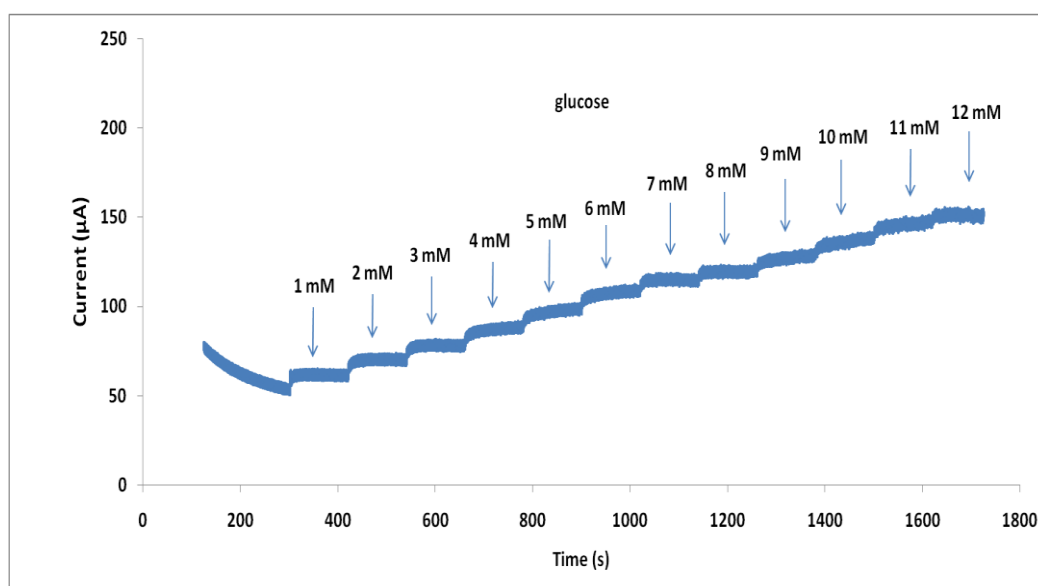


**รูปที่ 4.14** การศึกษาผลของ pH ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกี่ยวพันต่อการตรวจวัดกลูโคส a) ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายกลูโคส ความเข้มข้น 10 mM ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์เป็นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M pH 5, 6, 7, 8 b) กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่ากระแสอโนดิก pH ต่างๆของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกี่ยวพันในการโมดิฟายด์ขั้วไฟฟ้ากาสซีคาร์บอน

#### 4.2.1.7 การศึกษาคุณลักษณะของกลูโคสไบโอเซนเซอร์

##### ความเสถียรของกลูโคสไบโอเซนเซอร์

ในการศึกษาความเสถียรของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นจะใช้เทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีโดยใช้กลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น (GC/CS/PFCANI/AuNPs/GOx) เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน ให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ +0.7 V ในการทดสอบความเสถียรของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ทำการทดลองโดยเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นที่ละ 1 mM (12 ครั้ง) ลงในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0 ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 แอมเพอร์โรแกรมของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ในการศึกษาความเสถียรของกลูโคสไบโอเซนเซอร์

จากรูปที่ 4.15 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มขึ้นค่ากระแสที่ได้จะสูงขึ้นโดยเมื่อเติมกลูโคสความเข้มข้น 1 mM กลูโคสไบโอเซนเซอร์สามารถตรวจวัดกระแสที่เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว ขณะที่เวลาผ่านไปค่ากระแสที่ตรวจวัดได้จะคงที่ และการตอบสนองค่ากระแสที่ได้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสมีค่าใกล้เคียงกัน

#### ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (limit of detection; LOD)

ในการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเพอร์โรเมทรี ทำการทดลองโดยเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 1 mM (5 ครั้ง) ลงในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.0 นำค่ากระแสที่ได้จากการวัดจำนวน 5 ครั้ง คำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ในการวัดสารละลายมาตรฐานกลูโคสโดยคำนวณจาก นำ 3 S.D. มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่เป็นขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด ซึ่งคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดได้ เท่ากับ 0.125 mM มีค่า RSD เท่ากับ 4.34 % แสดงว่ากลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณกลูโคสได้ที่มีความเข้มข้นต่ำถึงระดับ mM และมีความเที่ยงสูง

#### ศึกษาผลของตัวรบกวน

ในการศึกษาผลของตัวรบกวนที่มีผลต่อการตรวจวัดปริมาณกลูโคสด้วยเทคนิค แอมเพอร์โรเมทรีโดยใช้ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น โดยสารละลายมาตรฐานของตัวรบกวนที่ทำการศึกษา ได้แก่ sucrose, fructose, ascorbic acid และ dopamine จะวัดสัญญาณของกลูโคส และสัญญาณของกลูโคสที่มีตัวรบกวนความเข้มข้นค่าต่างๆ นำสัญญาณของค่ากระแสที่ได้จากการทดลองในสารละลายผสมที่มีสารละลายมาตรฐานของตัวรบกวนมาเปรียบเทียบกับสัญญาณของค่ากระแสที่ได้จากสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ไม่มีตัวรบกวน ซึ่งถ้า

สัญญาณของค่ากระแสแตกต่างกันเกิน  $\pm 5\%$  ถือว่าสารละลายมาตรฐานของตัวรบกวนมีการรบกวนระบบวิเคราะห์ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 4.1 ผลการศึกษาผลของตัวรบกวน

| ตัวรบกวน<br>(interferences) | ช่วงความเข้มข้นที่ศึกษา<br>(concentration range ; mM) | Tolerance limit (mM) |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------|
| Sucrose                     | 0.1-11.1                                              | 1.1                  |
| Fructose                    | 0.1-10                                                | 11.1*                |
| Dopamine                    | 0.1-0.2                                               | 0.1                  |
| Ascorbic acid               | 0.05-0.15                                             | 0.05                 |

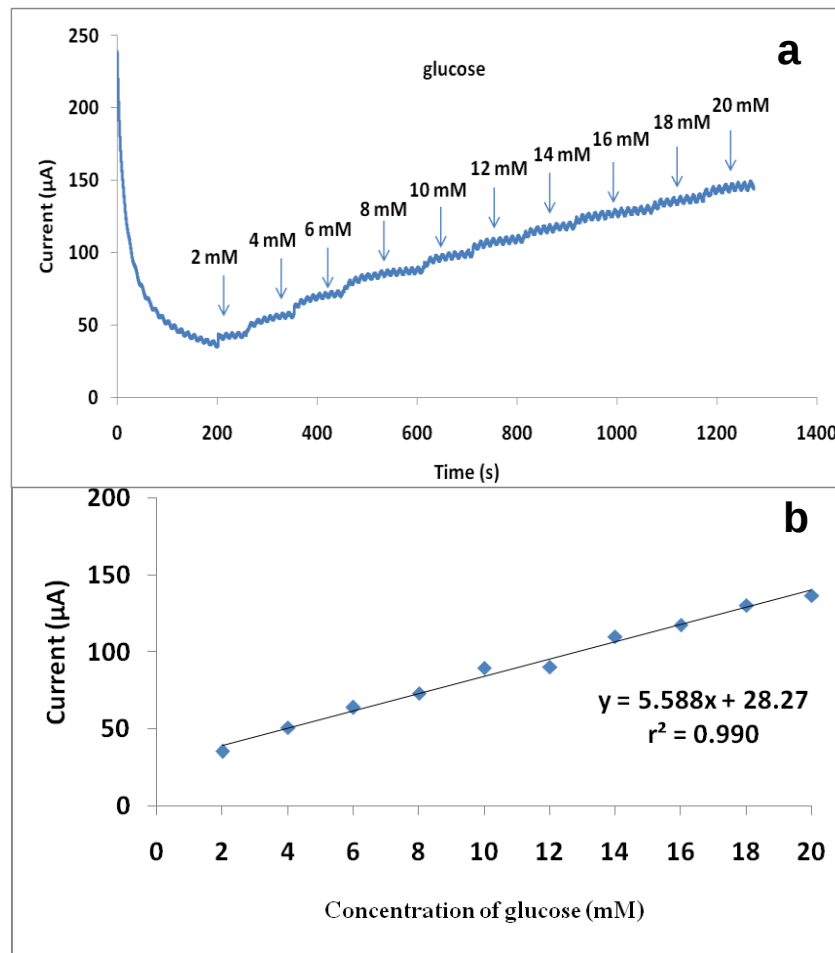
\* แทนสัญญาณเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า  $\pm 5\%$

จากตารางที่ 4.1 พบว่าสารละลายมาตรฐานของตัวรบกวน sucrose และ fructose มีการรบกวนระบบ tolerance limit ของ sucrose และ fructose คือ 1.1, 10 mM ส่วน ตัวรบกวน dopamine และ ascorbic acid มีการรบกวนการตรวจวัดกลูโคส tolerance limit ของ dopamine และ ascorbic ซึ่งมีค่าเพียง 0.1, 0.05 mM ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารอินทรีย์ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ที่ศักย์ไฟฟ้าที่ใกล้เคียงกับกลูโคส ซึ่งอาจมีผลต่อสัญญาณของค่ากระแสที่ตรวจวัดได้

#### การศึกษาหาช่วงการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity range)

ในการศึกษาช่วงการตอบสนองเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส โดยการศึกษาสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ช่วงความเข้มข้น 2 – 20 mM ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.16

