



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพโดยอาศัยการเร่งปฏิกิริยา
ของไบโอนาโนเทคโนโลยี

โดย ธานีินทร์ แดงกวารัมย์

มีนาคม 2556

สัญญาเลขที่ MRG5280159

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพโดยอาศัยการเร่งปฏิกิริยา
ของไบโอนาโนเทคโนโลยี

ผู้วิจัย ธารินทร์ แต่งกวารัมย์
สังกัด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา
และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย รหัสโครงการ MRG5280159 ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนวิจัย จนสำเร็จเสร็จสิ้นโครงการ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ในการดำเนินการวิจัยจนงานวิจัยนี้สำเร็จ

ขอขอบคุณนางสาวพิทยาพร บุญทา คำ นางสาวศิริธร แซ่ตั้ง และนายพนนัท กอบบุตร ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง และช่วยงานวิจัยจนเสร็จสิ้น

ท้ายที่สุดนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวที่ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน แนะนำ และเป็นกำลังใจจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ธานินทร์ แดงกวารัมย์

Abstract

Project Code : MRG5280159

Project Title : Biofuel Cells Based On Nanobiocatalysis

Investigator : Tanin Tangkuaram, Maejo University

E-mail Address : tanin@mju.ac.th

Project Period : March 16, 2009 – March 15, 2011

This work was consisted of 3 projects; (i) glucose biosensor (II) oxygen biosensor, and (III) biofuel cells development.

(I) Glucose biosensor based on the deposition of biocatalytic activity of glucose oxidase (GOx) with the electrochemical properties of carbon nanotubes (CNT) and ferric/ferrocyanide on gold nanoparticles (AuNP) (GOx/ $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP}/\text{CNT}/\text{GCE}$) for determination of glucose is described. Amperometric techniques was used for testing applied potential and it was found that the +0.0 V was the appropriate operational potential. The biosensor gave a detection limit of 7.80 μM with the linearity in the range of 10 μM to 13 mM of glucose and life time 12 times.

(II) The O_2 reduction based on the deposition of biocatalytic activity of bilirubin oxidase (BOD) and the electrochemical properties of carbon nanotube (CNT) and gold nanoparticles (AuNP) on the surface of glassy carbon electrode for oxygen biosensor. The six modified/unmodified electrodes comprising of Bare GCE, BOD/GCE, CNT/GCE, BOD/AuNP/GCE, AuNP/CNT/GCE, and BOD/AuNP/CNT/GCE were fabricated. The results from cyclic voltammetry and chronoamperometry showed that the current on the BOD/AuNP/CNT/GCE was gave the highest current than others. The applied potential was suitable at -0.4 V. The biosensor was comparative to the commercial O_2 sensor for O_2 detection in natural water at 95% confidence level of student's t-test.

(III) A biofuel cell, consisting of two of 1 square centimeter carbon electrodes assembled after the modification of the gold nanoparticles/carbon nanotube is constructed and operating at the room temperature. An anode of the biofuel cell was immobilized with glucose oxidase (GOx), while a cathode was immobilized with bilirubin oxidase (BOD). The maximum current of this biofuel cell was 90.54 mA with a maximum cell voltage of 43.56 mV and with a maximum power of 3.94 mW.

Keywords: Biofuel cells, Glucose oxidase, Bilirubin oxidase, Nanotechnology, Sensors

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5280159

ชื่อโครงการ : เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพโดยอาศัยการเร่งปฏิกิริยาของไบโอเอนาโนเทคโนโลยี

ชื่อนักวิจัย : ธาณินทร์ แดงกาวรัมย์, มหาวิทยาลัยแม่โจ้

อีเมล : tanin@mju.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 19 มี.ค. 52 - 15 มี.ค. 54

งานวิจัยนี้ประกอบด้วย 3 งานวิจัย คือ (I) กลูโคสไบโอเซนเซอร์ (II) ออกซิเจนไบโอเซนเซอร์ และ (III) การพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

(I) ในงานวิจัยแรกนี้ได้ประกอบกลูโคสไบโอเซนเซอร์โดยการนำตัวเร่งทางชีวภาพคือ กลูโคสออกซิเดสมาตรึงร่วมกับตัวเร่งทางไฟฟ้าคือคาร์บอนนาโนทิวบ์ และเฟอร์ริกเฟอโรไซยาไนด์บนพื้นผิวของทองคำนาโน การใช้เทคนิคแอมเปโรเมตริกทดสอบศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการให้แก่วัสดุไฟฟ้าซึ่งพบว่าที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 โวลต์ ให้กระแสรีดักชัน และเลือกศักย์ไฟฟ้าดังกล่าวในการหาลักษณะเฉพาะของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ พบว่ากลูโคสไบโอเซนเซอร์มีช่วงเป็นเส้นตรงในช่วง 10 ไมโครโมลาร์ ถึง 13 มิลลิโมลาร์ มีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดกลูโคสอยู่ในเทากับ 7.80 ไมโครโมลาร์ มีอายุใช้งาน 12 ครั้ง

(II) งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนโดยใช้เอนไซม์บิรูบินออกซิเดสเป็นตัวเร่งทางชีวภาพและใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์-ทองคำนาโนเป็นตัวเร่งทางเคมีไฟฟ้าบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเพื่อใช้เป็นออกซิเจนเซนเซอร์ นำคาร์บอนนาโนทิวบ์ ทองคำนาโน และเอนไซม์บิรูบินออกซิเดสมาใช้ปรับปรุงขั้ว ซึ่งมี 6 ขั้วด้วยกันคือ ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย ขั้วไฟฟ้าบีโอดี ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนนาโนทิวบ์ ขั้วไฟฟ้าบีโอดี/ทองคำนาโน ขั้วไฟฟ้าทองคำนาโน/คาร์บอนนาโนทิวบ์ และขั้วไฟฟ้าบีโอดี/ทองคำนาโน/คาร์บอนนาโนทิวบ์ พบว่าขั้วไฟฟ้าปรับปรุงบีโอดี/ทองคำนาโน/คาร์บอนนาโนทิวบ์เป็นขั้วไฟฟ้าปรับปรุงที่ให้กระแสสูงที่สุด ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับงานวิจัยนี้คือ -0.4 โวลต์ ไบโอเซนเซอร์นี้ไม่แตกต่างจากออกซิเจนเซนเซอร์ที่ได้มาจากเชิงพาณิชย์ในการวัดความเข้มข้นของออกซิเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยสถิติทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

(III) การสร้างเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพซึ่งประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนขนาด 1 ตารางเซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น โดยนำมาปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนทองและคาร์บอนนาโนทิวบ์ การทดลองจะทำการทดลองที่อุณหภูมิห้องโดยตรึงขั้วไฟฟ้าแอโนดด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ในขณะที่ขั้วไฟฟ้าแคโทดจะตรึงด้วยเอนไซม์บิรูบินออกซิเดส เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพให้กำลังไฟฟ้าภายใต้สภาวะที่เหมาะสมโดยให้กระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ 90.54 มิลลิแอมแปร์ ให้ศักย์ไฟฟ้าสูงสุดที่ 43.56 มิลลิโวลต์ และให้กำลังไฟฟ้าสูงสุดที่ 3.94 มิลลิวัตต์

คำสำคัญ: เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ, กลูโคสออกซิเดส, บิรูบินออกซิเดส, นาโนเทคโนโลยี, เซนเซอร์

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	3
ABSTRACT	4
บทคัดย่อ	5
บทที่ 1 กลูโคสไบโอเซนเซอร์	15
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	15
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย	15
1.3 ขอบเขตการศึกษาวิจัย.....	15
1.4 การทดลอง	16
1.4.1 สารเคมี	16
1.4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	17
1.4.3 การเตรียมสารละลาย	17
1.4.4 การเตรียมขั้วไฟฟ้าทำงาน.....	18
1.4.5 การเตรียมฟิล์ม Prussian Blue (PB)	22
1.4.6 การทดสอบขั้วไฟฟ้า.....	22
1.4.7 การทำไฮโดรนามิกโวลแทมโมแกรม.....	23
1.4.8 การหาขีดจำกัดการตรวจวัด	24
1.4.9 วัดกลูโคสในน้ำผึ้งและเครื่องดื่มชูกำลัง	24
1.4.10 การหาอายุการใช้งาน.....	24
1.4.11 การหาตัวรบกวน	24
1.5 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	25
1.5.1 ผลจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีของทองคำนาโน.....	25
1.5.2 ผลการดูดกลืนแสง (Abs) กับเวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์ทองคำนาโนโดยใช้ทองคำ ไรต์ : ไตรโซเดียมซิเตรตในอัตราส่วนโมล 1:10.....	32
1.5.3 ทดสอบขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry)	34
1.5.4 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า 6 ชนิด.....	40
1.5.5 การหาขีดจำกัดการตรวจวัด	48
1.5.6 การทดสอบกลูโคสในน้ำผึ้งตัวอย่าง	49
1.5.7 การทดสอบอายุการใช้งานของขั้วปรับปรุงทั้ง 6 ชนิด.....	51
1.5.8 การทดสอบสารรบกวน	53
1.6 สรุปผลการวิจัย	54
บทที่ 2 ออกซิเจนไบโอเซนเซอร์.....	56

สารบัญ (ต่อ)

2.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	56
2.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย	56
2.3 วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยขอบเขตการศึกษา	56
2.4 วิธีการทดลอง	57
2.4.1 วัสดุ ก๊าซ และสารเคมี.....	57
2.4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	58
2.4.3 การเตรียมสารละลาย	58
2.4.4 การเตรียมสเลสลีคาร์บอนนาโนทิวบ์.....	59
2.4.5 การเตรียมขั้วไฟฟ้าทำงาน	59
2.4.6 การทดสอบไบโอเซนเซอร์.....	63
2.5 ผลการทดลอง.....	65
2.5.1 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรีของทองคำนาโน	65
2.5.2 ทดสอบประสิทธิภาพการล้างคาร์บอนนาโนทิวบ์ด้วยกรดเข้มข้น.....	68
2.5.3 การทดสอบออกซิเจนไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาได้.....	73
2.5.4 ผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ของขั้วไฟฟ้ากลาสสึคาร์บอนอิเล็กโทรดปรับปรุง	77
2.5.5 การหาเส้นกราฟมาตรฐานของไบโอเซนเซอร์	80
2.5.7 การทดสอบการวัดออกซิเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยใช้ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาได้.....	82
2.6 สรุปผลการทดลอง	84
บทที่ 3 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ	86
3.1 ความสำคัญและที่มา	86
3.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	86
3.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	87
3.4 วิธีทดลอง วัสดุ และสารเคมี	87
3.4.1 สารเคมี ก๊าซ และเอนไซม์.....	87
3.4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	88
3.4.3 การเตรียมสารเคมี	88
3.4.4 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 และ 7.4.....	89
3.4.5 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนทอง.....	90
3.4.6 การเตรียมสารละลายเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อลิตร.....	90
3.4.7 การเตรียมสารละลายเอนไซม์บีลูบีนออกซิเดสเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อลิตร.....	90
3.4.8 การเตรียมสารละลายออกซิเจนอิ่มตัว	91
3.4.9 การเตรียมขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลือย (bare SPCE).....	91

สารบัญ (ต่อ)

3.4.10 การทดสอบขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	91
3.4.11 การปรับปรุงขั้วไฟฟ้า.....	92
3.4.12 การทดสอบหาสถานะของครึ่งเซลล์เชื้อเพลิง.....	94
3.4.13 การประกอบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ.....	95
3.4.14 การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้น.....	96
3.4.15 การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้น.....	98
3.4.16 การหาพลังงานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ	98
3.5 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	99
3.5.1 ผลจากการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนทอง.....	99
3.5.2 ผลการทดสอบขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี	102
3.5.3 ผลการทดสอบขั้วไฟฟ้าปรับปรุง SPCE/CNT และ SPCE/CNT/AuNP ด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรี.....	104
3.5.4 ผลการทดสอบหาสถานะของขั้วไฟฟ้าแอโนด.....	105
3.5.5 ผลการทดสอบหาค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตที่เหมาะสมสำหรับขั้วไฟฟ้าแคโทด สถานะขั้วไฟฟ้าแคโทด.....	108
3.5.6 กระแสไฟฟ้าจากครึ่งเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ.....	109
3.5.7 ผลจากการหาคักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ	112
3.5.8 ผลการหาพลังงานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ	114
3.5.9 ผลการหาอายุการใช้งานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ	115
3.6 สรุปผลการทดลอง	116
3.7 ข้อเสนอแนะ	117
เอกสารอ้างอิง	118
OUTPUT จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกอ. และ สกว.	120

สารบัญรูป

รูป	หน้า
รูป 1 การเตรียมขั้ว GCE	19
รูป 2 การเตรียมขั้ว GOX/GCE	19
รูป 3 การเตรียมขั้ว CNT/GCE	20
รูป 4 การเตรียมขั้ว GOX/CNT/GCE	20
รูป 5 การเตรียมขั้ว GOX/AUNP/CNT/GCE	21
รูป 6 การเตรียมขั้ว GOX/Fe ^{III} /AUNP/CNT/GCE	21
รูป 7 การเตรียมฟิล์ม PRUSSIAN BLUE บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน	22
รูป 8 การจัดเซลล์สำหรับทดสอบด้วยไซคลิกโวลแทมเมตรี (CV)	23
รูป 9 การจัดเซลล์สำหรับทดสอบด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรี	23
รูป 10 สารละลายของทองคำนาโนให้ความร้อนเป็นเวลา 2 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตที่ (ก) 1:1 (ข) 1:5 (ค) 1:10 (ง) 1:15 และ (จ) 1:20	25
รูป 11 ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 2 นาที	26
รูป 12 สารละลายของทองคำนาโนให้ความร้อนเป็นเวลา 4 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตที่ (ก) 1:1 (ข) 1:5 (ค) 1:10 (ง) 1:15 และ (จ) 1:20	27
รูป 13. ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 4 นาที	28
รูป 14 สารละลายของทองคำนาโนให้ความร้อนเป็นเวลา 6 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตที่ (ก) 1:1 (ข) 1:5 (ค) 1:10 (ง) 1:15 และ (จ) 1:20	29
รูป 15 ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 6 นาที	30
รูป 16 ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 8 นาที	31
รูป 17 ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตเป็น 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 8 นาที	32
รูป 18 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับเวลาในการสังเคราะห์ทองคำนาโนโดยใช้ทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซัลเฟตในอัตราส่วนโมล 1:10	33
รูป 19 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า BARE GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4	34
รูป 20 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOX/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4	35
รูป 21 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4	36

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป 22	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOX/CNT/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 MM (ข) 10 MM และ (ค) 20 MM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4	37
รูป 23	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOX/AUNP/CNT/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 MM (ข) 10 MM และ (ค) 20 MM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4	38
รูป 24	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOX/Fe ^{III} (CN) ₆ /AUNP/CNT/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 MM (ข) 10 MM และ (ค) 20 MM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4.....	39
รูป 25	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของกลูโคส 20 MM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า (ก) BARE GCE (ข) GOX/GCE (ค) CNT/GCE (ง) GOX/CNT/GCE (จ) GOX/AUNP/CNT/GCE และ (ฉ) GOX/Fe ^{III} (CN) ₆ /AUNP/CNT/GCE	40
รูป 26	ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า BARE GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 MM.....	41
รูป 27	ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOX/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 MM.....	42
รูป 28	ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 MM.....	43
รูป 29	ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOX/CNT/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 MM.....	44
รูป 30	ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOX/AUNP/CNT/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 MM	45
รูป 31	ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOX/Fe ^{III} (CN) ₆ /AUNP/CNT/GCE ที่ความเข้มข้นของกลูโคส 2 MM.....	46
รูป 32	ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง (ก) BARE GCE (ข) GOX/GCE, (ค) CNT/GCE, (ง) GOX/CNT/GCE, (จ) GOX/AUNP/CNT/GCE และ (ฉ) GOX/Fe ^{III} (CN) ₆ /AUNP/CNT/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 MM.....	48
รูป 33	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสกับกระแสที่ได้จากปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V.....	49
รูป 34	การเตรียมสเลอส์คาร์บอนนาโนทิวบ์	59
รูป 35	การล้างขั้วกลาสคาร์บอนเปลือย	60
รูป 36	การปรับปรุงขั้ว CNT/GCE	60
รูป 37	การปรับปรุงขั้ว BOD/GCE.....	61
รูป 38	การปรับปรุงขั้ว AUNP/CNT/GCE	61
รูป 39	การปรับปรุงขั้ว BOD/AUNP/GCE.....	62
รูป 40	การปรับปรุงขั้ว BOD/AUNP/CNT/GCE	62
รูป 41	การจัดเซลล์สำหรับทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี	63
รูป 42	การจัดเซลล์สำหรับทดสอบด้วยเทคนิคโคโนแอมเปอร์เมตรี	64
รูป 43	(A) โครงสร้างของสถานีวัดออกซิเจนในน้ำและ (B) ภาพถ่ายจากสถานที่จริง	65

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป 44	สารละลายทองคำนาโนให้ความร้อนเป็นเวลา 4 นาที ในอัตราส่วนโดยโมลของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซีเตรต ที่ 1:1(A) , 1:5(B) , 1:10(C), 1:15(D), 1:20(E).....	66
รูป 45	ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียม ซีเตรต เป็น 1:1(C), 1:5(D), 1:10(E), 1:15(B), และ 1:20(A) โดยให้ความร้อนด้วยเตาไมโครเวฟเป็นเวลา 4 นาที.....	67
รูป 46	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง CNT/GCE ที่ล้างด้วยกรดไนตริก (A) และล้างด้วยกรด ผสมไนตริกกับซัลฟูริก (B) โดยนำ CNT มาจากบริษัทชิกมาโดยทดสอบในสารละลาย (A) 0.2 MM $K_3Fe(CN)_6$ /0.1 M KCL และ (B) 0.1 M KCL	69
รูป 47	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง CNT/GCE ที่ล้างด้วยกรดไนตริก (A) และ ล้างด้วยกรดผสมของไนตริกกับซัลฟูริก (B) โดยนำ CNT มาจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยทดสอบในสารละลาย (A) 0.2 MM $K_3Fe(CN)_6$ /0.1 M KCL และ (B) 0.1 M KCL.....	70
รูป 48	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง CNT/GCE ที่ล้างด้วยกรดไนตริก (A) และล้างด้วยกรดผสมไนตริกกับซัลฟูริก (B) โดยนำ CNT มาจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยโดยทดสอบในสารละลาย (A) 0.2 MM $K_3Fe(CN)_6$ /0.1 M KCL และ (B) 0.1 M KCL	71
รูป 49	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย (A) และ BOD/GCE (B) ที่อัตรา การสแกน 25 MV/S ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ PH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (A) N_2 และ (B) O_2	73
รูป 50	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ที่ ล้างด้วย HNO_3 โดยใช้ CNT จากบริษัท ชิกมา ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (A) O_2 และ (B) N_2	74
รูป 51	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า AUNP/CNT/GCE ที่ ล้างด้วย HNO_3 โดยใช้ CNT จาก SIGMA ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M PH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (A) O_2 และ (B) N_2	75
รูป 52	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า BOD/AUNP/CNT/GCE ที่ล้างด้วย HNO_3 โดยใช้ CNT จากบริษัทชิกมา ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ PH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (A) O_2 และ (B) N_2	76
รูป 53	ผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ ของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย(A), BOD(B), BOD/AUNP/GCE (C), CNT/GCE (D), AUNP/CNT/GCE (E), และ BOD/AUNP/CNT/GCE (F).....	78
รูป 54	ผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนอิเล็กโทรดปรับปรุง(A)ขั้วไฟฟ้า กลาสคาร์บอนเปลือย, (B)BOD/GCE, (C)BOD/AUNP/GCE, (D)CNT/GCE , (E)AUNP/CNT/GCE , และ(F)BOD/AUNP/CNT/GCE ทดสอบในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ PH 7.4 ที่ อิ่มตัวด้วย O_2 ด้วยเทคนิคโครโนแอมเปโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ +0.2 ถึง -1 V.....	79
รูป 55	กราฟมาตรฐานระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้นของออกซิเจน.....	81
รูป 56	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของออกซิเจนที่ได้จากไบโอเซนเซอร์ BOD/AUNP/CNT/GCE กับเครื่องวัดออกซิเจนจากการค้า.....	83
รูป 57	ขั้นตอนการเตรียมขั้วไฟฟ้าฟิมพ์สกรีน (SPCE)	91
รูป 58	การทดสอบขั้วไฟฟ้าฟิมพ์สกรีน.....	92

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป 59 การเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CN	92
รูป 60 การเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AUNP	93
รูป 61 การเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AUNP/GOX	93
รูป 62 การเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AUNP/BOD	94
รูป 63 โครงสร้างของเซลล์เชื้อเพลิง	95
รูป 64 การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์โรเมตรีของครึ่งเซลล์ไฟฟ้า แอโนด	96
รูป 65 การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์โรเมตรีของครึ่งเซลล์ไฟฟ้า แอโนด	97
รูป 66 การจัดเซลล์เพื่อหาอายุการใช้งานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ	98
รูป 67 สารละลายอนุภาคนาโนทองในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมไซเตรดที่ (ก) 1:5, (ข) 1:10, (ค) 1:15, (ง) 1:20 และ (จ) 1:25	99
รูป 68 ยูวีวิสิเบิลสเปกตรัมของสารละลายอนุภาคนาโนทองที่อัตราส่วน (ก) 1:5, (ข) 1:10, (ค) 1:15, (ง) 1:20 และ (จ) 1:25	100
รูป 69 ภาพของอนุภาคนาโนทองจากกล้องกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน ที่อัตราส่วนการสังเคราะห์ ทองคำคลอไรด์ต่อไตรโซเดียมไซเตรด (ก) 1:5, (ข) 1:10, (ค) 1:15, (ง) 1:20 และ (จ) 1:25 กล้อง จุลทรรศน์แบบส่องผ่านใช้กำลังไฟฟ้า 75 KV และกำลังขยาย 200,000 เท่า	101
รูป 70 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนในสารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโน เฟอร์เรตที่ความเข้มข้น (ก) 0.0, (ข) 2.5, (ค) 5.0 และ (ง) 10.0 มิลลิโมลาร์ โดยใช้ โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยและใช้อัตราการสแกน 0.1 โวลต์ต่อวินาที	102
รูป 71 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตกับกระแสฟลัก ของใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยนโดยการทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี (◆ กระแส แอโนดิก และ ■ กระแสแคโทดิก)	103
รูป 72 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนปรับปรุง (ก) BARE SPCE, (ข) SPCE/CNT และ (ค) SPCE/CNT/AUNP ในสารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ โดยมีโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย อัตรา การสแกน 0.1 โวลต์ต่อวินาที	104
รูป 73 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าแอโนด โดยทดสอบใน (ก) สารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 และ (ข) สารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4	105
รูป 74 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชต่างๆ กับกระแสที่เกิดขึ้นของขั้วไฟฟ้าแอโนด โดยทดสอบ ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ในสารละลายกลูโคส 100 มิลลิโมลาร์ โดยมีสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นอิเล็กโทรไลต์ช่วย	106
รูป 75 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับกระแสฟลักต่อพื้นที่ที่เกิดขึ้นของขั้วไฟฟ้าแอโนดโดย ทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยทดสอบกับสารละลายกลูโคส 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ ใน 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4	107

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป 76	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าแคโทด โดยทดสอบใน (ก) สารละลายไนโตรเจนในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 และ (ข) สารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4.....	108
รูป 77	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับกระแสที่เกิดขึ้นของขั้วไฟฟ้าแคโทด โดยทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ในสารละลายออกซิเจนอิ่มตัวใน 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 4.0, 4.5 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 ตามลำดับ.....	109
รูป 78	โครโนแอมเปอร์โรแกรมของขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AUNP/GOX โดยทดสอบโดยการฉีด (ก) 0.0 มิลลิโมลาร์ กลูโคส และ (ข) 25 มิลลิโมลาร์ กลูโคส ที่เวลา 100 วินาที	110
รูป 79	โครโนแอมเปอร์โรแกรม ของขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AUNP/BOD โดยทดสอบโดยการฉีด (ก) สารละลายอิ่มตัว N_2 และ (ข) สารละลายอิ่มตัว O_2 ที่เวลา 100 วินาที.....	111
รูป 80	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลาของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยทดลองในสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และสารละลายออกซิเจนอิ่มตัว.....	113
รูป 81	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับเวลาของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยทดลองในสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และสารละลายออกซิเจนอิ่มตัว.....	113
รูป 82	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับเวลาของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยครึ่งเซลล์แอโนด (SPCE/CNT/AUNP/GOX) ใช้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และมีการติดตั้งปั๊มเพื่อทำให้เกิดการไหลตลอดเวลา ครึ่งเซลล์แคโทด (SPCE/CNT/AUNP/BOD) ใช้สารละลายออกซิเจนอิ่มตัวและมีการผ่านออกซิเจนตลอดเวลา.....	115

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตาราง 1 สารเคมี.....	16
ตาราง 2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	17
ตาราง 3 กระแสไฟฟ้าที่วัดได้ของขั้วปรับปรุงโดย $\text{GOX/Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AUNP/CNT/GCE}$ ด้วยเทคนิค แอมเปโรเมตรีในตัวอย่างน้ำฝิ่ง.....	50
ตาราง 4 ค่าความเข้มข้นของน้ำฝิ่งที่วัดได้จากไบโอเซนเซอร์ $\text{GOX/Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AUNP/CNT/GCE}$ และเครื่องตรวจวัดกลูโคสจากการค้า	50
ตาราง 5 อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง 6 ชนิด	51
ตาราง 6 คุณลักษณะของไบโอเซนเซอร์ที่ได้จากการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าโดยใช้วัสดุที่แตกต่างกัน.....	52
ตาราง 7 การหาความเข้มข้นของวิตามินซีรบกวน.....	53
ตาราง 8 การหาความเข้มข้นของคาเฟอีนรบกวน.....	53
ตาราง 9 วัสดุ ก๊าซ และสารเคมี.....	57
ตาราง 10 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	58
ตาราง 11 ค่า ABS , Λ_{MAX} (NM), PWHM (NM) และ PEAK SHAPE ของสารละลายทองคำนาโนที่ ทดสอบด้วย ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	68
ตาราง 12 ค่าศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าของขั้ว CNT/GCE โดยใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์จากแหล่ง ต่าง ๆ ล้างด้วย HNO_3 และ $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ วัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีใน สารละลาย 0.2 MM $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/0.1 \text{ M KCL}$	72
ตาราง 13 การทดสอบสารรบกวนการวิเคราะห์.....	81
ตาราง 14 ค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่วัดได้จากไบโอเซนเซอร์ BOD/AUNP/ CNT/GCE และเครื่องตรวจวัดออกซิเจนจากการค้า	82
ตาราง 15 สารเคมี ก๊าซ และเอนไซม์.....	87
ตาราง 16 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	88
ตาราง 17 อัตราส่วนโมลของสารละลาย HAUCL_4 กับสารละลาย TRISODIUM CITRATE.....	90
ตาราง 18 ค่า E_{PA} , E_{PC} , I_{PA} และ I_{PC} ของไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ความเข้มข้น 0.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์.....	103
ตาราง 19 สภาวะที่เหมาะสมและพลังงานที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ.....	117

บทที่ 1 กลูโคสไบโอเซนเซอร์

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

น้ำตาลกลูโคส (glucose) เป็นน้ำตาลชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อกระบวนการเมตาโบลิซึมของร่างกาย การขาดแคลนหรือมีมากเกินไปเนื่องจากความผิดปกติของเซลล์ที่ใช้กลูโคสจะส่งผลให้เกิดโรคต่างๆ เช่นโรคเบาหวาน (diabetes) โรคความบกพร่องจากการขาดกลูโคส (hypoglycemia) นอกจากนี้น้ำตาลกลูโคสยังเป็นสารอาหารที่ชดเชยการขาดพลังงานอย่างเฉียบพลันของเซลล์ ซึ่งพบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสลงในเครื่องต้มเกลือแร่ชนิดต่างๆ การวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสส่วนใหญ่ทำได้โดยอาศัยเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างแพง การวิเคราะห์ทำได้ช้า และมีความไวต่ำ ในการวิจัยนี้จึงต้องการพัฒนากลูโคสไบโอเซนเซอร์โดยอาศัยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสมาตรึงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าซึ่งเรียกว่า ไบโอเซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical biosensors) โดยอาศัยวัสดุนาโนคือคาร์บอนนาโนทิวบ์และทองคำโนมาเร่งรัดเพื่อให้ไบโอเซนเซอร์ มีความไวมากขึ้น และมีอายุการใช้งานที่นานขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย

1. เพื่อสังเคราะห์ทองคำนาโนเพื่อนำไปปรับปรุงอิเล็กโทรด
2. เพื่อพัฒนากลูโคสไบโอเซนเซอร์โดยใช้กลูโคสออกซิเดส และวัสดุนาโน
3. เพื่อประยุกต์ใช้กลูโคสไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในน้ำฝิ่ง และเครื่องต้มชูกำลัง

1.3 ขอบเขตการศึกษาวิจัย

1. สังเคราะห์ทองคำนาโนด้วยวิธีทางไมโครเวฟ
2. ปรับปรุงอิเล็กโทรดโดยใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์ และทองคำนาโน
3. ตรวจวัดกลูโคสในน้ำฝิ่งและเครื่องต้มชูกำลังด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีและแอมเพโรเมตรี

1.4 การทดลอง

1.4.1 สารเคมี

ในการทำการวิจัยนี้ได้จัดเตรียมสารเคมี ดังตาราง 1 เพื่อนำไปเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง หรือใช้ในการสังเคราะห์สารสำคัญ สำหรับนำมาปรับปรุงกลูโคสไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคส

ตาราง 1 สารเคมี

ลำดับ	ชื่อสารเคมี	เกรด	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
1.	Ascorbic acid	AR grade	May & Barker	England
2.	Cabon nanotube	> 98.9%	Nanolab	USA
3.	Caffeine	AR grade	Sigma	USA
4.	D-glucose anhydrous ($C_6H_{12}O_6$)	99.0%	Ajax Chemical	Australia
5.	Dimethylformamide (DMF)	HPLC	Ajax Chemical	Australia
6.	Disodium hydrogen orthophosphate (Na_2HPO_4)	99.0%	Ajax Chemical	Australia
7.	Ethanol (C_2H_5OH)	AR grade	Merck	Germany
8.	Ferric chloride anhydrous ($FeCl_3$)	99.0%	Fluka	Switzerland
9.	Glucose oxidase (GOx) from aspergillus niger	25,000 units/g	Sigma	USA
10.	Gold (III) chloride trihydrate ($HAuCl_4$)	49.0%	Sigma	USA
11.	Hydrochloric acid (HCl)	37.0%	Merck	Germany
12.	Nitric acid (HNO_3)	70.0%	Ajax Chemical	Australia
13.	Potassium chloride (KCl)	99.5%	Merck	Germany
14.	Potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$)	99.0%	Ajax Chemical	Australia
15.	Sodium dihydrogen orthophosphate ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)	99.0%	Ajax Chemical	Australia
16.	Trisodium citrate ($Na_3C_6H_5O_7$)	99.0%	Ajax Chemical	Australia

1.4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

ในการทำการวิจัยนี้ได้จัดเตรียมเครื่องมือและอุปกรณ์ที่สำคัญเพื่อใช้ในการทดลอง เช่นอุปกรณ์ที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร หรือเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ กลูโคสในสารตัวอย่าง ดังตาราง 2

ตาราง 2 เครื่องมือและอุปกรณ์

ลำดับ	ชื่อเครื่องมือและอุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต/รุ่น	ประเทศ
1.	ขั้วกลาสสิลคาร์บอน	CH Instruments/ Ø 3 mm	USA
2.	ขั้วไฟฟ้าช่วย	เหล็กกล้าไร้สนิม, Ø 1 mm CH Instruments	Thailand
3.	ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง	CH Instruments Ag/AgCl	USA
4.	เครื่องชั่งสี่ตำแหน่ง	Mettler Toledo / pg 5002-s	Switzerland
5.	เครื่องไมโครเวฟ	Samsung / M181GN	Thailand
6.	เครื่องวัดความดัน-กระแสไฟฟ้า	CH Instrument/CH1230A	USA
7.	เครื่องวัดกลูโคส	Medisense/optium xceed	USA
8.	เครื่องยววิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	Hitachi / U-2900	Japan
9.	เครื่องอัลตราโซนิก	Labquip	England
10.	เตาอบ (Oven)	Gallenkamp	Germany

1.4.3 การเตรียมสารละลาย

1.4.3.1 การเตรียมทองคำนาโน (Gold nanoparticle) ในอัตราส่วน 1:1, 1:5,

1:10, 1:15 และ 1:20

นำ 0.01% ทองคลอไรด์ (HAuCl_4) มาแบ่งใส่บีกเกอร์ 5 บีกเกอร์ ละ 5 mL แล้วให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟ ที่กำลังไฟฟ้า 100 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเติม 1% ไตรโซเดียมซิเตรต ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) ลงไปใน 0.01% ทองคลอไรด์ทั้ง 5 บีกเกอร์ ในอัตราส่วนโมลของทองคลอไรด์:ไตรโซเดียมซิเตรต คือ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 โดยเติม 1% ไตรโซเดียมซิเตรต ลงไปในปริมาณ 18 μL , 92 μL , 184 μL , 276 μL และ 368 μL ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองซ้ำอีกแต่เปลี่ยนเวลาในการให้ความร้อนครั้งสุดท้าย เป็น 4, 6 และ 8 นาที

ตามลำดับ แล้วนำทองคำนาโนทั้งหมดไปหาลักษณะทางกายภาพทางแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี

1.4.3.2 การล้างคาร์บอนนาโนทิวบ์ (carbon nanotube)

ชั่งคาร์บอนนาโนทิวบ์มา 0.03xx g แล้วเติมกรดไนตริก (HNO_3) ลงไป 40 mL แล้วปิดด้วยพาราฟิล์ม จากนั้นนำไปใส่ก๊าซ (sonicate) 10-12 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนอีก 10-12 ชั่วโมง จากนั้นค่อยๆ เทน้ำออกเอาเฉพาะตะกอน นำตะกอนที่ได้มาเติมน้ำปราศจากไอออนจนเต็มบีกเกอร์ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน วัดค่า pH ให้ได้ค่า ~ 7 แต่ถ้า $\text{pH} \neq 7$ ทำการตกตะกอนไปเรื่อยๆ จนได้ $\text{pH} \sim 7$ เมื่อได้ $\text{pH} \sim 7$ เทน้ำออกให้เหลือเฉพาะตะกอน แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 90°C

1.4.3.3 การเตรียมสเลอรี คาร์บอนนาโนทิวบ์ (carbon nanotube slurry)

นำคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ได้จากหัวข้อข้างต้น มา 2.00xx mg เติม DMF ลงไป 1 mL จากนั้นก็นำไปใส่ก๊าซ ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

1.4.3.4 การเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4

- เตรียม 0.2 M Dibasic sodium phosphate (สาร A)

ชั่ง Na_2HPO_4 มา 7.1 g ละลายด้วยน้ำ DI ให้ได้ปริมาตร 250 mL

- เตรียม 0.2 M Monobasic sodium phosphate (สาร B)

ชั่ง $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ต้องชั่งมา 7.80 g ละลายด้วยน้ำ DI ให้ได้ปริมาตร 250 mL

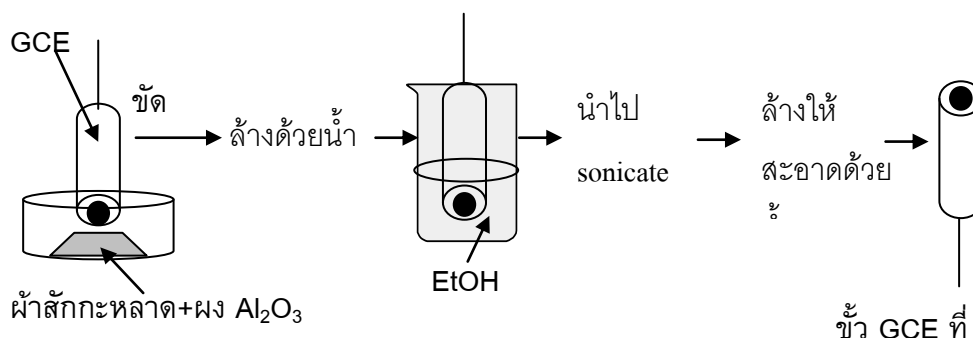
นำสาร A มา 40.5 mL + สาร B มา 9.5 mL ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ให้ได้ปริมาตร 100 mL ในขวดวัดปริมาตร 100 mL จะได้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M pH 7.4

1.4.4 การเตรียมขั้วไฟฟ้าทำงาน

1.4.4.1 ขั้วกลาสสิคาร์บอนเปลือย (bare GCE)

ขัดขั้วกลาสสิคาร์บอนบนผ้าสักหลาดที่มีผงอะลูมินา จากนั้นล้างขั้วให้สะอาดด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วนำไปแช่ในเอทานอลให้ท่วมตรงบริเวณปลายขั้ว จากนั้นนำไปไล่

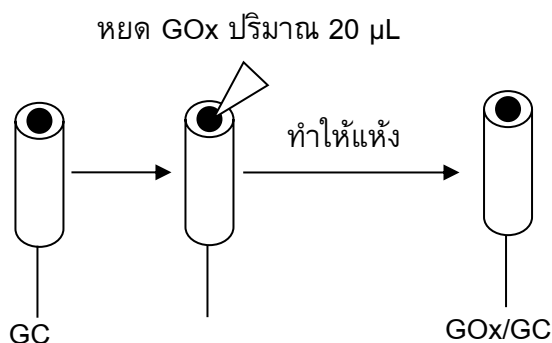
อากาศด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic) แล้วกลั้วด้วยน้ำปราศจากไอออนจะได้ขั้ว GCE ที่สะอาด การทดลองทำได้ดังรูป 1



รูป 1 การเตรียมขั้ว GCE

1.4.4.2 ขั้วปรับปรุง GOx/GCE

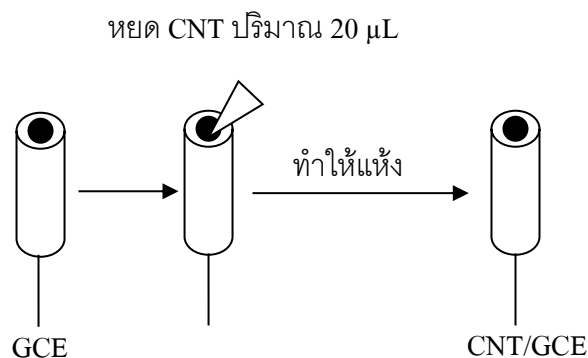
ตรึงกลูโคสออกซิเดสลงบนขั้วกลาสสิคาร์บอนที่ทำความสะอาดแล้ว โดยหยดลงกลูโคสออกซิเดส ปริมาณ 20 μL ลงบนขั้วกลาสสิคาร์บอน รอให้ขั้วไฟฟ้าแห้ง แล้วกลั้วด้วยน้ำปราศจากไอออนจะได้ขั้ว GOx/GCE ดังรูป 2



รูป 2 การเตรียมขั้ว GOx/GCE

1.4.4.3 ขั้วปรับปรุง CNT/GCE

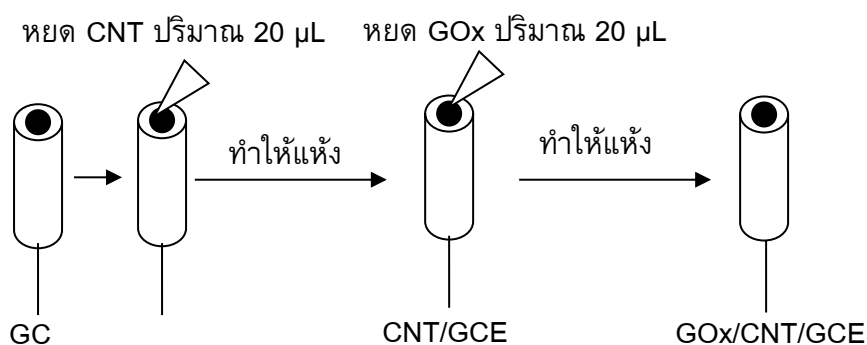
ตรึงคาร์บอนนาโนทิวบนขั้วกลาสสิคาร์บอนที่ทำความสะอาดแล้วโดยหยดคาร์บอนนาโนทิวปริมาณ 20 μL ลงบนขั้วกลาสสิคาร์บอน รอให้ขั้วไฟฟ้าแห้ง แล้วกลั้วด้วยน้ำปราศจากไอออนจะได้ขั้ว CNT/GCE ดังรูป 3



