

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ปรับปรุงชีวไฟฟ้าคาร์บอนเพสพัฒนาเป็นไบโอเซนเซอร์สำหรับตรวจวัดคาร์โบฟูแรนโดยการตรึงทางเคมีของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โบวินเซรัมอัลบูมิน กลีเซอรอลและกลูตารัลดีไฮด์ การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนยังเป็นการเร่งปฏิกิริยาปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชันของไดไฮเดียมฟีนิลฟอสเฟตให้ผลิตภัณฑ์ฟีนอลของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส การวัดสัญญาณการวิเคราะห์ โดยให้ศักย์กระตุ้นการเกิดออกซิเดชันของฟีนอลให้ผลิตภัณฑ์เป็นเบนโซควิโนน โปรตอน และอิเล็กตรอน ซึ่งอิเล็กตรอนเป็นสัญญาณเฉพาะที่เครื่องแปลงสัญญาณสามารถรับและแปลงสัญญาณเฉพาะนี้เป็นสัญญาณทางไฟฟ้าได้ และตรวจวัดปริมาณคาร์โบฟูแรนโดยอาศัยหลักการวิเคราะห์ทางอ้อม

การเตรียมไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนนั้น สามารถเตรียมชีวไฟฟ้าคาร์บอนเพสและตรึงทางเคมีของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสและกลูตารัลดีไฮด์ ผู้วิจัยได้ศึกษาลักษณะพื้นผิวของผิวหน้าชีวไฟฟ้าคาร์บอนเพสด้วยเทคนิคจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พิสูจน์เอกลักษณ์ทางไฟฟ้าของชีวไฟฟ้าด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของไบโอเซนเซอร์ ได้แก่ ปริมาณของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ระยะเวลาในการเชื่อมโซ่เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสกับกลูตารัลดีไฮด์ ปริมาณโบวินเซรัมอัลบูมิน ปริมาณไดไฮเดียมฟีนิลฟอสเฟต สภาวะ pH ของสารละลาย ศักย์ไฟฟ้า และอุณหภูมิ เป็นต้น จากนั้นประเมินการทำงานของไบโอเซนเซอร์ โดยศึกษาถึงช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ ความไวในการตรวจวัดขีดจำกัดในการตรวจพบและตรวจวัด ความเที่ยงของการวิเคราะห์ และเปรียบเทียบข้อมูลการวิเคราะห์คาร์โบฟูแรนในตัวอย่างข้าวหอมมะลิด้วยไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ผลการทดลอง พบว่า

1. ชีวไฟฟ้าคาร์บอนเพสเมื่อตรึงเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสและโบวินเซรัมอัลบูมินลงบนคาร์บอนเพส พบว่ามีสารเกาะตัวกันบนผิวหน้าคาร์บอนเพสซึ่งเกิดจากเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสและโบวินเซรัมอัลบูมินเกิดการสร้างพันธะกันส่งผลให้เกิดกลุ่มก้อนโปรตีนมีขนาดใหญ่ขึ้น
2. เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสามารถเร่งปฏิกิริยาของไดไฮเดียมฟีนิลฟอสเฟตเกิดผลิตภัณฑ์คือฟีนอลซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อให้ศักย์กระตุ้นที่เหมาะสม
3. สภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ มีดังนี้
  - 3.1 ปริมาณของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส 1.2 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร
  - 3.2 ระยะเวลาในการเชื่อมโซ่เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสกับกลูตารัลดีไฮด์ 10 นาที
  - 3.3 ปริมาณของโบวินเซรัมอัลบูมิน ร้อยละ 8 โดยมวลต่อปริมาตร
  - 3.4 ปริมาณของไดไฮเดียมฟีนิลฟอสเฟต 5000 มิลลิกรัมต่อลิตร
  - 3.5 pH ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม เท่ากับ 8.0
  - 3.6 ศักย์กระตุ้นที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ +0.750 โวลต์ เทียบกับชีวไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์
  - 3.7 อุณหภูมิห้องเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์
4. ผลการประเมินการทำงานของไบโอเซนเซอร์
  - 4.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงการวิเคราะห์คาร์โบฟูแรน 1 ถึง 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ  $r^2$

เท่ากับ 0.991

- 4.2 ความไวของการตรวจวัดที่ 7.07 ร้อยละของการยับยั้ง-ลิตรต่อมิลลิกรัม
- 4.2 ขีดจำกัดในการตรวจพบที่ 1.12 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 4.3 ขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณที่ 3.75 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 4.4 ความเที่ยงของชีวไฟฟ้าในการวิเคราะห์ พบว่าให้ค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ ร้อยละ 4.31
- 4.5 ความเที่ยงของการวิเคราะห์ พบว่าไบโอเซนเซอร์ตอบสนอง ให้ค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ ร้อยละ 2.80
5. การศึกษาหาปริมาณคาร์โบฟูแรนในตัวอย่างข้าวหอมมะลิ
  - 5.1 สารสกัดข้าวหอมมะลิที่สุ่มเก็บมาจาก ในพื้นที่ อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี ตรวจไม่พบปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยไบโอเซนเซอร์และเทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
  - 5.2 สารสกัดจากตัวอย่างข้าวหอมมะลิที่ทำการเติมปริมาณคาร์โบฟูแรน 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจวัดด้วยไบโอเซนเซอร์ พบปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ความเข้มข้นเฉลี่ย  $1.52 \pm 0.08$ ,  $1.43 \pm 0.20$  และ  $1.57 \pm 0.31$  มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ วิเคราะห์ด้วยเทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบปริมาณคาร์โบฟูแรน ระดับความเข้มข้นเฉลี่ยที่ 1.39, 1.40 และ 1.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
  - 5.3 ผลการวิเคราะห์ให้ร้อยละของการวิเคราะห์กลับคืนมาในช่วงร้อยละ 95.6 - 104.8
6. เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์จากทั้งสองเทคนิค โดยใช้สถิติค่า t พบว่า t จากการคำนวณเท่ากับ 2.86, 0.31 และ 0.95 ตามลำดับ ซึ่งมีน้อยกว่าค่า t ในตาราง เท่ากับ 4.30 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สรุปได้ว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยไบโอเซนเซอร์กับโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