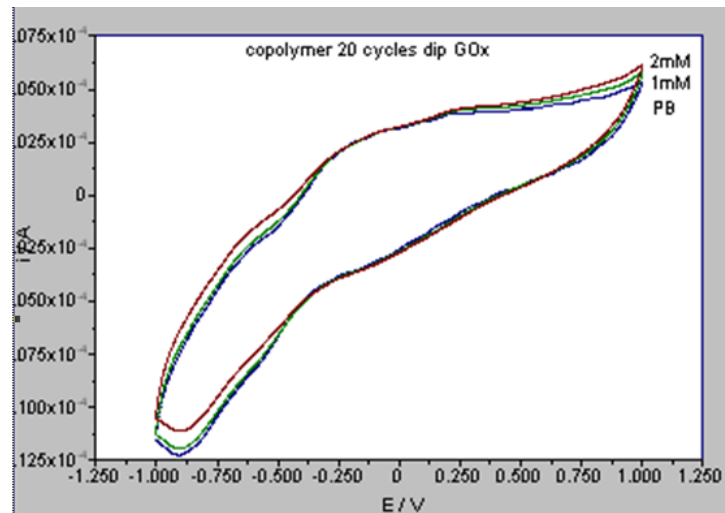
จากรูปที่ 4.16 พบว่าค่ากระแสที่ศักย์ไฟฟ้า + 0.7 V เพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสเพิ่มขึ้น เมื่อพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 2 ถึง 20 mM กับค่ากระแสจะได้กราฟเส้นตรง แสดงดังรูป 4.14 b) ได้สมการเส้นตรงเป็น  $y = 5.5588x + 28.27$  มีค่า  $r^2 = 0.990$  ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ 1 ซึ่งถือว่ายอมรับได้ นั่นคือ ค่ากระแสแปรผันตรงกับความเข้มข้นของกลูโคส มีช่วงการตอบสนองเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส คือ 2 ถึง 20 mM



รูปที่ 4.16 ผลการศึกษาช่วงการตอบสนองเป็นเส้นตรง a) แอมเพอโรแกรมของกลูโคสในการศึกษาช่วงการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่ความเข้มข้น 2-20 mM b) กราฟแสดงช่วงการตอบสนองเป็นเส้นตรง

#### 4.2.1.8 การสังเคราะห์ poly(aniline-co-m-ferrocenylaniline) ด้วยวิธีการทางไฟฟ้า

คณะผู้วิจัยได้ศึกษาและพัฒนาขั้วไฟฟ้าโดยใช้โพลิเมอร์ในกลุ่มโพลิอนิไลน์ที่มีหมู่เฟอร์โรซีนเป็นหมู่แทนที่บนวงเบนซีนด้วยวิธีการสังเคราะห์ทางไฟฟ้า เพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำมาช่วยตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส โดยนำขั้วไฟฟ้า GC\_poly(Ani-co-m-FcAni) ที่เตรียมได้ไปจุ่มในสารละลายกลูโคสออกซิเดส (30 mg/mL) เป็นเวลา 1 คืน จะได้ขั้วไฟฟ้า GC\_poly(Ani-co-m-FcAni)\_Gox ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าขั้วไฟฟ้า GC\_poly(Ani-co-m-FcAni)\_Gox ที่เตรียมขึ้นไม่ตอบสนองต่อการใช้งานของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ในสารละลายบัฟเฟอร์ของฟอสเฟต ที่ pH 7.0 ดังแสดงในรูปที่ 4.17



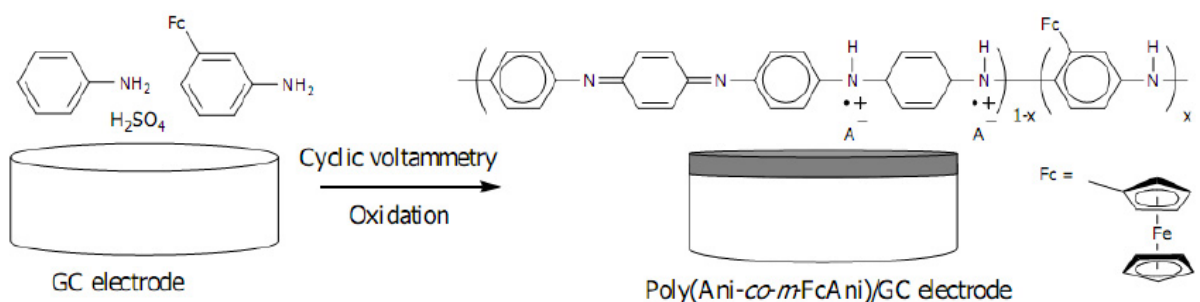
รูปที่ 4.17 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GC\_poly(Ani-co-m-FcAni)\_GOx ในสารละลายบัฟเฟอร์ของฟอสเฟต ที่ pH 7.0 ความเข้มข้นของ glucose ต่างๆ เป็น 0, 1 และ 2 mM ตามลำดับ

โพลีนิลีนที่มีหมู่เฟอร์โรซีนเป็นหมู่แทนที่บนวงเบนซีนซึ่งสังเคราะห์ด้วยวิธีการทางไฟฟ้า ไม่สามารถช่วยในการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของโพลีนิลีนบนขั้วกลาสซีคาร์บอน ไม่มีความเป็นรูพรุน ดังนั้น เมื่อนำ GC\_poly(Ani-co-m-FcAni) ไปตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส โดยการแช่ขั้วไฟฟ้าในสารละลายกลูโคสออกซิเดส ทำให้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ไม่สามารถแพร่เข้าไปแทรกตัวระหว่างชั้นฟิล์มของโพลีนิลีนบนขั้วกลาสซีคาร์บอน จึงส่งผลให้ขั้วไฟฟ้านี้ไม่ตอบสนองต่อการวิเคราะห์กลูโคส

อย่างไรก็ตามขั้วไฟฟ้าดังกล่าวสามารถตอบสนองต่อ กรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซีได้เป็นอย่างดี การทดลองต่อไปจึงเป็นการพัฒนาขั้วไฟฟ้า GC\_poly(Ani-co-m-FcAni) เพื่อเป็นขั้วไฟฟ้าในการวัดกรดแอสคอร์บิก

#### การประยุกต์ใช้โพลิเมอร์ชนิด PFCAni ในการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิก

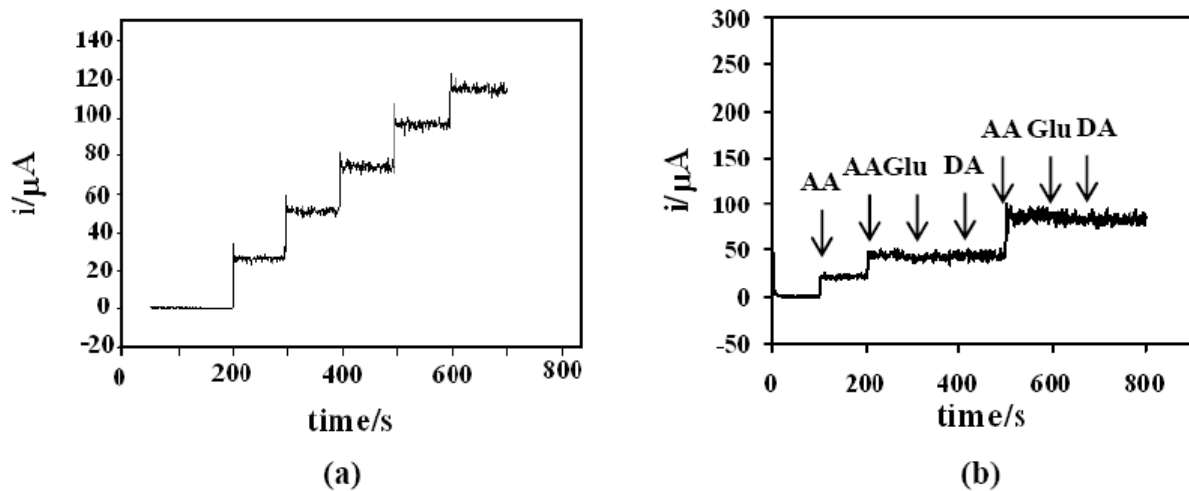
กลไกในการสังเคราะห์ poly(Ani-co-m-FcAni) ที่ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนแสดงได้ดังรูปที่ 4.18



where  $x$  ( $0 \leq x \leq 1$ ) relates to the substitution stoichiometry of  $m$ -FcAni unit in poly(Ani-co- $m$ -FcAni), a ferrocenyl group is labeled as -Fc and  $A^-$  is referred to  $HSO_4^-$  as a dopant to poly(Ani-co- $m$ -FcAni) backbone.