รูป 3 การเตรียมขั้ว CNT/GCE

1.4.4.4 ขั้วปรับปรุง GOx/CNT/GCE

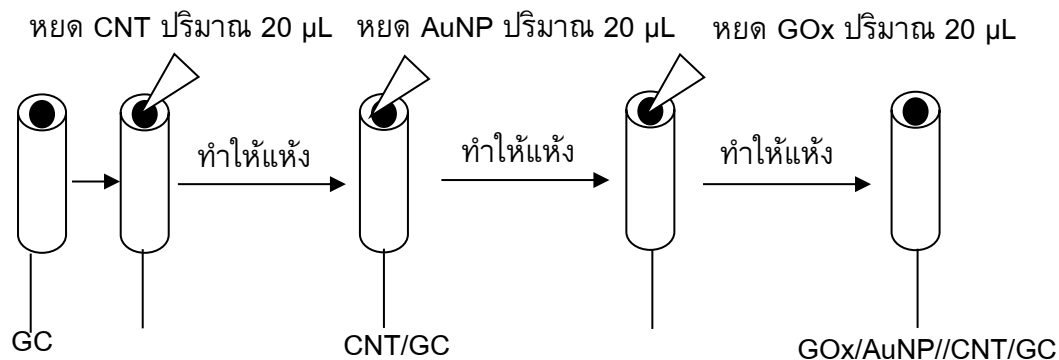
ตรึงคาร์บอนนาโนทิวบนขั้วกลาสคาร์บอนที่ทำความสะอาดแล้ว โดยหยดคาร์บอนนาโนทิวปริมาณ 20 μL ลงบนขั้วกลาสคาร์บอน แล้วรอให้แห้ง จากนั้นตรึงกลูโคสออกซิเดสทับลงไปอีกชั้นโดยหยดกลูโคสออกซิเดสลงไปอีก 20 μL จากนั้นรอให้ขั้วไฟฟ้าแห้ง แล้วกลั้วด้วยน้ำปราศจากไอออนจะได้ขั้ว GOx/CNT/GCE ดังรูป 4



รูป 4 การเตรียมขั้ว GOx/CNT/GCE

1.4.4.5 ขั้วปรับปรุง GOx/AuNP/CNT/GCE

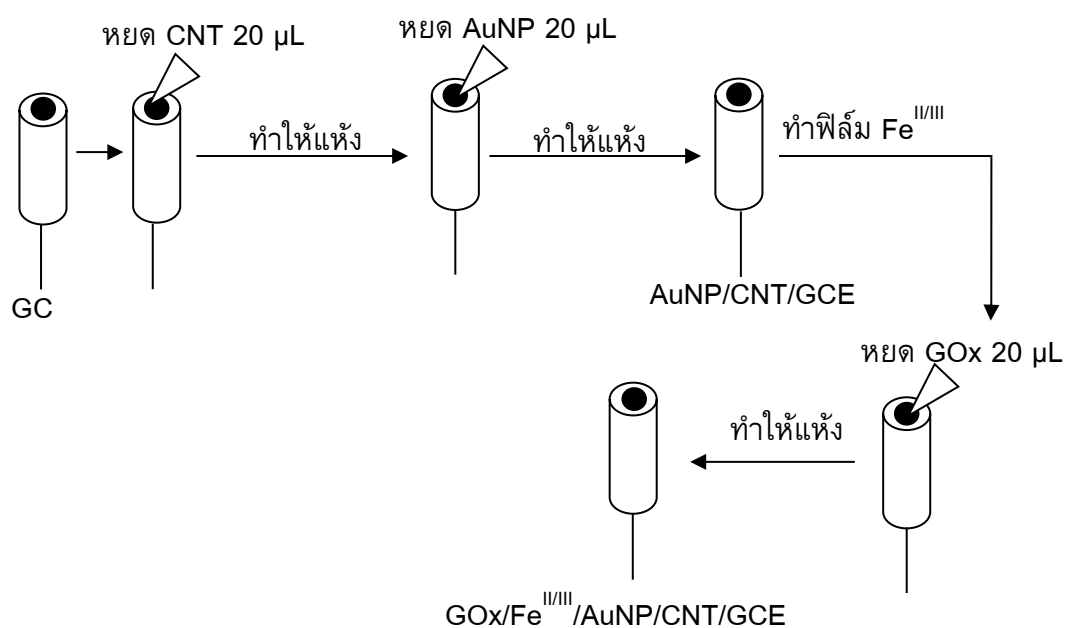
ตรึงคาร์บอนนาโนทิวบนขั้วกลาสคาร์บอนที่ทำความสะอาดแล้ว โดยหยดคาร์บอนนาโนทิวปริมาณ 20 μL ลงบนขั้วกลาสคาร์บอน แล้วรอให้แห้ง จากนั้นตรึงทองคำนาโนลงไปในคาร์บอนนาโนทิวโดยหยดทองคำลงไปอีก 20 μL แล้วรอให้แห้ง จากนั้นตรึงกลูโคสออกซิเดสทับลงไปอีกชั้นโดยหยดกลูโคสออกซิเดสลงไปอีก 20 μL จากนั้นรอให้ขั้วไฟฟ้าแห้ง แล้วกลั้วด้วยน้ำปราศจากไอออนจะได้ขั้ว GOx/AuNP/CNT/GCE ดังรูป 5



รูป 5 การเตรียมขั้ว GOx/AuNP/CNT/GCE

1.4.4.6 ขั้วปรับปรุงโดย GOx/Fe^{II/III}/AuNP/CNT/GCE

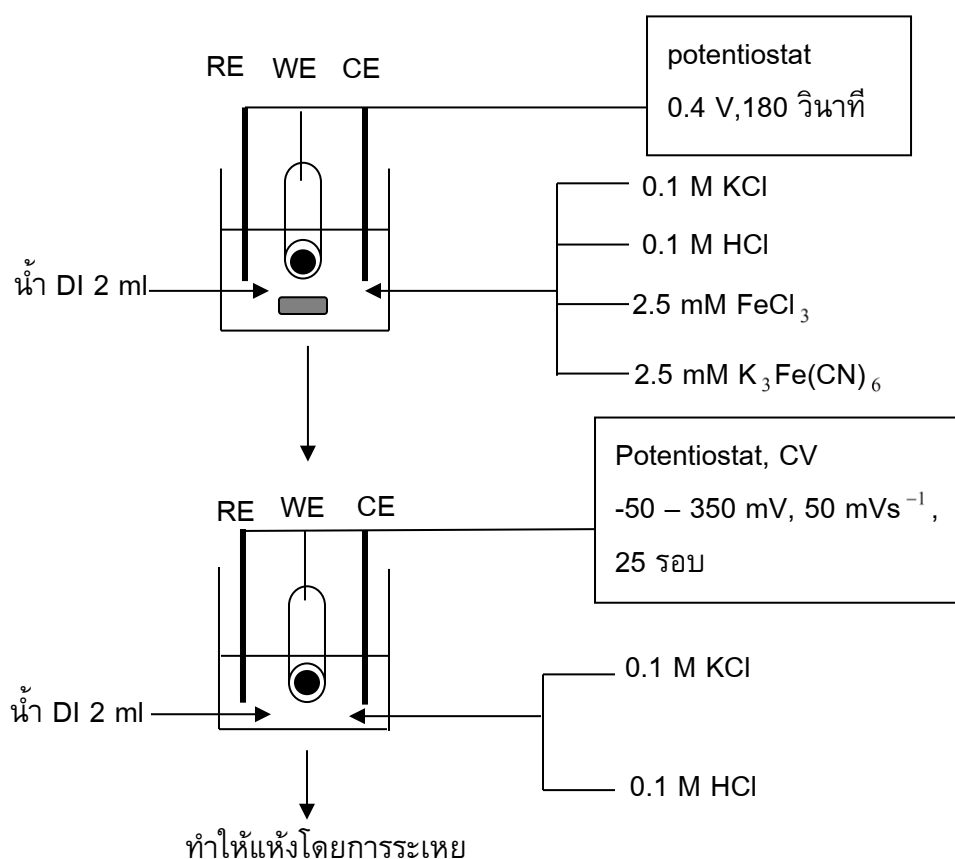
ตรึงคาร์บอนนาโนทิวบนขั้วกลาสคาร์บอนที่ทำความสะอาดแล้ว โดยหยดคาร์บอนนาโนทิวปริมาณ 20 μL ลงบนขั้วกลาสคาร์บอน แล้วรอให้แห้ง จากนั้นตรึงทองคำนาโนลงบนคาร์บอนนาโนทิวโดยหยดทองคำลงไปอีก 20 μL แล้วรอให้แห้ง จากนั้นตรึง Prussian Blue แล้ว รอให้แห้งแล้วตรึงกลูโคสออกซิเดสทับลงไปอีก 20 μL รอให้แห้ง จากนั้นกลั้วด้วยน้ำปราศจากไอออนจะได้ขั้ว GOx/Fe^{II/III}/AuNP/CNT/GCE ดังรูป 6



รูป 6 การเตรียมขั้ว GOx/Fe^{II/III}/AuNP/CNT/GCE

1.4.5 การเตรียมฟิล์ม Prussian Blue (PB)

เป็นการเกาะติดทางไฟฟ้าของ $\text{Fe}^{\text{II/III}}$ ด้วยเทคนิคแอมแปโรเมตรีในสารละลายที่มี 0.1 M KCl, 0.1 M HCl, 2.5 mM FeCl_3 และ 2.5 mM $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ คือ $E = 0.4 \text{ V}$ และ $t = 180$ วินาที จากนั้นล้างขั้วด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วนำไปวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีใน 0.1 M KCl และ 0.1 M HCl โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ คือ อัตราการสแกน 50 mVs^{-1} , สแกนในช่วง -0.05 ถึง 0.35 V จำนวน 50 รอบ ดังรูป 7

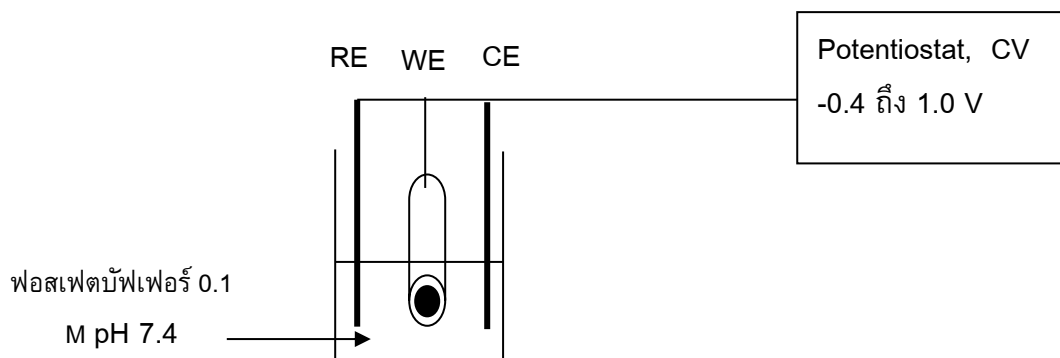


รูป 7 การเตรียมฟิล์ม Prussian Blue บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน

1.4.6 การทดสอบขั้วไฟฟ้า

1.4.6.1 การทดสอบขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

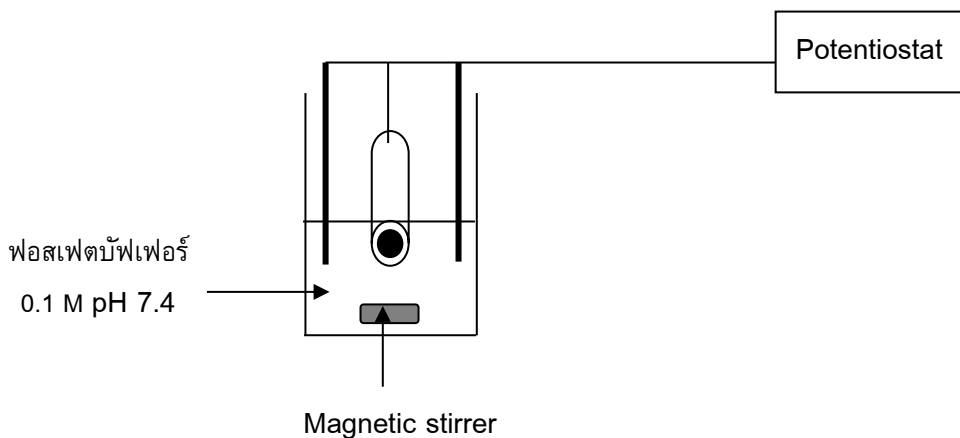
นำขั้วไฟฟ้าทำงานทั้ง 6 แบบ มาวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยทำการวัดสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 แล้วจากนั้นก็ทำการวัดกลูโคสที่ความเข้มข้น 10 mM และ 20 mM ตามลำดับ โดยให้ศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.4 ถึง 1.0 V เพื่อหาขั้วไฟฟ้าที่ให้สัญญาณสูงที่สุดดังรูป 8



รูป 8 การจัดเซลล์สำหรับทดสอบด้วยไซคลิกโวลแทมเมตรี (CV)

1.4.6.2 การทดสอบชีวไฟฟ้าด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรี (Amperometry)

เป็นการให้ศักย์ไฟฟ้าแล้ววัดกระแสไฟฟ้าเมื่อเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ โดยในการทดลองจะมีการกำหนดค่าศักย์ไฟฟ้าให้คงที่ตลอดการทดลอง และจะมีการคนสารตลอดเวลา การจัดอุปกรณ์เป็นดังรูป 9



รูป 9 การจัดเซลล์สำหรับทดสอบด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรี

1.4.7 การทำไฮโดรนามิกโวลแทมโมแกรม

นำชีวไฟฟ้าที่ให้สัญญาณสูงสุดที่ได้จากการทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี มาวัดกลูโคสที่ความเข้มข้น 2 mM ด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรี ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 โดยให้ค่าศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.2 V ถึง 0.9 V เพื่อหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมเพื่อนำมาตรวจวัดกลูโคส

1.4.8 การหาขีดจำกัดการตรวจวัด

นำขั้ว $\text{GOx/Fe}^{\text{III}}/\text{AuNP/CNT/GCE}$ มาทดสอบด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรีโดยฉีดกลูโคสลงไปในการละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 โดยฉีดกลูโคสเข้มข้น 10 μM , 50 μM , 100 μM , 200 μM , 500 μM และ 1 mM อย่างละ 2 ครั้ง ทุกๆ 50 วินาที และจากนั้นฉีดกลูโคสเข้มข้น 2 mM ทุกๆ 50 วินาที ไปเรื่อยๆ จนกว่าไม่เกิดสัญญาณ จากนั้นทำการทดลองซ้ำอีกสองครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ยที่ได้ นำไปสร้างกราฟมาตรฐานโดยพลอตกราฟระหว่างค่ากระแสไฟฟ้า (แกน y) กับค่าความเข้มข้นของกลูโคส (แกน x) จากนั้นหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดโดยนำสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกระแสไฟฟ้าที่ได้จากสารละลายมาตรฐานมาแทนเป็นค่า y ในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน แล้วหาค่าความเข้มข้นออกมาจะทำให้ทราบความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัด

1.4.9 วัดกลูโคสในน้ำผึ้งและเครื่องดื่มชูกำลัง

ทำการวัดกลูโคสในน้ำผึ้งและเครื่องดื่มชูกำลังด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรี โดยฉีดตัวอย่างปริมาณ 20 μL ในการละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 จากนั้นนำกระแสไฟฟ้าที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานก็จะทราบความเข้มข้นของกลูโคสในสารตัวอย่างนั้นๆ

1.4.10 การหาอายุการใช้งาน

นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุงทั้ง 6 ชนิด คือ Bare GCE, GOx/GCE , CNT/GCE , GOx/CNT/GCE , GOx/AuNP/CNT/GCE และ $\text{GOx/Fe}^{\text{III}}/\text{AuNP/CNT/GCE}$ มาตรวจวัดกลูโคสที่ 0.5 mM ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรีเพื่อหาอายุการใช้งานของแต่ละขั้ว โดยฉีดกลูโคสเข้มข้น 0.5 mM ลงไปในการละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 ไปเรื่อยๆ จนกว่าสัญญาณที่ได้ลดลงเหลือครึ่งหนึ่งของสัญญาณแรกที่ฉีดกลูโคสลงไป

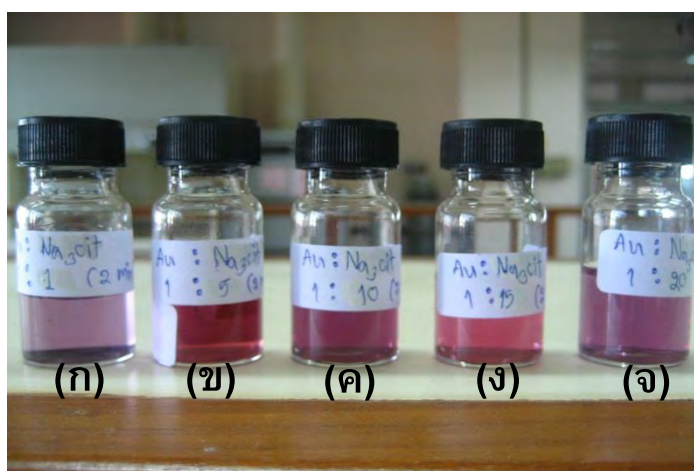
1.4.11 การหาตัวรบกวน

นำขั้วไฟฟ้าที่ดีที่สุดที่นำไปตรวจวัดกลูโคสมาทดสอบกับสารรบกวน คือ วิตามินซี กับคาเฟอีน ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรี โดยฉีดสารรบกวนลงไปในการละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 จนกว่าจะไม่เจอสัญญาณที่เกิดขึ้นเพื่อหาความเข้มข้นของสารรบกวนที่อาจก่อให้เกิดผลต่อการทดลอง

1.5 ผลการทดลองและวิจารณ์

1.5.1 ผลจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปีของทองคำนาโน

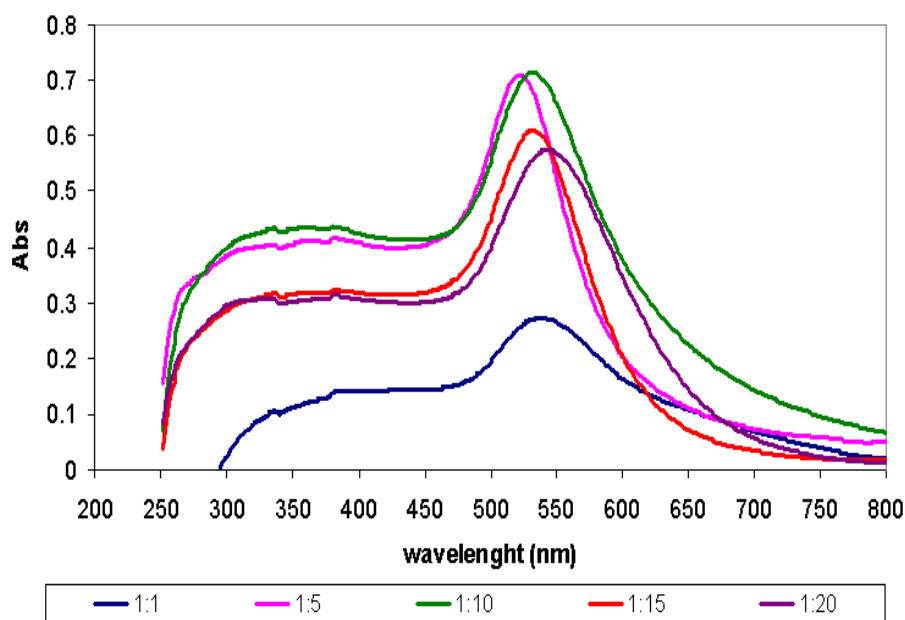
สารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 2 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1 และ 1:20 ดังรูป รูป 10ก และ จ ตามลำดับ ให้สารละลายสีม่วงอ่อน เกิดเป็นทองคำนาโนยังไม่สมบูรณ์และไม่เสถียร สังเกตจากการตั้งสารละลายทองคำนาโนนี้ไว้เป็น เวลานานๆจะเกิดเป็นตะกอนเกิดขึ้น ส่วนสารละลายทองคำนาโนที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:5 และ 1:10 ดังรูป 10ข และ รูป 10ค ตามลำดับ มีสีแดงเชอร์รี่จะเกิด เป็นทองคำนาโนอย่างสมบูรณ์และสารละลายทองคำนาโนที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียม ซิเตรตที่ 1:15 ดังรูป 10ง มีสีแดงอ่อนเนื่องจากยังเกิดเป็นทองคำนาโนยังไม่สมบูรณ์เพราะปริมาณ ตัวรีดิวซ์ของไตรโซเดียมซิเตรตมีปริมาณมากเกินไป



รูป 10 สารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 2 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ (ก) 1:1 (ข) 1:5 (ค) 1:10 (ง) 1:15 และ (จ) 1:20

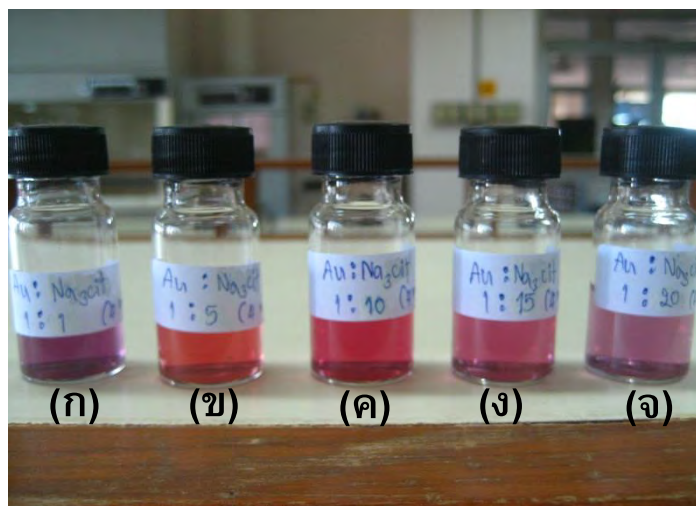
จากนั้นนำสารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 2 นาทีในอัตราส่วนของทองคำ คลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยยูวีวิสิ เบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าสารละลายทองคำนาโนมีพีคของการดูดกลืนแสงในช่วง 520 ถึง 530 นาโนเมตร สอดคล้องกับผลของ Tangkuaram et.al [1] และการให้ความร้อนตอน สุดท้ายที่เวลา 2 นาที อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1 ให้ค่าการดูดกลืน แสงต่ำที่สุด ($Abs=0.271$) และที่อัตราส่วน 1:10 ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด ($Abs=0.713$) ส่วนที่อัตราส่วน 1:5, 1:15 และ 1:20 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.710, 0.609 และ 0.574 ตามลำดับ

ดังรูป 11 ซึ่งจากผลการทดลองนี้พบว่าที่อัตราส่วนต่ำปฏิกิริยายังเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์จึงมีค่าการดูดกลืนแสงน้อย เมื่อเพิ่มอัตราส่วนมากขึ้นอีกค่าการดูดกลืนแสงก็จะเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งอัตราส่วน 1:10 จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดและเกิดเป็นทองคำขนาดนาโน จากนั้นค่าการดูดกลืนแสงก็จะลดลงเมื่อมีอัตราส่วนเพิ่มขึ้นอีก เนื่องมาจากปริมาณตัวรีดิวซ์ของไตรโซเดียมซิติเรตมีปริมาณมากเกินไปทองคำขนาดนาโนจึงลดลง



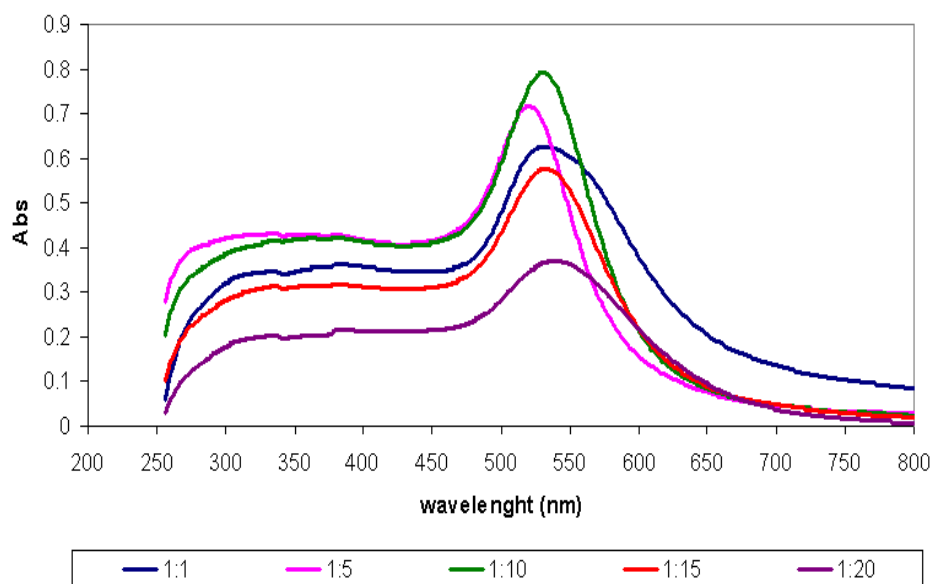
รูป 11 ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์:ไตรโซเดียมซิติเรตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 2 นาที

สารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 4 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิติเรตที่ 1:1 และ 1:20 ดังรูป 12ก และ จ ตามลำดับ ให้สารละลายสีม่วงอ่อนเกิดเป็นทองคำนาโนยังไม่สมบูรณ์และไม่เสถียร ส่วนสารละลายทองคำนาโนที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิติเรตที่ 1:5, 1:10 และ 1:15 ดังรูป 12ข, ค และ ง ตามลำดับ มีสีแดงเชอร์รี่จะเกิดเป็นทองคำนาโนอย่างสมบูรณ์เนื่องจากการเติมตัวรีดิวซ์ของไตรโซเดียมซิติเรตในปริมาณที่เหมาะสม



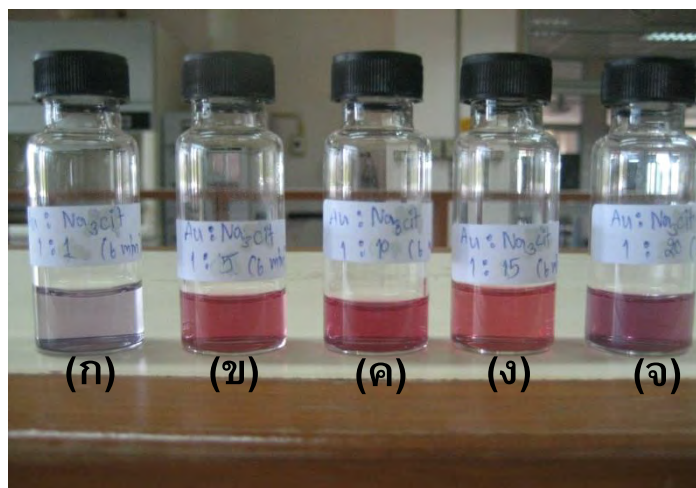
รูป 12 สารละลายของทองคำโนให้ความร้อนเป็นเวลา 4 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ (ก) 1:1 (ข) 1:5 (ค) 1:10 (ง) 1:15 และ (จ) 1:20

จากนั้นนำสารละลายทองคำโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 4 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์พบว่าสารละลายทองคำโนมีพีคของการดูดกลืนแสงในช่วง 520 ถึง 530 นาโนเมตร และพบว่าการให้ความร้อนจนสุดท้ายที่เวลา 4 นาที อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:20 ให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำที่สุด ($Abs=0.370$) และที่อัตราส่วน 1:10 ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด ($Abs=0.792$) ส่วนที่อัตราส่วน 1:1, 1:5 และ 1:15 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.627, 0.719 และ 0.578 ตามลำดับ ดังรูป 13 ซึ่งพบว่าที่อัตราส่วนต่ำก็จะให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อย เมื่ออัตราส่วนเพิ่มขึ้นอีกถึงค่าหนึ่งก็จะทำให้เกิดเป็นทองขนาดนาโนที่มีสีแดงเชอร์รี่ แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนขึ้นอีกค่าการดูดกลืนแสงก็จะลดลงเนื่องจากมีปริมาณตัวรีดิวซ์ของไตรโซเดียมซิเตรตมีปริมาณมากเกินไปทองขนาดนาโนจึงลดลง



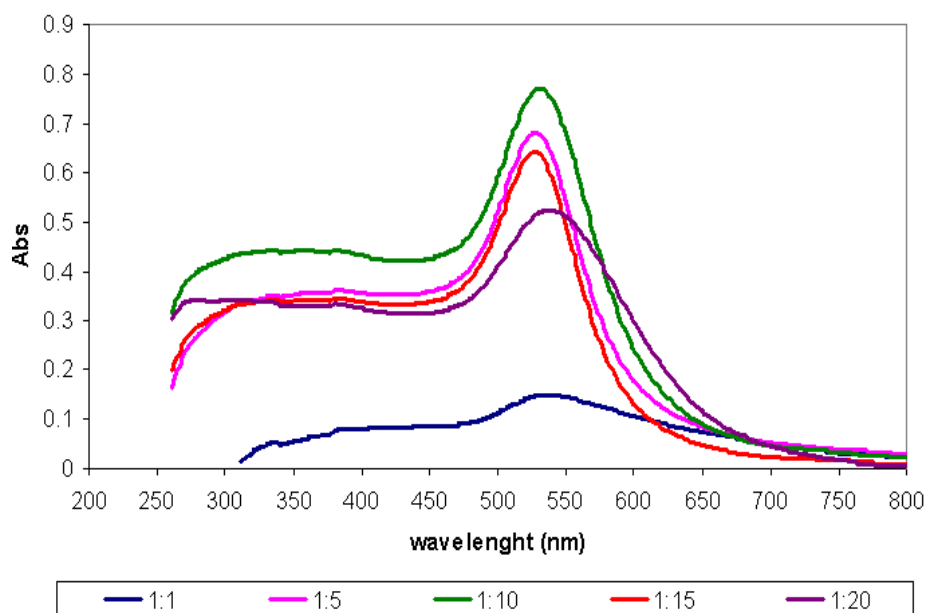
รูป 13. ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์:ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 4 นาที

สารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 6 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:5, 1:10 และ 1:15 ดังรูป 14 ข, ค และ ง ตามลำดับ ให้สารละลายเป็นสีแดงเชอร์รี่ซึ่งเกิดเป็นทองคำนาโนอย่างสมบูรณ์ ส่วนสารละลายทองคำนาโนในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1 และ 1:20 ดังรูป 14 ก และ จ ตามลำดับ เป็นสารละลายสีม่วงซึ่งเกิดเป็นทองคำนาโนไม่สมบูรณ์ซึ่งให้ผลเหมือนกับสารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 2 และ 4 นาที



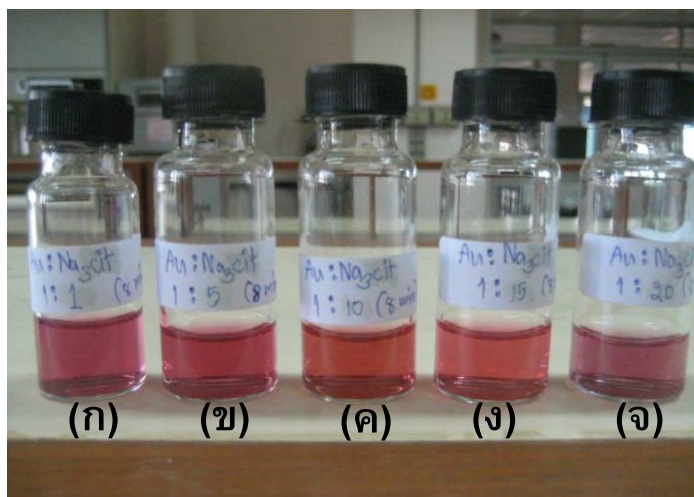
รูป 14 สารละลายของทองคำนาโนให้ความร้อนเป็นเวลา 6 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ (ก) 1:1 (ข) 1:5 (ค) 1:10 (ง) 1:15 และ (จ) 1:20

จากนั้นนำสารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 4 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ได้ผลดังรูป 15 พบว่าสารละลายทองคำนาโนมีพีคของการดูดกลืนแสงในช่วง 520 ถึง 530 นาโนเมตร และพบว่าการให้ความร้อนจนสุดท้ายที่เวลา 6 นาที อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1 ให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำที่สุด ($Abs=0.148$) และที่อัตราส่วน 1:10 ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด ($Abs=0.770$) ส่วนที่อัตราส่วน 1:5, 1:15 และ 1:20 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.681, 0.642 และ 0.524 ตามลำดับ



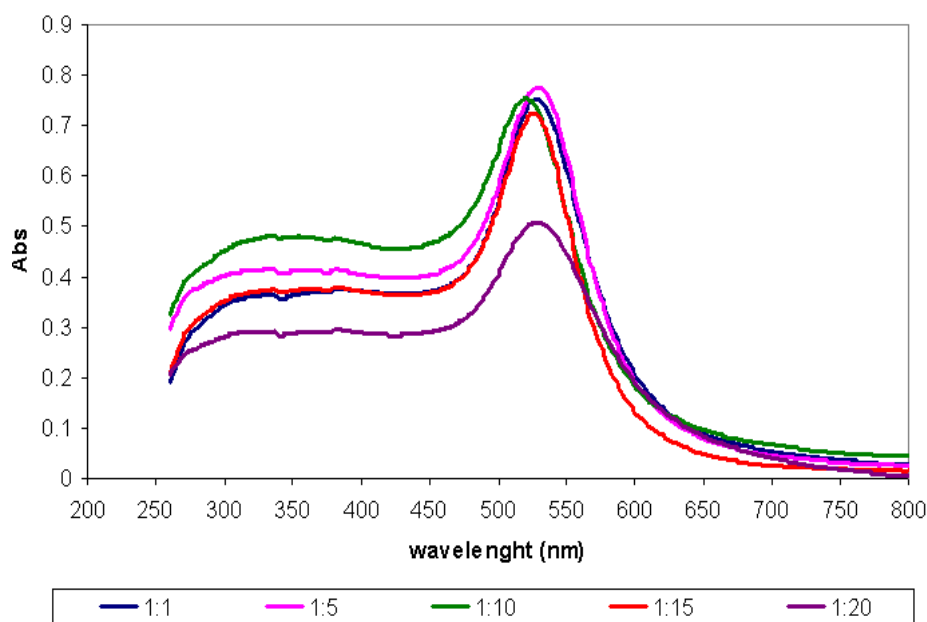
รูป 15 ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมไซเตรตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 6 นาที

สารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 8 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมไซเตรตที่ 1:1, 1:5, 1:10 และ 1:15 ดังรูป 16 ก, ข, ค และ ง ตามลำดับ ให้สารละลายเป็นสีแดงเชอร์รี่ซึ่งเกิดเป็นทองคำนาโนอย่างสมบูรณ์ ส่วนสารละลายทองคำนาโนในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมไซเตรตที่ 1:20 ดังรูป รูป 16 จ เป็นสารละลายสีม่วงเข้มซึ่งเกิดเป็นทองคำนาโนไม่สมบูรณ์ ซึ่งผลการทดลองนี้พบว่าสารละลายทองคำนาโนนี้มีสีใกล้เคียงกัน อาจเนื่องมาจากเวลาที่ให้ความร้อนมากขึ้นทำให้เกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์ขึ้น โดยทองคำนาโนที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมไซเตรตเป็น 1:5 ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ดังนั้นเวลาจึงมีผลต่อการสังเคราะห์ทองคำนาโน ถ้าใช้เวลาในการให้ความร้อนนานอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมไซเตรตในปริมาณน้อยก็สามารถทำให้เกิดเป็นทองคำนาโนได้แต่ถ้าใช้เวลาในการให้ความร้อนเร็วก็ต้องเพิ่มปริมาณของอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมไซเตรตมากขึ้นจึงจะเกิดเป็นทองคำนาโน



รูป 16 ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 8 นาที

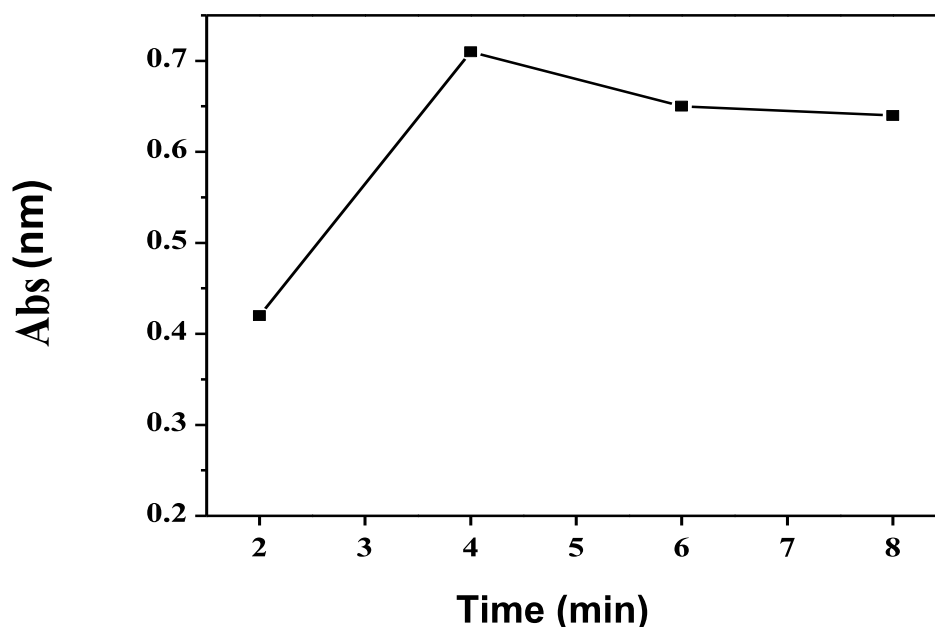
จากนั้นนำสารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 8 นาทีในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์พบว่าสารละลายทองคำนาโนมีพีคของการดูดกลืนแสงในช่วง 520 ถึง 530 นาโนเมตร และพบว่าการให้ความร้อนตอนสุดท้ายที่เวลา 2 นาที อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:20 ให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำที่สุด ($Abs=0.508$) และที่อัตราส่วน 1:5 ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด ($Abs=0.776$) ส่วนที่อัตราส่วน 1:1, 1:10 และ 1:15 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.752, 0.754 และ 0.723 ตามลำดับ ดังรูป 17



รูป 17 ยูวีสเปกตรัมของทองคำขนาดนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตเป็น 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 โดยให้ความร้อนโดยเครื่องไมโครเวฟเป็นเวลา 8 นาที

1.5.2 ผลการดูดกลืนแสง (Abs) กับเวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์ทองคำขนาดนาโนโดยใช้ทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตในอัตราส่วนโมล 1:10

การสังเคราะห์ทองคำที่ใช้อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่อัตราส่วนโมลเป็น 1:10 ที่ให้ความร้อนในตอนสุดท้ายเป็นเวลา 4 นาที ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วน 1:1, 1:5, 1:15 และ 1:20 ในการทดลองต่อมาจึงได้นำทองคำขนาดนาโนที่ได้ในอัตราส่วน 1:10 มาทดลองต่อโดยเพิ่มเวลาของการให้ความร้อนจาก 2 นาที ถึง 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร จากนั้นหาความสูงของพีคแล้วนำไปพลอตกราฟระหว่างเวลาใช้กับค่าความสูงของพีคที่ได้จะได้ผลการทดลองดังรูป 18



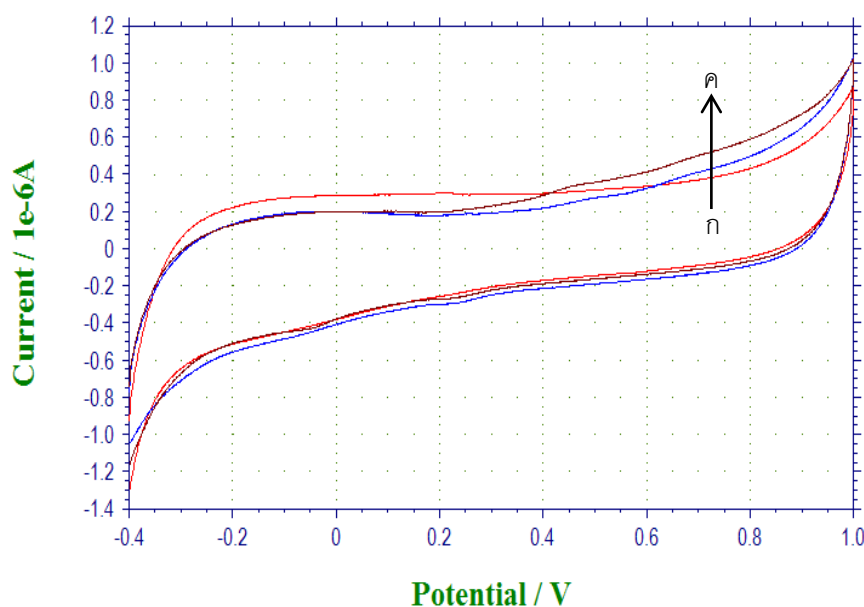
รูป 18 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับเวลาในการสังเคราะห์ทองคำนาโนโดยใช้ทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตในอัตราส่วนโมล 1:10

จากการทดลองพบว่าเวลาต่ำสุดที่ 2 นาที ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นยังไม่สมบูรณ์ (Abs=0.433) ส่วนที่เวลา 4 นาที ให้ค่าความสูงของพีคมากที่สุด (Abs=0.702) เนื่องจากที่เวลา 4 นาทีทำให้เกิดเป็นทองคำนาโนและมีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุดรวมทั้งเกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ และที่เวลา 6 นาที และ 8 นาที มีค่าความสูงของพีคเริ่มลดลงเล็กน้อย เนื่องจากปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์แล้วที่ 4 นาที ทำให้การเพิ่มเวลาให้ความร้อนมากขึ้นไม่ได้ทำให้จำนวนอนุภาคของทองคำนาโนมากขึ้น

เมื่อทำการเทียบขนาดของทองคำนาโนพบว่าขนาดของทองคำนาโนที่ให้ความร้อนครั้งสุดท้ายที่เวลา 4 นาที ที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:10 ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด และการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกับ 520 นาโนเมตร ซึ่งเป็นพีคเฉพาะของทองคำนาโน และสารละลายทองคำนาโนที่ได้ก็เป็นสีแดงเชอร์รี่ ดังนั้นจึงเลือกมาปรับปรุงอิเล็กโทรด

1.5.3 ทดสอบชีวไฟฟ้าปรับปรุงด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry)

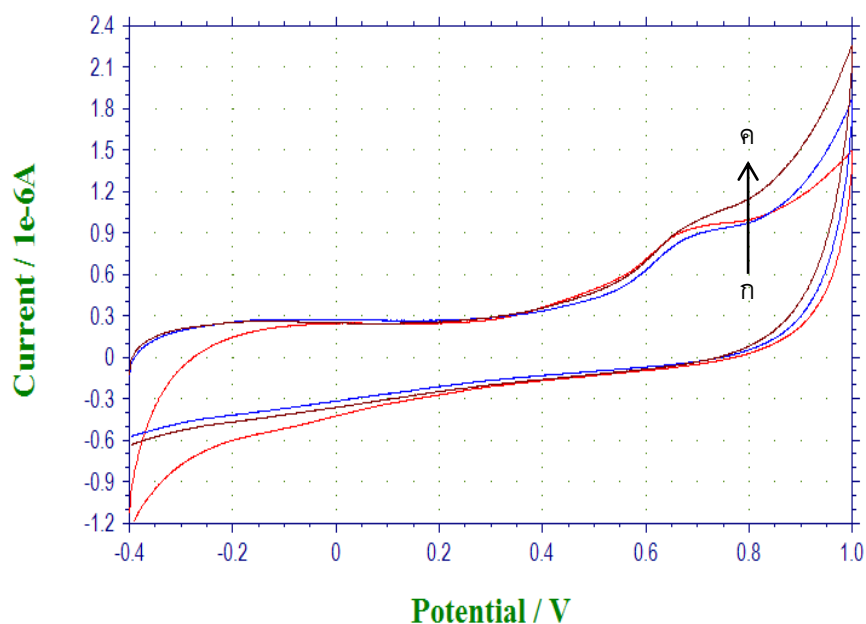
ชีวไฟฟ้าปรับปรุงทั้ง 6 ชนิดถูกนำมาวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีในช่วง -0.4 ถึง 1 V ในสารละลายกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) กลูโคส 10 mM และ (ค) กลูโคส 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 ได้ผลดังรูป 19



รูป 19 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของชีวไฟฟ้า bare GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4

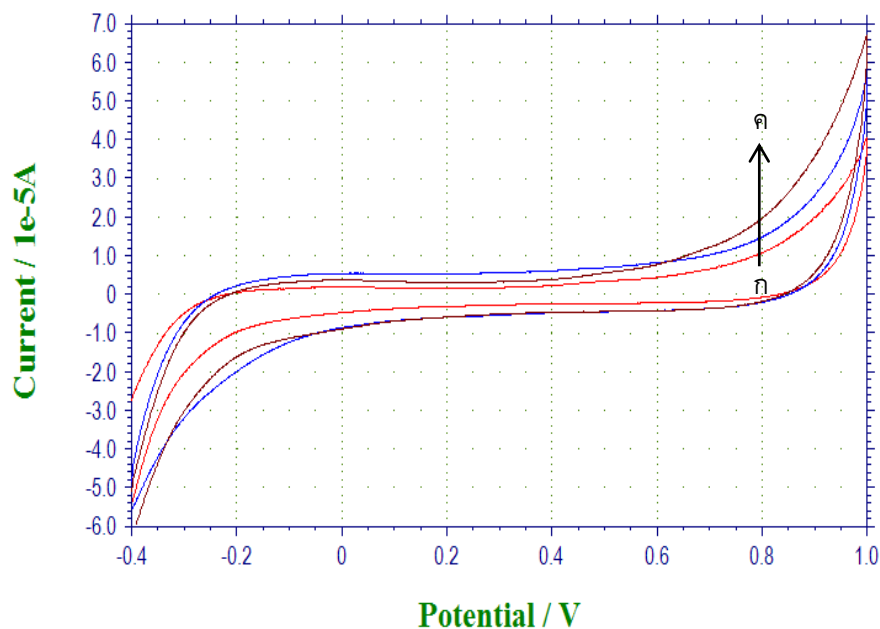
จากรูป 19 ขั้วที่ 1 bare GCE จากการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M) และสารละลายกลูโคส 10 และ 20 mM กระแสไฟฟ้าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน ในการตรวจวัดสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M จะให้สัญญาณต่ำที่สุด และที่สารละลายกลูโคส 10 และ 20 mM จะให้กระแสไฟฟ้าสูงขึ้นตามลำดับแต่มีค่าใกล้เคียงกันมาก เนื่องจากเป็นขั้วที่ไม่มีการตรึงสารโกลบนกลาสสิคาร์บอน

ในรูป 20 ขั้วที่ 2 ปรับปรุงโดย GOx/GCE จากการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M) และสารละลายกลูโคส 10 และ 20 mM กระแสไฟฟ้าที่ได้จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ ให้สัญญาณสูงกว่า Bare GCE เนื่องจากเอนไซม์ GOx สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสได้ทำให้เกิดสัญญาณที่เห็นได้ชัดเจนกว่าขั้วกลาสสิคาร์บอน



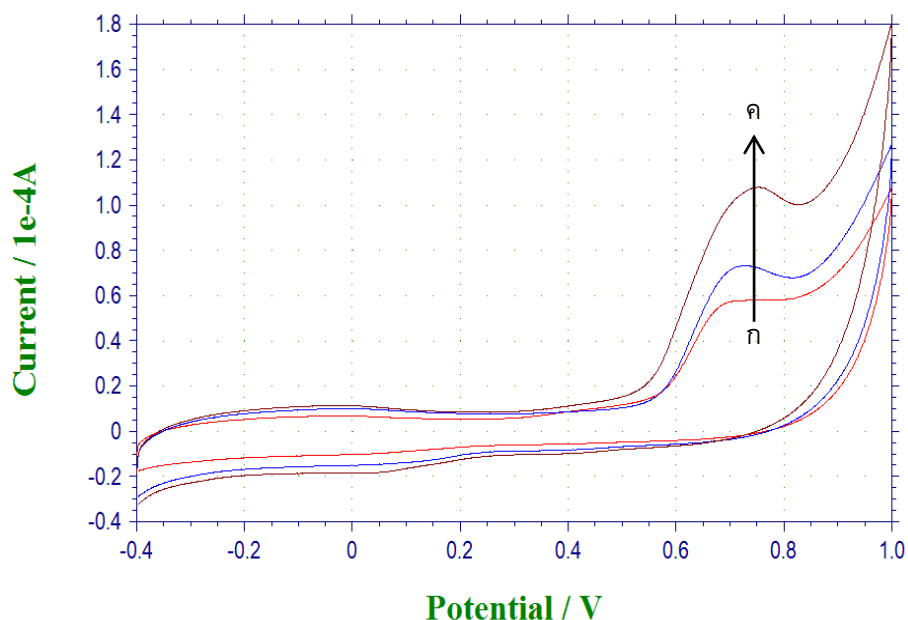
รูป 20 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOx/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4

รูป 21 ขั้วที่ 3 ปรับปรุงโดย CNT/GCE จากการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M) และสารละลายกลูโคส 10 และ 20 mM กระแสไฟฟ้าที่ได้จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ เป็นขั้วที่สามารถให้สัญญาณได้สูงเพราะ CNT สามารถเร่งปฏิกิริยาแล้วทำให้สัญญาณเพิ่มมากขึ้น



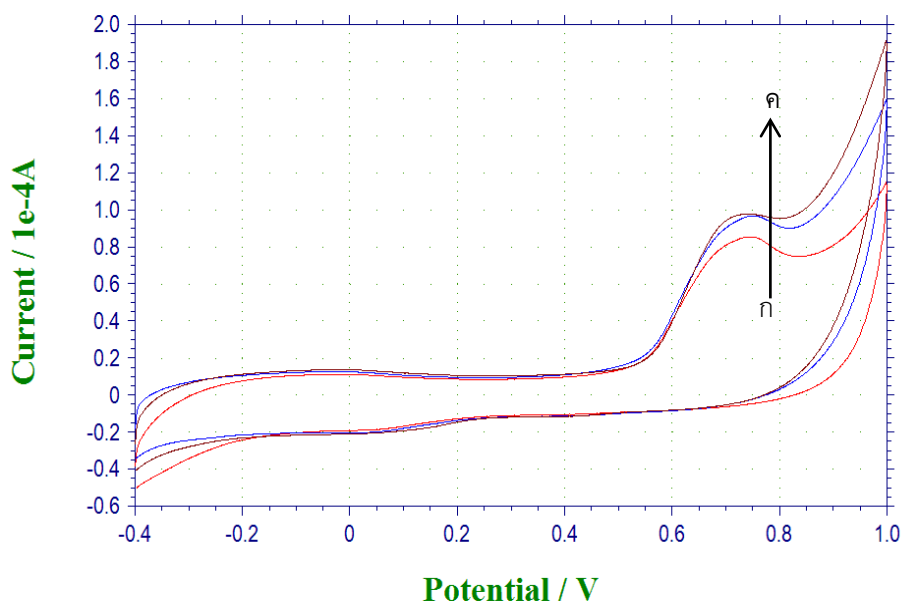
รูป 21 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4

ขั้วที่ 4 ปรับปรุงโดย GOx/CNT/GCE จากการทดลองได้ไชคลิกโวลแทมโมแกรม ดังรูป 22 พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M) และสารละลายกลูโคส 10 และ 20 mM กระแสไฟฟ้าที่ได้จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ จะให้สัญญาณสูงกว่าขั้วที่ 1, 2 และ 3 เนื่องจากการตรึงทั้ง CNT และ GOx ลงบนกลาสคาร์บอน



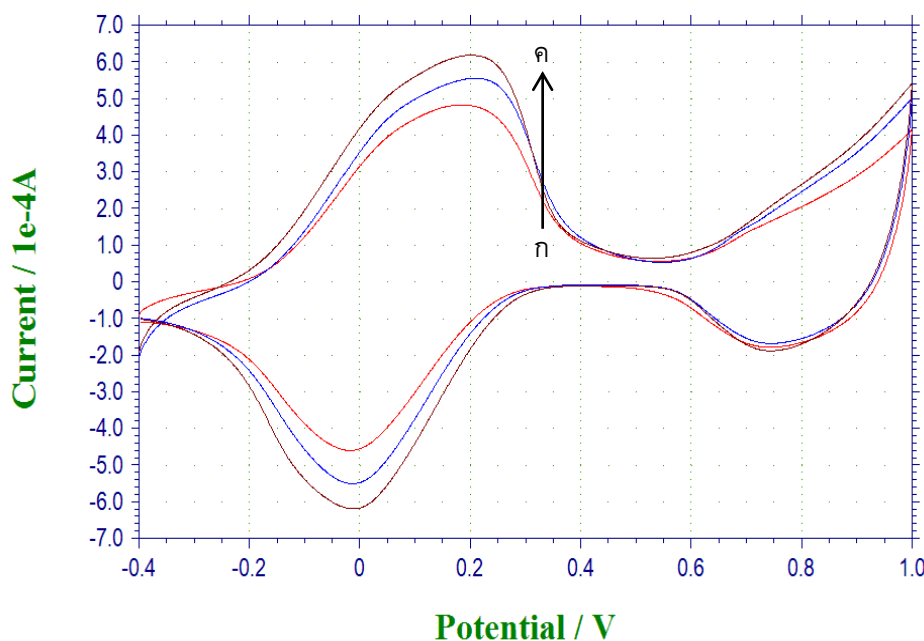
รูป 22 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOx/CNT/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4

รูป 23 ขั้วที่ 5 ปรับปรุงโดย GOx/AuNP/CNT/GCE จากการทดลองพบว่า กระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M) และสารละลาย กลูโคส 10 และ 20 mM กระแสไฟฟ้าที่ได้จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ เป็นขั้วที่ให้สัญญาณใกล้เคียงกับ ขั้ว GOx/CNT/GCE แต่มีส่วนที่แตกต่างคือมีการตรึง AuNP เพิ่มลงไปด้วย เพราะ AuNP จะทำ ให้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงนี้สามารถใช้งานได้นานขึ้น



รูป 23 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOx/AuNP/CNT/GCE ของกลูโคสเข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4

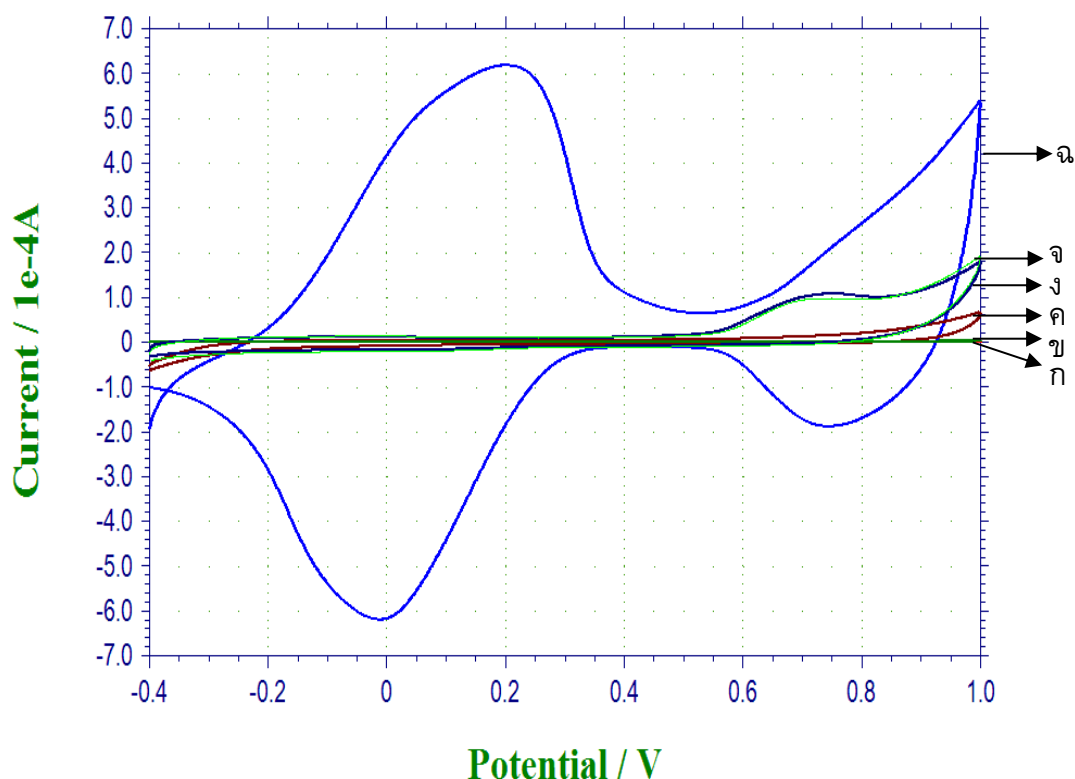
รูป 24 ขั้วที่ 6 ปรับปรุงโดย GOx/Fe^{II}Fe^{III}(CN)₆/AuNP/ CNT/GCE จากการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M) และสารละลายกลูโคส 10 และ 20 mM กระแสไฟฟ้าที่ได้จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ ซึ่งเป็นขั้วที่ให้สัญญาณสูงที่สุดและมีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากการตรึงทั้ง CNT, GOx และ AuNP ลงบนกลาสคาร์บอน เนื่องจากเอนไซม์ GOx สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสได้ CNT สามารถเร่งปฏิกิริยาแล้วทำให้สัญญาณเพิ่มมากขึ้น และ AuNP จะทำให้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงนี้สามารถใช้งานได้นานขึ้น ดังนั้นขั้วพ้านี้จึงมีประสิทธิภาพมากกว่าขั้วไฟฟ้าอื่นๆ



รูป 24 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ ของกลูโคส
เข้มข้น (ก) 0.0 mM (ข) 10 mM และ (ค) 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1
M pH 7.4

รูป 25 พบว่าสัญญาณที่วัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยขั้ว bare GCE (รูป 25 ก) จะให้สัญญาณต่ำที่สุดเนื่องจากเป็นขั้วที่ไม่มีการตรึงสารใดลงบนกลาสคาร์บอน ส่วนขั้วที่สองคือ GOx/GCE (รูป 25 ข) ให้สัญญาณสูงกว่า Bare GCE เนื่องจากเอนไซม์ GOx สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสได้ทำให้เกิดสัญญาณที่เห็นได้ชัดเจนกว่าขั้วกลาสคาร์บอน ขั้วต่อมาคือ CNT/GCE (รูป 25 ค) เป็นขั้วที่สามารถให้สัญญาณได้สูงเพราะ CNT สามารถเร่งปฏิกิริยาแล้วทำให้สัญญาณเพิ่มมากขึ้น ขั้วที่ 4 คือ GOx/CNT/GCE (รูป 25 ง) จะให้สัญญาณที่สูงกว่าทั้ง 3 ขั้วที่กล่าวมาเนื่องจากมีการตรึงทั้ง CNT และ GOx ลงบนกลาสคาร์บอน ส่วนขั้วที่ 5 คือ GOx/AuNP/CNT/GCE (รูป 25 จ) เป็นขั้วที่ให้สัญญาณใกล้เคียงกับขั้ว GOx/CNT/GCE แต่มีส่วนที่แตกต่างคือมีการตรึง AuNP เพิ่มลงไปด้วย เพราะ AuNP จะทำให้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงนี้สามารถใช้งานได้นานขึ้น ขั้วสุดท้าย คือ $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ (รูป 25 ฉ) ซึ่งเป็นขั้วที่ให้สัญญาณสูงที่สุดและมีประสิทธิภาพมากที่สุด ซึ่งสามารถเปรียบเทียบได้จาก รูป 25 ขั้วปรับปรุงโดย $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ ให้สัญญาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับขั้วปรับปรุงอื่น ๆ อีก 5 ขั้ว ซึ่งขั้ว $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ สามารถเกิดได้ทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันและเป็นขั้วไฟฟ้าปรับปรุงที่มีการเติม $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6$ ลงไปด้วยเพราะสารนี้ช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ GOx และสามารถ

ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังมี CNT ที่ช่วยเป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนเพราะ CNT มีรูปร่างแบบ sp^2 ซึ่งอิเล็กตรอนวงนอกสุดจะไม่อยู่หนึ่งมีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลา เมื่อเกิดปฏิกิริยาขึ้นบนอิเล็กโทรดจึงทำให้ส่งผ่านอิเล็กตรอนได้เร็วขึ้น ซึ่งเป็นผลทำให้สัญญาณสูงขึ้น ดังนั้นจึงเลือกขั้วไฟฟ้านี้ในการทดสอบแบบแอมเพอโรเมตริกต่อไป

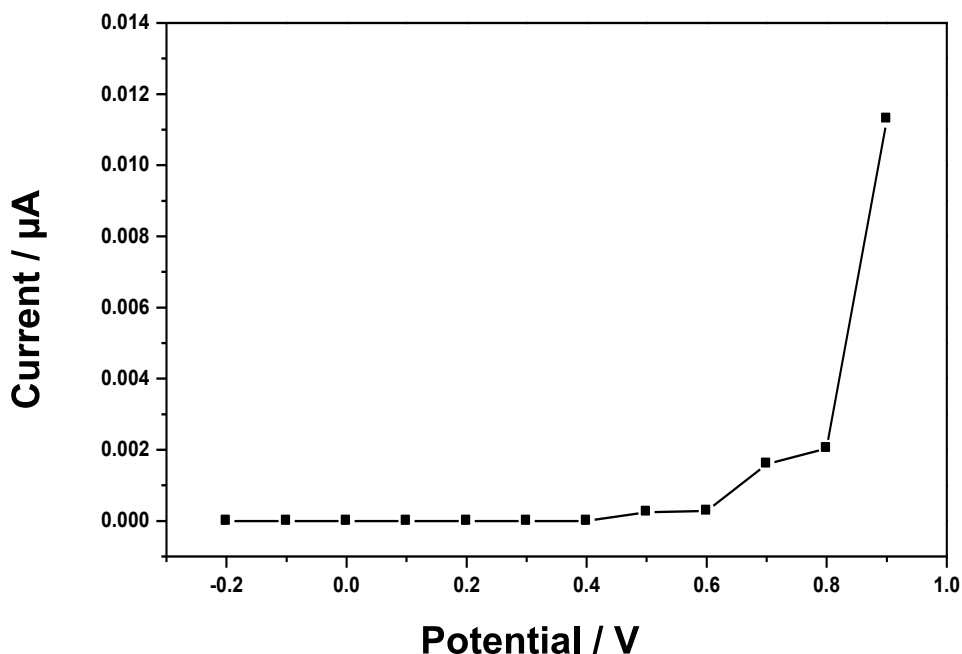


รูป 25. ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของกลูโคส 20 mM ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า (ก) bare GCE (ข) GOx/GCE (ค) CNT/GCE (ง) GOx/CNT/GCE (จ) GOx/AuNP/CNT/GCE และ (ฉ) GOx/ $Fe^{II}Fe^{III}(CN)_6$ /AuNP/CNT/GCE

1.5.4 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า 6 ชนิด

1.5.4.1 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วกลาสคาร์บอน Bare GCE

นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุง Bare GCE มาทำการทดสอบกลูโคส 2 mM ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตริกโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.2 ถึง +0.9 V ได้ผลดังรูป 26

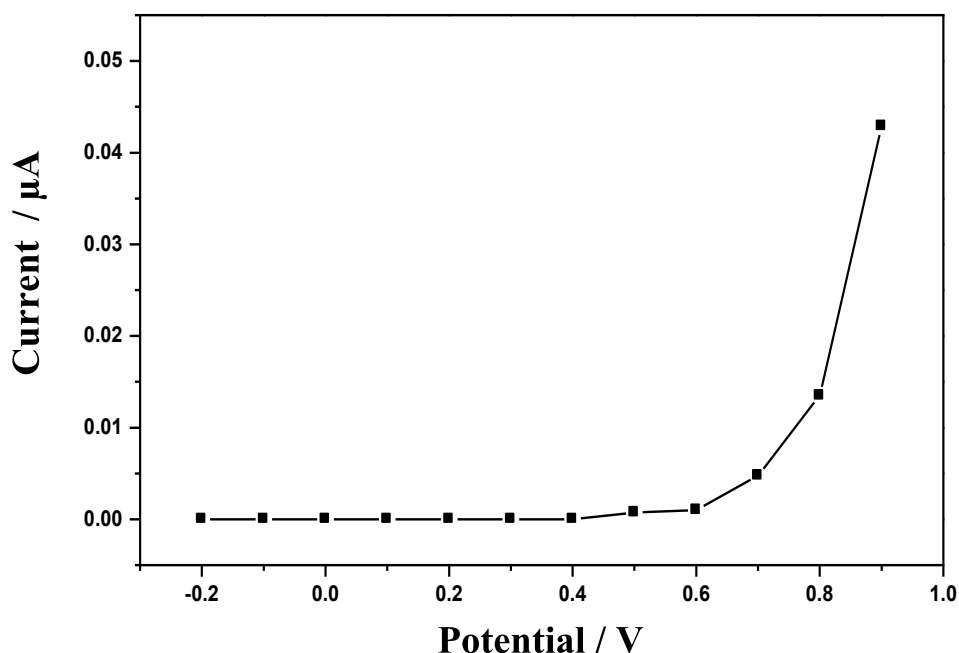


รูป 26 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า Bare GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 mM

จากรูป 26 พบว่าเมื่อฉีดกลูโคสให้ได้ความเข้มข้น 2 mM ลงไปในเซลล์ไฟฟ้าที่ศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง 0.4 V ไม่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้น ที่ 0.5 ถึง 0.9 V เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ขั้วไฟฟ้านี้เกิดสัญญาณน้อยมากเนื่องจากการเติมสารใดๆ ลงบนขั้วกลาสคาร์บอน

1.5.4.2 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วปรับปรุง GOx/GCE

นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุง GOx/GCE มาทำการทดสอบกลูโคส 2 mM ด้วยเทคนิคแอมเปโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.2 ถึง +0.9 V ดังรูป 27

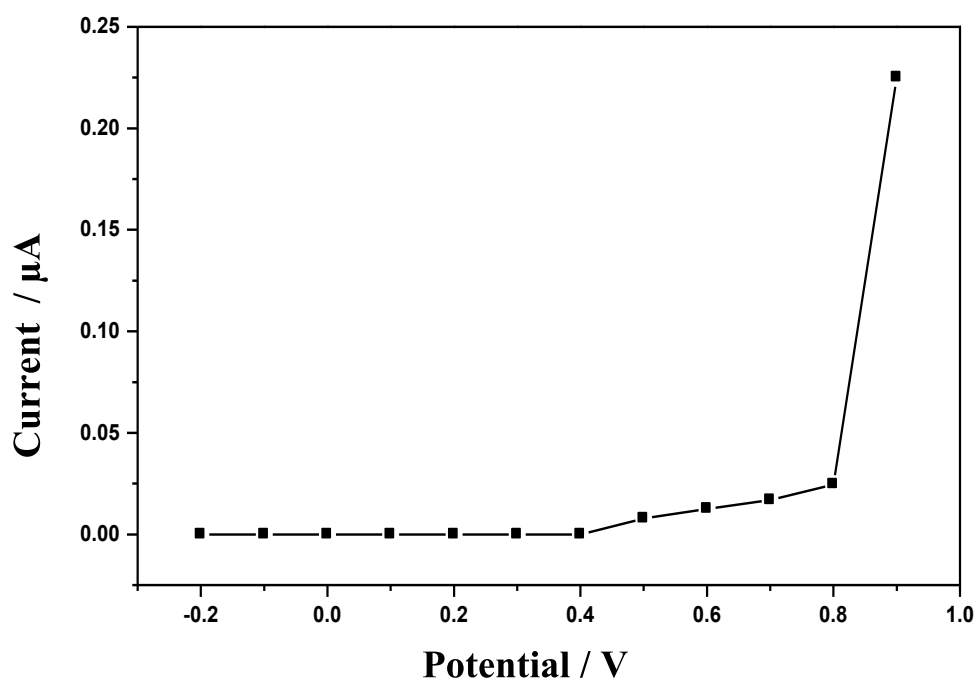


รูป 27 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOx/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 mM

จากรูป 27 พบว่าเมื่อฉีดกลูโคสให้ได้ความเข้มข้น 2 mM ลงไปในเซลล์ไฟฟ้าที่ศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง 0.4 V ไม่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้น ที่ 0.5 ถึง 0.9 V เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ GOx เมื่อทำปฏิกิริยากับกลูโคสทำให้เกิดเป็นไฮโดรเจนไฮดรอกไซด์

1.5.4.3 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วปรับปรุง CNT/GCE

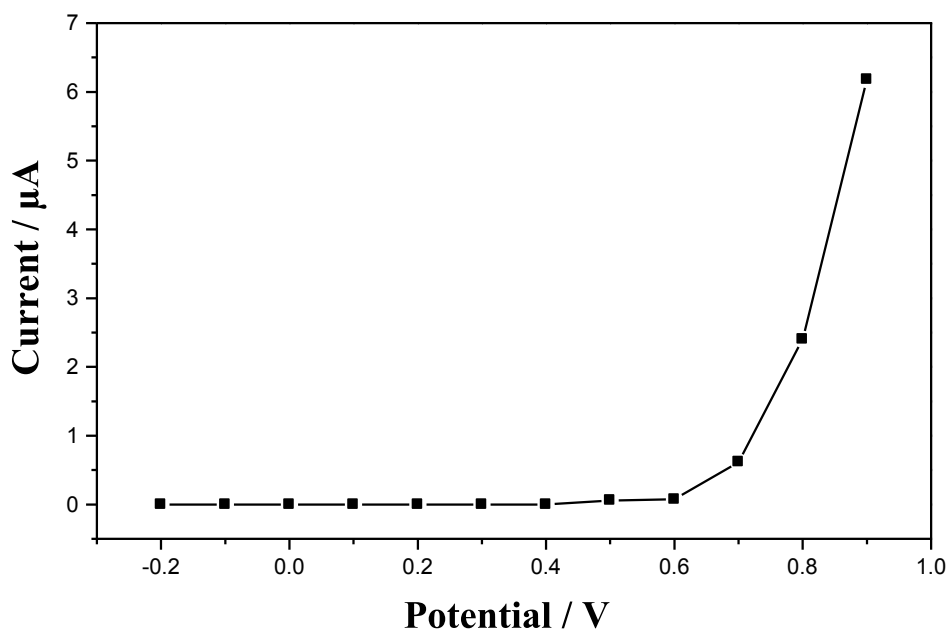
นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุง CNT/GCE มาทำการทดสอบกลูโคส 2 mM ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.2 ถึง +0.9 V ดังรูป 28 ซึ่งพบว่าเมื่อฉีดกลูโคสให้ได้ความเข้มข้น 2 mM ลงไปในเซลล์ไฟฟ้าที่ศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง 0.4 V ไม่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้น ที่ 0.5 ถึง 0.9 V เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เหมือนกับขั้ว Bare GCE



รูป 28 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 mM

1.5.4.4 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วปรับปรุง GOx/CNT/GCE

นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุง GOx/CNT/GCE มาทำการทดสอบกลูโคส 2 mM ด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.2 ถึง +0.9 V ดังรูป 29

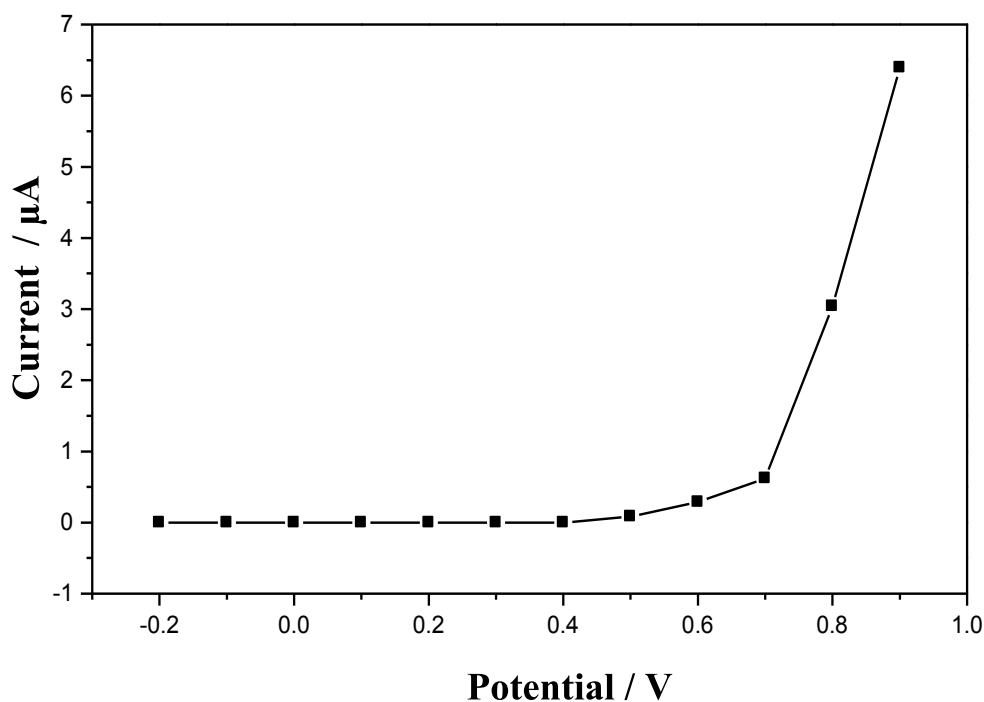


รูป 29 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOx/CNT/GCE โดยฉีดสารละลาย กลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 mM

จากรูป 29 พบว่าเมื่อฉีดกลูโคสให้ได้ความเข้มข้น 2 mM ลงไปในเซลล์ไฟฟ้า ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง 0.4 V ไม่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้น ที่ 0.5 ถึง 0.9 V เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ GOx เมื่อทำปฏิกิริยากับกลูโคสทำให้เกิดเป็นไฮโดรเจนไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดบน ขั้วไฟฟ้าทำงานที่ส่งสัญญาณอิเล็กตรอนออกมา ขั้วไฟฟ้านี้จะให้สัญญาณสูงกว่า Bare GCE, GOx/GCE และ CNT/GCE เนื่องจากมีการเติม GOx ที่สามารถทำปฏิกิริยากับกลูโคสอย่าง เฉพาะเจาะจง และ CNT ที่เป็นตัวช่วยส่งผ่านอิเล็กตรอน

1.5.4.5 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วปรับปรุง GOx/AuNP/CNT/GCE

นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุง GOx/AuNP/CNT/GCE มาทำการทดสอบกลูโคส 2 mM ด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.2 ถึง +0.9 V ดังรูป 30

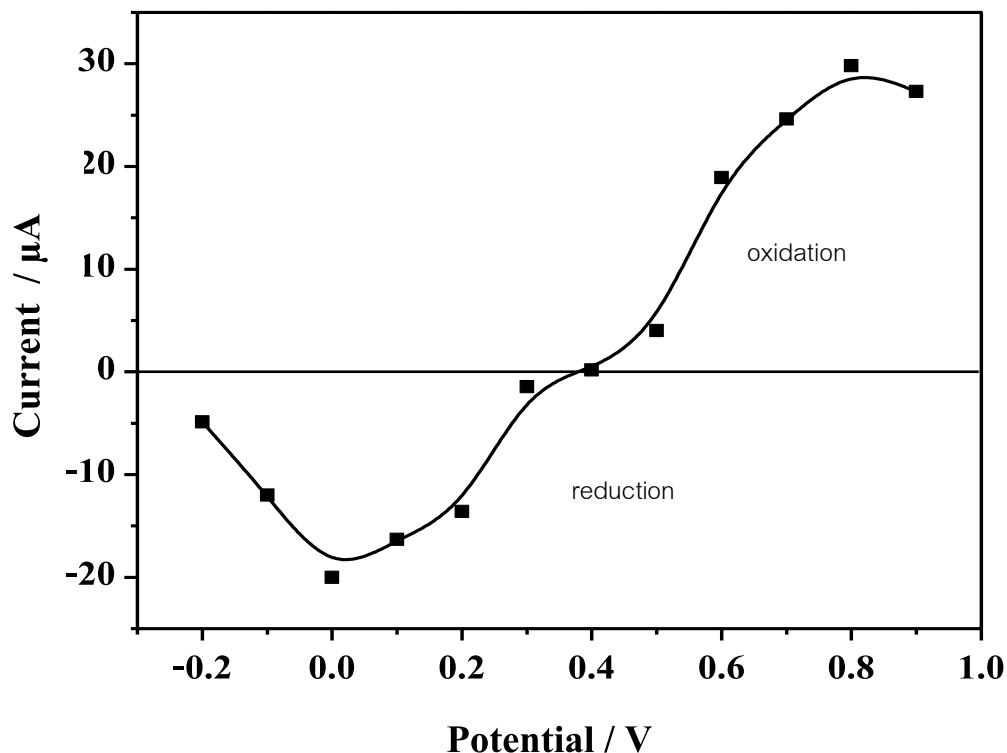


รูป 30 โวลโตแกรมโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOx/AuNP/CNT/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 mM

จากรูป 30 พบว่าเมื่อฉีดกลูโคสให้ได้ความเข้มข้น 2 mM ลงไปในเซลล์ไฟฟ้าที่ศักย์ไฟฟ้า -0.2 ถึง 0.4 V ไม่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้น ที่ 0.5 ถึง 0.9 V เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ GOx เมื่อทำปฏิกิริยากับกลูโคสทำให้เกิดเป็นไฮโดรเจนไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนขั้วไฟฟ้าทำงานที่ส่งสัญญาณอิเล็กตรอนออกมา ขั้วไฟฟ้านี้จะให้สัญญาณสูงกว่า Bare GCE, GOx/GCE, CNT/GCE และ GOx/CNT/GCE เนื่องจากมีการเติม GOx ที่สามารถทำปฏิกิริยากับกลูโคสอย่างเฉพาะเจาะจง และ CNT ที่เป็นตัวช่วยส่งผ่านอิเล็กตรอน รวมทั้งเติม AuNP ที่สามารถช่วยให้สารชีวภาพตรึงบนกลาสคาร์บอนได้นานขึ้นเพราะ AuNP มีขนาดเล็ก ทำให้มีพื้นที่ผิวมากจึงทำให้สารตรึงบนอิเล็กโทรดได้มากขึ้น

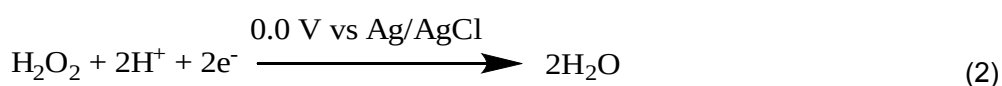
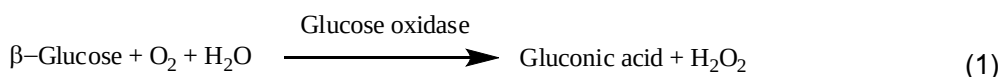
1.5.4.6 โวลโตแกรมโวลแทมโมแกรมของขั้วปรับปรุง $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6$ /AuNP/CNT/GCE

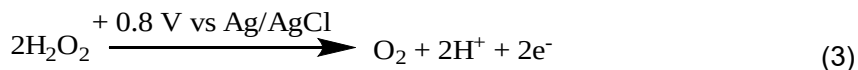
นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุง $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6$ /AuNP/CNT/GCE มาทำการทดสอบกลูโคส 2 mM ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.2 ถึง +0.9 V ดัง



รูป 31 โวลโทแกรมไมโครแอมป์ของขั้วไฟฟ้า $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ ที่ความเข้มข้นของกลูโคส 2 mM

จากรูป 31 พบว่าเมื่อฉีดกลูโคสให้มีความเข้มข้น 2 mM ลงไปในเซลล์ไฟฟ้าที่ศักย์ไฟฟ้าที่ 0.2 V ไปทางด้านลบจนถึง - 0.2 V พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากขั้วไฟฟ้าเป็นกระแสจากปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้น้ำเป็นผลิตภัณฑ์ (ปฏิกิริยาที่ 1) ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังกล่าวได้จากกลูโคสออกซิเดสทำปฏิกิริยากับกลูโคส (ปฏิกิริยาที่ 2) แต่เมื่อเพิ่มศักย์ไฟฟ้าไปด้านบวกจาก + 0.3 V จนถึง + 0.9 V พบว่ากระแสที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้กำซออกซิเจนผิวหน้าขั้วไฟฟ้างปฏิกิริยาที่ 3



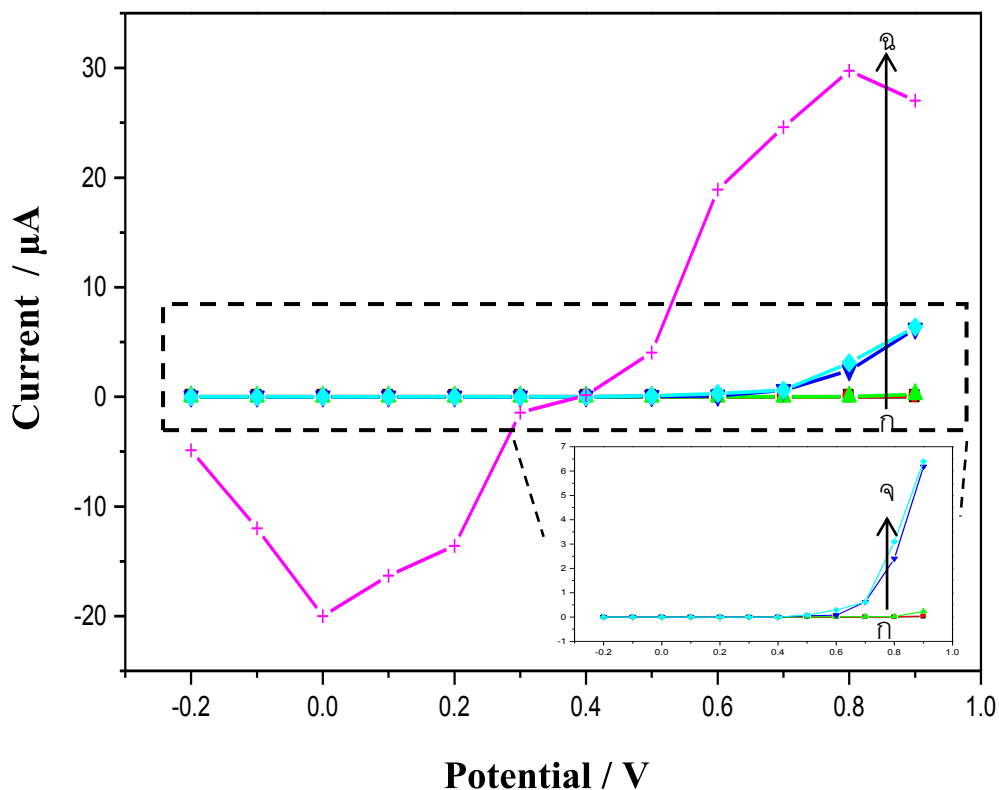


จากไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมดังกล่าว ได้เลือกศักย์ไฟฟ้าที่ 0.0 V เพื่อหลีกเลี่ยงสารที่อาจรบกวนการวิเคราะห์เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าสูง รวมทั้งช่วงไฟฟ้านี้ยังให้สัญญาณที่สูงมากกว่าช่วงปรับปรุงอื่นๆ และสามารถเกิดได้ทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน

ช่วงไฟฟ้าปรับปรุงทั้ง 6 ชนิด ที่ทำการทดสอบกลูโคส 2 mM ด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.2 ถึง +0.9 V มาเปรียบเทียบกัน ดังรูป 32 พบว่าช่วงไฟฟ้า bare GCE เกิดสัญญาณน้อยมากเนื่องจากไม่มีการเติมสารใดๆ ลงบนขั้วกลาสสิคาร์บอน ดังรูป 32ก และศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดกลูโคสของขั้ว bare GCE คือ 0.8 V เนื่องจากมีความชันมากที่สุด ส่วนช่วงไฟฟ้า GOx/GCE ดังรูป 32ข เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ GOx เมื่อทำปฏิกิริยากับกลูโคสทำให้เกิดเป็นไฮโดรเจนไฮดรอกไซด์จึงให้สัญญาณสูงกว่าขั้ว bare GCE เล็กน้อย และศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดกลูโคสของขั้ว GOx/GCE คือ 0.8 V ขั้วที่ 3 คือ CNT/GCE ดังรูป 32ค ไม่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้น ที่ 0.5 ถึง 0.9 V เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เหมือนกับขั้ว Bare GCE และศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดกลูโคสของขั้ว CNT/GCE คือ 0.8 V ขั้วที่ 4 คือ CNT/GCE ดังรูป 32ง ซึ่งจะให้สัญญาณสูงกว่า Bare GCE, GOx/GCE และ CNT/GCE เนื่องจากมีการเติม GOx ที่สามารถทำปฏิกิริยากับกลูโคสอย่างเฉพาะเจาะจง และ CNT ที่เป็นตัวช่วยส่งผ่านอิเล็กตรอน และศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดกลูโคสของขั้ว GOx/CNT/GCE คือ 0.8 V เนื่องจากมีความชันสูงกว่าศักย์ไฟฟ้าอื่นๆ ส่วนขั้วที่ 5 คือ GOx/AuNP/CNT/GCE ดังรูป 32จ จะให้สัญญาณสูงกว่า Bare GCE, GOx/GCE, CNT/GCE และ GOx/CNT/GCE เนื่องจากมีการเติม GOx ที่สามารถทำปฏิกิริยากับกลูโคสอย่างเฉพาะเจาะจง และ CNT ที่เป็นตัวช่วยส่งผ่านอิเล็กตรอน รวมทั้งเติม AuNP ที่สามารถช่วยให้สารชีวภาพตรึงบนกลาสสิคาร์บอนได้นานขึ้นเพราะ AuNP มีขนาดเล็กมากทำให้พื้นที่ผิวมากจึงทำให้สารตรึงบนอิเล็กโทรดได้มากขึ้นและศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดกลูโคสของขั้ว GOx/AuNP/CNT/GCE คือ 0.8 V ส่วนขั้วสุดท้าย คือ GOx/Fe^{II}Fe^{III}(CN)₆/AuNP/

CNT/GCE ดังรูป 32ฉ ให้สัญญาณสูงที่สุดและเกิดได้ทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน เนื่องจากมีการตรึงสาร CNT, AuNP, Prussian blue และ GOx ลงบนขั้วกลาสสิ

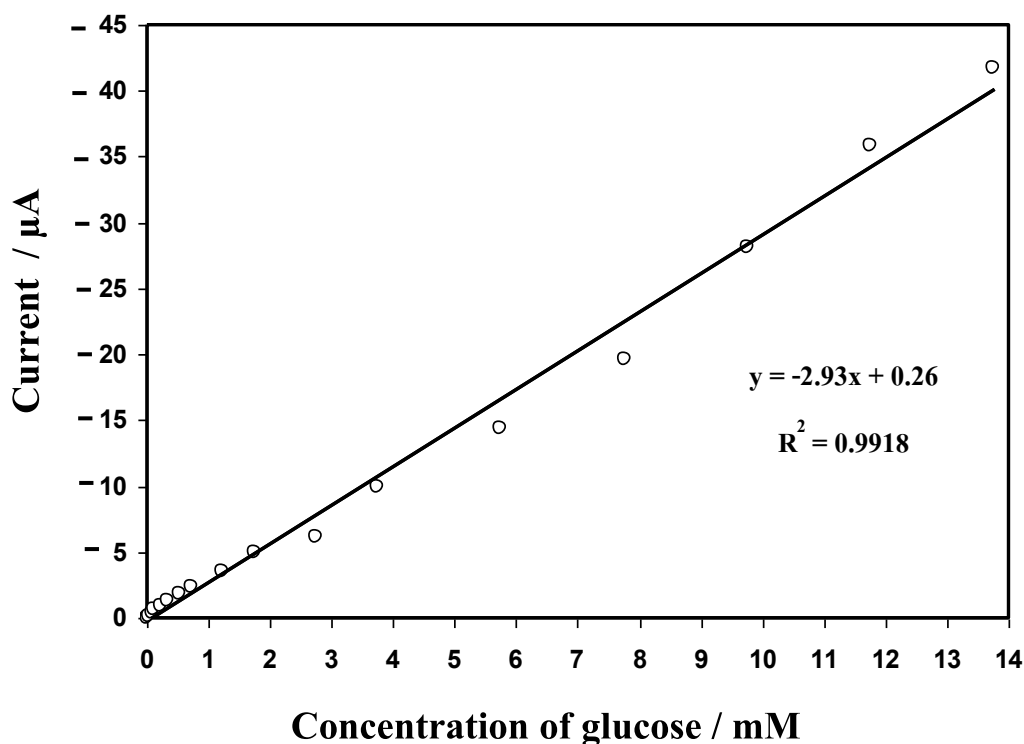
คาร์บอน และศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดกลูโคสของขั้ว GOx/AuNP/CNT/GCE คือ 0.0 V เพื่อหลีกเลี่ยงสารที่อาจรบกวนการวิเคราะห์เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าสูง



รูป 32 ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง (ก) bare GCE (ข) GOx/GCE, (ค) CNT/GCE, (ง) GOx/CNT/GCE, (จ) GOx/AuNP/CNT/GCE และ (ฉ) GOx/ $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6$ /AuNP/CNT/GCE โดยฉีดสารละลายกลูโคสลงในเซลล์ไฟฟ้าให้ได้ความเข้มข้น 2 mM

1.5.5 การหาขีดจำกัดการตรวจวัด

การทดสอบประสิทธิภาพของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ในเบื้องต้นโดยให้ศักย์ไฟฟ้าที่ 0.0 V ด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรี พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากปฏิกิริยาเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับความเข้มข้นของกลูโคสที่ฉีดลงไป ดังรูป 33



รูป 33 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสกับกระแสที่ได้จากปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V

จากรูป 33 พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากปฏิกิริยาเป็นปฏิกิริยาเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับความเข้มข้นของกลูโคสที่ฉีดลงไป เมื่อพลอตกราฟระหว่างกระแสไฟฟ้าที่ได้ (แกน X) กับปริมาณของกลูโคสที่ฉีดลงไป (แกน Y) โดยถ้าเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสขึ้นกระแสไฟฟ้าที่วัดได้ก็จะมีปริมาณมากขึ้น การหาลักษณะเฉพาะของกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น คือช่วงที่เป็นเส้นตรง ซึ่งพบว่ามีช่วงที่เป็นเส้นตรงในช่วง 10 ไมโครโมลาร์ ถึง 13 มิลลิโมลาร์ ($y = -2.93\mu\text{A mM}^{-1} + 0.26$, $R^2 = 0.9918$) และพบค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดกลูโคสมีค่าเท่ากับ 7.80 μM จากกราฟมาตรฐานนี้สร้างขึ้นเพื่อใช้หาปริมาณกลูโคสในเครื่องดื่มชูกำลังและน้ำผึ้ง ซึ่งสามารถตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสความเข้มข้นต่ำสุดในระดับไมโครโมลาร์ นั่นคือขั้วไฟฟ้า $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ สามารถนำไปตรวจวัดสารในปริมาณที่น้อยมากได้

1.5.6 การทดสอบกลูโคสในน้ำผึ้งตัวอย่าง

นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุง $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ มาตรวจวัดกลูโคสในเครื่องดื่มชูกำลังด้วยเทคนิคแอมแปโรเมตรี ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V ได้กระแสไฟฟ้างดงาม 3

ตาราง 3 กระแสไฟฟ้าที่วัดได้ของชีวปรับปรุงโดย $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ ด้วยเทคนิคแอมแปโรเมตรีในตัวอย่างน้ำผึ้ง

ลำดับ	ชนิดของสารตัวอย่าง	กระแสไฟฟ้าที่วัดได้ / μA				ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
1.	สวนจิตรลดา	-6.52	-6.80	-6.77	-6.70	0.15
2.	ฟาร์มจิรภา	-6.50	-6.68	-6.90	-6.69	0.20
3.	ฟาร์มเบญจวรรณ	-6.92	-6.25	-6.43	-6.53	0.35
4.	ฟาร์มจุฬา	-6.40	-6.64	-6.98	-6.67	0.29
5.	ฟาร์มสายัณห์	-6.91	-6.41	-6.39	-6.57	0.29

จากตาราง 3 พบว่าไบโอเซนเซอร์ $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ สามารถตรวจวัดกลูโคสในน้ำผึ้งได้จริง นำกระแสไฟฟ้าที่ได้จากการวัดของชีวไฟฟ้าปรับปรุงโดย $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ ในน้ำผึ้งทั้ง 5 ชนิด ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้ (รูป 33) จะทราบความเข้มข้นของปริมาณกลูโคสในน้ำผึ้ง ดังตาราง 4 จะทราบความเข้มข้นของปริมาณกลูโคสในน้ำผึ้ง ดังตาราง 4 (คอลัมน์ที่ 3) และได้ทดสอบกับตัวอย่างเดียวกันโดยใช้เครื่องวัดกลูโคสจากการค้าได้ดังตาราง 4 (คอลัมน์ที่ 4)

ตาราง 4 ค่าความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่วัดได้จากไบโอเซนเซอร์ $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ และเครื่องตรวจวัดกลูโคสจากการค้า

ลำดับ	ชนิดของสารตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ / mM	
		ไบโอเซนเซอร์*	เครื่องวัดกลูโคสจากการค้า**
1.	สวนจิตรลดา	2.37 (± 0.06)	2.81
2.	ฟาร์มจิรภา	2.37 (± 0.07)	2.82
3.	ฟาร์มเบญจวรรณ	2.32 (± 0.12)	2.75
4.	ฟาร์มจุฬา	2.37 (± 0.10)	-
5.	ฟาร์มสายัณห์	2.33 (± 0.10)	-

*n = 3, **n = 1, - ไม่ได้ทำการตรวจวัด

จากตาราง 4 จะเห็นได้ว่าปริมาณกลูโคสที่ได้จากเครื่องตรวจวัดกลูโคสจากการค้ากับไบโอเซนเซอร์ $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP}/\text{CNT}/\text{GCE}$ ที่ปรับปรุงขึ้นเครื่องมือทั้งสองชนิดให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกันนั่นคือไบโอเซนเซอร์นี้สามารถนำไปใช้ในการทดสอบกลูโคสในน้ำผึ้งได้จริง

1.5.7 การทดสอบอายุการใช้งานของขั้วปรับปรุงทั้ง 6 ชนิด

นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุงทั้ง 6 ชนิด มาตรวจวัดกลูโคส 0.5 mM ด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรีโดยฉีดกลูโคสไปเรื่อยๆ จนกว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ลดลงเหลือครึ่งหนึ่งของกระแสไฟฟ้าที่ได้ครั้งแรก ได้ผลดังตาราง 5

ตาราง 5 อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง 6 ชนิด

ลำดับ	ชนิดของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง	อายุในการใช้งาน / ครั้ง
1.	Bare GCE	-
2.	GOx/GCE	5
3.	CNT/GCE	-
4.	GOx/CNT/GCE	6
5.	GOx/AuNP/CNT/GCE	12
6.	$\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP}/\text{CNT}/\text{GCE}$	17

- ไม่สามารถตรวจวัด

จากตาราง 5 แสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าปรับปรุงที่มีการเติม AuNP ลงไปมีอายุการใช้งานนาน เนื่องจาก AuNP มีขนาดเล็กมาก ทำให้มีพื้นที่ผิวมากเมื่อนำมาปรับปรุงอิเล็กโทรดทำให้สารชีวภาพสามารถเกาะติดบนอิเล็กโทรดได้นานขึ้น เมื่อนำมาทำการตรวจวัดทำให้ขั้ว $\text{GOx/AuNP}/\text{CNT}/\text{GCE}$ และขั้ว $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP}/\text{CNT}/\text{GCE}$ มีอายุการใช้งานมากกว่าขั้วอื่นๆ ส่วนขั้วที่มี GOx ประกอบอยู่ด้วยจะสามารถตรวจวัดกลูโคสได้เนื่องจาก GOx สามารถทำปฏิกิริยากับกลูโคสได้อย่างจำเพาะเจาะจง จะเปลี่ยนกลูโคสเป็นกรดกลูโคนิกกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สามารถให้อิเล็กตรอนออกมาในขณะที่ทำปฏิกิริยาบนขั้วไฟฟ้าทำงาน ซึ่งสามารถทำให้เกิดเป็นสัญญาณได้

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพและคุณลักษณะของไบโอเซนเซอร์เซ็นสัคย์ไฟฟ้าที่ให้แก๊วไฟฟ้า (E_{applied}), ช่วงที่เป็นเส้นตรง (linear range), ความไว (sensitivity), ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection ; LOD), อายุการใช้งาน (useful lifetime), ค่าการยับยั้งของไมเคิลลิส (K_M^{app}) จาการีวเทียบกับไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นแสดงได้ดังตาราง 6

ตาราง 6 คุณลักษณะของไบโอเซนเซอร์ที่ได้จากการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าโดยใช้วัสดุที่แตกต่างกัน

Biosensor	E_{applied} (V)	Linear range (mM)	Sensitivity (mA/M)	LOD (μM)	Useful life	K_M^{app} (mM)	Refer ences
GOx-CNT-Teflon	+0.1	2-20	-	-	-	-	[2]
GOx-CoNP-CNT- CHIT-GCE	-0.2	0.01-10	-	5	-	-	[3]
PDDA/GOx/PDDA/CNT- GCE	-0.1	0.015-6	-	7	1 m ^b	-	[4]
GOx-Pt-sol-gel/CNT	+0.1	1-25	1.2			-	
(CNT-GOx) ₆ -graphite	+0.6	0.5-15	0.039	90	15 d ^a	-	[5]
GOx-CNT-CHIT	+0.4	up to 78	0.52		14 d ^a	-	[6]
Pd-GOx-Nafion-CNT	+0.3	up to 12	-	150	-	8.2	[7]
PPy/CNT/GOx-GCE	+0.9	4 - 50	0.023	200			[8]
CNTPE-GOx	-0.1	up to 25	0.013	600	3 m ^a	-	[9]
AuNP/CNT-GOx	+0.45	0.05-13	0.01	10	22 d		[10]
Gox/PtNP/CNT/graphite	+0.6	0.1 - 13.5	-	-	3 w		[11]
CNT-sol-gel- GOx/BBPG	+0.3	0.2 - 20	0.196	50	-	10.1	[12]
GOx/CHIT/Nafion- CNT/GCE	+0.7	up to 7.5	0.28	35	-		[13]
GOx/Fe ^{II} Fe ^{III} (CN) ₆ /AuNP /CNT/GCE	0.0	0.01 - 13	0.023	7.8	17	-	TW

- = Not defined ; a = flow injection stability ; b = storage stability ; d = day ; m = month ; w = week ; TW = This work

1.5.8 การทดสอบสารรบกวน

นำไบโอเซนเซอร์ $\text{GOx/Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP/CNT/GCE}$ มาทำการตรวจวัดสารรบกวน 2 ชนิด คือวิตามินซีกับคาเฟอีน เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารรบกวนที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V ได้ผลดังตาราง 7 และตาราง 8

ตาราง 7 การหาความเข้มข้นของวิตามินซีรบกวน

ความเข้มข้นวิตามินซีที่ทำการตรวจวัด / mM	การเกิดกระแสไฟฟ้า
0.10	ไม่เกิด
0.25	เกิด
0.50	เกิด
0.75	เกิด
1.0	เกิด

จากตาราง 7 ได้ทำการตรวจวัดวิตามินซี ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V ที่ความเข้มข้น 1.0, 0.75, 0.50, 0.25 และ 0.10 mM พบว่าจะมีวิตามินซีรบกวนการทดลองตั้งแต่ความเข้มข้น 0.25 mM ขึ้นไปเนื่องจากจะมีกระแสไฟฟ้าเริ่มเกิดขึ้นที่ 0.25 mM

ส่วนผลความเข้มข้นของคาเฟอีนที่อาจจะรบกวนไบโอเซนเซอร์นี้ได้ผลดังตาราง 8

ตาราง 8 การหาความเข้มข้นของคาเฟอีนรบกวน

ความเข้มข้นที่ทำการตรวจวัด / mM	การเกิดกระแสไฟฟ้า
1.0	ไม่เกิด
1.25	ไม่เกิด
2.0	ไม่เกิด
3.0	ไม่เกิด
4.0	ไม่เกิด

จากตาราง 8 ได้ทำการตรวจวัดคาเฟอีนที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V ที่ความเข้มข้น 1.0, 1.25, 2.0, 3.0 และ 4.0 mM ไม่พบกระแสไฟฟ้าเกิดขึ้นเลย เพราะฉะนั้นคาเฟอีนที่ 0.4 mM ไม่รบกวนในการตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในน้ำผึ้ง

จากการตรวจวัดหาสารรบกวนในการทดลองพบว่าในปริมาณสารตัวอย่างที่นำมาทดลองโดยเติมส่วนใหญ่มีปริมาณวิตามินซีอยู่ 0.75 mM เมื่อทำการตรวจวัดสารรบกวนวิตามินซีของไบโอเซนเซอร์ $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP}/\text{CNT}/\text{GCE}$ ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V พบว่าจะเกิดสารรบกวนที่ 0.25 mM เพราะฉะนั้นอาจเกิดสารรบกวนขึ้นในการทดลองได้ ส่วนคาเฟอีนที่มีอยู่ในสารตัวอย่างส่วนใหญ่จะมีประมาณ 1.76 mM แต่ในการทดสอบหาสารรบกวนคาเฟอีนที่ 4.0 mM ไม่พบกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น เพราะฉะนั้นปริมาณคาเฟอีนจึงไม่รบกวนต่อไบโอเซนเซอร์ $\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP}/\text{CNT}/\text{GCE}$ ในการทดสอบหาปริมาณกลูโคสในน้ำผึ้ง

1.6 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ประกอบกลูโคสไบโอเซนเซอร์ (Glucose biosensor) โดยการนำตัวเร่งทางชีวภาพคือกลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase : GOx) มาตรึงร่วมกับตัวเร่งทางไฟฟ้าคือคาร์บอนนาโนทิวบ์ (Carbon nanotube : CNT) และเฟอริกเฟอโรไซยาไนด์ ($\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6$) บนพื้นผิวของทองคำนาโน (Gold nanoparticle : AuNP) ($\text{GOx/Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6/\text{AuNP}/\text{CNT}/\text{GCE}$)

ทองคำนาโนที่เตรียมได้พบว่ามีฟีดของการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ซึ่งเป็นฟีดเฉพาะของทองคำนาโนและทองคำนาโนที่ให้ความร้อนครั้งสุดท้าย 4 นาที อัตราส่วนของทองคำไรต์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1: 10 ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุด และสารละลายของทองคำนาโนที่ได้เป็นสีแดงเชอร์รี่และเกิดเป็นทองคำนาโนอย่างสมบูรณ์

การปรับปรุงอิเล็กโทรดทำได้ทั้งหมด 6 ชนิด การทดลองพบว่าสัญญาณที่วัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยซ้ำแรก คือ bare GCE จะให้สัญญาณต่ำที่สุดเนื่องจากเป็นซ้ำที่ไม่มีการตรึงสารใดลงบนกลาสคาร์บอน ส่วนซ้ำที่ 2 คือ GOx/GCE ให้สัญญาณสูงกว่า Bare GCE เนื่องจากเอนไซม์ GOx สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายกลูโคสได้ทำให้เกิดสัญญาณที่เห็นได้ชัดเจนกว่าซ้ำกลาสคาร์บอน ซ้ำที่ 3 คือ CNT/GCE เป็นซ้ำที่สามารถให้สัญญาณได้สูงเพราะ CNT สามารถเร่งปฏิกิริยาแล้วทำให้สัญญาณเพิ่มมากขึ้น ซ้ำที่ 4 คือ GOx/CNT/GCE จะให้

สัญญาณที่สูงกว่าทั้ง 3 ขั้วที่กล่าวมาเนื่องจากมีการตรึงทั้ง CNT และ GOx ลงบนกลาสคาร์บอน ส่วนขั้วที่ 5 คือ GOx/AuNP/CNT/GCE เป็นขั้วที่ให้สัญญาณใกล้เคียงกับขั้ว GOx/CNT/GCE แต่มีส่วนที่แตกต่างคือมีการตรึง AuNP เพิ่มลงไปด้วย เพราะ AuNP จะทำให้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงนี้สามารถใช้งานได้นานขึ้น

ขั้ว GOx/Fe^{II}Fe^{III}(CN)₆/AuNP/CNT/GCE เป็นขั้วที่ให้สัญญาณสูงที่สุดและมีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเทียบกับขั้วปรับปรุงอื่น ๆ อีก 5 ขั้ว ซึ่งขั้ว GOx/Fe^{II}Fe^{III}(CN)₆/AuNP/CNT/GCE สามารถเกิดได้ทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันและเป็นขั้วไฟฟ้าปรับปรุงที่มีการเติม Fe^{II}Fe^{III}(CN)₆ ลงไปด้วยเพราะสารนี้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสกับกลูโคส นอกจากนี้ยังมี CNT ที่ช่วยเป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนเพราะ CNT มีรูปร่างแบบ sp² ซึ่งอิเล็กตรอนวงนอกสุดจะไม่อยู่นิ่งมีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลา เมื่อเกิดปฏิกิริยาขึ้นบนอิเล็กโทรดจึงทำให้ส่งผ่านอิเล็กตรอนได้เร็วขึ้นซึ่งเป็นผลทำให้สัญญาณสูงขึ้น

ไฮโดรนาไมกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า GOx/Fe^{II}Fe^{III}(CN)₆/AuNP/CNT/GCE พบว่าที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V กับ 0.8 V ให้กระแสไฟฟ้าที่สูงที่สุดและความชันมากที่สุด จึงเลือกเลือกศักย์ไฟฟ้าที่ 0.0 V สำหรับตรวจวัดหาปริมาณกลูโคสในสารตัวอย่างเพื่อหลีกเลี่ยงสารที่อาจรบกวนการวิเคราะห์เมื่อใช้ศักย์ไฟฟ้าสูง

ไบโอเซนเซอร์ GOx/Fe^{II}Fe^{III}(CN)₆/AuNP/CNT/GCE นี้มีช่วงเป็นเส้นตรงในช่วง 10 โครโมลาร์ ถึง 13 มิลลิโมลาร์ มีขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 7.80 μ M และมีอายุในการใช้งาน 12 ครั้ง โดยตรวจสอบกับกลูโคสที่ 0.5 mM ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.0 V เนื่องจากมีการเติม AuNP ลงไปทำให้มีพื้นที่ผิวมากเมื่อนำมาปรับปรุงอิเล็กโทรดทำให้สารชีวภาพสามารถเกาะติดบนอิเล็กโทรดได้นานขึ้นและเมื่อนำไปทดสอบหาปริมาณกลูโคสในเครื่องดีมูทาลังชนิดต่าง ๆ โดยเปรียบเทียบกับเครื่องวัดกลูโคสที่มีจำหน่ายในท้องตลาดพบว่าให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกัน

ไบโอเซนเซอร์ GOx/Fe^{II}Fe^{III}(CN)₆/AuNP/CNT/GCE ไม่ถูกสารคาเฟอีนรบกวน (≤ 4.0 mM) ส่วนวิตามินซีจะรบกวนไบโอเซนเซอร์นี้ที่ความเข้มข้น 0.25 mM

บทที่ 2 ออกซิเจนไบโอเซนเซอร์

2.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

การหาปริมาณออกซิเจนตามแหล่งน้ำต่างๆ เป็นสิ่งจำเป็นเกี่ยวกับการดำรงชีวิต เนื่องจากปัจจุบันการเกิดปัญหาแหล่งน้ำเสียในธรรมชาติมีมากขึ้นไม่ว่าจะเป็นจากการทำอุตสาหกรรมจากบ้านเรือน หรือแม้กระทั่งการทำการเกษตรกรรมของชาวบ้านจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวัดหาออกซิเจนในแหล่งน้ำเพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมและสามารถแก้ปัญหาได้ อย่างทันการ จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนา ออกซิเจนเซนเซอร์ และทราบว่าไบโอเซนเซอร์เป็นเทคโนโลยีที่มีหลักการที่จำเพาะและให้ผลลัพธ์รวดเร็ว ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงสนใจพัฒนานำเอาเครื่องมือวัดแบบไบโอเซนเซอร์มาประยุกต์ใช้สำหรับตรวจวัดออกซิเจน เพื่อนำมาใช้ในการตรวจวัดหาออกซิเจนในแหล่งน้ำ หรือใช้ในด้านอื่นๆ ที่สามารถบ่งบอกถึงปริมาณออกซิเจนตามแหล่งต่างๆ โดยที่ผ่านมามีการนำไบโอเซนเซอร์เพื่อใช้ในการตรวจวัดหาสิ่งต่างๆที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาเทคโนโลยีไบโอเซนเซอร์ จึงนับว่าเป็นวิวัฒนาการอย่างหนึ่ง ที่อาศัยหลักการทำงานร่วมกันระหว่างส่วนประกอบที่สำคัญ 2 ส่วน คือส่วนของสารชีวภาพ (biological substance) และส่วนของทรานสดิวเซอร์ (transducer) หรือตัววัดสัญญาณ จากนั้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาทางไฟฟ้า หรือมีการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนหรือประจุ ซึ่งหัวไบโอเซนเซอร์ สามารถแปรเป็นสัญญาณที่ส่งมายังทรานสดิวเซอร์ ซึ่งเป็นอุปกรณ์ทางอิเล็กทรอนิกส์ทำหน้าที่รับและแปลงสัญญาณที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างสารชีวภาพกับสารที่ต้องการวัดวิเคราะห์ดังกล่าว ให้กลายเป็นกระแสไฟฟ้า และสัญญาณไฟฟ้านี้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของสารที่ตรวจวิเคราะห์ได้และถูกนำไปดำเนินการต่อเพื่อแสดงผลออกมา

2.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย

- 2.2.1 เพื่อพัฒนาออกซิเจนไบโอเซนเซอร์โดยใช้บิโลิบีนออกซิเดสและวัสดุนาโน
- 2.2.2 เพื่อประยุกต์ใช้ออกซิเจนไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัดหาปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติ

2.3 วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยขอบเขตการศึกษา

- 2.3.1 เพื่อศึกษาผลของคาร์บอนนาโนทิวบ์จากแหล่งที่แตกต่างกันในการเตรียมขั้วไฟฟ้า
- 2.3.2 ปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วย คาร์บอนนาโนทิวบ์ อนุภาคทองนาโน และเอนไซม์บิโลิบีนออกซิเดส

2.3.3 ตรวจวัดออกซิเจนในตัวอย่างน้ำธรรมชาติด้วยเทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี

2.3.4 เปรียบเทียบไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาได้กับออกซิเจนทางการค้า

2.4 วิธีการทดลอง

2.4.1 วัสดุ ก๊าซ และสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองที่ใช้ในการเตรียมสารละลายในงานวิจัยเพื่อทำการประยุกต์ใช้การเร่งปฏิกิริยาโดยตรงของบิลิรูบินออกซิเดสบนขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนนั้นแสดงดังตาราง 9

ตาราง 9 วัสดุ ก๊าซ และสารเคมี

ลำดับ	ชื่อสารเคมี	เกรด	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
1	Billirubin oxidase	$\geq 15\%$	Sigma	USA
2	Cabon nanotube	$>98.9\%$	Nanolab	USA
3	Calcium chloride ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	AR grade	Ajax Chemical	Australia
4	Dimethylformamide (DMF)	HPLC	Ajax Chemical	Australia
5	Disodium hydrogen orthophosphate (Na_2HPO_4)	99.0% AR grade	Ajax Chemical Merck	Australia Germany
6	Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	49.0%	Sigma	USA
7	Gold(III) chloride trihydrate (HAuCl_4)	AR grade	Ajax Chemical	Australia
8	Iron(II) sulphate (FeSO_4)	85.5%	Lanna	Thailand
9	Nitrogen gas (N_2)	70.0%	industrial gas	Thailand
10	Nitric acid (HNO_3)	85.5%	Ajax Chemical	Australia
11	Oxygen gas (O_2)	99.5%	Lanna	Thailand
12	Potassium chloride (KCl)	99.0%	industrial gas	Australia
13	Potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$)	AR grade	Merck	Germany
14	Potassium sulphate (K_2SO_4)	AR grade	Ajax Chemical	Australia
15	Sodium chloride (NaCl)	99.0%	Ajax Chemical	Australia
16	Sodium dihydrogen orthophosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	98.0% 99.0%	Ajax Chemical Ajax Chemical	Australia Australia
17	Sulfuric acid (H_2SO_4)	99.0%	Merck	Germany
18	Trisodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	99.0%	Ajax Chemical	Australia

2.4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่สำคัญที่ใช้ในการทดลองในการทำการวิจัยนี้ เช่น เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัด และอุปกรณ์ที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร แสดงดังตาราง 10

ตาราง 10 เครื่องมือและอุปกรณ์

ลำดับ	ชื่อเครื่องมือ และอุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต/รุ่น	ประเทศ
1	ขั้วกลาสลิคาร์บอน	CH Instruments/ Ø 3 mm	USA
2	ขั้วไฟฟ้าช่วย	ขั้วไฟฟ้าทอง/ Ø 3 mm	USA
3	ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Ag/AgCl)	CH Instruments	USA
4	เครื่องชั่งสัตตำแหน่ง	Mettler Toledo/pg 5002-s	Switzerland
5	เตาไมโครเวฟ	Samsung/M181GN	Thailand
6	เครื่องวัดคูลมัทิก – กระแสไฟฟ้า	CH Instruments/CH1230A	USA
7	เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	Hitachi/U-2900	Japan
8	เครื่องอัลตราโซนิก	Labquip	England
9	เตาอบ (Oven)	GallenKamp	Germany
10	Dissolve Oxygen meter	TPS Pty/WP-82	Australia

2.4.3 การเตรียมสารละลาย

2.4.3.1 การเตรียมอนุภาคทองคำนาโน

แบ่งสารละลาย 0.01 % ทองคลอไรด์แบ่งใส่บีกเกอร์บีกเกอร์ละ 5 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนด้วยเตาไมโครเวฟที่ 100 วัตต์เป็นเวลา 2 นาที เติมสารละลาย 1 % ไตรโซเดียมซิเตรท ลงในบีกเกอร์ในอัตราส่วนของโมลของทองคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรท ในอัตราส่วน 1:1, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 โดยเติมลงไปปริมาตร 18, 92, 184, 276, และ 368 ไมโครลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเตาไมโครเวฟต่ออีก 4 นาที ก็จะได้อนุภาคทองคำนาโนและนำไปตรวจสอบลักษณะทางแสงด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิล

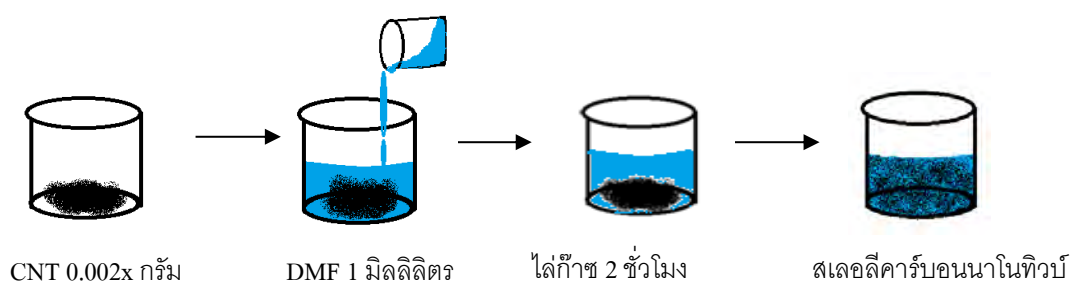
2.4.3.2 การทำให้คาร์บอนนาโนทิวบ์บริสุทธิ์

การทำให้คาร์บอนนาโนทิวบ์ให้บริสุทธิ์ทำได้สองวิธี วิธีแรกนำ CNT 0.05xx กรัม มาทำการล้างด้วยกรด โดยเติม กรดไนตริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ส่วนวิธีที่สองนำ CNT 0.05xx กรัม ล้างด้วยกรดไนตริกเข้มข้น และ กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ในอัตราส่วน 1:3 จากนั้นนำ CNT ทั้งสองวิธีไปทำการไล่ก๊าซโดยปิดด้วยพาราฟิล์มแล้วนำไปใส่ในอ่างโซนิเคต เป็นเวลา 8-

10 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเทน้ำทิ้งให้เหลือเฉพาะตะกอน ล้างกรดออกด้วยน้ำปราศจากไอออนวัดค่า pH จนมี pH = 7 หรือประมาณ 7 ถ้ายังไม่ได้ค่า pH ก็ทำการตกตะกอนเรื่อยๆจนกว่าจะได้ จากนั้นกรองเอาเฉพาะตะกอน CNT บริสุทธิ์ นำไปอบที่อุณหภูมิ 90°C

2.4.4 การเตรียมสเลอลีคาร์บอนนาโนทิวบ์

ซังคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ทำให้บริสุทธิ์ทั้งสองวิธีตามข้อ 2.3.2 มาวิธีละ 0.002x กรัม จากนั้นเติม Dimethylformamide (DMF) ลงไป 1 มิลลิลิตร นำไปใส่ก๊าช (sonicate) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก็จะได้ สเลอลีคาร์บอนนาโนทิวบ์ ดังแผนภาพในรูป 34



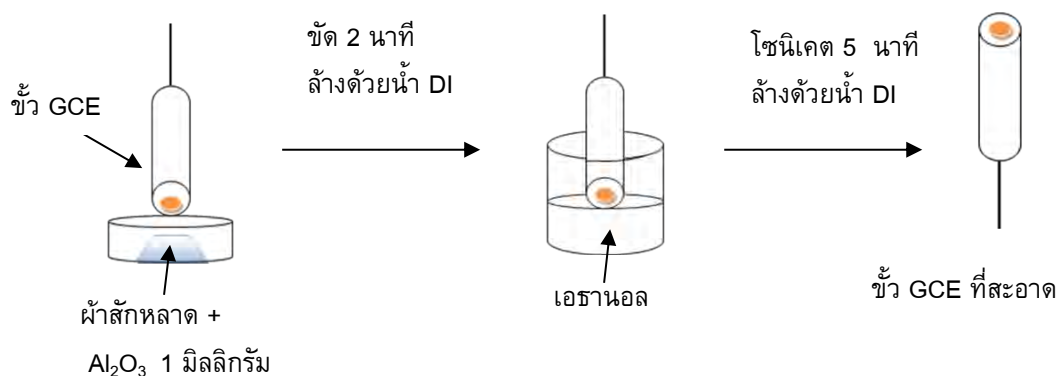
รูป 34 การเตรียมสเลอลีคาร์บอนนาโนทิวบ์

2.4.5 การเตรียมขั้วไฟฟ้าทำงาน

ก่อนจะทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ต้องทำการเตรียมขั้วไฟฟ้าทำงานก่อน โดยทำการปรับปรุงขั้วกลาสคาร์บอนทั้งหมด 6 ขั้วด้วยกัน ซึ่งประกอบไปด้วย ขั้วไฟฟ้างลาสคาร์บอนเปลือย, CNT/GCE, BOD/GCE, AuNP/CNT/GCE, BOD/AuNP/GCE, และ BOD/AuNP/CNT/GCE

2.4.5.1 ขั้วกลาสคาร์บอนเปลือย (Bare glassy carbon)

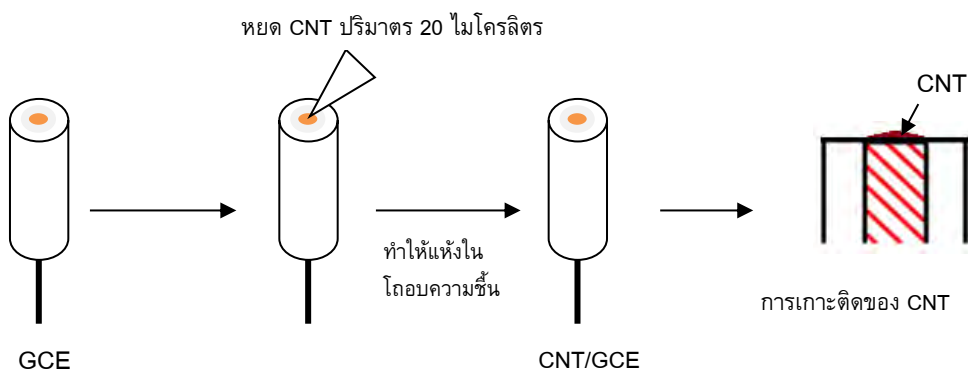
ทำความสะอาดขั้วกลาสคาร์บอนให้สะอาดด้วยการนำขั้วไฟฟ้างลาสคาร์บอนขัดบนผ้าสักหลาดที่มีผงอะลูมินาประมาณ 1 มิลลิกรัมให้สะอาดจากนั้นล้างขั้วให้สะอาดด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วนำไปโซนิเคตในเอธานอล 5 นาที ล้างเอธานอลออกให้หมดด้วยน้ำปราศจากไอออนก็จะได้ขั้วกลาสคาร์บอนเปลือย ดังแผนภาพในรูป 35



รูป 35 การล้างขั้วกลาสคาร์บอนเปลือย

2.4.5.2 การปรับปรุงขั้ว CNT/GCE

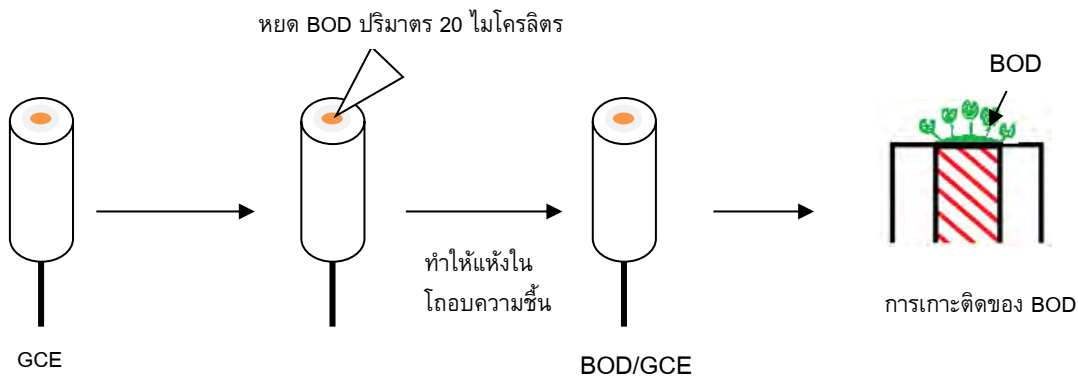
นำขั้วกลาสคาร์บอนที่แห้งและสะอาด นำมาตริงทับด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่เตรียมได้จากข้อ 2.3.3 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นทำให้แห้งโดยนำไปอบในโถอบความชื้น แล้วก็ได้ ขั้วไฟฟ้าปรับปรุง CNT/GCE ดังแผนภาพในรูป 36



รูป 36 การปรับปรุงขั้ว CNT/GCE

2.4.5.3 การปรับปรุงขั้ว BOD/GCE

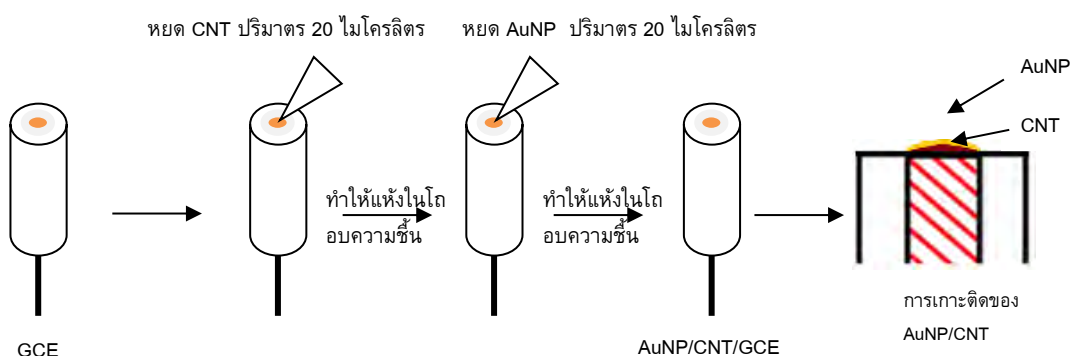
นำขั้วกลาสคาร์บอนที่สะอาด มาตริงทับด้วยเอนไซม์บีลูรีบินออกซิเดสปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปทำให้แห้งโดยอบในโถอบความชื้น แล้วก็ได้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุง BOD/GCE ดังแผนภาพในรูป 37