รูปที่ 4.18 กลไกในการสังเคราะห์ poly(Ani-co-m-FcAni) ที่ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน

ขั้วไฟฟ้า GC\_poly(Ani-co-m-FcAni) ที่พัฒนาขึ้น สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นขั้วไฟฟ้าในการวัดกรดแอสคอร์บิกได้ เนื่องจากขั้วไฟฟ้านี้ตอบสนองต่อกรดแอสคอร์บิก โดยค่ากระแสที่วัดได้ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.25 V เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก ดังรูปที่ 4.19 (a) ขั้วไฟฟ้า GC\_poly(Ani-co-m-FcAni) ที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะเจาะจงต่อกรดแอสคอร์บิก เนื่องจากสารรบกวนต่างๆ เช่น โดปามีน และกลูโคส จะไม่ให้สัญญาณที่ขั้วไฟฟ้านี้ ดังรูปที่ 4.19 (b)

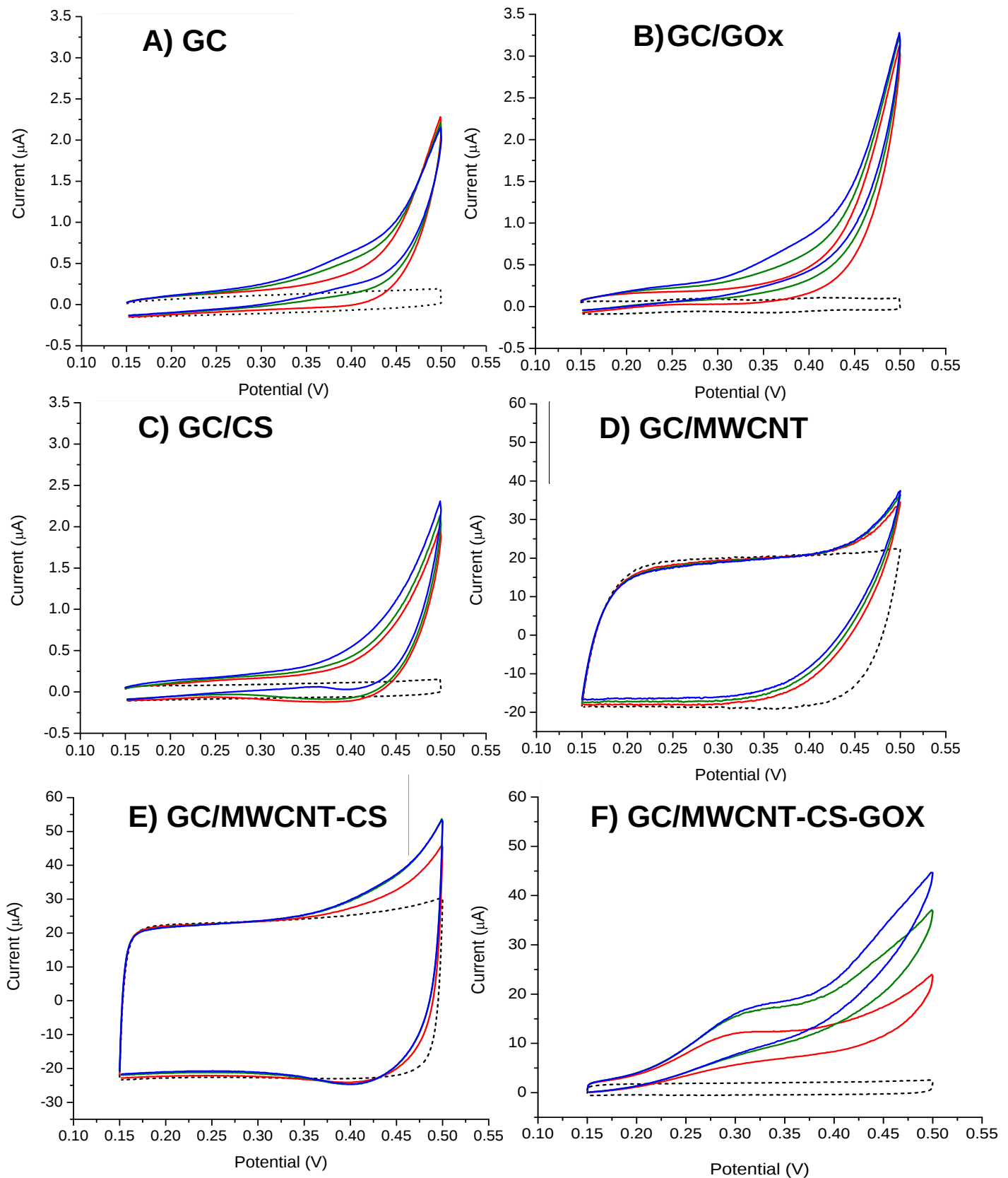


รูปที่ 4.19 แอมเพอโรแกรมที่ได้จากขั้วไฟฟ้า GC\_poly(Ani-co-m-FcAni) ที่วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.25 V (a) เมื่อมีการเติมแอสคอร์บิกแอซิด (AA) ให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นครั้งละ 0.1 mM จำนวน 5 ครั้ง ลงในสารละลาย 0.1 M ซิเตรตบัฟเฟอร์ (pH 5.0) และ (b) สัญญาณของแอสคอร์บิกแอซิด ความเข้มข้น 0.1 mM และ 0.2 mM เมื่อมีการเติม โดปามีน (DA) และกลูโคส (Glu) ให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นครั้งละ 1.0 mM

#### 4.2.2 การพัฒนาขั้วไบโอแอโนดโดยใช้นาโนคอมโพสิตของคาร์บอนนาโนทิวบ์ และไคโตซานในการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส

##### 4.2.2.1 การศึกษาหองค์ประกอบที่เหมาะสมของไบโอแอโนด

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาเทคนิคในการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสบนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าชนิดกลาสคาร์บอน โดยใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์ ซึ่งเป็นสารที่มีพื้นที่ผิวสูงและสามารถจุสารต่างๆ ในท่อคาร์บอนนาโนทิวบ์ได้ เป็นตัวช่วยให้สามารถตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสได้ในปริมาณที่สูงขึ้น ใช้สารละลายไคโตซานในการช่วยให้เอนไซม์มีความคงตัวสูงขึ้น ในการพัฒนาขั้วไบโอแอโนดโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสในการตรวจวัดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส ผลการศึกษาหองค์ประกอบที่เหมาะสมของขั้วไบโอแอโนดแสดงดังรูปที่ 4.20



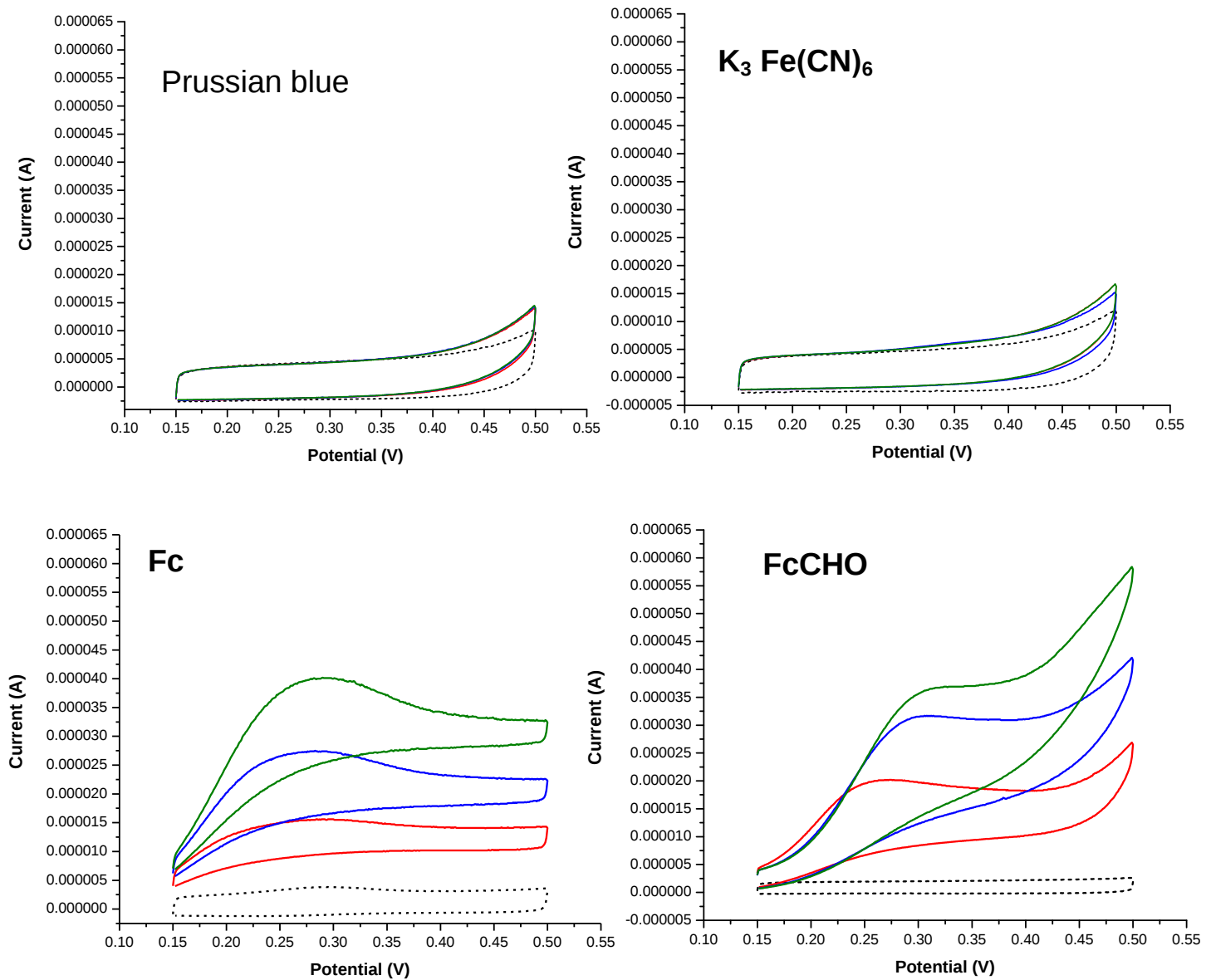
**รูปที่ 4.20** ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของกลูโคสความเข้มข้น 5, 10 และ 15 mM ที่ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (A) และขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ถูกโมดิฟายด์ทั้ง 5 ชนิด (B-F) ทำการทดลองในสารละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ที่มี FcCHO ความเข้มข้น 0.5 mM เป็นเมดิเอเตอร์