รูป 37 การปรับปรุงขั้ว BOD/GCE

2.4.5.4 การปรับปรุงขั้ว AuNP/CNT/GCE

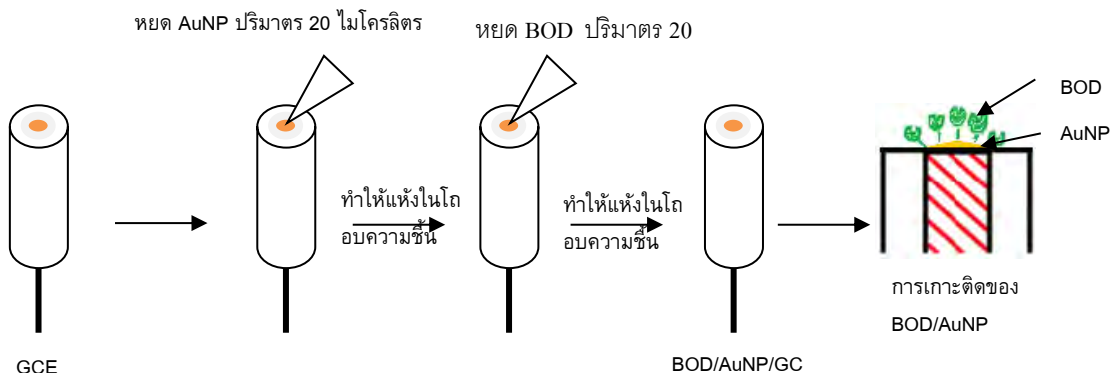
นำขั้วกลาสคาร์บอนที่แห้งและสะอาดมาตรึงทับด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วทำให้แห้ง จากนั้นตรึงทับด้วยทองคำนาโนที่สังเคราะห์ได้จากข้อ 2.3.1 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทั้งไว้ให้แห้งในโถอบความชื้น ก็จะได้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุง AuNP/CNT/GCE ดังแผนภาพในรูป 38



รูป 38 การปรับปรุงขั้ว AuNP/CNT/GCE

2.4.5.5 การปรับปรุงขั้ว BOD/AuNP/GCE

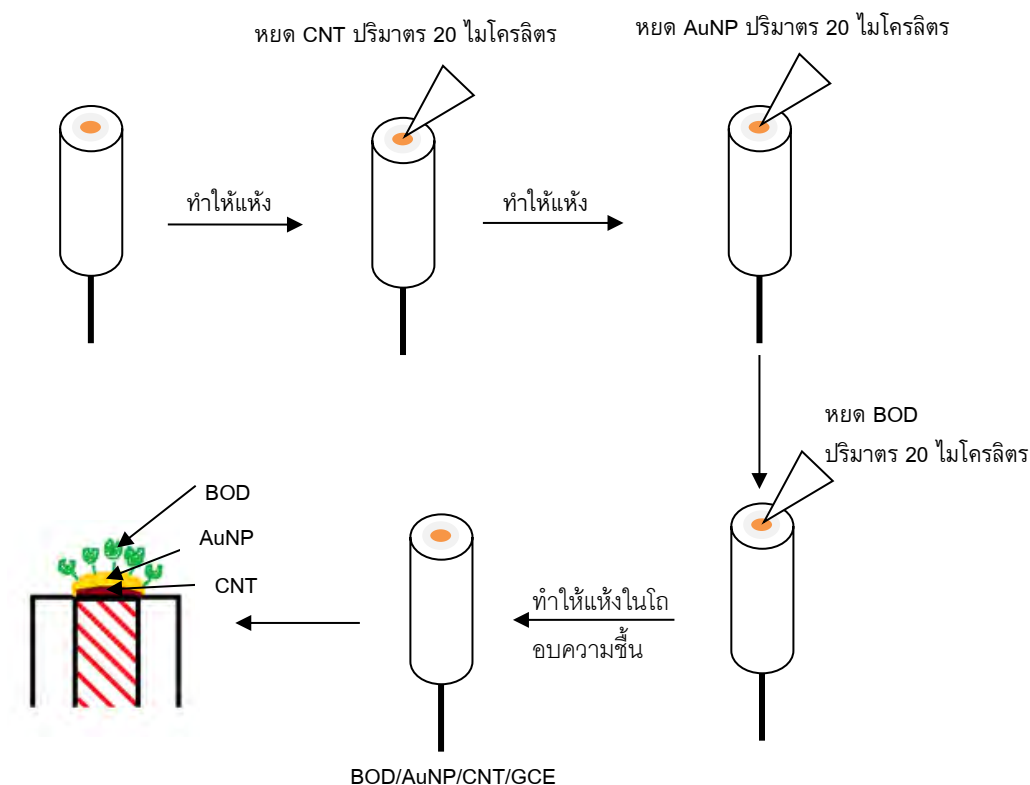
นำขั้วกลาสคาร์บอนที่แห้งและสะอาดมาตรึงทับด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วทำให้แห้ง จากนั้นตรึงทับด้วยเอนไซม์บิโกลูบินออกซิเดส ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทั้งไว้ให้แห้งในโถอบความชื้น จะได้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุง BOD/AuNP/GCE ดังแผนภาพในรูป 39



รูป 39 การปรับปรุงขั้ว BOD/AuNP/GCE

2.4.5.6 การปรับปรุงขั้ว BOD/AuNP/CNT/GCE

นำขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่แห้งและสะอาดมาตรึงทับด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ทำให้แห้งแล้วตรึงทับด้วยทองคำนาโน ปริมาตร 20 ไมโครลิตร รอให้แห้ง แล้วตรึงทับด้วยเอนไซม์บิลิรูบินออกซิเดสปริมาณ 20 ไมโครลิตรอีกชั้นหนึ่งแล้วทำให้แห้ง ก็จะได้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุง BOD/AuNP/CNT/GCE ดังแผนภาพในรูป 40

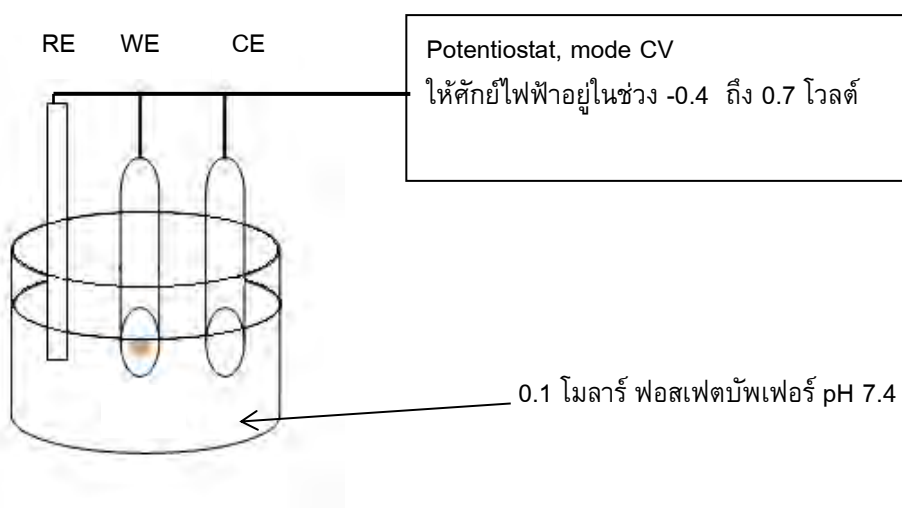


รูป 40 การปรับปรุงขั้ว BOD/AuNP/CNT/GCE

2.4.6 การทดสอบไบโอเซนเซอร์

2.4.6.1 การทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

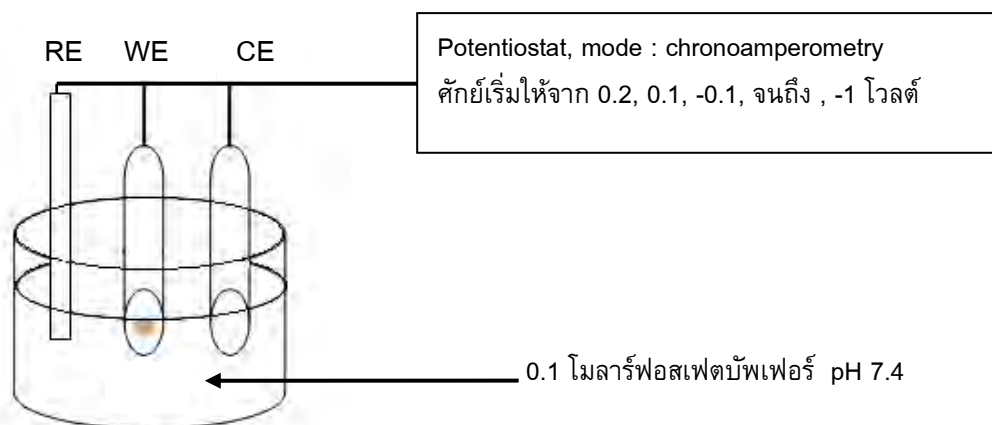
นำขั้วไฟฟ้าที่ทำการปรับปรุงได้ทั้ง 6 ขั้ว คือ ขั้วไฟฟ้างาสีคาร์บอนเปลือย ขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ขั้วไฟฟ้า BOD/GCE ขั้วไฟฟ้า AuNP/CNT/GCE ขั้วไฟฟ้า BOD/AuNP/GCE และ ขั้วไฟฟ้า BOD/AuNP/CNT/GCE มาตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้สารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 โดยให้ศักย์ไฟฟ้าอยู่ในช่วง -0.4 ถึง 0.7 โวลต์ โดยมีอัตราการสแกนศักย์ไฟฟ้าที่ 25 มิลลิโวลต์ การจัดเซลล์ดังกล่าวอยู่ในรูป 41



รูป 41 การจัดเซลล์สำหรับทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

2.4.6.2 การทดสอบขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรี

นำขั้วที่ให้สัญญาณสูงที่สุดจากการวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีมาวัดด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรีในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 สแกนโดยให้ศักย์ไฟฟ้าเริ่มจาก 0.2, 0.1, -0.1 จนถึง -1 โวลต์ เพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ยของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงได้ แต่ละชนิด ลักษณะการจัดเซลล์แสดงดังรูป 42



รูป 42 การจัดเซลล์สำหรับทดสอบด้วยเทคนิคโครโนแอมเปโรเมตรี

2.4.6.3 การศึกษาผลตอบสนองของกระแส – เวลา

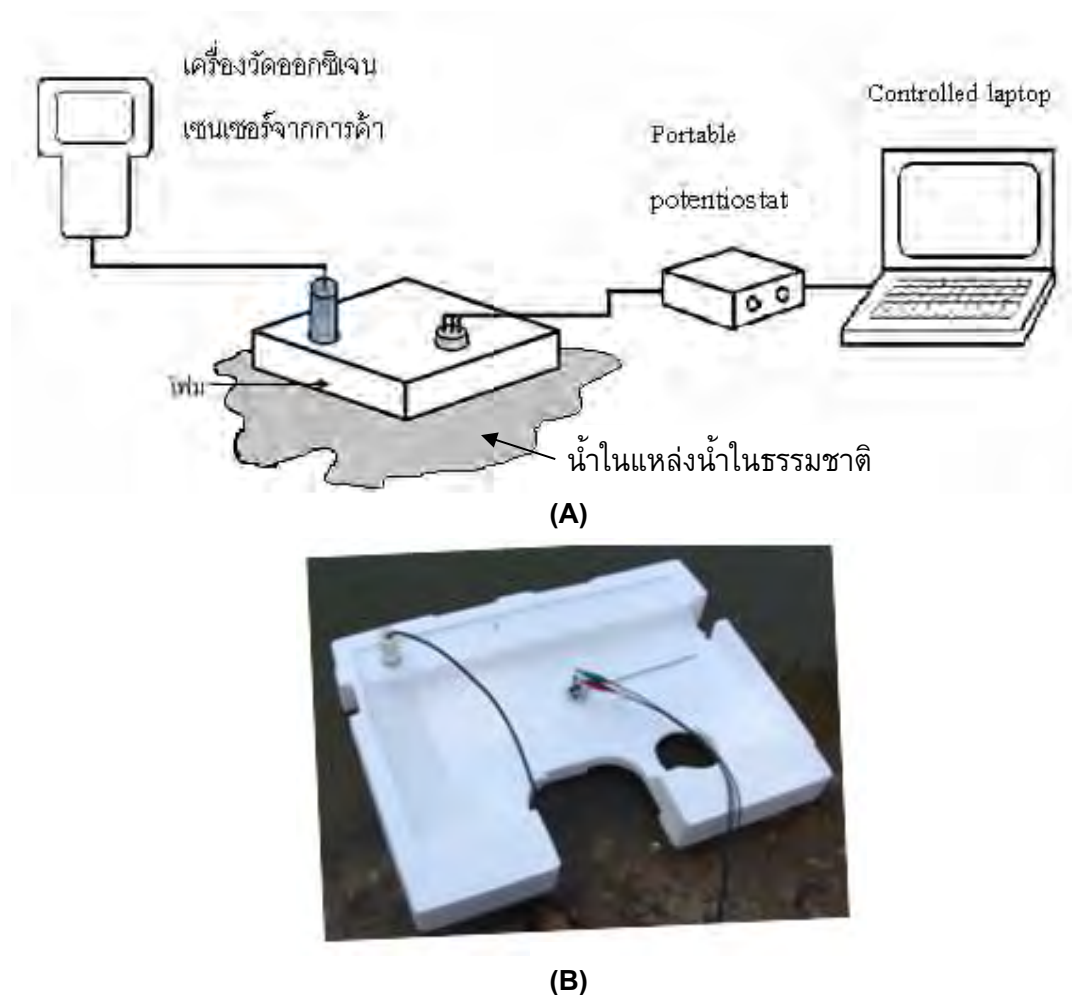
นำขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนอิเล็กโทรดปรับปรุงที่ให้สัญญาณสูงที่สุด ที่ได้จากการทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี มาทดสอบต่อด้วยเทคนิคโครโนแอมเปโรเมตรีในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 โดยให้ค่าศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นที่ 0.2 ถึง -1 โวลต์ เพื่อหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสม

2.4.6.4 การทดสอบไอออนรบกวน

ทำการวัดหัตัรบกวน เช่น CaCl_2 , KCl , NaCl , K_2SO_4 และ FeSO_4 โดยทำการเติมตัวรบกวนลงในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 โดยให้ความเข้มข้นของตัวรบกวนแต่ละตัวมีค่าเท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปวัดด้วยเทคนิคโครโนแอมเปโรเมตรี เพื่อหาสัญญาณการรบกวนของสารต่างๆที่อาจพบได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ

2.4.6.5 การวัดออกซิเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยใช้ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาได้

ทำการวัดตัวอย่างน้ำธรรมชาติจากแหล่งต่างๆโดยนำขั้วไฟฟ้าที่เราปรับปรุงได้เลือกขั้วที่ให้สัญญาณสูงที่สุดมาวัดด้วยเทคนิคโครโนแอมเปโรเมตรี แล้วนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำและวัดเปรียบเทียบกับออกซิเจนเซนเซอร์ยี่ห้อ TPS รุ่น WP-82 โดยสร้างสถานีวัดน้ำอย่างง่ายดังรูป 43 เพื่อให้ทราบค่าออกซิเจนในแหล่งน้ำนั้นๆ แล้วเทียบผลต่างด้วยสถิติ T-test

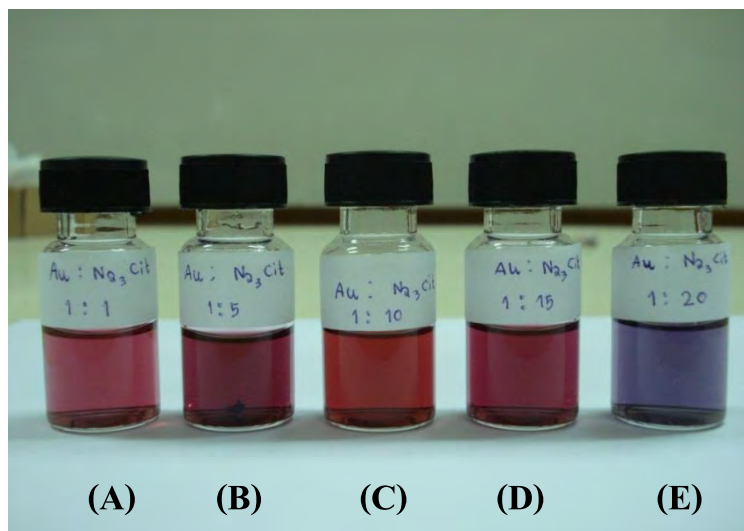


รูป 43 (A) โครงสร้างของสถานีวัดออกซิเจนในน้ำและ (B) ภาพถ่ายจากสถานที่จริง

2.5 ผลการทดลอง

2.5.1 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตริกของทองคำโน

ในการทดลองครั้งนี้ได้ศึกษาเทคนิคการสังเคราะห์อนุภาคทองคำโนด้วยไมโครเวฟเพื่อนำมาใช้เป็นวัสดุในการปรับปรุงขั้วกลาสคาร์บอนเพื่อพัฒนาออกซิเจนแคโทด โดยการนำสารละลายทองคำคลอไรด์ กับ ไตรโซเดียมซีเตรตอัตราส่วนโดยโมล มาให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 4 นาที ได้สารละลายออกมา ดังรูป 44

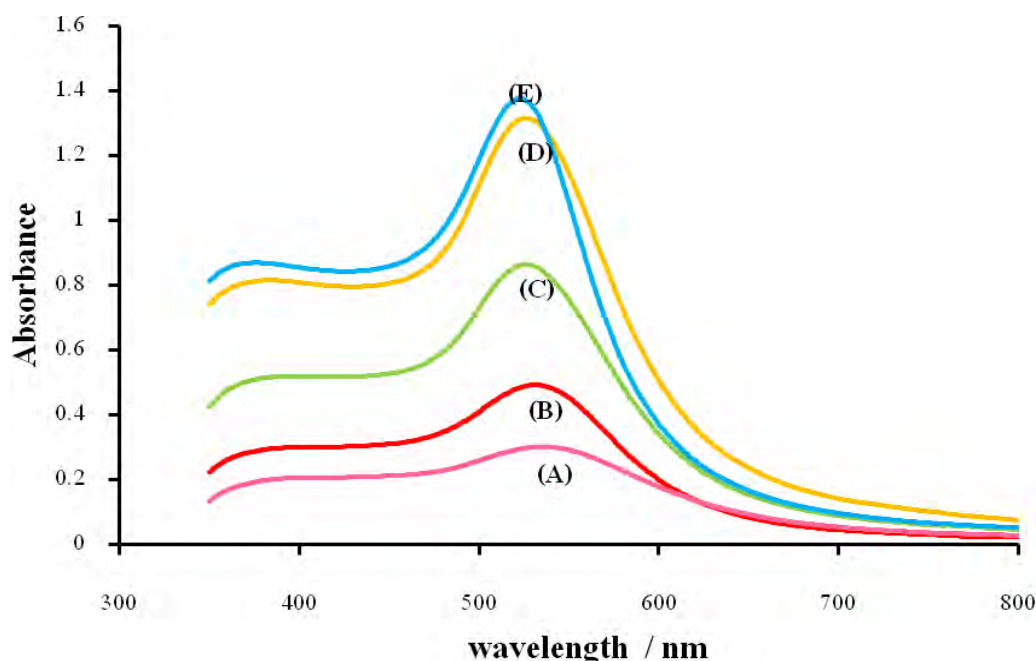


รูป 44 สารละลายทองคำนาโนให้ความร้อนเป็นเวลา 4 นาที ในอัตราส่วนโดยโมลของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรต ที่ 1:1(A) , 1:5(B) , 1:10(C), 1:15(D), 1:20(E)

สารละลายทองคำนาโนที่ให้ความร้อนเป็นเวลา 4 นาที พบว่าที่อัตราส่วนโดยโมล ของทองคำคลอไรด์:ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:20 (รูป 44E) ให้สารละลายสีม่วงอ่อนซึ่งเกิดเป็น ทองนาโนไม่สมบูรณ์และ ไม่เสถียร และที่ อัตราส่วน 1:1 (รูป 44A) ,1:5 (รูป 44B), และ 1:15 (รูป 44D) ให้สารละลายทองคำนาโนสีชมพู และเมื่อทิ้งไว้นานๆสารละลายเกิดการตกตะกอนขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายังเกิดเป็นทองคำนาโนไม่สมบูรณ์ แต่สารละลายทองคำนาโนที่อัตราส่วน 1:10 (รูป 44C) พบว่าให้สารละลายทองคำนาโน สีแดงเชอร์รี่ซึ่งสอดคล้องกับผลของ Tangkuaram et. al. [1] และไม่มีตะกอนเกิดขึ้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ จึงแสดงให้เห็นว่า ที่อัตราส่วนนี้เกิดเป็น ทองนาโนที่สมบูรณ์และเสถียร จึงนำสารละลายทั้งหมดไปตรวจสอบด้วยยูวี – วิสิเบิล เพื่อยืนยันว่าเป็นทองคำนาโนต่อไป

สารละลายทองคำนาโนที่สังเคราะห์ได้ในอัตราส่วนโดยโมลของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตเป็น 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 และ 1:20 ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 4 นาทีและนำไปตรวจสอบลักษณะทางแสงโดยยูวี – วิสิเบิลได้ผลการทดลองดังรูป 3.2 พบว่า สารละลายทองคำนาโนมีพีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 – 530 นาโนเมตรที่อัตราส่วน 1:20 ให้ค่าดูดกลืนแสงที่ต่ำที่สุดคือ 0.30 และที่อัตราส่วน 1:10 ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุดคือ 1.38 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารละลายทองคำนาโนที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรต ที่ 1:10 เป็นอัตราส่วนที่เกิดอนุภาคทองคำนาโนที่สมบูรณ์และเสถียรที่สุด ส่วนที่อัตราส่วน 1:1, 1:5 และ 1:15 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.86, 1.32 และ 0.49 ตามลำดับ แสดงให้

เห็นว่าสารละลายทองคำนาโนที่อัตราส่วนของทองคำต่อไทรโซเดียมซิเตรตที่ 1:10 เป็นอัตราส่วนที่เกิดอนุภาคทองคำนาโนที่สมบูรณ์และเสถียรที่สุด จึงจะใช้สารละลายทองคำที่อัตราส่วนนี้ในการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าทำงานต่อไป



รูป 45 ยูวีสเปกตรัมของทองคำนาโนที่สังเคราะห์ด้วยอัตราส่วนของทองคำต่อไทรโซเดียมซิเตรต เป็น 1:1(C), 1:5(D), 1:10(E), 1:15(B), และ 1:20(A) โดยให้ความร้อนด้วยเตาไมโครเวฟเป็นเวลา 4 นาที

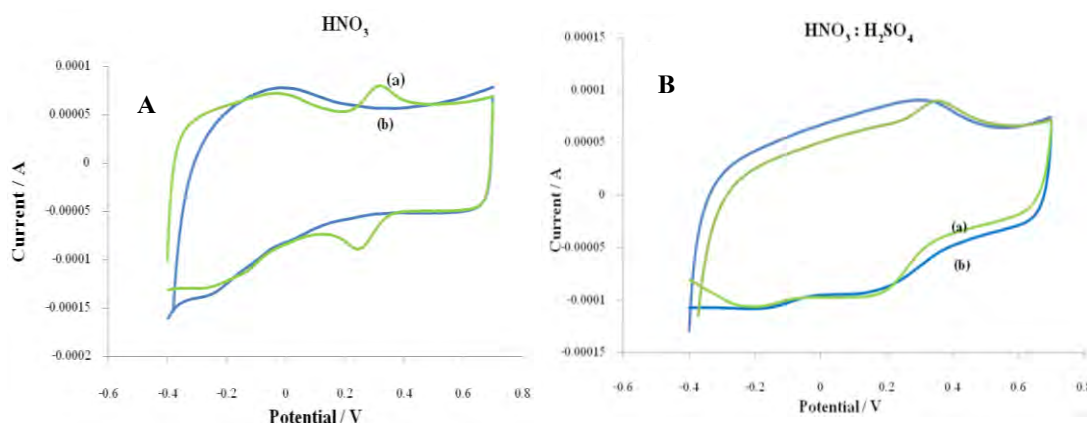
เมื่อนำไปหาค่าความกว้างครึ่งหนึ่งของความสูงพีค (peak width at half maximum ; PWHM) ได้ผลการทดลองดังตาราง 11 ความกว้างครึ่งหนึ่งของความสูงพีค (peak width at half maximum; PWHM) ที่แต่ละอัตราส่วนจะเห็นว่าค่า PWHM ของอัตราส่วน 1:10 มีค่าต่ำที่สุด และที่อัตราส่วน 1:20 มีค่าสูงที่สุด ซึ่งค่า PWHM จะแสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวของอนุภาค เมื่อค่า PWHM มีค่ามาก แสดงว่าขนาดอนุภาคภายในสารละลายมีขนาดอนุภาคไม่เท่ากัน ถ้าค่า PWHM มีค่าน้อยเท่าไรขนาดอนุภาคของสารละลายก็จะมีขนาดเท่ากันและมีขนาดที่เหมาะสมสำหรับงานวิจัย

ตาราง 11 ค่า Abs, $\lambda_{\max}$ (nm), PWHM (nm) และ peak shape ของสารละลายทองคำนาโนที่ทดสอบด้วย ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

Condition (AuCl ₄ :Na ₃ cit)	Abs	$\lambda_{\max}$ (nm)	PWHM (nm)	peak shape
1:1	0.8637	525	85	พีคแคบ ไม่สมมาตร
1:5	1.3159	527	90	พีคแคบ ไม่สมมาตร
1:10	1.3766	522	80	พีคแคบ ไม่สมมาตร
1:15	0.4946	530	100	พีคกว้าง ไม่สมมาตร
1:20	0.3014	531	105	พีคกว้าง ไม่สมมาตร

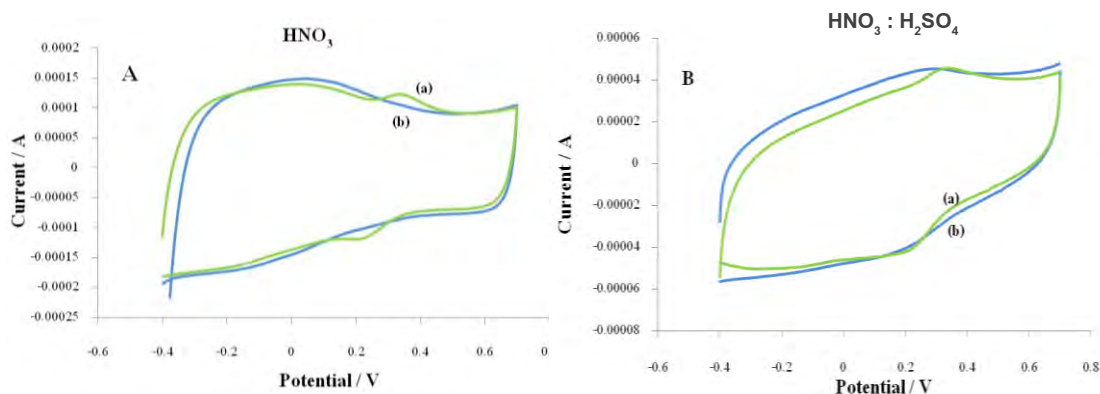
2.5.2 ทดสอบประสิทธิภาพการล้างคาร์บอนนาโนทิวบ์ด้วยกรดเข้มข้น

คาร์บอนนาโนทิวบ์ที่นำมาทำการทดลองมาจากแหล่งต่างๆ ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนของสารอื่นๆ ก่อนทำการทดลองเราจึงนำคาร์บอนนาโนทิวบ์เหล่านั้นมาทำการล้างเพื่อให้แน่ใจก่อนว่าคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่เราต้องการใช้บริสุทธิ์ ซึ่งได้ทำการล้าง 2 วิธี ด้วยกันนั่นก็คือ ล้างด้วย HNO₃ และวิธีที่สองคือล้างด้วยการผสม HNO₃ : H₂SO₄ ในอัตราส่วน 1:3 เพื่อหาคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่บริสุทธิ์ ที่เหมาะสำหรับการทดลองซึ่งได้ผลการทดลอง ดังรูป 46, รูป 47 และ รูป 48



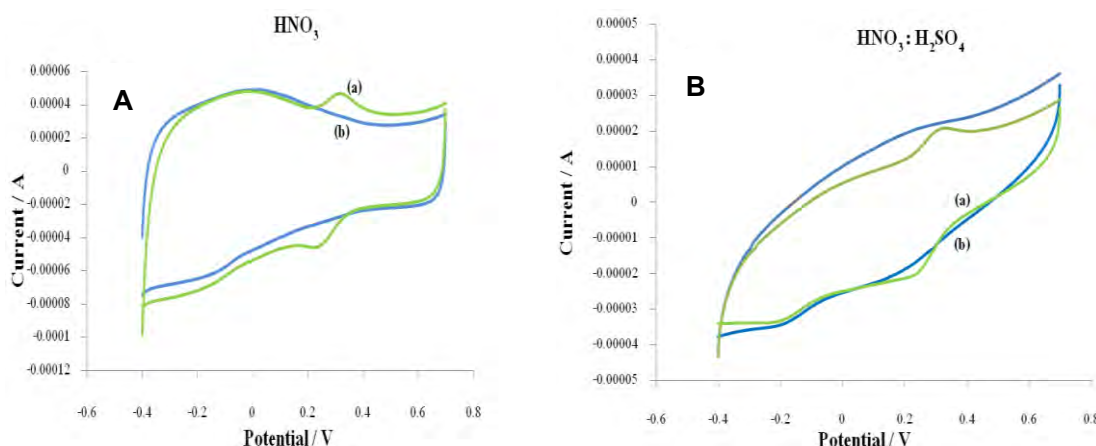
รูป 46 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง CNT/GCE ที่ล้างด้วยกรดไนตริก (A) และล้างด้วยกรด ผสมไนตริกกับซัลฟูริก (B) โดยนำ CNT มาจากบริษัทชิกมาโดยทดสอบในสารละลาย (a) 0.2 mM $K_3Fe(CN)_6$ /0.1 M KCl และ (b) 0.1 M KCl

จากรูป 46 ขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ที่ล้างด้วย HNO_3 ใช้ CNT จากบริษัทชิกมาพบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลาย สารละลาย 0.2 mM $K_3Fe(CN)_6$ /0.1 M KCl (a) และ 0.1 M KCl (b) กระแสไฟฟ้าที่ได้มีค่าแตกต่างกัน ในการตรวจวัดสารละลาย 0.1 M KCl ไม่เกิดปฏิกิริยาใดๆ จึงไม่ให้อสัญญาณเกิดขึ้น และที่สารละลาย 0.2 mM $K_3Fe(CN)_6$ /0.1 M KCl จะให้กระแสไฟฟ้าสูงขึ้น เพราะ CNT ทำปฏิกิริยากับสาร 0.2 mM $K_3Fe(CN)_6$ จึงทำให้เกิดฟีดขึ้นและเกิดกระแสไฟฟ้าขึ้นในระบบ ส่วนรูป 46B ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงโดย CNT/GCE ที่ล้างด้วย $HNO_3 : H_2SO_4$ ใช้ CNT จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จากการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลาย 0.2 mM $K_3Fe(CN)_6$ /0.1 M KCl (a) และสารละลาย 0.1 M KCl (b) กระแสไฟฟ้าที่ได้แตกต่างกัน แต่ขั้วที่วัดในสารละลาย 0.2 mM $K_3Fe(CN)_6$ มีฟีดเกิดขึ้นแต่ไม่ชัดเจนเท่ากับการล้างด้วยวิธีแรก



รูป 47 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง CNT/GCE ที่ล้างด้วยกรดไนตริก (A) และ ล้างด้วยกรดผสมของไนตริกกับซัลฟูริก (B) โดยนำ CNT มาจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยทดสอบในสารละลาย (a) 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl และ (b) 0.1 M KCl

จากรูป 47 ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย CNT ที่ล้างด้วย HNO₃ ใช้ CNT จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลาย (a) 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl และสารละลาย (b) 0.1 M KCl กระแสไฟฟ้าที่ได้แตกต่างกันเพราะเมื่อวัดในสารละลาย 0.1 M KCl ไม่เกิดพีคขึ้น แต่เมื่อทำการวัดในสารละลาย 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl ให้สัญญาณสูงกว่า เนื่องจาก CNT สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.2 mM K₃Fe(CN)₆ ได้ทำให้เกิดสัญญาณที่เห็นได้ชัดเจน ส่วนรูป 47B ปรับปรุงโดย CNT ที่ล้างด้วย HNO₃ : H₂SO₄ ใช้ CNT จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลาย (a) 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl และสารละลาย 0.2 mM K₃Fe(CN)₆ (b) กระแสไฟฟ้าที่ได้ให้สัญญาณใกล้เคียงกับขั้ว CNT/GCE ที่ใช้ CNT จากบริษัทซึกมา แต่ขั้วที่วัดในสารละลาย 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl มีค่ากระแสไฟฟ้าสูงกว่า



รูป 48 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าปรับปรุง CNT/GCE ที่ล้างด้วยกรดไนตริก (A) และล้างด้วยกรดผสมไนตริกกับซัลฟูริก (B) โดยนำ CNT มาจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยโดยทดสอบในสารละลาย (a) 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl และ (b) 0.1 M KCl

จากรูป 48 ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงโดย CNT ที่ ล้างด้วย HNO₃ ใช้ CNT จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการตรวจวัดสารละลาย (a) 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl และสารละลาย (b) 0.1 M KCl กระแสไฟฟ้าที่ได้จะคล้ายๆกับ CNT จากแหล่งอื่นๆ เนื่องจาก CNT สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.2 mM K₃Fe(CN)₆ ทำให้เกิดฟีดขึ้น แต่ CNT จากแต่ละแหล่งจะมีค่ากระแสแตกต่างกันเท่านั้น รูป 3.3B ปรับปรุงโดย CNT ที่ ล้างด้วย HNO₃ : H₂SO₄ ใช้ CNT จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในการทดสอบในสารละลาย (a) 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl และสารละลาย (b) 0.1 M KCl พบว่า สัญญาณที่ได้จากการนำขั้วไปวัดสารละลาย 0.1 M KCl ไม่เกิดฟีดขึ้น แต่ช่วงของไซคลิกเกิดช่วงกว้าง ส่วนสัญญาณที่ได้จากการวัดในสารละลาย 0.2 mM K₃Fe(CN)₆/0.1 M KCl เกิดฟีดขึ้น แต่ช่วงของไซคลิกเกิดเป็นช่วงแคบจึงเห็นว่าไซคลิกของ 0.1 M KCl กว้างกว่า แต่ก็ไม่มีผลแต่อย่างใด เพราะไม่มีฟีดเกิดขึ้นในไซคลิกโวลแทมโมแกรมนี้

เมื่อนำไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE โดยใช้ CNT จากแหล่งต่างๆ ที่ผ่านการล้างทั้งสองวิธีมาหาค่าสัดส่วนของกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นและผลต่างของศักย์ไฟฟ้าของขั้ว CNT/GCE ที่เกิดฟีด แอนอดิก และแคโทดิก ได้ผลดังตาราง 12

ตาราง 12 ค่าศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าของขั้ว CNT/GCE โดยใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์จากแหล่ง ต่างๆ ล้างด้วย HNO_3 และ $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ วัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีใน สารละลาย $0.2 \text{ mM K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/0.1 \text{ M KCl}$

Source*	Purified	i_{pa} (μA)	i_{pc} (μA)	i_{pa}/i_{pc}	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)	ΔE_p
CMU	HNO_3	17.0	-14.8	-1.15	0.35	0.22	-0.12
	$\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$	7.24	-8.08	-0.90	0.33	0.21	-0.12
Sigma	HNO_3	29.3	-29.8	-0.98	0.32	0.25	-0.07
	$\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$	21.8	-15.9	-1.37	0.36	0.18	-0.17
CU	HNO_3	10.1	-11.1	-0.90	0.32	0.24	-0.08
	$\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$	21.4	-28.4	-0.75	0.36	0.18	-0.17

* CU = Chiang Mai University, CU = Chulalongkorn University

จากตาราง 12 พบว่าเมื่อนำไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ทั้งหมดมาหาค่าสัดส่วนของกระแส และค่าผลต่างของศักย์ไฟฟ้า พบว่าขั้วไฟฟ้า CNT/GCE จาก CMU ให้ค่าสัดส่วนกระแส ที่ต่างกันโดยที่ค่าสัดส่วนของกระแสจะต้องใกล้เคียงกับ 1 แต่เมื่อล้างด้วย HNO_3 ได้ค่าเท่ากับ -1.15 ที่ล้างด้วย $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าเท่ากับ -0.90 แต่เมื่อนำไปหาค่าผลต่างของศักย์ไฟฟ้าพบว่าทั้งสองวิธีได้ค่าผลต่างของกระแสเท่ากัน คือ -0.12 โวลต์ จึงไม่สามารถเลือกได้แน่ชัดว่าขั้วไหนเหมาะสม ขั้วไฟฟ้า CNT/GCE จาก sigma เมื่อ ล้างด้วย HNO_3 ได้ค่าสัดส่วนของกระแสเท่ากับ -0.98 เป็นค่าที่ใกล้เคียงกับ 1 มาก และที่ล้างด้วย $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าเท่ากับ -1.37 สำหรับค่านี้เป็นค่าที่เกิน 1 มากเกินไป จึงไม่เหมาะสมจะเลือก มาทำการวิจัยต่อ และเมื่อเทียบกับค่าผลต่างของศักย์ไฟฟ้าจะเห็นว่าขั้วที่ล้างด้วย HNO_3 จะให้ค่าที่น้อยมากเพียง -0.07 โวลต์ แต่ขั้วที่ล้างด้วย $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ ให้ค่าผลต่างเท่ากับ -0.17 โวลต์ และขั้วสุดท้าย ขั้วไฟฟ้า CNT/GCE จาก Chulalongkorn University (CU) เมื่อ ล้างด้วย HNO_3 ได้ค่าสัดส่วนของกระแสเท่ากับ -0.90 μA และที่ ล้างด้วย $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ มีค่าสัดส่วนกระแสเท่ากับ -0.75 ซึ่งน้อยกว่า 1 มากเมื่อเทียบกับขั้วอื่นๆ ดังนั้นขั้วนี้จึงไม่เหมาะสม และค่าผลต่างของขั้วนี้ที่ ที่ล้างด้วย HNO_3 มีค่าเท่ากับ -0.08 โวลต์ ใกล้เคียงกับ CNT ที่มาจาก Sigma ที่ล้างด้วย HNO_3 แต่ค่าสัดส่วนกระแสต่างกันมาก และขั้วที่ล้างด้วย $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ ให้ค่าผลต่างกระแสเท่ากับ -0.17 โวลต์

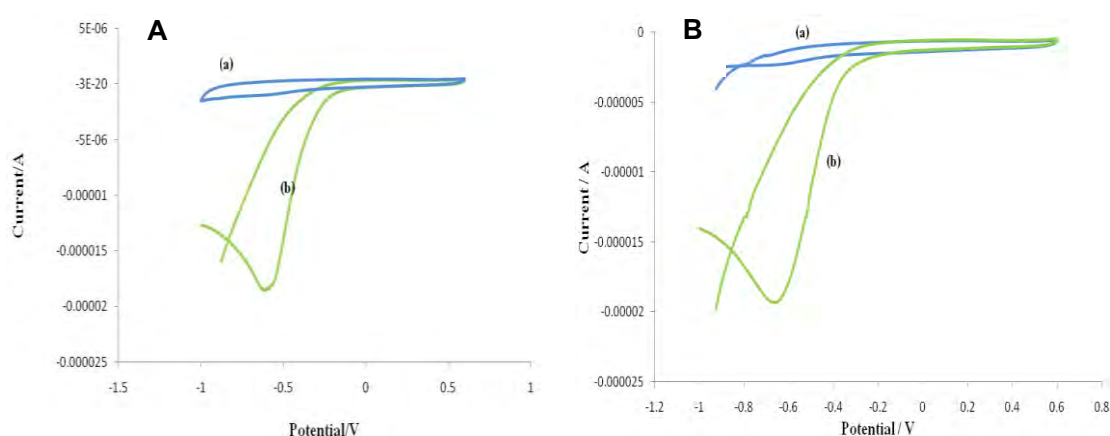
เนื่องจากความต้องการขั้วที่นำมาทำการปรับปรุงเพื่อพัฒนาเป็นขั้วออกซิเจนไบโอเซนเซอร์นั้น ต้องเป็นขั้วที่ให้ค่าสัดส่วนของกระแสที่ใกล้เคียงกับ 1 และมีค่าผลต่างของศักย์ไฟฟ้าที่น้อยมาก ซึ่งจากตาราง 3.2 พบว่า ขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ที่ใช้ CNT จาก Sigma โดยการล้างด้วย HNO_3 ให้ค่าของสัดส่วนกระแส และผลต่างของศักย์ไฟฟ้า ที่เหมาะสมที่สุด คือ -0.98 และ -0.07 โวลต์ ตามลำดับ ดังนั้นขั้วไฟฟ้าปรับปรุงนี้เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปทำการปรับปรุงเป็นออกซิเจนไบโอเซนเซอร์ต่อไป

2.5.3 การทดสอบออกซิเจนไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาได้

เมื่อทำการเลือกคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการนำไปปรับปรุงพัฒนาเป็นออกซิเจนไบโอเซนเซอร์ได้แล้วนั้น หลังจากนั้นก็นำมาปรับปรุงต่อโดยขั้วไฟฟ้าที่จะปรับปรุงต่อไปเพื่อหาขั้วไฟฟ้าที่ให้สัญญาณสูงที่สุด ซึ่งขั้วที่จะปรับปรุงได้แก่ขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนเปลือย ขั้วไฟฟ้า BOD/GCE ขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ขั้วไฟฟ้า AuNP/CNT/GCE และขั้วไฟฟ้า BOD/AuNP/CNT/GCE

2.5.3.1 ขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนเปลือยและขั้วไฟฟ้า BOD/GCE

ขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเอนไซม์บีลูรีบินออกซิเดส (BOD) ตรวจวัดในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ได้ผลการทดลองดังรูป 49

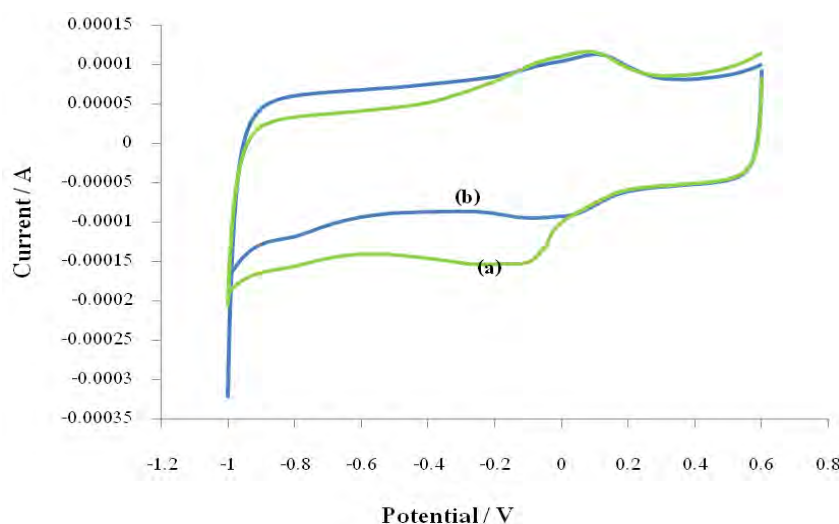


รูป 49 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนเปลือย (A) และ BOD/GCE (B) ที่อัตราการสแกน 25 mV/s ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (a) N_2 และ (b) O_2

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ปรับปรุงด้วยเอนไซม์ บิรูบินออกซิเดส (รูป 49B) เปรียบเทียบกับ ขั้วกลาสคาร์บอนเปลือย (รูป 49A) ตรวจวัดใน สภาวะที่อิ่มตัวด้วย O_2 และ N_2 จากรูปพบว่าเมื่อนำขั้วไฟฟ้าทั้งขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย และขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย BOD วัดในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่อิ่มตัว ด้วย N_2 (รูป 49 B(a)) จะพบว่าไม่มีพีคที่ชัดเจนเกิดขึ้น จึงทำให้ไม่มีกระแสไฟฟ้าเกิดขึ้นเช่นกัน ซึ่งเมื่อนำไปเทียบกับขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย BOD ที่วัดในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย O_2 (รูป 49B(b)) พบว่าเกิดพีคขึ้นที่ศักย์ไฟฟ้าในช่วง 0.6 - 0.7 โวลต์ ซึ่งเป็นพีคของเอนไซม์บิรูบิน ทำปฏิกิริยากับ ออกซิเจน และเมื่อนำไปเทียบกับขั้วไฟฟ้ากลาส คาร์บอนเปลือยวัดในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย O_2 (รูป 49A(b)) จะพบว่าขั้วที่ปรับปรุงด้วย BOD ให้ค่ากระแสไฟฟ้าที่มากกว่าขั้วกลาสคาร์บอน เปลือย

2.5.3.2 ขั้วไฟฟ้า CNT/GCE

หลังจากที่ทำการล้างคาร์บอนนาโนทิวบ์เพื่อทดสอบหาคาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ เหมาะสมที่สุด โดยเลือก CNT จากบริษัทซิกมา เนื่องจากให้ค่าที่เหมาะสมนำมาทดสอบกับ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 ได้ผลการทดลองดังรูป 50

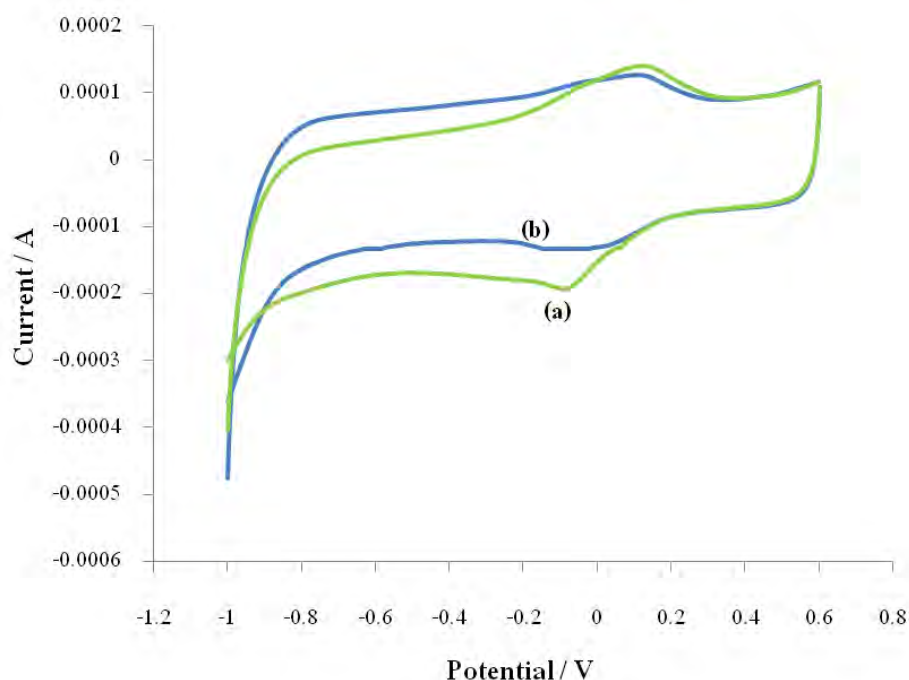


รูป 50 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ที่ ล้างด้วย HNO_3 โดยใช้ CNT จาก บริษัทซิกมา ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (a) O_2 และ (b) N_2

จากรูป 50 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า CNT/GCE ที่ล้างด้วยกรด HNO_3 โดยใช้ CNT จากบริษัทซิกมาทดสอบด้วยเทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ช่วงการสแกนจาก -1 ถึง +0.6 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (a) O_2 และ (b) N_2 พบว่าไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่ทดสอบในสภาวะอิ่มตัวด้วย O_2 ให้สัญญาณสูงกว่าที่ทดสอบด้วยสภาวะอิ่มตัว N_2 (สำหรับการทำให้อิ่มตัวด้วย O_2 หรือ N_2 นั้นทำได้โดยการนำสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 มา 5 มิลลิลิตร แล้วให้ก๊าซแต่ละชนิดเป็นเวลา 5 นาทีแล้วจึงนำไปวัด) เนื่องจาก CNT สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายทำให้เกิดสัญญาณขึ้นและอิเล็กตรอนสามารถส่งผ่านทาง CNT ได้ทำให้กระแสมีค่าสูงขึ้น

2.5.3.3 ขั้วไฟฟ้า AuNP/CNT/GCE

นำ CNT ที่เลือกมาจากแหล่งต่างๆ ซึ่งได้เลือกใช้ CNT จากบริษัทซิกมาที่ล้างด้วย HNO_3 มาปรับปรุงด้วยการตรึง AuNP ทับลงไปอีกรอบ เพื่อดูสัญญาณที่เกิดขึ้น ซึ่งได้ผลดังรูป 51

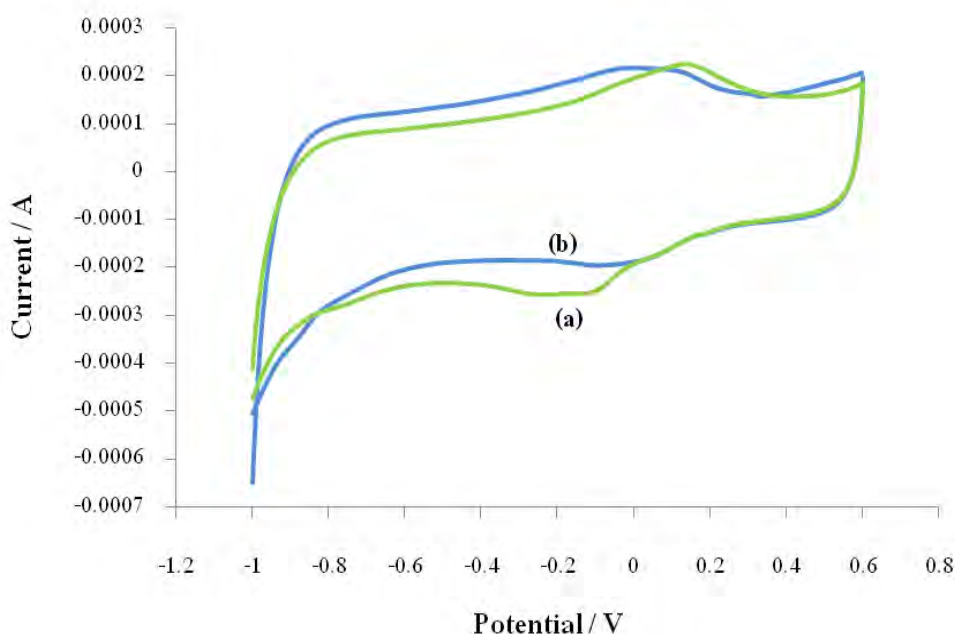


รูป 51 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า AuNP/CNT/GCE ที่ล้างด้วย HNO_3 โดยใช้ CNT จาก sigma ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (a) O_2 และ (b) N_2

จากรูป 51 พบว่าเมื่อนำขั้วไฟฟ้าไปทดสอบในสภาวะอิ่มตัวด้วย (b) N_2 จะให้สัญญาณที่ต่ำมากเพราะไม่มีฟีดเกิดขึ้นแต่เมื่อนำขั้วไฟฟ้านี้ไปทดสอบในสภาวะที่อิ่มตัวด้วย (a) O_2 พบว่ามีฟีดเกิดขึ้นทั้งฟีดแคโทดิก และฟีดแอโนดิก เกิดขึ้นที่ศักย์ไฟฟ้า 0.2 และ - 0.2 โวลต์ เนื่องจาก CNT สามารถเร่งปฏิกิริยาแล้วทำให้สัญญาณเพิ่มมากขึ้น และ AuNP จะทำให้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงนี้สามารถใช้งานได้นานขึ้น

2.5.3.4 ขั้วไฟฟ้า BOD/AuNP/CNT/GCE

เมื่อทำการปรับปรุงขั้วไฟฟ้า AuNP/CNT/GCE แล้วนั้นก็ทำการปรับปรุงต่อโดยการตรึง BOD ทับลงไปเพื่อศึกษาการเร่งปฏิกิริยา ก็จะได้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุง BOD/AuNP/CNT/GCE นำมาเปรียบเทียบกับสัญญาณที่เกิดขึ้น เพื่อนำไปพัฒนาเป็นออกซิเจนเซนเซอร์ ซึ่งได้ผลดังรูป 52



รูป 52 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า BOD/AuNP/CNT/GCE ที่ล้างด้วย HNO_3 โดยใช้ CNT จากบริษัทชิกมา ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (a) O_2 และ (b) N_2

จากรูป 52 เป็นไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้า BOD/AuNP/CNT/GCE ที่ล้างด้วย HNO_3 โดยใช้ CNT จากบริษัทชิกมา มาตรึงทับด้วย AuNP แล้วตามด้วย BOD จากนั้นมาทดสอบ ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ช่วงการสแกนจาก -1 ถึง +0.6

โวลต์ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย (a) O₂ และ (b) N₂ พบว่า ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้มีลักษณะคล้ายคลึงกับขั้วไฟฟ้า AuNP/CNT/GCE แต่ขั้วไฟฟ้านี้ให้ค่ากระแสมากกว่า เนื่องจากได้มีการตรึง BOD เพิ่มเข้าไป ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างเฉพาะเจาะจงและ CNT ที่เป็นตัวช่วยส่งผ่านอิเล็กตรอนรวมทั้งเดิม AuNP ที่สามารถช่วยให้สารชีวภาพตรึงบนกลาสคาร์บอนได้นานขึ้นเพราะ AuNP มีขนาดเล็ก ทำให้มีพื้นที่ผิวมากจึงทำให้สารตรึงบนอิเล็กโทรดได้มากขึ้น

2.5.4 ผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนอิเล็กโทรดปรับปรุง

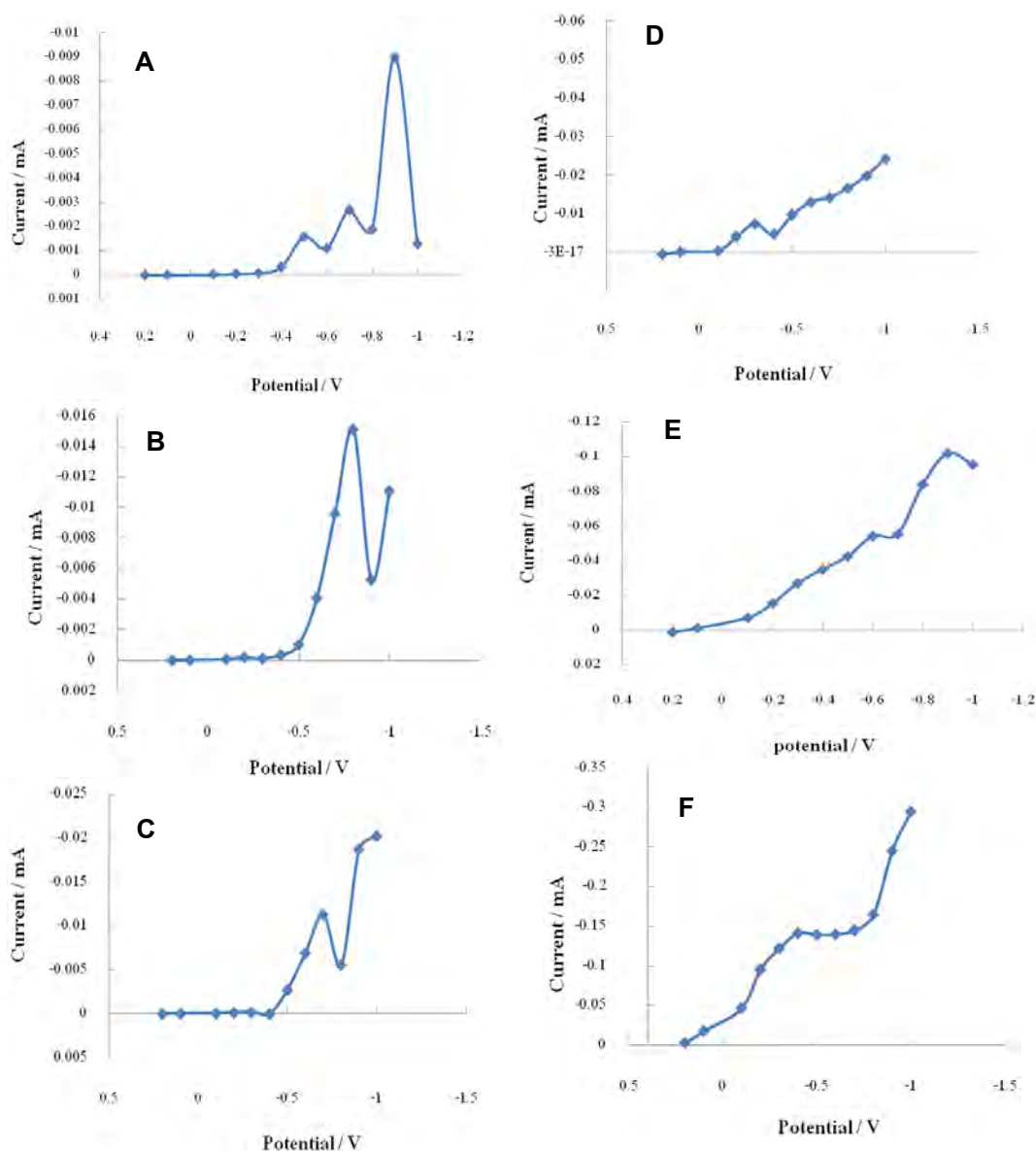
นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุงทั้ง 6 ขั้ว มาทำการวัดด้วยเทคนิคโครโนแอมเปโรเมตรีเพื่อหาค่าผลตอบสนองของกระแส ได้ผลการทดลองดังรูป 53

จากรูป 53 ผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย เมื่อนำขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย มาทำการทดสอบในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่อิ่มตัวด้วย O₂ ด้วยเทคนิคโครโนแอมเปโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ +0.2 ถึง -1 โวลต์ พบว่าเมื่อเริ่มให้ศักย์ไฟฟ้าเริ่มที่ +0.2 จนถึง -0.3 โวลต์ ไม่มีกระแสเกิดขึ้นภายในระบบ จนกระทั่งเมื่อให้ศักย์ที่ -0.4 โวลต์ เริ่มมีกระแสเกิดขึ้นและก็เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แต่ก็มีค่าที่น้อยมาก เนื่องจากขั้วนี้ไม่ได้มีการตรึงสารใด ๆ ลงไปบนผิวหน้าขั้วจึงทำให้กระแสเกิดน้อยมาก

กรณีรูป 53 B พบว่าเมื่อเราเริ่มให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย CNT จะเห็นว่า กระแสไฟฟ้าที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ให้ศักย์ที่ +0.2 โวลต์ และก็เพิ่มขึ้นมากกว่าขั้ว กลาสคาร์บอนเปลือยเพียงเล็กน้อยแต่ก็ยังมีความโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากการตรึง CNT ลงไป

จากรูป 53 C พบว่าเมื่อเราเริ่มให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย CNT จะเห็นว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ให้ศักย์ที่ +0.2 โวลต์ และก็เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ถึงแม้ว่าบางช่วงอาจจะมีการลดลงบ้างเพียงเล็กน้อย แต่ก็มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการตรึง CNT ลงไปซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ได้

ในรูป 53 D พบว่าเมื่อเริ่มให้ศักย์ไฟฟ้าเริ่มที่ + 0.2 จนถึง - 0.3 โวลต์ ไม่มีกระแสเกิดขึ้นภายในระบบ แต่เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าที่ -0.4 โวลต์ จะเห็นว่าเริ่มมีค่ากระแสเกิดขึ้นและก็เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อย่างรวดเร็ว แต่ก็มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับขั้วที่ปรับปรุงด้วย CNT/AuNP/GCE



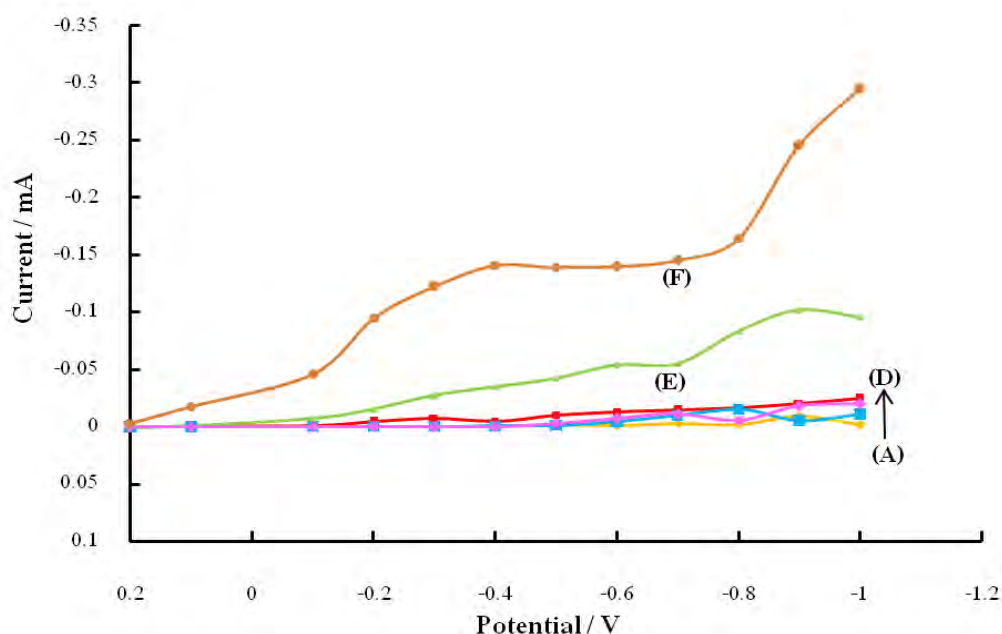
รูป 53 ผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ ของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย(A), BOD(B), BOD/AuNP/GCE (C), CNT/GCE (D), AuNP/CNT/GCE (E), และ BOD/AuNP/CNT/GCE (F)

ในรูป 53 E พบว่าเมื่อเริ่มให้ศักย์ไฟฟ้าที่ +0.2 ถึง -0.3 โวลต์ ยังไม่มีกระแสเกิดขึ้นในระบบ จนกระทั่งเมื่อให้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ -0.4 โวลต์ จึงเริ่มมีกระแสเกิดขึ้นในระบบ และก็เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยไม่ ต่างจากขั้ว AuNP/CNT/GCE มากนัก

สุดท้ายรูป 53 F พบว่าขั้วปรับปรุง BOD/AuNP/CNT/GCE ให้ค่ากระแสที่แตกต่างจากขั้วอื่น เนื่องจากเมื่อเราเริ่มให้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ +0.2 โวลต์ จะเห็นว่า ค่ากระแสจะเริ่มเกิดขึ้นและเพิ่มขึ้นเรื่อยๆอย่างรวดเร็วและค่าที่เพิ่มขึ้นก็มีค่ามากกว่าขั้วอื่นๆมาก นั่นเป็นเพราะ เอนไซม์

บิลูบิน ไปทำเร่งปฏิกิริยากับสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ร่วมกับ CNT อีกทั้งยังถูกเร่งด้วย O_2 จึงทำให้ค่ากระแสในระบบมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ

เมื่อนำผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ของขั้วไฟฟ้าทั้ง 6 ขั้ว มาเปรียบเทียบกับกัน เพื่อให้เห็นความแตกต่างที่ชัดเจนซึ่งได้ผลดังรูป 54



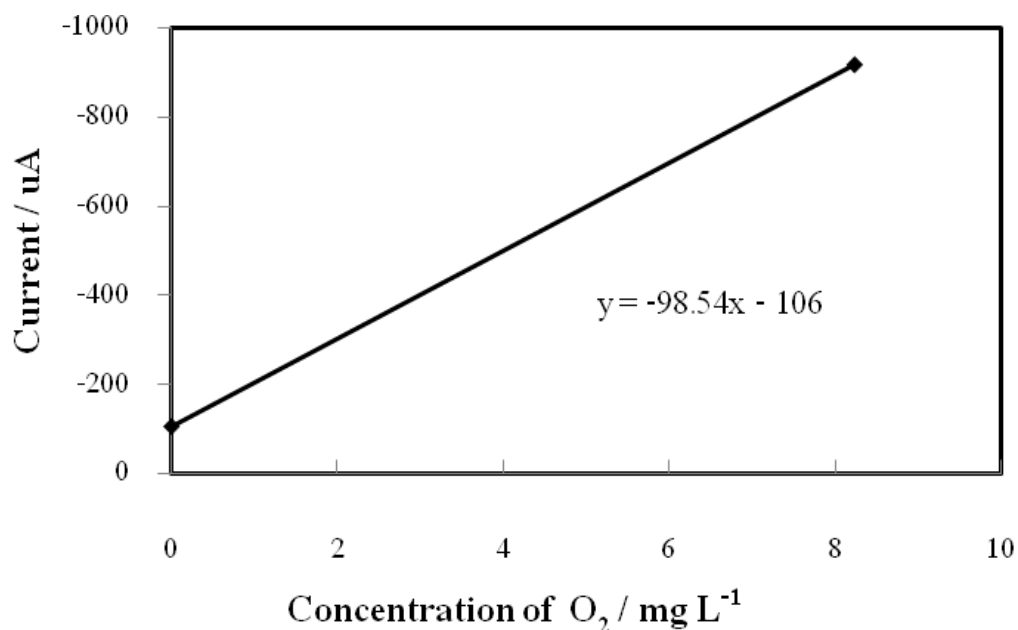
รูป 54 ผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนอิเล็กโทรดปรับปรุง (A)ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย, (B)BOD/GCE, (C)BOD/AuNP/GCE, (D)CNT/GCE, (E)AuNP/CNT/GCE, และ(F)BOD/AuNP/CNT/GCE ทดสอบในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่ อิ่มตัวด้วย O_2 ด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ +0.2 ถึง -1 V

จากรูป 54 พบว่าขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย เกิดสัญญาณน้อยมากเนื่องจากไม่มีการเติมสารใดๆ ลงบนขั้วกลาสคาร์บอนและศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดออกซิเจนของขั้ว A)ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย คือ -0.4 โวลต์ เนื่องจากเป็นช่วงที่เริ่มมีกระแสเกิดขึ้น (รูป 54A) ส่วนขั้วไฟฟ้า D)CNT/GCE (รูป 54D) เกิดปฏิกิริยาให้สัญญาณสูงขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากได้ทำการตรึง CNT บนผิวหน้าขั้ว แต่ก็สูงกว่าขั้วกลาสคาร์บอนเปลือยเล็กน้อย ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดออกซิเจนของขั้ว CNT/GCE คือ -0.4 โวลต์ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีค่ากระแสสูงที่สุด ขั้วที่ 3 คือ E)AuNP/CNT/GCE (รูป 54E) ให้สัญญาณเริ่มที่ +0.1 โวลต์ และก็เริ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ อย่างรวดเร็ว ถึงแม้ว่ามีบางช่วงที่มีค่าต่ำลงบ้างแต่ก็เพียง

เล็กน้อยซึ่งก็ยังทำให้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเหมือนเดิมศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดออกซิเจนของขั้ว AuNP/CNT/GCE คือ -0.4 โวลต์ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีกระแสคงที่มากที่สุด ขั้วที่ 4 คือ B)BOD/GCE (รูป 54B) จะให้สัญญาณสูงกว่าขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย แต่สัญญาณที่เกิดขึ้นก็น้อยมากจนเกือบจะเท่าๆ กับขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดออกซิเจนของขั้ว BOD/GCE คือ -0.4 โวลต์ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีความชันเกิดขึ้นมากที่สุด ขั้วที่ 5 (รูป 54C) คือ C)BOD/AuNP/GCE ไม่มีสัญญาณเกิดขึ้นที่ +0.2 ถึง -0.3 โวลต์ จนกระทั่งเมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ -0.4 โวลต์ จึงเริ่มมีกระแสเกิดขึ้นแต่ก็มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับขั้ว CNT/GCE ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดออกซิเจนของขั้ว BOD/AuNP/GCE คือ -0.4 โวลต์ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีความชันเกิดขึ้นมากที่สุด ส่วนขั้วสุดท้ายคือ F)BOD/AuNP/CNT/GCE (รูป 54F) จะให้สัญญาณสูงกว่าขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย, CNT/GCE, AuNP/CNT/GCE, BOD/GCE และ BOD/AuNP/GCE เนื่องจากมีการเติม BOD ร่วมกับ CNT ที่สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างเฉพาะเจาะจง และ CNT ที่เป็นตัวช่วยส่งผ่านอิเล็กตรอน รวมทั้งเติม AuNP ที่สามารถช่วยให้สารชีวภาพตรึงบนกลาสคาร์บอนได้นานขึ้นเพราะ AuNP มีขนาดเล็กมากทำให้พื้นที่ผิวมากจึงทำให้สารตรึงบนอิเล็กโทรดได้มากขึ้นและศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดออกซิเจนของขั้ว BOD/AuNP/CNT/GCE คือ -0.4 โวลต์

2.5.5 การหาเส้นกราฟมาตรฐานของไบโอเซนเซอร์

นำขั้วไฟฟ้า BOD/AuNP/CNT/GCE มาทำการทดสอบที่ศักย์ไฟฟ้า -0.4 โวลต์ โดยใช้เทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรีโดยใช้สารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่พ่นด้วยไนโตรเจน ($O_2 = 0$ มิลลิกรัมต่อลิตร) และพ่นด้วยออกซิเจน ($O_2 = 8.24$ มิลลิกรัมต่อลิตร) นำค่ากระแสที่วัดได้จากเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรี มาพลอต กับ ความเข้มข้นของออกซิเจนได้ดังรูป 55 ซึ่งมีค่าเส้นตรง คือ $y (\mu A) = -98.54 \times (mg L^{-1}) - 106$



รูป 55 กราฟมาตรฐานระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้นของออกซิเจน

จากรูป 55 ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ 0 และ 8.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเป็นเชิงเส้นสำหรับนำมาใช้ในการหาค่าความเข้มข้นของออกซิเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยใช้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุง BOD/AuNP/CNT/GCE นำค่ากระแสที่ได้มาแทนในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานจะทำให้ทราบความเข้มข้นของออกซิเจนในน้ำธรรมชาติ

2.5.6 การทดสอบไอออนรบกวน

นำไบโอเซนเซอร์ที่ปรับปรุงด้วย BOD/AuNP/CNT/GCE มาทำการตรวจวัดเพื่อหาอิทธิพลของสารรบกวน 5 ชนิด คือ NaCl, $CaCl_2$, KCl, $FeSO_4$, K_2SO_4 เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารรบกวน ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.4 โวลต์ ได้ผลทดสอบดังตาราง 13

ตาราง 13 การทดสอบสารรบกวนการวิเคราะห์

ลำดับ	สารที่รบกวน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ผลทดสอบ
1	NaCl	1000	รบกวน
2	$CaCl_2$	1000	รบกวน
3	KCl	1000	รบกวน
4	$FeSO_4$	1000	รบกวน
5	K_2SO_4	1000	รบกวน

จากตาราง 13 ได้ทำการตรวจวัด NaCl , CaCl_2 , KCl , FeSO_4 , K_2SO_4 ที่ความเข้มข้นระดับมิลลิกรัมต่อลิตร ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.4 โวลต์ พบว่าเกิดกระแสรบกวนขึ้นดังนั้นจึงทำให้ทราบว่า NaCl , CaCl_2 , KCl , FeSO_4 , K_2SO_4 เป็นสารรบกวนในการตรวจวัดออกซิเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติถ้าแต่ละชนิดของไอออนดังกล่าวมีระดับความเข้มข้นถึง 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.5.7 การทดสอบการวัดออกซิเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยใช้ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาได้

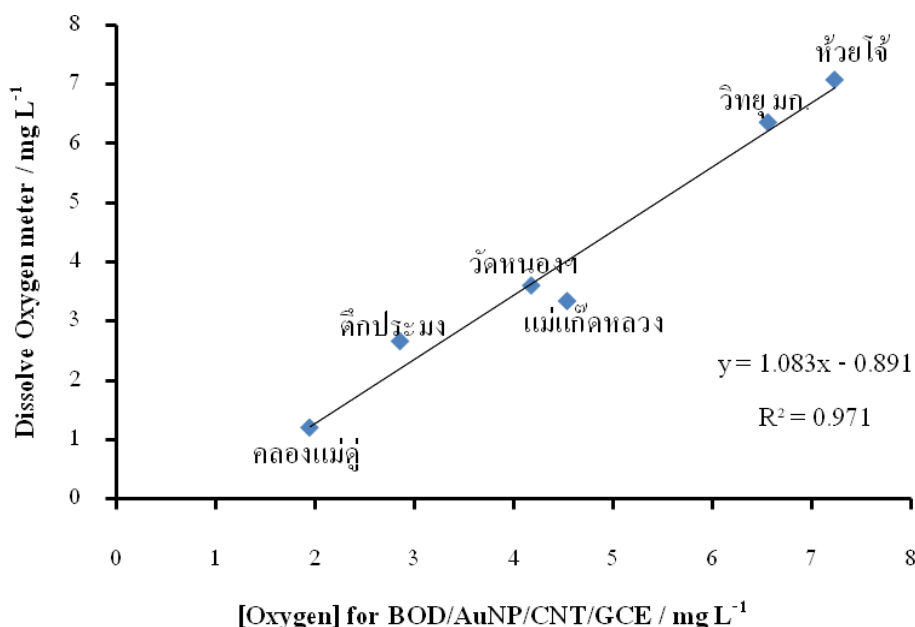
นำขั้วไฟฟ้าปรับปรุง BOD/AuNP/CNT/GCE มาตรวจวัดออกซิเจนในแหล่งน้ำในอำเภอสันทรายด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตรี ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.4 โวลต์ ได้ค่าความเข้มข้นของออกซิเจน ดังตาราง 14 นำความเข้มข้นที่ได้มาเทียบกับค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่วัดได้จาก ออกซิเจนเซนเซอร์ แล้วพลอตกราฟมาตรฐาน

ตาราง 14 ค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่วัดได้จากไบโอเซนเซอร์ BOD/AuNP/CNT/GCE และเครื่องตรวจวัดออกซิเจนจากการค้า

ลำดับ	แหล่งของตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ผลจาก paired t - test
		ไบโอเซนเซอร์	เครื่องวัดออกซิเจนจากการค้า	
1	อ่างน้ำห้วยโจ้	7.09	7.23	ไม่แตกต่าง
2	อ่างน้ำสถานีวิทยุ มก.	6.37	6.56	ไม่แตกต่าง
3	อ่างน้ำตึกประมง	2.67	2.86	ไม่แตกต่าง
4	อ่างน้ำวัดหนองอุโบสถ	3.62	4.18	ไม่แตกต่าง
5	น้ำแม่แกดหลวง	3.34	4.54	ไม่แตกต่าง
6	คลองระบายน้ำบ้านแม่ตู่	1.19	1.95	ไม่แตกต่าง

จากตาราง 14 พบว่าไบโอเซนเซอร์ BOD/AuNP/CNT/GCE สามารถตรวจวัดออกซิเจนในน้ำได้จริง ซึ่งจะเห็นว่าปริมาณความเข้มข้นของออกซิเจนที่วัดจากออกซิเจนเซนเซอร์จากร้านค้ากับออกซิเจนเซนเซอร์ที่ปรับปรุงขึ้นให้ผลสอดคล้องไปในทางเดียวกัน นั่นคือ ไบโอเซนเซอร์นี้สามารถนำไปใช้ในการทดสอบออกซิเจนในแหล่งน้ำได้จริง

เมื่อนำค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ได้ไปพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นของออกซิเจนจากไบโอเซนเซอร์ BOD/AuNP/CNT/GCE (แกน X) กับเครื่องวัดออกซิเจนจากการค้า (แกน Y) ได้ดังรูป 56



รูป 56 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของออกซิเจนที่ได้จากไบโอเซนเซอร์ BOD/AuNP/CNT/GCE กับเครื่องวัดออกซิเจนจากการค้า

จากรูป 56 ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ได้จาก ออกซิเจนเซนเซอร์ทางการค้าที่มีในท้องตลาด เทียบกับไบโอเซนเซอร์ BOD/AuNP/CNT/GCE ให้ผลการทดลองในทางเดียวกัน ($R^2 = 0.971$) นั่นคือไบโอเซนเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปใช้ในการทดสอบออกซิเจนในแหล่งน้ำได้

จากการศึกษาหาความแตกต่างของข้อมูลที่ได้ศึกษาได้ทั้ง 2 วิธีด้วยการทดสอบแบบที่ (paired t-test) พบว่า ค่า t ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ ± 2.95 ที่ระดับความเสรีเท่ากับ 5 เมื่อนำไปเทียบกับตารางค่า t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ตรวจพบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงถือว่าไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นให้ผลการวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้

2.6 สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาออกซิเจนไบโอเซนเซอร์ (oxygen biosensor) โดยการนำตัวเร่งทางชีวภาพคือบิลิรูบินออกซิเดส (bilirubin oxidase : BOD) มาตรึงร่วมกับตัวเร่งทางไฟฟ้าคือคาร์บอนนาโนทิวบ์ (carbon nanotube : CNT) และอนุภาคทองคำนาโน บนพื้นผิวของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนอิเล็กโทรด

ทองขนาดนาโนที่เตรียมได้พบว่ามีฟีดของการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ซึ่งเป็นฟีดเฉพาะของทองขนาดนาโน และทองขนาดนาโนที่ให้ความร้อนครั้งสุดท้าย 4 นาที่ อัตราส่วนของทองคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรทที่ 1: 10 ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุด และสารละลายของทองขนาดนาโนที่ได้เป็นสีแดงเชอร์รี่ ผลการเลือกคาร์บอนนาโนทิวบ์ จากการล้างทั้งสองวิธีพบว่า คาร์บอนนาโนทิวบ์ที่ได้จากบริษัทซึกามา เป็นคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ค่าของสัดส่วนกระแสและผลต่างของศักย์ไฟฟ้า ที่เหมาะสมที่สุดคือ -0.98 และ -0.07 โวลต์ ตามลำดับ ดังนั้นขั้วไฟฟ้าปรับปรุงนี้ เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปทำการปรับปรุงเป็นออกซิเจนไบโอเซนเซอร์

การปรับปรุงขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนอิเล็กโทรดทำได้ทั้งหมด 6 ขั้ว ซึ่งได้แก่ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเปลือย, CNT/GCE, BOD/GCE, AuNP/CNT/GCE, BOD/AuNP/GCE, และ BOD/AuNP/CNT/GCE สำหรับผลการทดสอบออกซิเจนไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาได้ พบว่าสัญญาณที่วัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยขั้วแรก คือกลาสคาร์บอนเปลือย เทียบกันระหว่างการทำปฏิกิริยาในสภาวะอิ่มตัวด้วย O_2 และ N_2 พบว่าในสภาวะที่อิ่มตัวด้วย N_2 ไม่เกิดการเร่งปฏิกิริยาแต่จะเกิดปฏิกิริยาเมื่อทำให้อิ่มตัวด้วย O_2 แต่ก็ให้สัญญาณต่ำที่สุดเนื่องจากเป็นขั้วที่ไม่มีการตรึงสารใดลงบน และขั้วไฟฟ้าที่ให้สัญญาณสูงที่สุด คือขั้ว BODAuNP/CNT/GCE จะให้สัญญาณที่สูงกว่าทุกขั้วที่กล่าวมาเนื่องจากการตรึงทั้ง CNT และ BOD ลงบนกลาสคาร์บอน และมีการตรึง AuNP ลงไปด้วย เพราะ AuNP จะทำให้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงนี้สามารถใช้งานได้นานขึ้น ซึ่งเป็นขั้วที่ให้สัญญาณสูงที่สุดและมีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเทียบกับขั้วปรับปรุงอื่น ๆ

ผลตอบสนองของกระแส – ศักย์ของขั้วไฟฟ้าทั้ง 6 ขั้วพบว่าขั้วไฟฟ้าที่ให้กระแสสูงที่สุดคือขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วย BODAuNP/CNT/GCE และศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จะนำไปตรวจวัดออกซิเจนในแหล่งน้ำ คือ -0.4 โวลต์เนื่องจากเป็นศักย์ไฟฟ้าที่ให้กระแสไฟฟ้าคงที่ เมื่อนำ

ศักย์ไฟฟ้าดังกล่าวไปทดสอบหาเส้นกราฟเทียบมาตรฐานได้สมการเส้นตรงคือ $y = -98.54x - 106$

เมื่อนำไบโอเซนเซอร์ BODAuNP/CNT/GCE ที่ปรับปรุงได้ไปตรวจวัดหาความเข้มข้นของออกซิเจนตามแหล่งน้ำธรรมชาติในอำเภอสันทราย เทียบกับออกซิเจนเซนเซอร์ทางการค้าที่มีในท้องตลาดเทียบกับไบโอเซนเซอร์ BOD/AuNP/CNT/GCE ให้ผลการทดลองในทางเดียวกัน ($R^2 = 0.971$) นั่นคือไบโอเซนเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปใช้ในการทดสอบออกซิเจนในแหล่งน้ำได้และเมื่อนำไปศึกษาหาความแตกต่างของข้อมูลที่ได้ทั้ง 2 วิธีด้วยการทดสอบแบบที่ (paired t-test) พบว่า ค่า t ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ ± 2.95 ที่ระดับความเสรีเท่ากับ 5 เมื่อนำไปเทียบกับตารางค่า t-test พบว่า ค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ทดสอบพบว่าไม่มีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นกับเซนเซอร์จากการค้าที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เซนเซอร์นี้ ถูกרבกวนด้วยไอออนของโซเดียม แคลเซียม โพแทสเซียม เหล็กคลอไรด์และซัลเฟตที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