เมื่อพิจารณาไซคลิกโวลแทมโมแกรมของกลูโคสในรูปที่ 4.20 ที่ขั้วไฟฟ้าทั้ง 6 ชนิด (A-F) ได้แก่ A ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (GC), B ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยกลูโคสออกซิเดส (GC/GOx), C ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยสารละลายไคโตซาน (GC/CS), D ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์ (GC/MWCNT), E ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยสารละลายคาร์บอนนาโนทิวบ์/ไคโตซาน (GC/MWCNT-CS) และ F ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยสารละลายผสมของคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานและเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GC/MWCNT-CS-GOx) ทำการทดลองโดยมี  $\text{FcCHO}$  ความเข้มข้น 0.5 mM เป็นเมดิเอเตอร์ จะเห็นได้ว่าขั้วไฟฟ้าทั้ง 5 ชนิด (A-E) กลูโคสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าที่สูงกว่า 0.50 V ในขณะที่ขั้วไฟฟ้า F (GC/MWCNT+CS+GOx) กลูโคสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.32 V และให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่สุด เนื่องจากขั้วไฟฟ้าชนิด F มีเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยา ทำให้สามารถตรวจวัดกลูโคสที่ศักย์ต่ำๆได้ มีไคโตซานช่วยให้เอนไซม์มีความคงตัวมากขึ้น ส่วนคาร์บอนนาโนทิวบ์ช่วยให้สามารถนำไฟฟ้าได้ดี และเพิ่มพื้นที่ผิวในการจุเอนไซม์ ทำให้มีอัตราการขนส่งอิเล็กตรอนสูงจึงช่วยให้กลูโคสเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เร็วที่ศักย์ไฟฟ้าต่ำ ดังนั้นขั้วไฟฟ้าชนิด GC/MWCNT-CS-GOx จึงเป็นขั้วไฟฟ้าไบโออิเล็กโทรดที่เหมาะสม

#### 4.2.2.2 ศึกษาหาเมดิเอเตอร์ที่เหมาะสม

ในการทดลองนี้จะศึกษาเมดิเอเตอร์ที่เหมาะสมในการช่วยนำส่งอิเล็กตรอน ในขั้วไฟฟ้าชนิด GC/MWCNT-CS-GOx โดยเมดิเอเตอร์ที่จะทำการศึกษาได้แก่ ferrocenecarboxaldehyde ( $\text{FcCHO}$ ), ferrocene (Fc), potassium hexacyano ferrate ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) และ prussian blue ความเข้มข้น 0.5 mM ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.21

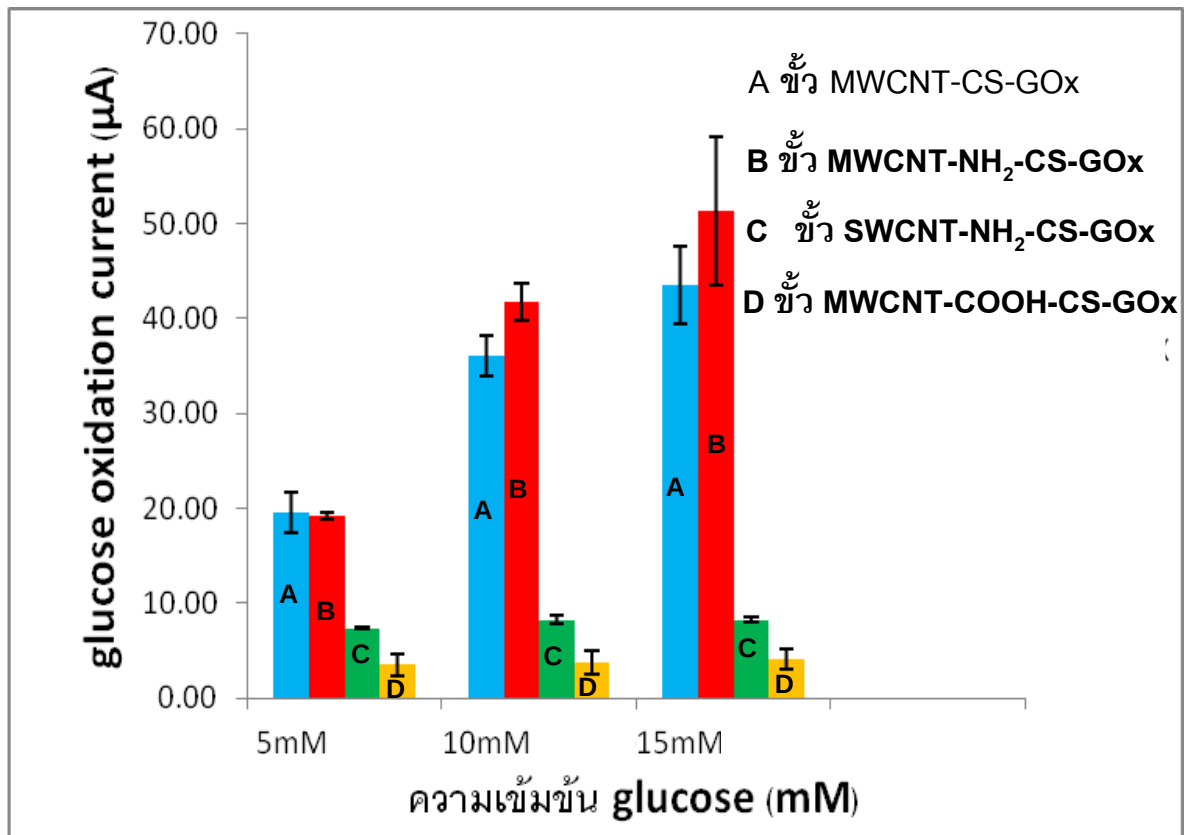
จากผลการทดลองในรูปที่ 4.21 พบว่าในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส จะเกิดที่ศักย์ต่ำลงเมื่อมีเมดิเอเตอร์ทำหน้าที่ในการนำส่งอิเล็กตรอน ซึ่งพบว่าเมื่อมี  $\text{FcCHO}$  เป็นเมดิเอเตอร์จะให้ค่ากระแสที่สูงที่สุด แสดงว่า  $\text{FcCHO}$  ทำหน้าที่ในการนำส่งอิเล็กตรอนได้ดีที่สุด และพบว่าศักย์ไฟฟ้าที่ยอดพีคออกไซด์มีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความสามารถในการนำส่งอิเล็กตรอนของเมดิเอเตอร์แต่ละชนิด  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  และ Prussian blue ให้ค่าศักย์ที่ยอดพีคออกไซด์ที่สูง (มากกว่า 0.50 V) และให้สัญญาณของกระแสค่อนข้างต่ำ ส่วน Fc และ  $\text{FcCHO}$  จะให้ค่าศักย์ที่ยอดพีคออกไซด์ต่ำกว่า คือ ที่ 0.25 และ 0.30 V ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับ  $\text{FcCHO}$  เมื่อใช้  $\text{FcCHO}$  เป็นเมดิเอเตอร์ จะเห็นว่า  $\text{FcCHO}$  ให้ค่ากระแสที่สูงกว่า แสดงว่า  $\text{FcCHO}$  ช่วยในการถ่ายเทอิเล็กตรอนระหว่างบริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์กับผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าได้ดีกว่า จึงทำให้ได้สัญญาณกระแสที่สูงที่สุดและช่วยให้เกิดปฏิกิริยาที่ศักย์ไฟฟ้าที่ลดต่ำลง ดังนั้น  $\text{FcCHO}$  จึงเป็นเมดิเอเตอร์ที่เหมาะสม



รูปที่ 4.21 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 5, 10 และ 15 mM ที่ขั้วไฟฟ้า GC/MWCNT-CS-GOx และ background current (เส้นประ) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ความเข้มข้น 0.1 M และเมื่อเติมสารละลายเมดิเอเตอร์ชนิดต่างๆ (Prussian blue,  $K_3Fe(CN)_6$ , Fc และ FcCHO) ความเข้มข้น 0.5 mM

#### 4.2.2.3 การศึกษาหาชนิดของคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่เหมาะสม

ในการศึกษาถึงชนิดของคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่เหมาะสมในการเตรียมไบโอแอโนด ชนิดคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ MWCNT, MWCNT-NH<sub>2</sub>, MWCNT-COOH และ SWNT-NH<sub>2</sub> ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 4.22



รูปที่ 4.22 กราฟแท่งแสดงผลการเปรียบเทียบชีวไบโอแอโนดที่ใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์ชนิดต่างๆ ในการโมดิฟายด์ชีวไฟฟ้า

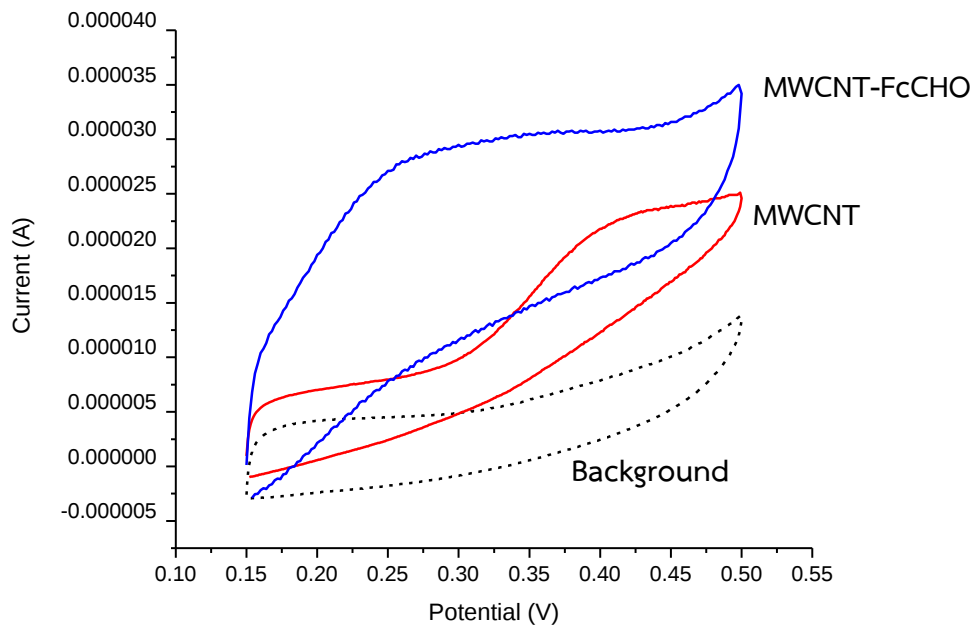
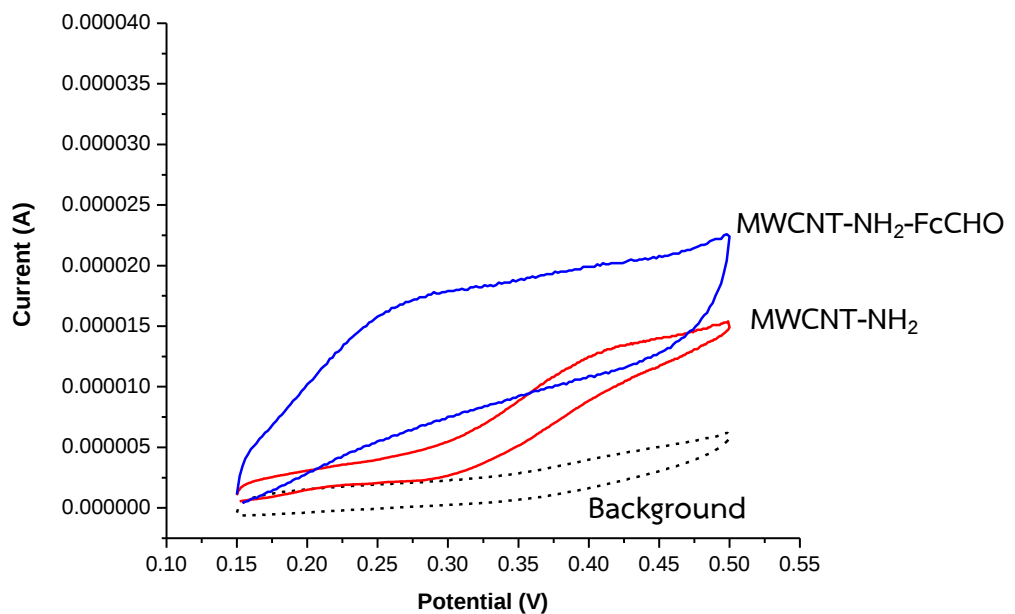
จากผลการทดลองในรูปที่ 4.22 ที่ได้จะเห็นว่าที่ศักย์ไฟฟ้าที่ 0.35 V ชีวไบโอแอโนดที่โมดิฟายด์ด้วย MWCNT-NH<sub>2</sub> จะให้ค่ากระแสที่สูงที่สุดรองลงมาเป็นชีว MWCNT ชีว SWNT-NH<sub>2</sub> และ ชีว MWCNT-COOH ตามลำดับ แสดงว่าคาร์บอนนาโนทิวบ์ชนิด MWCNT และ MWCNT-NH<sub>2</sub> ช่วยในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างสารละลายกับผิวหน้าชีวไฟฟ้าได้ดีกว่า คาร์บอนนาโนทิวบ์ชนิดอื่นๆ

#### 4.2.2.4 การเพิ่มประสิทธิภาพของข้าวไบโอแอโนดโดยการตรึง FcCHO ในคาร์บอนนาโนทิวบ์ด้วยการดูดซับทางกายภาพร่วมกับวิธีการทางเคมี

การทดลองนี้จะศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรึง FcCHO ในคาร์บอนนาโนทิวบ์ 2 ชนิด (MWCNT และ MWCNT-NH<sub>2</sub>) โดยใช้วิธีการดูดซับทางกายภาพร่วมกับวิธีการทางเคมีก่อนนำมาโม่ดีฟายด์ ข้าวไฟฟ้า จะข้าวไฟฟ้า GC/MWCNT-FcCHO-CS-GOx และ ข้าวไฟฟ้า GC/ MWCNT-NH<sub>2</sub>-FcCHO-CS-GOx เป็น ข้าวไฟฟ้าใช้งาน เมื่อนำข้าวไฟฟ้าทั้งสองชนิดที่เตรียมได้ มาใช้ศึกษาปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส ผลการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.23

จากผลการทดลองในกราฟรูปที่ 4.23 ทั้งสองกราฟจะเห็นว่าค่ากระแสของกลูโคสความเข้มข้น 10 mM ที่ได้จากข้าวไฟฟ้าที่มีการตรึง FcCHO ในท่อคาร์บอนนาโนทิวบ์ (MWCNT-FcCHO และ MWCNT-NH<sub>2</sub>-FcCHO) ให้สัญญาณค่ากระแสที่สูงกว่าคาร์บอนนาโนทิวบ์ ที่ไม่มีการตรึง FcCHO (MWCNT และ MWCNT-NH<sub>2</sub>) อย่างเห็นได้ชัด แสดงว่าตรึง FcCHO ในโครงสร้างของคาร์บอนนาโนทิวบ์ ส่งผลให้การนำส่งอิเล็กตรอนเกิดขึ้นได้ดีขึ้นทำให้ค่ากระแสออกซิเดชันของกลูโคสที่วัดได้เพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเปรียบเทียบชนิดของคาร์บอนนาโนทิวบ์ระหว่าง MWCNT และ MWCNT-NH<sub>2</sub> พบว่าคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ไม่มีหมู่ฟังก์ชัน (MWCNT) สามารถตรึง FcCHO ได้ดีกว่าคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่มีหมู่ฟังก์ชันอะมิโน (MWCNT-NH<sub>2</sub>) ทำให้สัญญาณของกลูโคสที่ได้จากข้าวไฟฟ้าที่ใช้ MWCNT-FcCHO มีค่าสูงกว่า