บทที่ 3 เซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

3.1 ความสำคัญและที่มา

จากความต้องการพลังงานที่มีมากขึ้นในขณะเดียวกัน แหล่งของพลังงานยังคงมีอยู่เท่าเดิม ซึ่งแหล่งพลังงานส่วนใหญ่ได้มาจากน้ำมันและมีอยู่จำกัด ทำให้เกิดปัญหาวิกฤติด้านแหล่งพลังงาน เช่น วิกฤติน้ำมัน จากเหตุดังกล่าว จึงได้มีการศึกษาค้นคว้า พัฒนาแหล่งพลังงานและตัวกำเนิดพลังงานเพื่อทดแทนพลังงานจากน้ำมัน ได้แก่การพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิง โดยใช้หลักการทางเคมีไฟฟ้า คือการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนระหว่างขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว โดยขั้วไฟฟ้าแรกจะเป็นขั้วไฟฟ้าแคโทด ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับ ซึ่งอิเล็กตรอนจะถูกผลิตจากขั้วไฟฟ้าแอโนด โดยที่ขั้วไฟฟ้านี้จะต้องมีแหล่งพลังงานที่ป้อนให้ เช่น ไฮโดรเจน แอลกอฮอล์ และน้ำตาล เซลล์เชื้อเพลิงชนิดนี้มีข้อดีกว่าพลังงานชนิดอื่นคือไม่ก่อให้เกิดมลพิษแก่สิ่งแวดล้อมและมีประสิทธิภาพดีกว่า ทำให้มีการพัฒนาและนำมาใช้กับอุปกรณ์ไฟฟ้าหลายชนิด เช่น โทรศัพท์มือถือและเครื่องคอมพิวเตอร์แบบพกพา ปัญหาของเซลล์เชื้อเพลิงที่ใช้แอลกอฮอล์คือจะทำให้เกิดคาร์บอนมอนอกไซด์บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำให้เซลล์เชื้อเพลิงแบบแอลกอฮอล์เป็นแหล่งพลังงานที่ทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ ส่วนเซลล์เชื้อเพลิงแบบไฮโดรเจนมีค่าใช้จ่ายในการจัดการสูงไม่เหมาะแก่การประยุกต์ใช้ ผู้วิจัยจึงมองทางเลือกใหม่ในการพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงคือพัฒนาโดยใช้สารชีวภาพได้แก่เอนไซม์ที่ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงาน ผลผลิตของเอนไซม์เหล่านี้ส่วนใหญ่คือน้ำและอิเล็กตรอน ซึ่งเป็นผลดีต่อสิ่งแวดล้อม

ดังนั้นในการวิจัยนี้ต้องการพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์ร่วมกับนาโนเทคโนโลยีเพื่อให้เซลล์เชื้อเพลิงมีประสิทธิภาพในการผลิตกระแสไฟฟ้าและไม่ก่อให้เกิดมลพิษ

3.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 3.2.1 เพื่อศึกษาปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสและเอนไซม์บีลูบินออกซิเดส
- 3.2.2 เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์
- 3.2.3 เพื่อพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์ร่วมกับนาโนเทคโนโลยี
- 3.2.4 เพื่อผลิตเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกระแสไฟฟ้าสูงสุด

3.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 3.3.1 ออกแบบขั้วไฟฟ้าและประกอบเซลล์เชื้อเพลิง
- 3.3.2 ทดสอบการเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์
- 3.3.3 หาสภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยา
- 3.3.4 ประกอบเซลล์เชื้อเพลิงและศึกษาทำการผลิตกระแสไฟฟ้า

3.4 วิธีทดลอง วัสดุ และสารเคมี

3.4.1 สารเคมี ก๊าซ และเอนไซม์

ในการทำการวิจัยนี้ได้จัดเตรียมสารเคมี ดังตาราง 15 เพื่อนำไปเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง หรือใช้ในการสังเคราะห์สารสำคัญ สำหรับการสร้างและปรับปรุงขั้วไฟฟ้า

ตาราง 15 สารเคมี ก๊าซ และเอนไซม์

ลำดับ	ชื่อสารเคมี	เกรด	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
1.	Bilirubin oxidase	25 U	Sigma-Aldrich	Japan
2.	Carbon ink	-	Acheson	USA
3.	Carbon nanotube	> 98.9%	Nanolab	USA
4.	D-glucose	99.5%	Ajax Chemical	Australia
5.	Glucose oxidase	10 kU	Sigma-Aldrich	United Kingdom
6.	Gold(III) chloride trihydrate	1%	Sigma-Aldrich	USA
7.	Nafion membrane	0.018 cm	Sigma-Aldrich	USA
8.	Nitric acid	100%	RcilLabscan	Ireland
9.	Oxygen gas	HP	TIG	Thailand
10.	Oxygen gas	HP	TIG	Thailand
11.	Potassium chloride	99.5%	Merck	Germany
12.	Potassium dihydrogen phosphate	99.5%	Rankem	India
13.	Potassium hexacyanoferrate(III)	99.0%	Ajax Chemical	Australia
14.	Potassium phosphate dibasic	99.0%	Rankem	India
15.	Silver/ Silver chloride ink	-	Acheson	USA
16.	Trisodium citrate decahydrate	99.5%	Sigma-Aldrich	USA

- = ไม่มีข้อมูล

3.4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

ในการทำการวิจัยนี้ได้จัดเตรียมเครื่องมือและอุปกรณ์ที่สำคัญเพื่อใช้ในการทดลอง เช่นอุปกรณ์ที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร หรือเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ ตะกั่วในสารตัวอย่าง ดังตาราง 16

ตาราง 16 เครื่องมือและอุปกรณ์

ลำดับ	ชื่อเครื่องมือและอุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต/รุ่น	ประเทศ
1.	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)	Philip / TECNAI	Japan
2.	กริดชนิดทองแดง	-	-
3.	เครื่องชั่งสี่ตำแหน่ง	MettlerToledo / pg 5002-s	Switzerland
4.	เครื่องผลิตน้ำอัลตราเพียว	Milla-Q Academic/ZMQ50007	France
5.	เครื่องไมโครเวฟ	Samsung / M181GN	Thailand
6.	เครื่องวัดคัมคักย-กระแสไฟฟ้า	CH Instrument/CH1230A	USA
7.	เครื่องอัลตราโซนิก	Labquip	England
8.	เซลล์ไฟฟ้า	-	-
9.	เตาอบ	Gallenkamp	Germany
10.	Peristaltic pump	Gilson	France

- = ไม่มีข้อมูล

3.4.3 การเตรียมสารเคมี

3.4.3.1 การเตรียมโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต (III) เข้มข้น 10, 20 และ 30 มิลลิโมลาร์ ใน 0.1 โมลาร์ โพแทสเซียมคลอไรด์

- เตรียม KCl 0.10 โมลาร์

ชั่ง KCl มา 0.373x กรัม ละลายด้วยน้ำอัลตราเพียวให้ได้ปริมาตร 50.0 มิลลิลิตร

- เตรียม $K_3Fe(CN)_6$ เข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.10 โมลาร์

ชั่ง $K_3Fe(CN)_6$ มา 0.0083, 0.0166 และ 0.0332 กรัม ตามลำดับ จากนั้นปิเปต 0.10 โมลาร์ KCl ลงไปอย่างละ 10.0 มิลลิลิตร

3.4.3.2 การล้างคาร์บอนนาโนทิวบ์

ชั่งคาร์บอนนาโนทิวบ์มา 0.0500 กรัม แล้วเติมกรดไนตริกเข้มข้นลงไป 20.0 มิลลิลิตรแล้วปิดด้วยพาราฟิล์มจากนั้นนำไปโซนิเคต (sonicate) เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนอีก 10-12 ชั่วโมงจากนั้นเทกรดออกให้เหลือเฉพาะตะกอนแล้วนำสารแขวนลอยที่ได้มาเติมน้ำอัลตราเพียวจนเต็มบีกเกอร์ ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนวัดค่าพีเอชให้ได้ค่าประมาณ 7 แต่ถ้าค่าพีเอชยังไม่เท่ากับ 7 ให้ทำการล้างด้วยน้ำอัลตราเพียวไปเรื่อยๆ จนน้ำล้างตะกอนมีค่าพีเอชประมาณ 7 เมื่อพีเอชประมาณ 7 แล้วเทน้ำออกให้เหลือเฉพาะตะกอน แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

3.4.3.3 การเตรียมสเลอซีคาร์บอนนาโนทิวบ์

ชั่งคาร์บอนนาโนทิวบ์มา 0.01 กรัม ปิเปตไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) 10.00 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปโซนิเคต ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.4.4 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 และ 7.4

- เตรียม 0.2 โมลาร์ K_2HPO_4

ชั่ง K_2HPO_4 8.797x กรัม ละลายด้วยน้ำอัลตราเพียวให้ได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

- เตรียม 0.2 โมลาร์ KH_2PO_4

ชั่ง KH_2PO_4 6.838x กรัม ละลายด้วยน้ำอัลตราเพียวปริมาตร 250.0 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0

ปิเปตสารละลาย 0.2 โมลาร์ K_2HPO_4 17.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลาย 0.2 โมลาร์ KH_2PO_4 มา 10.0 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.0 มิลลิลิตร นำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำอัลตราเพียวให้ถึงขีด

- เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.4

ปิเปตสารละลาย 0.2 โมลาร์ K_2HPO_4 40.5 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลาย 0.2 โมลาร์ KH_2PO_4 มา 9.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.0 มิลลิลิตร นำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำอัลตราเพียวให้ถึงขีด

3.4.5 การเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนทอง

- เตรียมสารละลาย 0.01% HAuCl_4

ชั่ง HAuCl_4 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำอัลตราเพียวปริมาตร 100.0 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลาย 1% trisodium citrate

ชั่ง 1 กรัม ละลายด้วยน้ำอัลตราเพียวปริมาตร 100.0 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายอนุภาคนาโนทอง

ปีเปตต์สารละลาย 0.01% HAuCl_4 5.0 มิลลิลิตร ลงในขวดที่ใช้สำหรับไมโครเวฟ แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ ประมาณ 2 นาที แล้วเติมสารละลาย 1% trisodium citrate ปริมาตร 184 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปให้ความด้วยไมโครเวฟต่ออีก 6 นาที จะได้อัตราส่วน 1 : 15 (HAuCl_4 : trisodium citrate) สารละลายอนุภาคนาโนทองที่มีสีแดงทึบทึม อัตราส่วนโมลอื่นแสดงในตาราง 17 นำสารละลายอนุภาคนาโนทองไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

ตาราง 17 อัตราส่วนโมลของสารละลาย HAuCl_4 กับสารละลาย trisodium citrate

อัตราส่วนโมล HAuCl_4 : trisodium citrate	ปริมาตรของสารละลาย	
	0.01% HAuCl_4 (mL)	1% trisodium citrate (μL)
1 : 5	10	18
1 : 10	10	91
1 : 15	10	184
1 : 20	10	276
1 : 25	10	368

3.4.6 การเตรียมสารละลายเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อลิตร

ชั่งเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 0.02 กรัม ด้วยน้ำอัลตราเพียวปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร

3.4.7 การเตรียมสารละลายเอนไซม์บิลิรูบินออกซิเดสเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อลิตร

ชั่งเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส 0.01 กรัม ด้วยน้ำอัลตราเพียวปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร

3.4.8 การเตรียมสารละลายออกซิเจนอิ่มตัว

- ปิเปตสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปพ่นด้วยแก๊สออกซิเจนประมาณ 5 นาที

3.4.9 การเตรียมขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลือย (bare SPCE)

การเตรียมขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเตรียมจากการสกรีนสารละลายคาร์บอน (Carbon-ink) ลงบนแผ่นพลาสติก (PVC) ให้มีขนาดความกว้าง 1 เซนติเมตร และความยาว 2 เซนติเมตร นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสายไฟฟ้ามาต่อกับแถบคาร์บอนด้วยกาวเงินกึ่งได้ให้แห้ง แล้วใช้ฉนวนปิดทับเพื่อจำกัดพื้นที่ทำงานดังรูป 57



ตัดแผ่นใส



สกรีนหมึกคาร์บอน



นำมาติดสายไฟและกำหนดพื้นที่ทำงาน



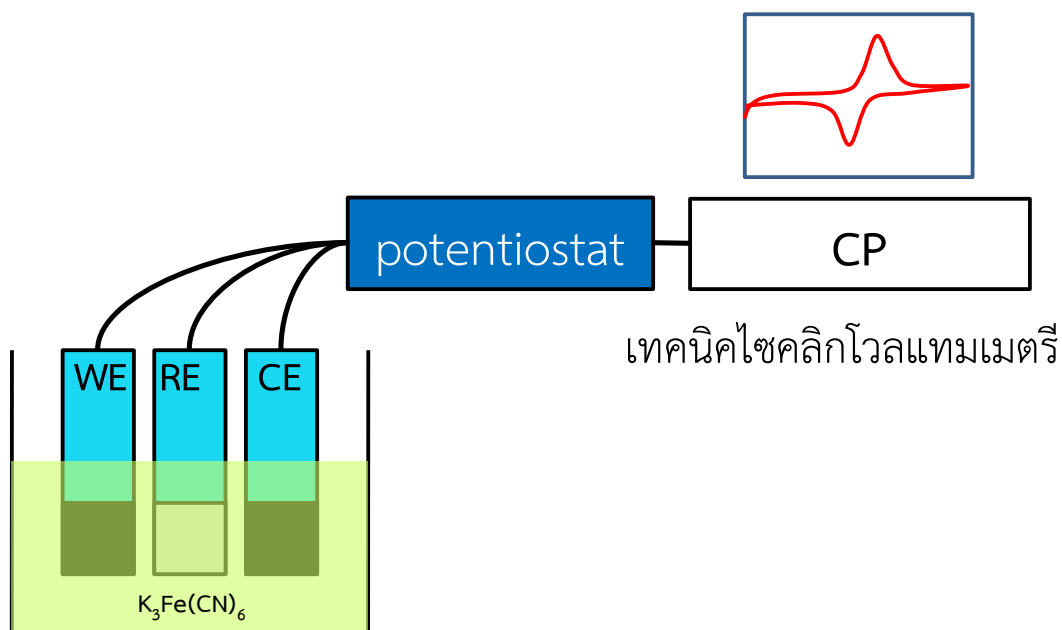
อบที่ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที

รูป 57 ขั้นตอนการเตรียมขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน (SPCE)

3.4.10 การทดสอบขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

นำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนทำงานมาวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ทำการจัดการทดลองดังรูป 58 โดยขั้วไฟฟ้าทำงานจะใช้ขั้วไฟฟ้า bare SPCE ส่วนขั้วไฟฟ้าช่วยจะใช้ขั้วไฟฟ้า bare SPCE และขั้วไฟฟ้าอ้างอิงจะใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/Ag/AgCl ทำการวัดสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ จากนั้นก็ทำการวัดโพแทสเซียมเฮก

ชะไซยาโนเฟอเรต ที่ความเข้มข้น 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ สแกนศักย์ไฟฟ้า ในช่วง -0.6 ถึง 0.8 โวลต์ เพื่อศึกษาว่าขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้นสามารถใช้งานได้หรือไม่



รูป 58 การทดสอบขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

3.4.11 การปรับปรุงขั้วไฟฟ้า

3.4.11.1 ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT

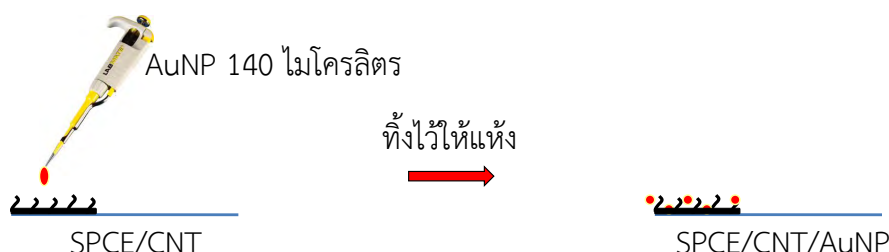
ตรึงสเลลีคาร์บอนนาโนทิวป์ลงบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่ทำความสะอาดแล้ว โดยหยด สเลลีคาร์บอนนาโนทิวป์ปริมาณ 140 ไมโครลิตร ลงบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแล้วนำไปวางบนเครื่องโซนิกเกต รอให้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแห้งแล้วล้างด้วยน้ำอัลตราเพียว แล้วใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง ดังขั้นตอนแสดงวิธีการเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT ดังรูป 59



รูป 59 การเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CN

3.4.11.2 ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP

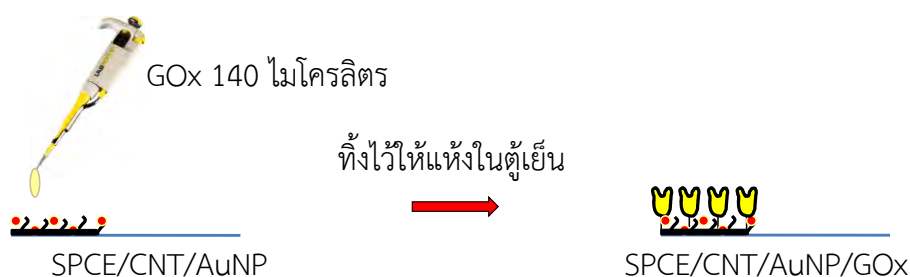
ตรึงสารละลายอนุภาคนาโนทองลงบนขั้วไฟฟ้าปรับปรุง SPCE/CNT ที่ทำความสะอาดแล้ว โดยหยด สารละลายอนุภาคนาโนทองปริมาณ 140 ไมโครลิตร ลงบนขั้วไฟฟ้าปรับปรุง SPCE/CNT รอให้ขั้วไฟฟ้าแห้งด้วยน้ำอัลตราเพียว แล้วใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง ดังขั้นตอนแสดงวิธีการเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP ดังรูป 60



รูป 60 การเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP

3.4.11.3 ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/GOx

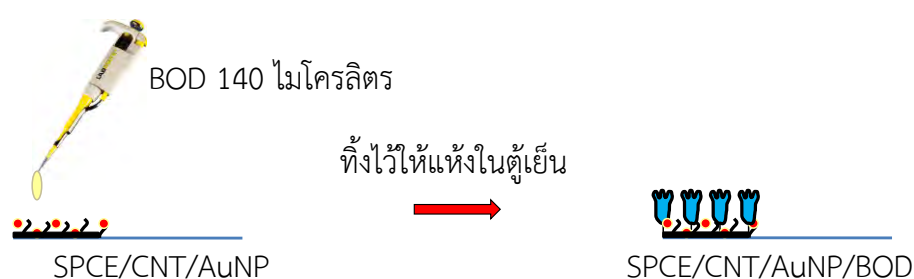
ตรึงสารละลายเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสลงบนขั้วไฟฟ้าปรับปรุง SPCE/CNT/AuNP ที่ทำความสะอาดแล้ว โดยหยดสารละลายเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสปริมาณ 140 ไมโครลิตร ลงบนขั้วไฟฟ้าปรับปรุง SPCE/CNT/AuNP รอให้ขั้วไฟฟ้าแห้งแล้วล้างด้วยน้ำอัลตราเพียวก่อนนำไปใช้งาน ดังขั้นตอนแสดงวิธีการเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/GOx ดังรูป 61



รูป 61 การเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/GOx

3.4.11.4 ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/BOD

ตรึงสารละลายเอนไซม์บีลูรีบินออกซิเดสลงบนขั้วไฟฟ้าปรับปรุง SPCE/CNT/AuNP ที่ทำความสะอาดแล้ว โดยหยดสารละลายเอนไซม์บีลูรีบินออกซิเดสปริมาณ 140 ไมโครลิตร ลงบนขั้วไฟฟ้าปรับปรุง SPCE/CNT/AuNP รอให้ขั้วไฟฟ้าแห้งแล้วล้างด้วยน้ำอัลตราเพียวก่อนนำไปใช้งาน ดังขั้นตอนแสดงวิธีการเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/BOD ดังรูป 62



รูป 62 การเตรียมขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/BOD

3.4.12 การทดสอบหาสภาวะของครึ่งเซลล์เชื้อเพลิง

3.4.12.1 ทดสอบหาค่าพีเอชที่เหมาะสมของขั้วไฟฟ้าแอโนด

นำขั้วไฟฟ้าแอโนด SPCE/CNT/AuNP/GOx ล้างด้วยน้ำอัลตราเพียวก่อนการทดสอบ จากนั้นนำไปทดสอบกับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 ในการทดสอบขั้วไฟฟ้าแอโนดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยกำหนดศักย์ไฟฟ้า -0.1 ถึง 2.0 โวลต์ ที่อัตราการสแกน 0.1 มิลลิโวลต์ต่อวินาที สำหรับขั้วไฟฟ้าทำงานจะใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/GOx ส่วนขั้วไฟฟ้าช่วยจะใช้ขั้วไฟฟ้า bare SPCE และขั้วไฟฟ้าอ้างอิงจะใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/Ag/AgCl เพื่อเป็นการหาสภาวะพีเอชที่เหมาะสม

3.4.12.2 ทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของขั้วไฟฟ้าแอโนด

นำขั้วไฟฟ้าทำงาน SPCE/CNT/AuNP/GOx ไปทดสอบกับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 ในการทดสอบขั้วไฟฟ้าแอโนดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้

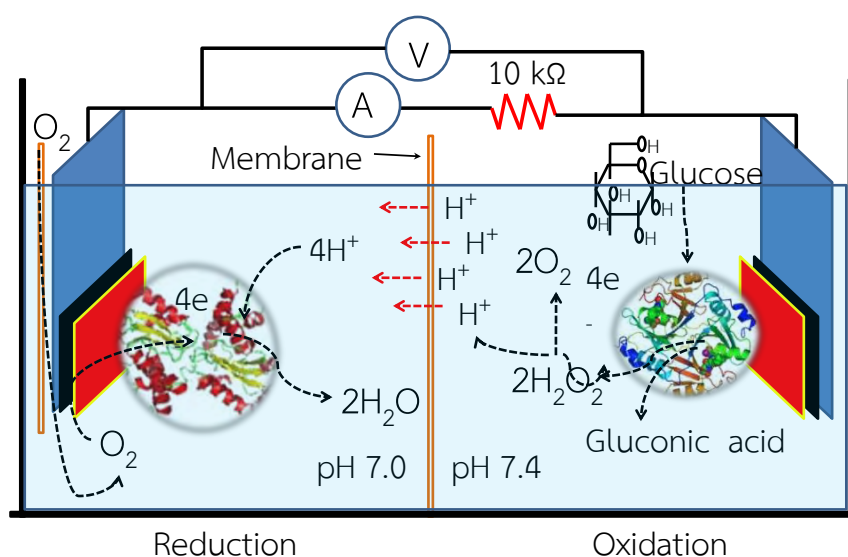
ขั้วไฟฟ้า bare SPCE เป็นขั้วไฟฟ้าช่วยและใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง สแกนให้ศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.1 ถึง 2.0 โวลต์ เพื่อหาความเข้มข้นที่ให้กระแสไฟฟ้าสูงสุด

3.4.12.3 การทดสอบหาค่าพีเอชที่เหมาะสมของขั้วไฟฟ้าแคโทด

นำขั้วไฟฟ้าแคโทด SPCE/CNT/AuNP/BOD ที่ใช้เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ทำความสะอาดด้วยน้ำ อัลตราเพียวก่อนการทดสอบ จากนั้นนำไปทดสอบกับสารละลายออกซิเจนอิมัลชันในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยกำหนดศักย์ไฟฟ้า -1.1 ถึง 0.1 โวลต์ ที่อัตราการสแกน 0.1 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ขั้วไฟฟ้าช่วยจะใช้ขั้วไฟฟ้า bare SPCE และใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง เพื่อหาค่าพีเอชที่ให้กระแสไฟฟ้าสูงสุด

3.4.13 การประกอบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

การประกอบเซลล์เชื้อเพลิงโดยใช้ขั้วไฟฟ้าแอโนด SPCE/CNT/AuNP/GOx กับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 และขั้วไฟฟ้าแคโทด SPCE/CNT/AuNP/BOD กับสารละลายออกซิเจนอิมัลชันในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ตามลำดับ โดยนำเมมเบรนเลือกผ่าน (Nafion membrane) มากั้นระหว่างครึ่งเซลล์ แล้ววัดค่าศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านภายในเซลล์ดังรูป 63

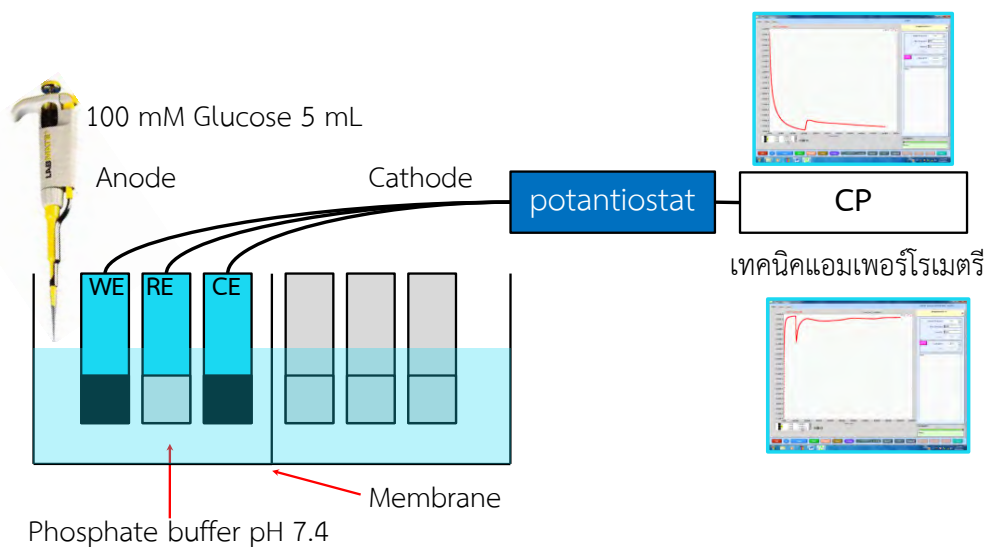


รูป 63 โครงสร้างของเซลล์เชื้อเพลิง

3.4.14 การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้น

3.4.14.1 ทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโคโนแอมเปอร์โรเมตรีของเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแอโนด

ทำการจัดเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแอโนดดังรูป 64 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานจะใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/GOx ส่วนขั้วไฟฟ้าช่วยจะใช้ขั้วไฟฟ้า bare SPCE และขั้วไฟฟ้าอ้างอิงจะใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/Ag/AgCl จากนั้นนำไปทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโคโนแอมเปอร์โรเมตรี โดยการให้ศักย์ไฟฟ้า 1.5 โวลต์ แล้วทำการวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น ในช่วงแรกของการทดสอบจะทดสอบในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 จากนั้นจึงฉีดสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่เวลา 100 วินาที

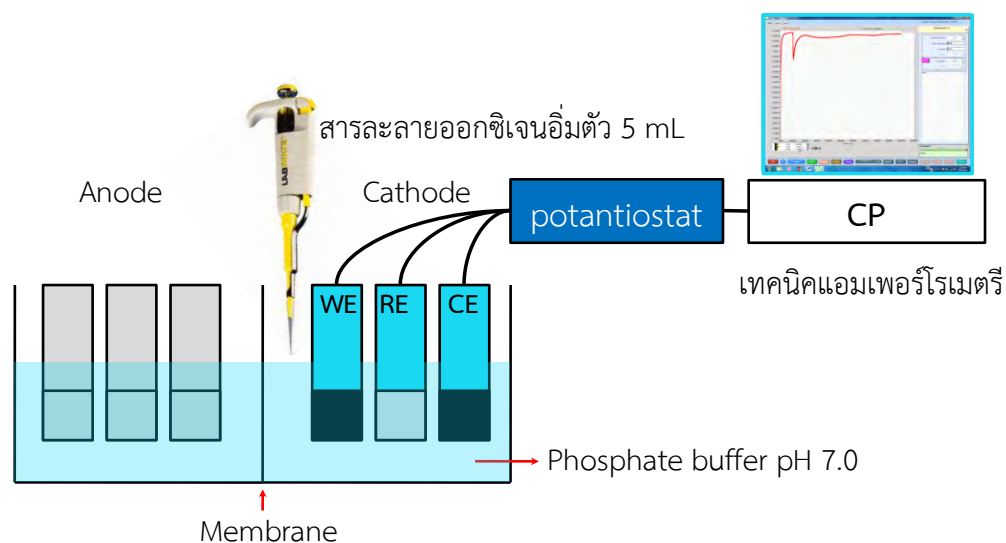


รูป 64 การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโคโนแอมเปอร์โรเมตรีของเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแอโนด

3.4.14.2 ทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโคโนแอมเปอร์โรเมตรีของเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแคโทด

ทำการจัดเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแอโนดดังรูป 65 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/BOD เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ในการทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโคโนแอมเปอร์โรเมตรี จะทดสอบด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า bare SPCE เป็นขั้วไฟฟ้าช่วยและใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง

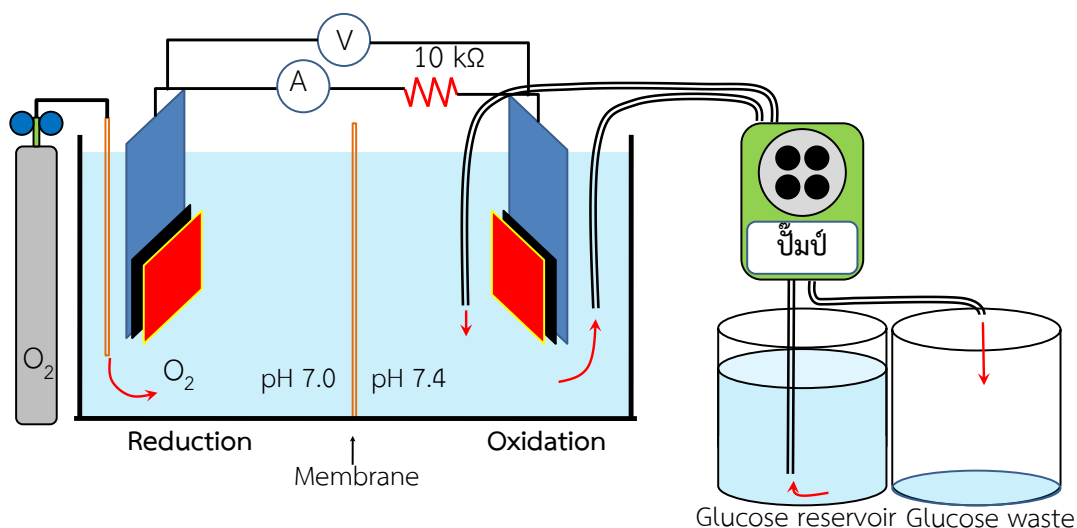
สแกนให้ศักย์ไฟฟ้า -0.9 โวลต์ แล้วทำการวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น จากนั้นจึงฉีดสารละลาย ออกซิเจนอิ่มตัวในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ปริมาตร 5 มิลลิเมตร ที่เวลา 100 วินาที



รูป 65 การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์โรเมตรีของเครื่อง เซลล์ไฟฟ้าแอโนด

3.4.14.3 การหาอายุการใช้งานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

ดำเนินการประกอบเซลล์เชื้อเพลิงดังรูป 66 โดยใช้ขั้ว SPCE/CNT/AuNP/GOx เป็นขั้วไฟฟ้าแอโนด กับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 และใช้ขั้ว SPCE/CNT/AuNP/BOD เป็นขั้วไฟฟ้าแคโทด กับสารละลายออกซิเจนอิ่มตัวในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ตามลำดับ โดยนำเมมเบรนเลือกผ่าน (Nafion membrane) มากั้นระหว่างครึ่งเซลล์ เมมเบรนเลือกผ่านจะทำหน้าที่กั้นสารละลายโดยจะยอมให้ไฮโดรเจนไอออนผ่านได้เท่านั้น ทำการต่อตัวต้านทานที่มีความต้านทาน 10 กิโลโอห์ม แล้ววัดกระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านภายในเซลล์ โดยครึ่งเซลล์แอโนดมีการปั๊มปัสสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตลอดเวลา และครึ่งเซลล์แคโทดมีการผ่านออกซิเจนตลอดเวลาเช่นกัน



รูป 66 การจัดเซลล์เพื่อหาอายุการใช้งานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

3.4.15 การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้น

ดำเนินการประกอบเซลล์เชื้อเพลิงดังรูป 66 โดยใช้ขั้ว SPCE/CNT/AuNP/GOx เป็นขั้วไฟฟ้าแอโนด กับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 และใช้ขั้ว SPCE/CNT/AuNP/BOD เป็นขั้วไฟฟ้าแคโทด กับสารละลายออกซิเจนอิ่มตัวในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ตามลำดับ โดยนำเมมเบรนเลือกผ่าน (Nafion membrane) มากั้นระหว่างครึ่งเซลล์ ทำการต่อโวลต์มิเตอร์คร่อมตัวต้านทานที่มีความต้านทาน 10 กิโลโอห์ม แล้ววัดค่าศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น

3.4.16 การหาพลังงานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

การหาพลังงานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงนั้นได้มาจากการคำนวณดังสมการ (M1)

$$P = VI$$

(M1)

เมื่อ P คือ กำลังไฟฟ้า มีหน่วยเป็น วัตต์

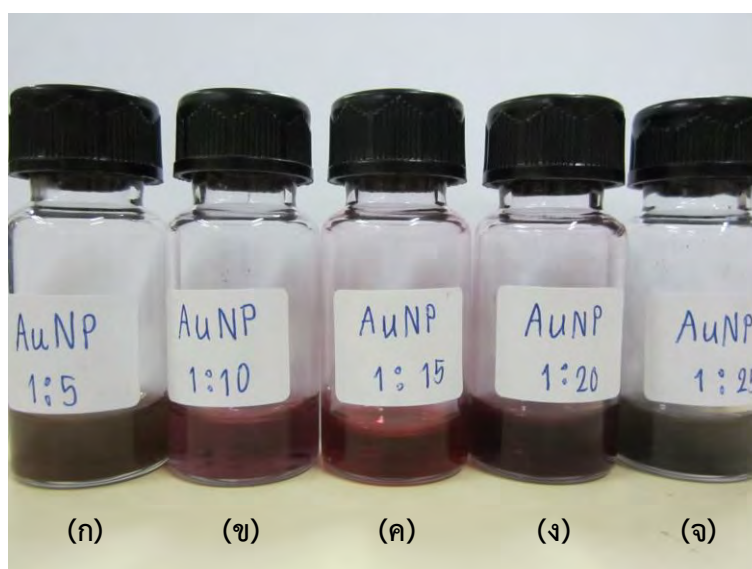
V คือ ความต่างศักย์ที่ต่อกับเครื่องใช้ไฟฟ้ามีหน่วยเป็นโวลต์

I คือ กระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านเครื่องใช้ไฟฟ้ามีหน่วยเป็นแอมแปร์

3.5 ผลการทดลองและวิจารณ์

3.5.1 ผลจากการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนทอง

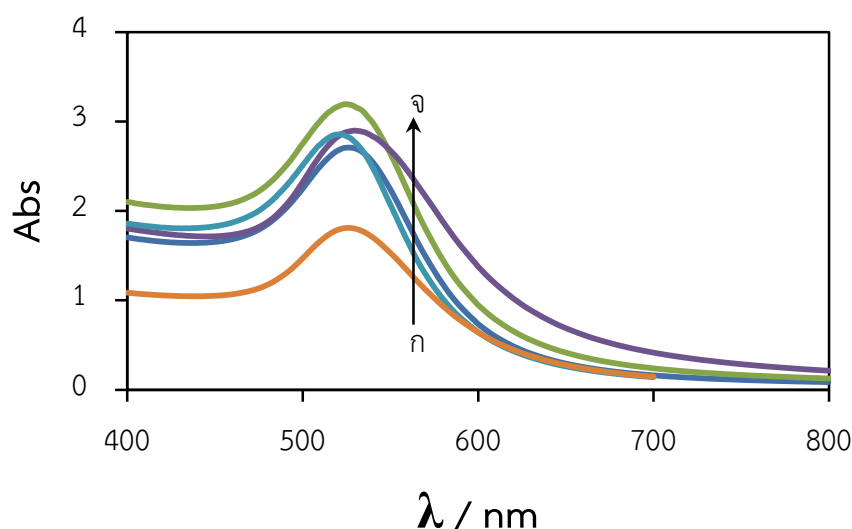
จากการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนทอง จากในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:5 และ 1:25 ได้ผลดังรูป 67 (ก) และรูป 67 (จ) ตามลำดับ สารละลายมีสีม่วงเข้มแสดงให้เห็นว่าเกิดเป็นอนุภาคนาโนทองที่ยังไม่สมบูรณ์และไม่เสถียร สังเกตได้จากการตั้งสารละลายอนุภาคนาโนทองทิ้งไว้เป็นเวลานานๆ จะเกิดเป็นตะกอนเกิดขึ้น ส่วนสารละลายอนุภาคนาโนทองที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:10 และ 1:15 ดังรูป 67 (ข) และรูป 67 (ค) ตามลำดับ มีสีแดงทึบจะเกิดเป็นสารละลายอนุภาคนาโนทองอย่างสมบูรณ์ และสารละลายอนุภาคนาโนทองที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:20 ดังรูป 67 (ง) มีสีม่วงแดงเนื่องจากยังเกิดเป็นอนุภาคนาโนทองยังไม่สมบูรณ์เพราะปริมาณตัวรีดิวซ์ของไตรโซเดียมซิเตรตมีปริมาณมากเกินไป



รูป 67 สารละลายอนุภาคนาโนทองในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ (ก) 1:5, (ข) 1:10, (ค) 1:15, (ง) 1:20 และ (จ) 1:25

จากการนำสารละลายอนุภาคนาโนทองในอัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ : ไตรโซเดียมซิเตรตที่ 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าสารละลายอนุภาคนาโนทองมีพีคของการดูดกลืนแสงในช่วง 520 ถึง 530 นาโนเมตรดังรูป 68 ซึ่งจากผลการทดลองนี้พบว่าที่อัตราส่วนโมลต่ำ (1:5 และ 1:10) การเกิดเป็นอนุภาคนาโนทองที่ไม่สมบูรณ์จึงมีค่าการดูดกลืนแสงน้อย เมื่อเพิ่มอัตราส่วนมากขึ้นอีกค่าการ

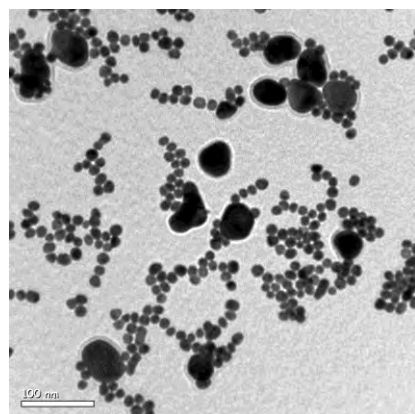
ดูดกลืนแสงก็จะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งอัตราส่วน 1:15 จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดและเกิดเป็นอนุภาคทองขนาดนาโนมากที่สุด จากนั้นค่าการดูดกลืนแสงก็ลดลงเมื่อมีอัตราส่วนเพิ่มขึ้นอีก เนื่องจากปริมาณตัวรีดิวซ์ของไตรโซเดียมซิเตรตที่มีปริมาณมากเกิดไปอนุภาคทองขนาดนาโนจึงเกิดได้น้อยลง



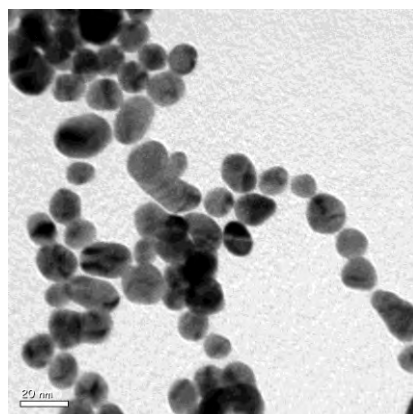
รูป 68 ยูวีวิสิเบิลสเปกตรัมของสารละลายอนุภาคนาโนทองที่อัตราส่วน (ก) 1:5, (ข) 1:10, (ค) 1:15, (ง) 1:20 และ (จ) 1:25

จากรูป 68 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอนุภาคนาโนทองมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 520 ถึง 530 นาโนเมตร อัตราส่วนที่ 1:15 มีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุดจึงมีอนุภาคนาโนเกิดขึ้นมากที่สุด ซึ่งคาดหมายว่าที่นี่จะเกิดอนุภาคนาโนทองมากที่สุดด้วย