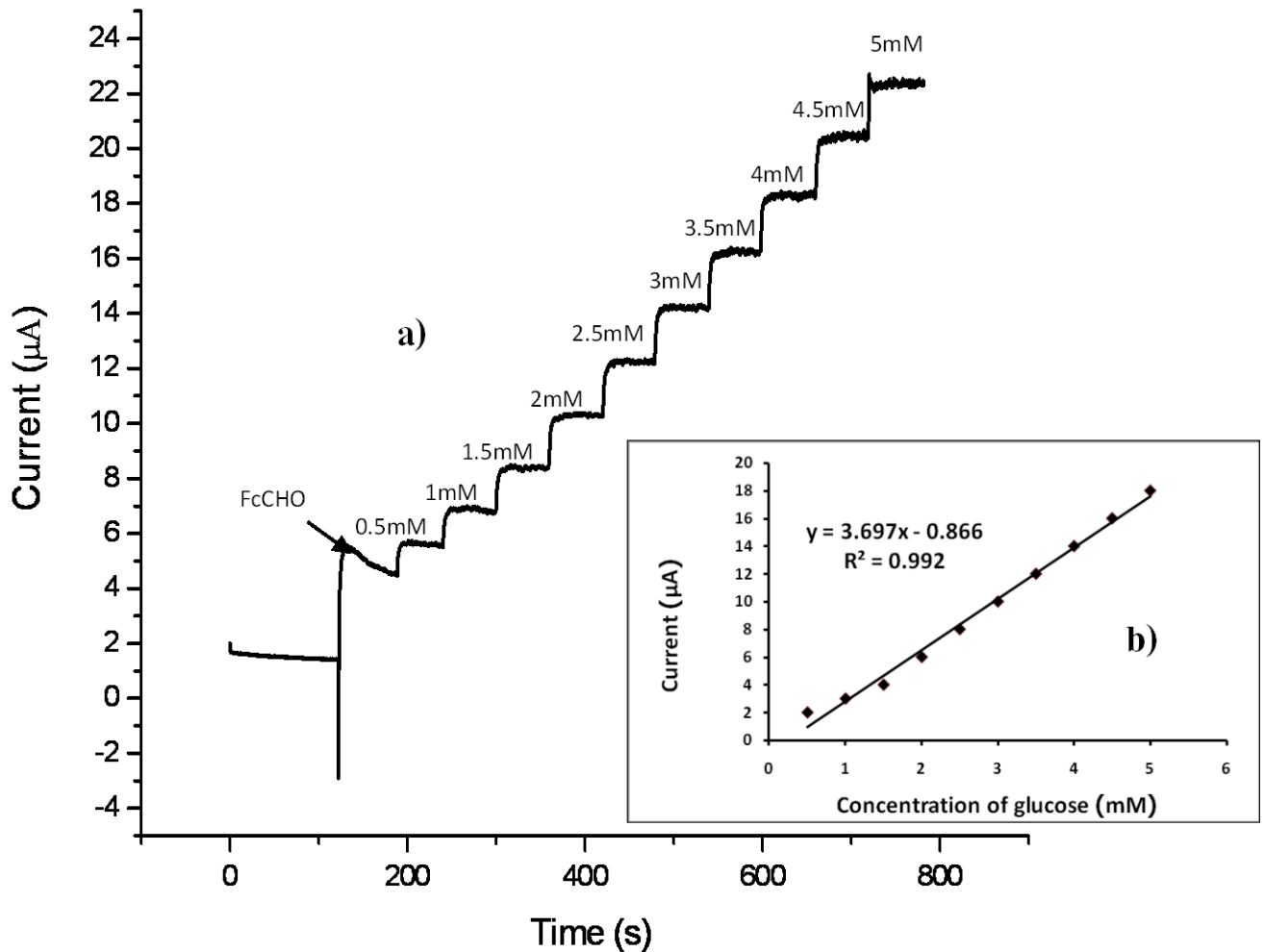
## (A) MWCNT

(B) MWCNT-NH<sub>2</sub>

**รูปที่ 4.23** ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 10 mM ที่ขั้วไฟฟ้าที่ใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ตรึง FcCHO (A) MWCNT-FcCHO และ (B) MWCNT-NH<sub>2</sub>-FcCHO และ คาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ไม่ผ่านกระบวนการ MWCNT และ MWCNT-NH<sub>2</sub> (control) เส้นแสดงกระแสปั่น (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ความเข้มข้น 0.1 M)

#### 4.2.2.5 การศึกษาคุณลักษณะกลูโคสไบโอเซนเซอร์

นำขั้วไฟฟ้า GC/MWCNT-FcCHO-CS-GOx มาศึกษาโดยใช้เทคนิคแอมเพอร์โรเมทรี เพื่อศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสที่ศักย์ไฟฟ้า +0.4 V ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.1 M ทำการศึกษาโดยเติม FcCHO ความเข้มข้น 0.5 mM ลงในสารละลายเพื่อใช้เป็นเมดิเอเตอร์ แล้วเติมกลูโคสทีละ 0.5 mM ในสารละลาย ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 4.24a



รูปที่ 4.24 a) แอมเพอร์โรแกรมและ b) กราฟมาตรฐานของกลูโคสความเข้มข้น 0.5- 5 mM (สมการเส้นตรงคือ  $y = 3.697x - 0.866$  มีค่า  $r^2 = 0.992$ )

จากรูปที่ 4.24a พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสความเข้มข้นค่ากระแสที่ได้จะเพิ่มสูงขึ้น โดยเมื่อเติมกลูโคสความเข้มข้น 0.5 mM กลูโคสไบโอเซนเซอร์สามารถตรวจวัดให้ค่ากระแสที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และคงที่อย่างรวดเร็ว และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสทีละ 0.5 mM ไปจนถึง 5 mM ค่ากระแสที่ได้เพิ่มมากขึ้นแสดงว่ากลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีการตอบสนองต่อความเข้มข้นของกลูโคสที่เติมลงไปและสัญญาณที่

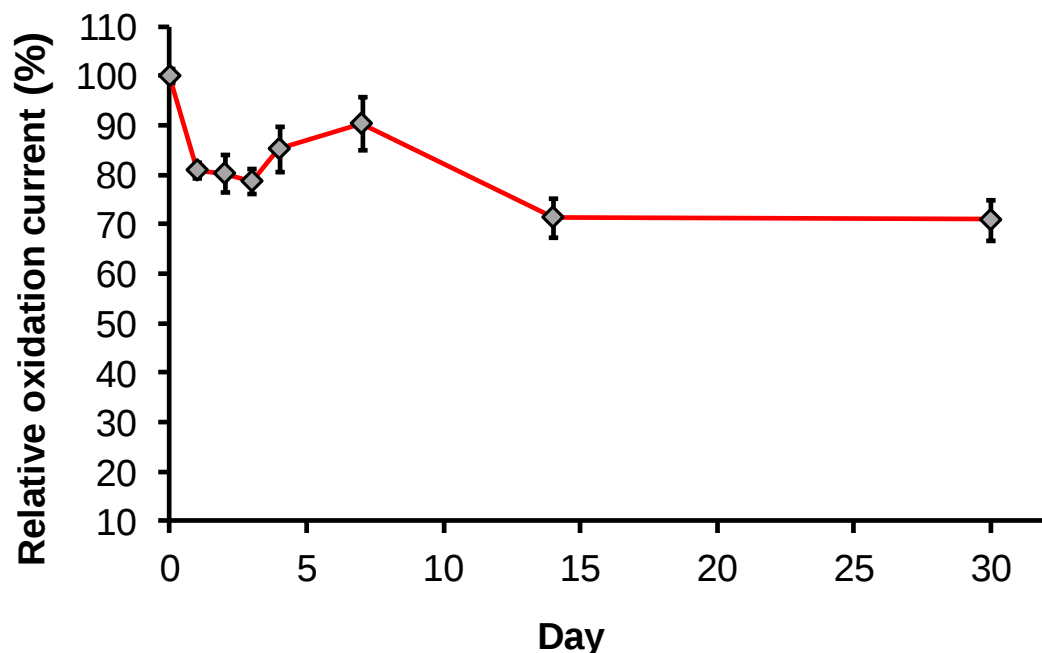
ได้จากการวัดมีความเสถียรดี ดังนั้นนอกจากจะเหมาะสำหรับนำไปใช้เป็นชีวไบโอแอโนดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแล้วยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นตัวตรวจวัดกลูโคสโดยใช้เทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีได้ด้วย

จากรูปที่ 4.24 b เมื่อพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสกับค่ากระแส จะได้สมการเส้นตรงคือ  $y = 3.697x - 0.866$  มีค่า  $r^2 = 0.992$  ระบบวิเคราะห์แอมเพอร์โรเมทรีที่ชีวกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีสภาพไวและความเที่ยงตรงสูง สามารถตรวจวัดกลูโคสในระดับต่ำถึง 0.081 mM และ RSD เท่ากับ 3.01% (n=5)

ดังนั้นชีว GC/MWCNT-FcCHO-CS-GOx ที่พัฒนาขึ้นมานี้นอกจากจะสามารถใช้เป็นไบโอแอโนดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพแล้ว ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณกลูโคสด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีได้

#### 4.2.2.6 การศึกษาความเสถียรของไบโอแอโนด

ผลการศึกษาความเสถียรของชีวไฟฟ้า GC/MWCNT-FcCHO-CS-GOx แสดงดังรูปที่ 4.25 ผลการทดลองพบว่าชีวไฟฟ้า GC/MWCNT-FcCHO-CS-GOx มีความเสถียร โดยค่ากระแสออกซิเดชันของกลูโคสที่ได้จากการวัดเมื่อเตรียมได้ใหม่ ๆ หลังจากเตรียมไบโอเซนเซอร์ไว้ 1-7 วัน มีค่าที่ค่อนข้างคงที่และใกล้เคียงกับค่าเริ่มต้น (~90%) และเริ่มลดลงเมื่อวัดในวันที่ 14 โดยวัดค่ากระแสได้ประมาณ 71% และเมื่อทิ้งไว้ 30 วัน ค่ากระแสยังคงเหลือประมาณ 71% ของค่าเริ่มต้น



รูปที่ 4.25 ความเสถียรของชีวไฟฟ้า GC/MWCNT-FcCHO-CS-GOx ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการเก็บรักษา (เก็บที่อุณหภูมิ 4°C)

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

ในการพัฒนาขั้วไบโอแคโทดชนิดใหม่ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการทำ  $\text{dioxygen}$  ( $\text{O}_2$ ) เกิด electro-enzymatic reduction เป็นน้ำ ( $\text{H}_2\text{O}$ ) โดยใช้ nano-composite ของเอนไซม์ laccase สามารถพัฒนาขึ้นโดยการตรึงเอนไซม์แลคเคสไว้ในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซาน ทำให้ได้ไบโอเซนเซอร์ที่มีสภาพไว มีความจำเพาะเจาะจง และมีความเสถียรที่ดี เนื่องจากวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานมีความสามารถเข้ากับสารชีวโมเลกุล (biocompatibility) สามารถช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการตรึงเอนไซม์ให้สูงขึ้น และนำไฟฟ้าได้ดี เอนไซม์แลคเคสถูกตรึงที่พื้นผิวของขั้วไฟฟ้าชนิดกลาสซีคาร์บอนบนวัสดุเชิงประกอบของคาร์บอนนาโนทิวบ์-ไคโตซานและสารละลายโบทินซีรัมอัลบูมิน ทำให้สามารถใช้เป็นตัวตรวจวัดออกซิเจน และมีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นไบโอแคโทดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้ต่อไป

ในการพัฒนาขั้วไบโอแอโนด โดยพัฒนากระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนด้วยตัวนำส่งอิเล็กตรอนที่เป็นโพลิเมอร์นำไฟฟ้า polyaniline (co-*m*-ferrocenylaniline) หรือ PFCANI เพื่อช่วยให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสที่ถูกเร่งด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ขั้วไบโอแอโนดไบโอแอโนดชนิดใหม่ที่ได้พัฒนาขึ้นได้โดยนำขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนมาดัดแปรด้วยวัสดุเชิงประกอบไคโตซาน-PFCANI และอนุภาคทองนาโน (GC/PFCANI/AuNPs/CS/GOx) มีความจำเพาะเจาะจง และมีความเสถียรที่ดี เมื่อนำมาใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้

ในการพัฒนาขั้วไบโอแอโนดชนิดใหม่ โดยอาศัยการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสในเมทริกซ์ของคาร์บอนนาโนทิวบ์และไคโตซานก่อนนำไปโม่ดิฟายด์ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน พบว่าการการตรึงเฟอร์โรซีนคาร์บอกซัลดีไฮด์ ( $\text{FcCHO}$ ) บนคาร์บอนนาโนทิวบ์ด้วยวิธีดูดซับทางกายภาพร่วมกับวิธีทางเคมี สามารถให้สัญญาณค่ากระแสที่สูงขึ้น ทำให้สภาพไวของขั้วไฟฟ้าเพิ่มขึ้น ขั้วไฟฟ้า GC/MWCNT-FcCHO-CS-GOx ที่พัฒนาขึ้นมีความเสถียรดีมาก โดยค่ากระแสออกซิเดชันของกลูโคสที่ได้จากการวัดหลังจากเก็บไว้ 1 สัปดาห์มีค่า  $\sim 90\%$  ของค่าเริ่มต้น และหลังจาก 1 เดือนค่ากระแสมีค่า  $\sim 70\%$  ของค่าเริ่มต้น คุณสมบัติในการมีความเสถียรที่ดีของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น ทำให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นไบโอแอโนดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### เอกสารอ้างอิง

1. Bullen, R. A.; Arnot, T. C.; Lakeman, J. B.; Walsh, F. C., Biofuel cells and their development. *Biosensors and Bioelectronics* 2006, 21, (11), 2015-2045.
2. Potter, M. C., Electrical effects accompanying the decomposition of organic compound. *Proceedings of the Royal Society* 1911, 260, (B84), 260-276.
3. H.P. Benetto, J. L. S., K. Tanaka and C.A. Vega, Anodic reaction in microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering* 1991, 25, (2), 559-568.
4. <http://www.sony.net/SonyInfo/News/Press/200708/07-074E/index.html>.
5. Zheng, W.; Zho, H. M.; Zheng, Y. F.; Wang, N., A comparative study on electrochemistry of laccase at two kinds of carbon nanotubes and its application for biofuel cell. *Chemical Physics Letters* 2008, 457, (4-6), 381-385.
6. Davis, F.; Higson, S. P. J., Biofuel cells - Recent advances and applications. *Biosensors & Bioelectronics* 2007, 22, (7), 1224-1235.
7. Davis, F.; Higson, S. P. J., Biofuel cells--Recent advances and applications. *Biosensors and Bioelectronics* 2007, 22, (7), 1224-1235.
8. Cohen, B., The bacterial culture as an electrical half-cell. *J. Bacteriology* 1931, 21, 18.
9. E. Katz, I. W. a. A. B. K., A non-compartmentalized glucose O<sub>2</sub> biofuel cell by bioengineered electrode surfaces. *J. Electroanalytical Chemistry* 1999, 479, 64-68.
10. Palmore, G. T. R.; Kim, H.-H., Electro-enzymatic reduction of dioxygen to water in the cathode compartment of a biofuel cell. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 1999, 464, (1), 110-117.
11. I. V. Berezin, V. A. B., S.D. Varfolomeev, M. R. Tarasevich, A.I. Yaropolov, *Doklady Akad. Nauk SSSR* 1978, 240, 615.
12. V.A. Bogdanovskaya, E. F. G., M. R. Tarasevich, *Elektrokhimiya* 1986, 22, 742.
13. Farneth, W. E.; Diner, B. A.; Gierke, T. D.; D'Amore, M. B., Current densities from electrocatalytic oxygen reduction in laccase/ABTS solutions. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 2005, 581, (2), 190-196.
14. Farneth, W. E.; D'Amore, M. B., Encapsulated laccase electrodes for fuel cell cathodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 2005, 581, (2), 197-205.
15. K. Gong, Y. Y., M. Zhang, L. Su, S. Xiong and L. Mao, Electrochemistry and Electroanalytical Applications of Carbon Nanotubes: A Review. *Analytical Sciences* 2005, 21, (12), 1383.
16. R. H. Baughman, A. A. Z., W. A. de Heer, Carbon Nanotubes--the Route Toward Applications. *Science* 2002, 297, (5582), 787 - 792.
17. Smolander, M.; Boer, H.; Valkiainen, M.; Roozeman, R.; Bergelin, M.; Eriksson, J. E.; Zhang, X. C.; Koivula, A.; Viikari, L., Development of a printable laccase-based biocathode for fuel cell applications. *Enzyme and Microbial Technology* 2008, 43, (2), 93-102.

18. Deng, L.; Shang, L.; Wang, Y.; Wang, T.; Chen, H.; Dong, S., Multilayer structured carbon nanotubes/poly-L-lysine/laccase composite cathode for glucose/O<sub>2</sub> biofuel cell. *Electrochemistry Communications* 2008, 10, (7), 1012-1015.
19. A. Pizzariello, M. S. a. S. M., A glucose/hydrogen peroxide biofuel cell that uses oxidase and peroxidase as catalysts by composite bulk-modified bioelectrodes based on a solid binding matrix. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 2002, 56, 99-105.
20. Y. Xiao, F. P., E. Katz, J. Hainfeld and I. Willner, *Science* 2003, 299, 1877-1881.
21. F. Barriere, P. K. a. D. L., A laccase-glucose oxidase biofuel cell prototype operating in a physiological buffer. *Electrochimica Acta* 2006, 51, 5187-5189.
22. Ivnitski, D.; Atanassov, P., Electrochemical studies of intramolecular electron transfer in laccase from *Trametes versicolor*. *Electroanalysis* 2007, 19, (22), 2307-2313.
23. Dong, Y. L. a. S., A biofuel cell harvesting energy from glucose-air and fruit juice-air. *Biosensors and Bioelectronics* 2007, 23, (4), 593-597.
24. Dong, Y. L. a. S., A biofuel cell with enhanced power output by grape juice. *Electrochemistry Communications* 2007, 9, 1423-1427.
25. M. Togo, A. T., T. Asai, H. Kaji and M. Nishizawa, Structural studies of enzyme-based microfluidic biofuel cells. *J. Power Sources* 2008, 178, 53-58.
26. Wang, J. and Musameh, M. (2004) Electrochemical detection of trace insulin at carbon-nanotube-modified-electrodes. *Analytica Chimica Acta* , 511, 33-36.
27. Tangkuaram, T et al. (2007) Highly stable amplified low-potential electrocatalytic detection of NAD<sup>+</sup> at azure-chitosan modified carbon electrodes. *Sensors and Actuators B*, 30, 277-281.
28. Haghighi, B., Gorton, L., Ruzgas, T. and Jonsson, L.J. (2003) Characterization of graphite electrodes modified with laccase from *Tametes versicolor* and their use for bioelectrochemical monitoring of phenolic compounds in flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, 487, 3-14.
29. Portaccio, M., Di Martino, S., Durante, et al. (2006) Biosensors for phenolic compounds: The catechol as a substrate model. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 41, 97-102.
30. Lee, S. K., et al. (2002) Nature of the intermediate formed in the reduction of O<sub>2</sub> to H<sub>2</sub>O at the trinuclear copper cluster active site in native laccase. *Journal of American Chemical Society*, 124, 6180-6193.
31. Santucci, R. et al. (1998) Unmediated heterogenous electron transfer reaction of ascorbate oxidase and laccase at gold electrode. *Biochemistry Journal*, 332, 611-615.
32. Kulys, J., et al.(2002) Laccase-catalyzed oxidation of syringates in presence of albumins. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatics*, 18, 99-108.

33. Pang, H. L., et al. (2010) Immobilization of laccase onto 1-aminopyrene functionalized carbon nanotubes and their electrocatalytic activity for oxygen reduction. *Electrochimica Acta*, 55, 6611-6616.

## ภาคผนวก

**รายงานสรุปการเงิน**

**โครงการ: การพัฒนาไบโอแคโทดและไบโอแอโนดชนิดใหม่โดยใช้เอนไซม์เพื่อการประยุกต์ใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ**

**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน** นางสาว มะลิวรรณ อมตงไชย

**รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่** 1 ต.ค.2552 **ถึงวันที่** 30 ก.ย. 2554

| รายการ                                                                         | ปี 2553        | รายจ่าย        | ปี 2554        | รายจ่าย           | คงเหลือ     |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------|-------------|
| <b>1. งบดำเนินการ</b>                                                          | <b>155,000</b> |                | <b>160,400</b> |                   |             |
| <b>1.1 ค่าตอบแทน และค่าใช้สอย</b>                                              |                |                |                |                   |             |
| 1.1.1 ค่าตอบแทน (ค่าอาหารทำการนอกเวลา)                                         | 40,000         | 10,000         | 20,000         | 4,980             | 15,020      |
| 1.1.2 ค่าใช้สอย                                                                |                |                |                |                   |             |
| -ค่าจ้างเหมาผู้ช่วยวิจัย (12X 8,000 บาท)                                       | 96,000         | 96,500         | 96,000         | 96,000            | 0           |
| -ค่าจ้างอื่น ๆ เช่น เหมापิมพ์/จัดทำรูปเล่มรายงาน, วิเคราะห์ผลทางห้องปฏิบัติการ | 9,000          | 6,589.20       | 30,000         | 5,820             | 24,180      |
| -ค่าเดินทางเพื่อเสนอผลงานภายในประเทศ                                           | 5,000          | 0              | 10,000         | 11,912            | -1,912      |
| -ค่าสืบค้นข้อมูลทั้งในและต่างประเทศ                                            | 5,000          | 0              | 4,400          | 0                 | 4,400       |
| <b>2. ค่าวัสดุและสารเคมี</b>                                                   | <b>249,500</b> |                | <b>319,600</b> |                   |             |
| -สารเคมีและเครื่องแก้ว                                                         | 100,000        | 91,835.13      | 175,600        | 215,477.01        | -39,877.01  |
| - อุปกรณ์และวัสดุวิทยาศาสตร์                                                   | 109,500        | 175,556.67     | 110,000        | 116,279.88        | -6,279.88   |
| - วัสดุสื่อสารและวัสดุสำนักงาน                                                 | 10,000         | 4,917          | 19,000         | 6,538             | 12,462      |
| -วัสดุหนังสือ วารสารและตำรา                                                    | 5,000          | 0              | 0              | 1,586             | -1,586      |
| -วัสดุสิ้นเปลืองในห้องปฏิบัติการ/สำนักงาน                                      | 25,000         | 19,102         | 15,000         | 21,406.38         | -6,406.38   |
| <b>2.2 ค่าสาธารณูปโภค</b>                                                      |                |                |                |                   |             |
| -ค่าสาธารณูปโภค (คณะ 5% ,มหาวิทยาลัย 5%)                                       | 40,500         | 40,500         | 48,000         | 48,000            | 0           |
| <b>รวมงบประมาณทั้งสิ้น</b>                                                     | <b>445,000</b> | <b>445,000</b> | <b>528,000</b> | <b>527,999.27</b> | <b>0.73</b> |

## ผลผลิต (Output)ของโครงการ

### 1 ผลผลิตของโครงการในเรื่องของการตีพิมพ์สรุปได้ดังต่อไปนี้

#### 1.1 วารสารระดับชาติ 1 เรื่อง

-ยูวากร เสนศรี, เสนอ ชัยรัมย์, ดวงใจ นาคะปรีชา และ มะลิวรรณ อมตธงไชย “การพัฒนาไบโอเซนเซอร์ด้วยเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวป์-ไคโตซานเร่งปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนด้วยแลคเคส” วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 16 (2554) 2: 40-50.

#### 1.2 วารสารนานาชาติ 1 เรื่อง

-S. Chairam, W. Sriraksa, M. Amatatongchai and E. Somsook “Electrocatalytic Oxidation of Ascorbic Acid Using a Poly(aniline-co-m-ferrocenylaniline) Modified Glassy Carbon Electrode” Sensors, 2011, 11(11), 10166-10179.

#### 1.3 นำเสนอในงานประชุม

##### 1.3.1 ระดับชาติ

-ยูวากร เสนศรี, เสนอ ชัยรัมย์ และ มะลิวรรณ อมตธงไชย “การพัฒนาไบโอแคโทดเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพด้วยเอนไซม์แลคเคส” การประชุมวิชาการ มอบ.วิจัย ครั้งที่ 4, 9-10 สิงหาคม 2553 (อุบลราชธานี, ประเทศไทย).

-Y. Sensri, S. Chairam, D. Nacapricha and M. Amatatongchai “Development of biosensor based on the matrix of carbon nanotubes-chitosan composite for laccase-catalyzed oxygen reduction” 36<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand (STT36) 26 - 28 October 2010 (Bangkok, Thailand).

##### 1.3.2 ระดับนานาชาติ

-M. Amatatongchai, J. Phanthuwat and D. Nacapricha “Development of glucose biosensor based on glucose oxidase entrapped in the matrix of carbon nanotube/chitosan modified glassy carbon electrode” 16<sup>th</sup> International Conference on Flow Injection Analysis (ICFIA 2010) including related techniques 25-30 April 2010 (Pattaya, Thailand).

### 2 Output ของโครงการในเรื่องของผลการวิจัยสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. ได้ขั้วไฟฟ้าไบโอแคโทดและไบโอแอโนดชนิดใหม่ ที่สามารถนำไปในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพและให้กำลังไฟฟ้าที่สูงขึ้นได้

1.1 ขั้วไฟฟ้าไบโอแคโทดชนิดใหม่ ที่พัฒนาขึ้นจากการตรึงเอนไซม์แลคเคสลงบนเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวป์-ไคโตซาน และให้เป็น biocatalyst ในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ dioxygen (O<sub>2</sub>) ไปเป็นน้ำ (H<sub>2</sub>O) ที่มีความคงตัวของเอนไซม์และความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอนสูง ทำให้อิเล็กโทรดที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพมากขึ้น สามารถนำไปใช้เป็นขั้วไบโอแคโทดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพและให้กำลังไฟฟ้าที่สูงขึ้นได้

1.2 ขั้วไฟฟ้าไบโอแอโนดชนิดใหม่ ที่พัฒนามาจากวิธีการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 1) บนโพลิเมอร์นำไฟฟ้าชนิด polyaniline (co-*m*-ferrocenylaniline) หรือ PFCAni และ 2) ในเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบของคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่มีการตรึงตรึงเฟอร์โรซีนคาร์บอกซัลดีไฮด์ (FcCHO) และโคโตะซานก่อนนำไปโม่ติฟายด์ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน โดยสารดังกล่าวทำหน้าที่เป็นสารนำส่งอิเล็กตรอนทำให้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสที่ตรึงบนโพลิเมอร์และเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบสามารถ catalyze การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารละลายกลูโคสทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นสารตัวกลางทางไฟฟ้า ( $H_2O_2$ ) ทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ที่ศักย์ไม่สูงนัก ทำให้ได้ขั้วไฟฟ้าไบโอแอโนดชนิดใหม่ที่ได้สัญญาณค่ากระแสที่สูงขึ้น ทำให้สภาพไวของขั้วไฟฟ้าเพิ่มขึ้น มีความเสถียร สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นขั้วไบโอแอโนดในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพและให้กำลังไฟฟ้าที่สูงขึ้นได้

2. ผลงานที่ได้พัฒนาขึ้นได้ถูกถ่ายทอดสู่กลุ่มเป้าหมาย โดยการนำผลการทดลองที่ได้ไปแสดงหรือบรรยายในที่ประชุมวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และนำไปตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ

3. ได้องค์ความรู้ที่สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาศักยภาพของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพเพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรของไทย เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง อ้อย ฯลฯ รวมทั้งเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้กับภาคอุตสาหกรรมที่ต้องการนำเทคนิคที่ได้พัฒนาขึ้นไปผลิตเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพให้มีประสิทธิภาพในการให้กำลังไฟฟ้าที่สูงขึ้น และ/หรือสามารถนำไปใช้ในการย่อขนาดให้เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพให้มีขนาดเล็กลงได้

4. โครงการวิจัยนี้สามารถเอื้อให้มีการผลิตมหาบัณฑิต ทางด้านเคมี จำนวน 2 คน องค์ความรู้จากงานวิจัยสามารถนำไปใช้ในการวิจัยต่อยอดเป็นสารนิพนธ์สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมี จำนวน 2 เรื่อง

# ผลงานวิจัย

## ผลงานวิจัย

### บทความวิจัย

#### วารสารระดับชาติ 1 เรื่อง

1. ยุวากร เสนศรี, เสนอ ชัยรัมย์ และ มะลิวรรณ อมตงไชย การพัฒนาไบโอเซนเซอร์ด้วยเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวป์-ไคโตซานเร่งปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนด้วยแลคเคส, วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 16 (2554) 2: 40-50.

#### วารสารนานาชาติ 1 เรื่อง

1. S. Chairam, W. Sriraksa, M. Amatatongchai and E. Somsook “Electrocatalytic Oxidation of Ascorbic Acid Using a Poly(aniline-co-m-ferrocenylaniline) Modified Glassy Carbon Electrode” Sensors, 2011, 11(11), 10166-10179.

## นำเสนอในงานประชุม

### ระดับชาติ

1. ยุวากร เสนศรี, เสนอ ชัยรัมย์ และ มะลิวรรณ อมตตรงไชย “การพัฒนาไบโอแคโทดเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพด้วยเอนไซม์แลคเคส” การประชุมวิชาการ มอบ.วิจัย ครั้งที่ 4, 9-10 สิงหาคม 2553 (อุบลราชธานี, ประเทศไทย).
2. Y. Sensri, S. Chairam, D. Nacapricha and M. Amatatongchai “Development of biosensor based on the matrix of carbon nanotubes-chitosan composite for laccase-catalyzed oxygen reduction” 36<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand (STT36) 26 - 28 October 2010 (Bangkok, Thailand).

### ระดับนานาชาติ

- 2 M. Amatatongchai, J. Phanthuwat and D. Nacapricha “Development of glucose biosensor based on glucose oxidase entrapped in the matrix of carbon nanotube/chitosan modified glassy carbon electrode” 16<sup>th</sup> International Conference on Flow Injection Analysis (ICFIA 2010) including related techniques 25-30 April 2010 (Pattaya, Thailand).

## การนำองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

โครงการวิจัยนี้สามารถเอื้อให้มีการผลิตมหาบัณฑิต ทางด้านเคมี จำนวน 2 คน องค์ความรู้จากงานวิจัยสามารถนำไปใช้ในการวิจัยต่อยอดเป็นสารนิพนธ์สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมี จำนวน 2 เรื่อง

1. Development of laccase based biosensor for fuel cell and antioxidants assay applications
2. Development of amperometric biosensors for glucose detection