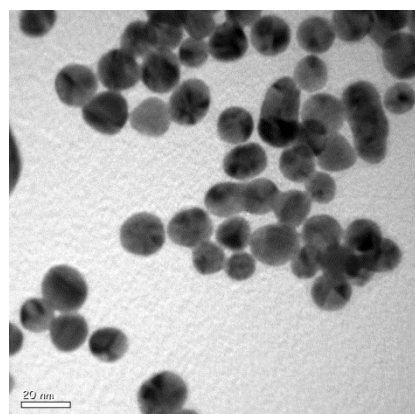
เมื่อนำอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้ไปศึกษาขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน โดยนำอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ที่อัตราส่วน 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25 ของทองคลอไรด์ต่อไตรโซเดียมซิเตรต (โดยโมล) โดยใช้เวลาในการสังเคราะห์ด้วยไมโครเวฟนาน 6 นาที โดยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านใช้กำลังไฟฟ้า 75 กิโลวัตต์ และกำลังขยาย 200,000 เท่า ได้ผลดังรูป 69



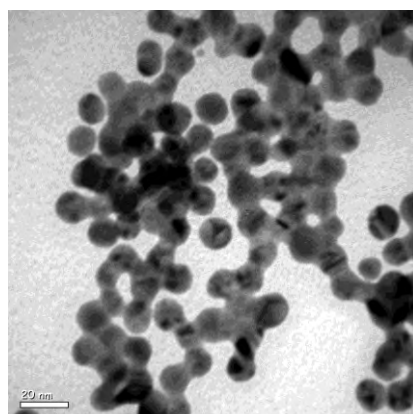
(ก)



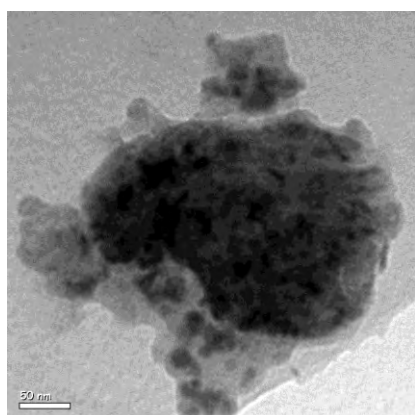
(ข)



(ค)



(ง)



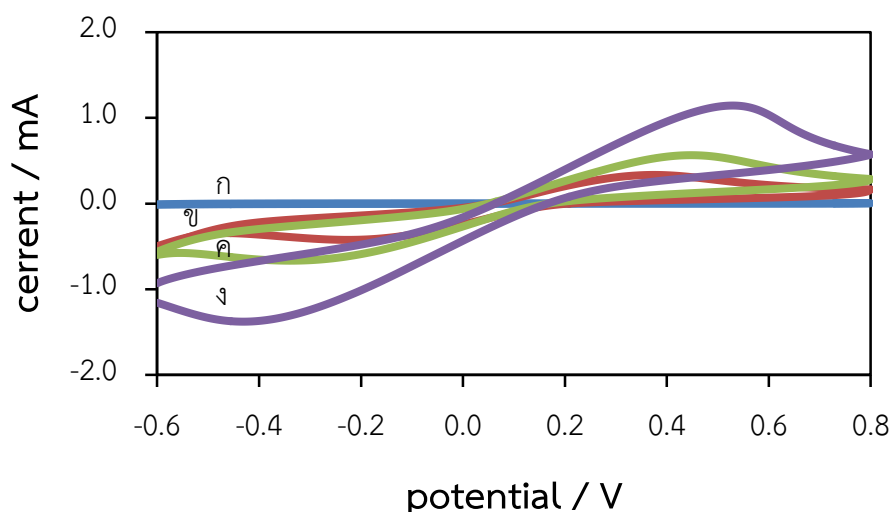
(จ)

รูป 69 ภาพของอนุภาคนาโนทองจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน ที่อัตราส่วนการ
 สักระยะทองคลอไรด์ต่อไตรโซเดียมซิเตรท (ก) 1:5, (ข) 1:10, (ค) 1:15, (ง) 1:20
 และ (จ) 1:25 กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านใช้กำลังไฟฟ้า 75 kV และกำลังขยาย
 200,000 เท่า

จากรูป 69 ผลการวัดขนาดอนุภาคนาโนทองด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าอนุภาคนาโนทองมีลักษณะเป็นทรงกลม จากรูป 69 (ก) ถึง (ง) ขนาดของอนุภาคนาโนทองขนาดนาโนมีขนาด 16 นาโนเมตร แต่อนุภาคนาโนทองจากรูป 69 (ก) มีขนาดไม่สม่ำเสมอ โดยมีอนุภาคนาโนทองขนาดประมาณ 50 นาโนเมตร รวมอยู่ด้วย ส่วนรูป 69 (จ) ไม่สามารถหาขนาดได้ ดังนั้นจึงเลือกอนุภาคนาโนทองที่อัตราส่วน 1:15 ไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.5.2 ผลการทดสอบชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

นำชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยนมาทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี เพื่อทดสอบการตอบสนองของชีวไฟฟ้าที่สร้างขึ้น โดยทำการวัดในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ และสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตที่ความเข้มข้น 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ โดยสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.60 ถึง 0.80 โวลต์ ด้วยอัตราการสแกนที่ 0.1 โวลต์ต่อวินาที จะได้ไซคลิกโวลแทมโมแกรมดังรูป 70

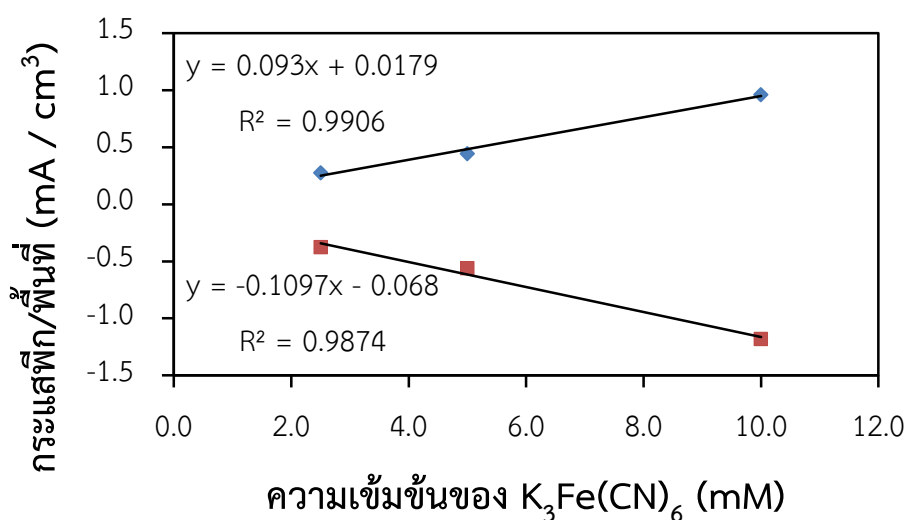


รูป 70 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนในสารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตที่ความเข้มข้น (ก) 0.0, (ข) 2.5, (ค) 5.0 และ (ง) 10.0 มิลลิโมลาร์ โดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยและใช้อัตราการสแกน 0.1 โวลต์ต่อวินาที

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน เมื่อนำแต่ละพิกมาวัดค่า E_{pa} , E_{pc} , i_{pa} และ i_{pc} แล้วได้ผลดังตาราง 18 เมื่อนำกระแสพิกมาพล็อตกราฟเทียบกับความเข้มข้น ได้ผลดังรูป 71

ตาราง 18 ค่า E_{pa} , E_{pc} , i_{pa} และ i_{pc} ของไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ความเข้มข้น 0.0, 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์

Concentration (mM)	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)	ΔE_p	i_{pa} (mA)	i_{pc} (mA)	อัตราส่วน ของ i_{pa} กับ i_{pc}
0.0	0	0	0	0	0	0
2.5	0.35	-0.20	0.55	0.28	0.38	0.74
5.0	0.44	-0.31	0.75	0.44	0.56	0.78
10.0	0.53	-0.43	0.90	0.96	1.18	0.81



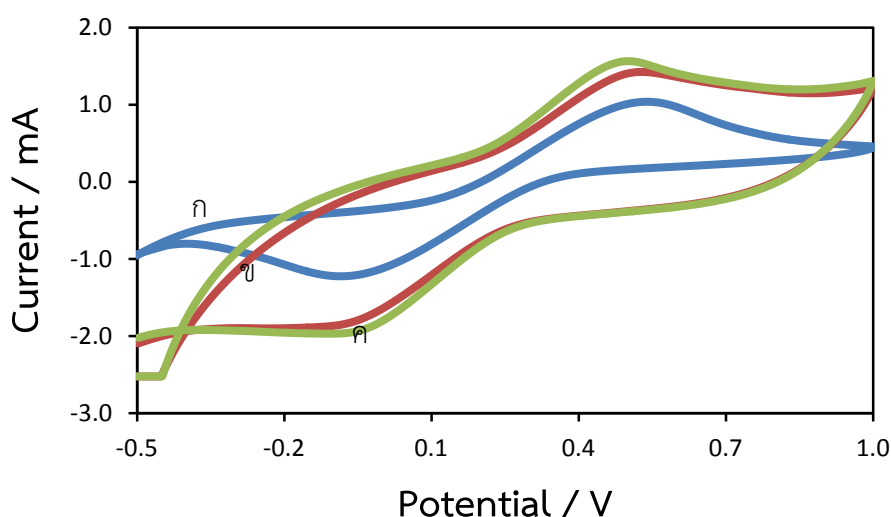
รูป 71 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตกับกระแสพิก ของใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยนโดยการทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี (◆ กระแสแอโนดิก และ ■ กระแสแคโทดิก)

จากรูป 70 การทดสอบขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ได้ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่มีลักษณะสมมาตร โดยดูจากค่าอัตราส่วนของ i_{pa} ต่อค่า i_{pc} มีค่าเข้าใกล้ 1 ซึ่งถือว่าการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารออกซิไดซ์กับอิเล็กโทรดและ

สารรีดิวซ์อิเล็กโทดสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดีเท่าๆ กัน แต่อย่างไรก็ดี ค่าผลต่างของตำแหน่งพีคมีค่ามากโดยเฉลี่ยถึง 0.73 มิลลิโวลต์ ซึ่งมากกว่าค่ามาตรฐานที่มีเพียง $59.2 \frac{\text{mV}}{n}$ ซึ่งเป็นผลเนื่องจากอัตราการเกิดโพลาริเซชันต่ำ อันเป็นผลของขั้วไฟฟ้าทำงานที่มีพื้นที่ผิวมาก แต่อย่างไรก็ดีการที่พื้นที่ทำงานสูงจะได้กระแสไฟฟ้าที่สูงขึ้นด้วย ซึ่งเหมาะสำหรับการทำเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

3.5.3 ผลการทดสอบขั้วไฟฟ้าปรับปรุง SPCE/CNT และ SPCE/CNT/AuNP ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

นำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนปรับปรุง SPCE/CNT, SPCE/CNT/AuNP และขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลือย (bare SPCE) มาทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ทำการวัดสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ และสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ โดยสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.5 ถึง 1.0 โวลต์ ด้วยอัตราการสแกนที่ 0.1 โวลต์ต่อวินาที ได้ไซคลิกโวลแทมโมแกรมดังรูป 72



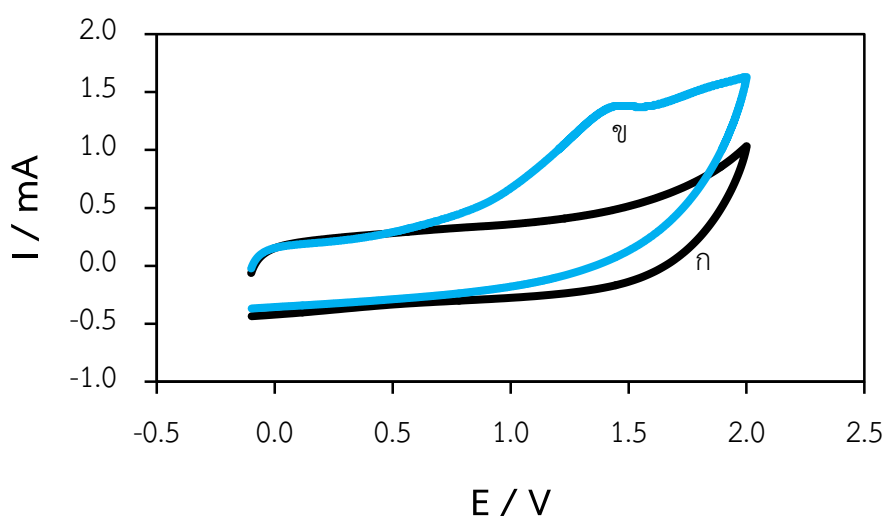
รูป 72 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนปรับปรุง (ก) bare SPCE, (ข) SPCE/CNT และ (ค) SPCE/CNT/AuNP ในสารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ โดยมีโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย อัตราการสแกน 0.1 โวลต์ต่อวินาที

จากรูป 72ก พบว่าชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยนให้กระแสต้านแอโนดและแคโทดเพียง 1.09 และ 1.10 มิลลิแอมแปร์ ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าชีวไฟฟ้า SPCE/CNT ที่ให้กระแสต้านแอโนดและแคโทดสูงกว่าชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยนถึง 0.17 และ 0.36 มิลลิแอมแปร์ ซึ่งเป็นผลจากคุณสมบัติของคาร์บอนนาโนทิวป์ที่ช่วยให้การถ่ายทอดอิเล็กตรอนทำได้ดีขึ้น ส่วนชีวไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP นั้นให้กระแสต้านแอโนดและแคโทดที่ไม่แตกต่างจากชีวไฟฟ้า SPCE/CNT เท่าใดนัก เนื่องจากคุณสมบัติของทองจะช่วยให้การยึดเกาะของเอนไซม์เป็นส่วนใหญ่ จึงไม่ได้ช่วยในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนมาก เมื่อเทียบกับคาร์บอนนาโนทิวป์

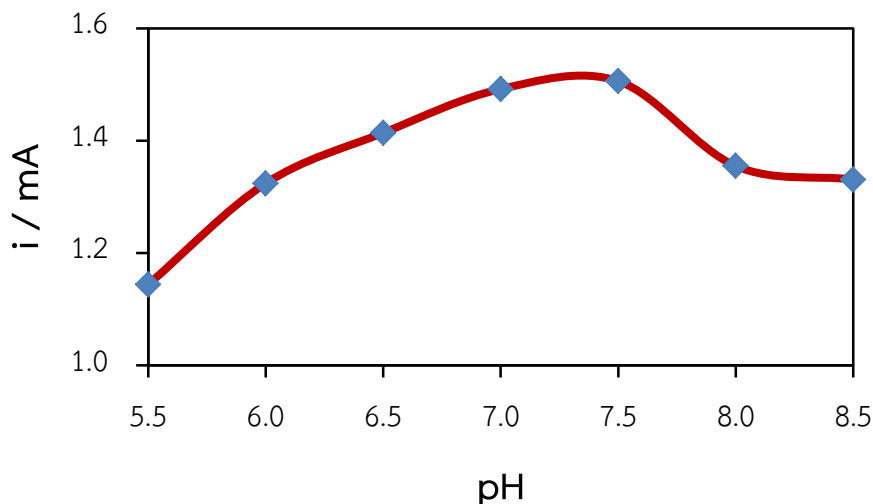
3.5.4 ผลการทดสอบหาสภาวะของชีวไฟฟ้าแอโนด

3.5.4.1 ผลการทดสอบค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตที่เหมาะสมสำหรับชีวไฟฟ้าแอโนดการทดสอบหาสภาวะของชีวไฟฟ้าแอโนด

การศึกษาปฏิกิริยาออกซิเดชันของชีวไฟฟ้าแอโนดที่ปรับปรุงด้วยการเติมตัวเร่งทางไฟฟ้า โดยตรึงคาร์บอนนาโนทิวป์บนชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเปลี่ยน และตรึงอนุภาคนาโนทองเพิ่มจะช่วยให้มีการเกาะติดของเอนไซม์ได้ดีมากขึ้น โดยนำชีวไฟฟ้าแอโนด SPCE/CNT/AuNP/GOx มาทดสอบกับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 ได้ผลดังรูป 73พบว่าเกิดฟีกแอโนดิกบนไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ศักย์ไฟฟ้า 1.5 โวลต์ หลังจากนั้นจึงทดสอบที่พีเอชต่างๆ ได้แก่ 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 แล้วนำกระแสฟีกที่ได้มาพล็อตกราฟเทียบกับค่าพีเอชได้ผลดังรูป 74



รูป 73 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของชีวไฟฟ้าแอโนด โดยทดสอบใน (ก) สารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 และ (ข) สารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4



รูป 74 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชต่างๆ กับกระแสที่เกิดขึ้นของชีวไฟฟ้าแอโนด โดยทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ในสารละลายกลูโคส 100 มิลลิโมลาร์ โดยมีสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นอิเล็กโทรไลต์ช่วย

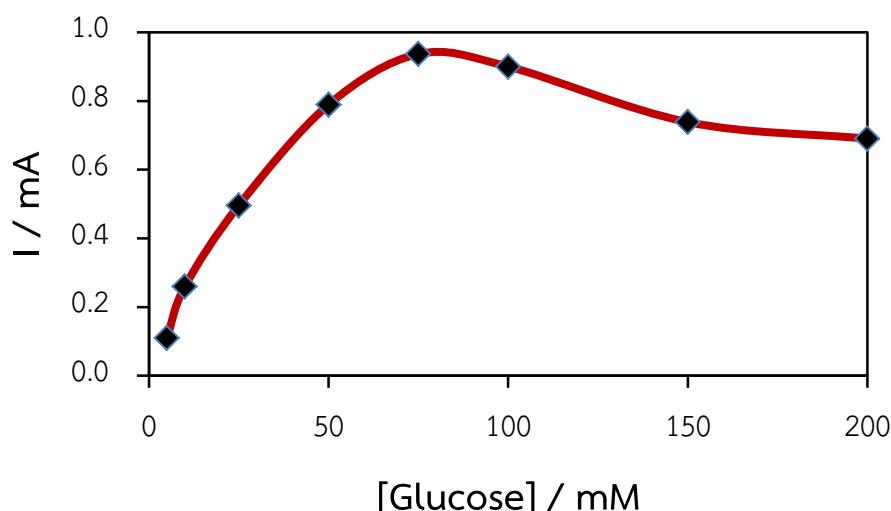
จากรูป 74 พบว่าที่ค่าพีเอชต่ำๆ กระแสฟิสิกที่ได้นั้นมีค่าน้อย เนื่องจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง สามารถเร่งปฏิกิริยาเคมีได้เต็มที่ ในสภาวะที่เหมาะสมสภาวะหนึ่งเท่านั้น ในสภาวะค่าพีเอชต่ำๆ เอนไซม์จะสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ไม่เต็มที่หรือเกิดการเสียสภาพของเอนไซม์สอดคล้องกับผลของ Ramanavicius [26] เมื่อเพิ่มค่าพีเอชขึ้นไปอีกทำให้กระแสฟิสิกที่ได้นั้นมีค่าเพิ่มขึ้นจนสูงสุดที่พีเอช 7.4 หลังการนั้นกระแสจะลดลง ทำให้สามารถเลือกค่าพีเอชที่เหมาะสมของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสได้จากจุดสูงสุดของเส้นกราฟ ซึ่งมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.4 ซึ่งที่พีเอช 7.4 นี้สอดคล้องกับผลของ Habrioux [27] ดังนั้นจึงเลือกค่าพีเอช 7.4 ไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.5.4.2 ผลการทดสอบหาความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมสำหรับชีวไฟฟ้าแอโนด

การศึกษาปฏิกิริยาออกซิเดชันของชีวไฟฟ้าแอโนดโดยการเติมตัวเร่งทางไฟฟ้า ได้แก่ คาร์บอนนาโนทิวบ์และอนุภาคนาโนทอง โดยตรึงอนุภาคทั้งสองร่วมกับเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสบนชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีน (SPCE/CNT/AuNP/GOx) แล้วนำชีวไฟฟ้าแอโนด SPCE/CNT/AuNP/GOx มาทดสอบกับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 ด้วยเทคนิคไซคลิก

โวลแทมเมตรี นำกระแสฟลักที่ได้มาพล็อตกราฟเทียบกับค่าความเข้มข้นของกลูโคสได้ผลดังรูป

75

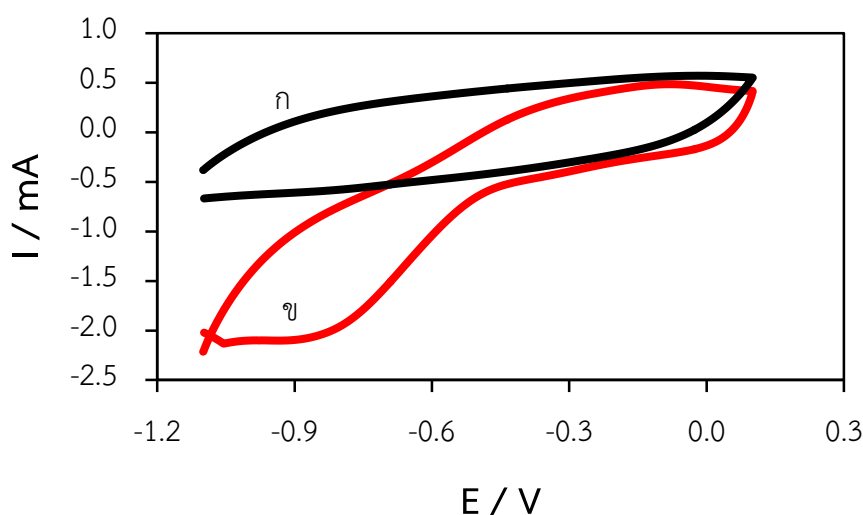


รูป 75 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับกระแสฟลักต่อพื้นที่ที่เกิดขึ้นของขั้วไฟฟ้าแอโนดโดยทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยทดสอบกับสารละลายกลูโคส 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ ใน 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4

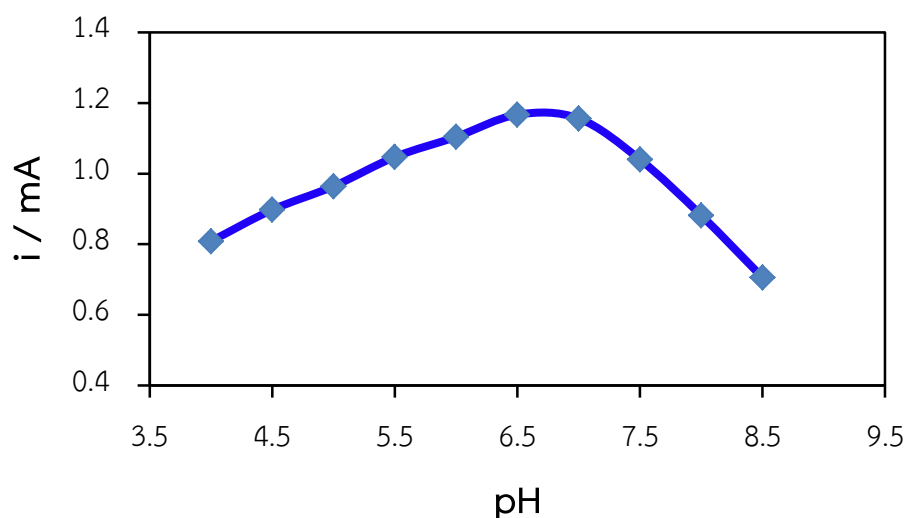
จากรูป 75 พบว่าที่ค่าความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส 10 มิลลิโมลาร์ กระแสฟลักที่ได้นั้นมีค่าน้อย เนื่องจากปริมาณของกลูโคสต่ำจึงทำให้ค่ากระแสฟลักต่ำด้วย เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสขึ้นไปอีกทำให้กระแสฟลักที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น จนกระทั่งกระแสฟลักมีค่าสูงสุดที่ 75 มิลลิโมลาร์ หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสเป็น 100, 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ พบว่ากระแสลดลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งการแข่งขันของกลูโคสกับกลูโคโนแลกโตนในการเกิดปฏิกิริยาและเอนไซม์เกิดการล้า จึงทำให้กระแสฟลักลดลง ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสที่ 100 มิลลิโมลาร์ ไปใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากกระแสฟลักที่ได้ในช่วงนี้มีค่ากระแสฟลักสูงสุด

3.5.5 ผลการทดสอบหาค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตที่เหมาะสมสำหรับขั้วไฟฟ้าแคโทดสภาวะขั้วไฟฟ้าแคโทด

จากการศึกษาปฏิกิริยารีดักชันของขั้วไฟฟ้าแคโทดโดยการปรับปรุงด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ร่วมกับอนุภาคนาโนทอง แล้วตรึงด้วยเอนไซม์บีลูรีบินออกซิเดส (SPCE/CNT/AuNP/BOD) แล้วนำขั้วไฟฟ้าแคโทด SPCE/CNT/AuNP/BOD ไปทดสอบกับสารละลายออกซิเจนอิ่มตัว ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 4.0, 4.5 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 ได้ผลดังรูป 76 พบว่าเกิดฟีกแคโทดิกบนไซคลิกโวลแทมโทแกรมที่ศักย์ไฟฟ้า -0.9 โวลต์ นำกระแสฟีกที่ได้มาพล็อตกราฟเทียบกับค่าพีเอชได้ผลดังรูป 77



รูป 76 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าแคโทด โดยทดสอบใน (ก) สารละลายไนโตรเจนในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 และ (ข) สารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4



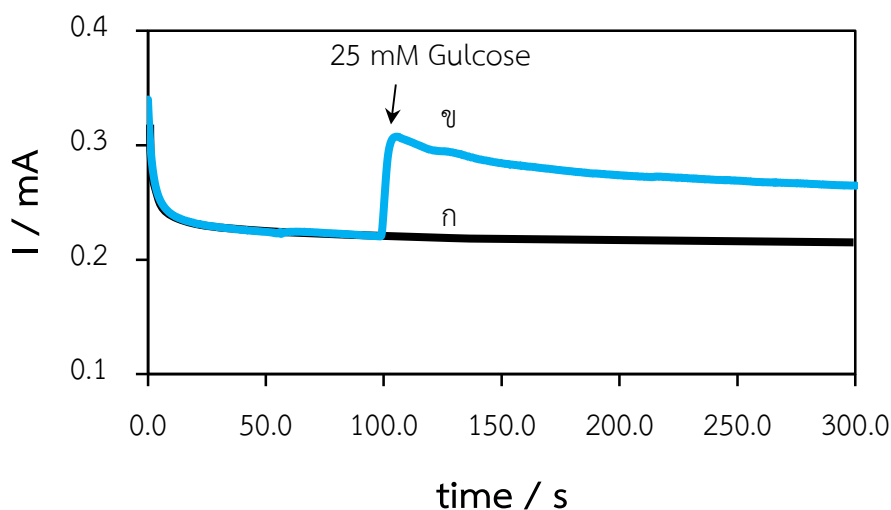
รูป 77 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับกระแสที่เกิดขึ้นของขั้วไฟฟ้าแคโทด โดยทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ในสารละลายออกซิเจนอิ่มตัวใน 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 4.0, 4.5 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.5 ตามลำดับ

จากรูป 77 พบว่าที่ค่าพีเอช 4.0 กระแสฟิสิกที่ได้นั้นก็มีค่าต่ำเพียง 0.79 มิลลิแอมแปร์ เนื่องจากเอนไซม์บิลิรูบินออกซิเดสเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สามารถเร่งปฏิกิริยาเคมีได้ในสภาวะที่เหมาะสมสภาวะหนึ่งเท่านั้น ในสภาวะค่าพีเอชต่างๆ เอนไซม์จะสามารถเร่งปฏิกิริยารีดักชันได้ไม่เต็มที่หรือเกิดการเสียสภาพของเอนไซม์ เมื่อทำการเพิ่มค่าพีเอชสูงขึ้นจะได้กระแสฟิสิกเพิ่มขึ้นตามไปด้วย จนได้กระแสฟิสิกสูงสุดที่พีเอช 7.0 (1.19 มิลลิแอมแปร์) หลังจากนั้นกระแสจะลดลงที่พีเอช 7.5, 8.0 และ 8.5 ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกค่าพีเอชที่เหมาะสมของเอนไซม์บิลิรูบินออกซิเดสได้จากจุดสูงสุดของเส้นกราฟ คือที่พีเอช 7.0 ไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.5.6 กระแสไฟฟ้าจากเครื่องเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

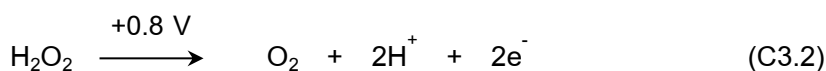
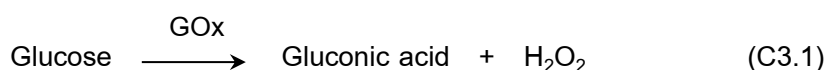
3.5.6.1 ผลการหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมแปร์เมตรีของเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแอโนด

การทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมแปร์เมตรีของเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแอโนด โดยใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/GOx เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ส่วนขั้วไฟฟ้า bare SPCE ใช้เป็นขั้วไฟฟ้าช่วยและใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง เมื่อนำไปทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมแปร์เมตรี โดยการให้ศักย์ไฟฟ้า 1.5 โวลต์ แล้วทำการวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นได้ผลดังรูป 78



รูป 78 โครโนแอมเปอร์โรแกรมของขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/GOx โดยทดสอบโดยการฉีด
(ก) 0.0 มิลลิโมลาร์ กลูโคส และ (ข) 25 มิลลิโมลาร์ กลูโคส ที่เวลา 100 วินาที

จากรูป 78 (ก) และ (ข) เมื่อทำการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้นลดลงจาก 0.33 มิลลิแอมแปร์ จนกระทั่งเริ่มคงที่ที่ 0.23 มิลลิแอมแปร์ เมื่อทำการฉีดสารละลายกลูโคสให้ได้ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ (รูป 78 (ข)) พบว่ามีกระแสเกิดขึ้น 0.10 มิลลิแอมแปร์ กระแสดังกล่าวเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันดังปฏิกิริยา (C3.1) และ (C3.2) เมื่อทำการฉีดสารละลายแบลนด์พบว่าไม่มีกระแสเกิดขึ้นดังรูป 78 (ก)

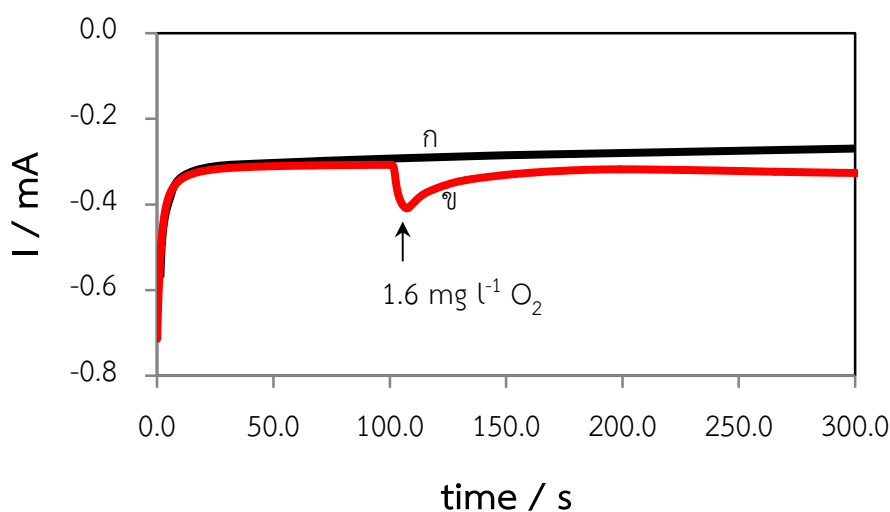


จากปฏิกิริยา (C3.1) เมื่อฉีดสารละลายกลูโคสลงไปในสารละลายเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GOx) ที่ตรึงบนขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/GOx จะทำการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และกรดกลูโคนิก ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$) ขึ้นซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเกิดการแตกตัวได้ออกซิเจน (O_2) ไฮโดรเจนไอออน (H^+)

และอิเล็กตรอน (e^-) ดังปฏิกิริยา (C3.2) เมื่อขั้วไฟฟ้ารับอิเล็กตรอนที่เกิดจากการแตกตัว ทำให้กระแสเพิ่มขึ้นดังรูป (รูป 78 (ข))

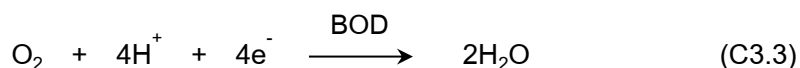
3.5.6.2 ผลการหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรีของเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแคโทด

จากการทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรีของเครื่องเซลล์ไฟฟ้าแคโทด โดยใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/BOD เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ส่วนขั้วไฟฟ้า bare SPCE ใช้เป็นขั้วไฟฟ้าช่วย และใช้ขั้วไฟฟ้า SPCE/Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง เมื่อนำไปทดสอบหากระแสไฟฟ้าเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี โดยการให้ศักย์ไฟฟ้า -0.9 โวลต์ แล้วทำการวัดกระแสไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงไปได้ผลดังรูป 79



รูป 79 โครโนแอมเปอร์โรแกรม ของขั้วไฟฟ้า SPCE/CNT/AuNP/BOD โดยทดสอบโดยการฉีด (ก) สารละลายอิ่มตัว N_2 และ (ข) สารละลายอิ่มตัว O_2 ที่เวลา 100 วินาที

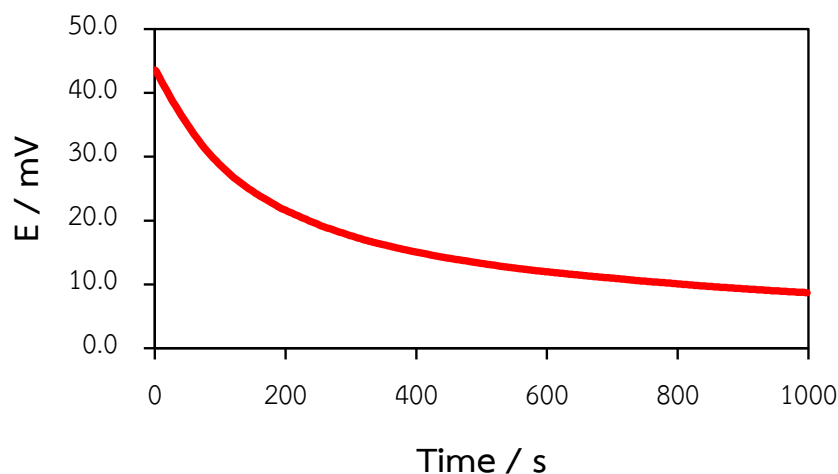
จากรูป 79 เมื่อทำการทดลองพบว่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้นเพิ่มขึ้นจาก -0.58 มิลลิแอมแปร์ จนกระทั่งเริ่มคงที่ที่ -0.32 มิลลิแอมแปร์ดังรูป 79 (ข) เมื่อทำการฉีดสารละลายออกซิเจนให้ถึงความเข้มข้น 2.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีกระแสเกิดขึ้น -0.14 มิลลิแอมแปร์ กระแสดังกล่าวเกิดจากปฏิกิริยารีดักชัน ดังปฏิกิริยา (C3.3) เมื่อทำการฉีดสารละลายแบลงค์ พบว่าไม่มีกระแสเกิดขึ้นดังรูป 79 (ก)



จากปฏิกิริยา (C3.3) การฉีดสารละลายออกซิเจนอิ่มตัวเข้าไป เอนไซม์บีลูรีบินออกซิเดส (BOD) จะเกิดการเร่งปฏิกิริยารีดักชัน โดยที่เอนไซม์จะได้รับออกซิเจน (O_2) และไฮโดรเจนไอออน (H^+) จากสารละลาย และอิเล็กตรอน (e^-) ที่ได้รับจากขั้วไฟฟ้า เอนไซม์จะเกิดการเร่งปฏิกิริยารีดักชัน ทำให้เกิดเป็นโมเลกุลน้ำ (H_2O) ขึ้นมา เมื่อขั้วไฟฟ้าให้อิเล็กตรอนแก่เอนไซม์ ทำให้กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นมีค่าเป็นลบดังรูป 79 (ข)

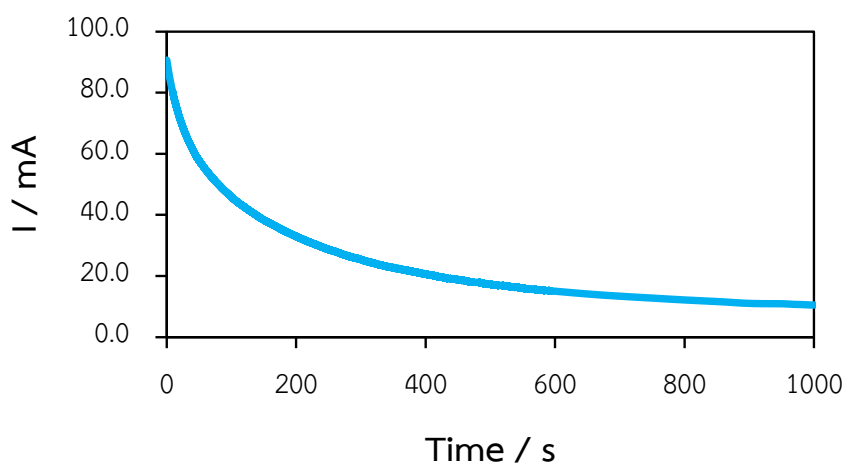
3.5.7 ผลจากการหาค่าศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

จากการศึกษาการประกอบเซลล์เชื้อเพลิงโดยใช้ขั้ว SPCE/CNT/AuNP/GOx เป็นขั้วไฟฟ้าแอโนด กับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 และใช้ขั้ว SPCE/CNT/AuNP/BOD เป็นขั้วไฟฟ้าแคโทด กับสารละลายออกซิเจนอิ่มตัวในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ตามลำดับ โดยนำเมมเบรนเลือกผ่านแนฟิออน (Nafion membrane) มากั้นระหว่างครึ่งเซลล์ เมมเบรนเลือกผ่านจะทำหน้าที่กั้นสารละลายโดยจะยอมให้ไฮโดรเจนไอออนผ่านได้เท่านั้น เมื่อทำการต่อโวลต์มิเตอร์ขนานตัวต้านทานที่มีความต้านทาน 10 กิโลโอห์ม แล้ววัดค่าศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้น จากนั้นนำศักย์ไฟฟ้าที่ได้มาพล็อตกราฟเทียบกับเวลาดังรูป 80 และทำการต่อแอมป์มิเตอร์กับตัวต้านทาน แล้ววัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้น จากนั้นนำกระแสไฟฟ้าที่ได้มาพล็อตกราฟเทียบกับเวลาดังรูป 81



รูป 80 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลาของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยทดลองในสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และสารละลายออกซิเจนอิ่มตัว

จากรูป 80 พบว่าเมื่อทำการทดลองเซลล์เชื้อเพลิงสามารถให้ศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นลดลง จาก 43.56 มิลลิโวลต์ เป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ที่มีการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยารีดักชัน จึงสามารถวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงได้ เมื่อเวลาผ่านไปศักย์ไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงมีค่าลดลงจนเหลือครึ่งหนึ่งของศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้น คือเหลือศักย์ไฟฟ้า 21.78 มิลลิโวลต์ ที่เวลา 210 วินาที เนื่องจากเอนไซม์เกิดการเสื่อมสภาพหรือเกิดการล้าจากทำงานของเอนไซม์ ทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานลดลง จนกระทั่งเริ่มคงที่ที่ 11.0 มิลลิโวลต์ ณ เวลา 1,000 วินาที



รูป 81 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับเวลาของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยทดลองในสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และสารละลายออกซิเจนอิ่มตัว

จากรูป 81 พบว่าเมื่อทำการทดลองเซลล์เชื้อเพลิงสามารถให้กระแสไฟฟ้าเริ่มต้น ลดลงจาก 90.54 มิลลิแอมแปร์ เป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ที่มีการเร่งปฏิกิริยา ออกซิเดชันและปฏิกิริยารีดักชัน ทำให้เกิดการไหลของอิเล็กตรอนในวงจร จึงสามารถวัดค่า กระแสไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงได้ เมื่อเวลาผ่านไปกระแสไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงมีค่าลดลงจน เหลือครึ่งหนึ่งของกระแสไฟฟ้าเริ่มต้น คือเหลือกระแสไฟฟ้า 45.27 มิลลิแอมแปร์ ที่เวลา 92 วินาที เนื่องจากเอนไซม์อาจเกิดการเสียสภาพหรือเกิดการล่าช้าจากการเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้ ประสิทธิภาพการทำงานจะลดลง เมื่อปริมาณออกซิเจนที่ลดลงเช่นกัน จึงทำให้กระแสลดลง หลังจากนั้นกระแสเริ่มมีค่าคงที่ที่ 10.15 มิลลิแอมแปร์ ที่เวลา 800 วินาที

3.5.8 ผลการหาพลังงานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

จากสมการ (M2.1) การหาพลังงานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงนั้นได้มาจากการคำนวณ ดังนี้

$$P = VI \quad (M2.1)$$

เมื่อ P คือ กำลังไฟฟ้า มีหน่วยเป็น วัตต์ (W)

V คือ ความต่างศักย์ที่ต่อกับเครื่องใช้ไฟฟ้ามีหน่วยเป็น โวลต์ (V)

I คือ กระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านเครื่องใช้ไฟฟ้ามีหน่วยเป็น แอมแปร์ (A)

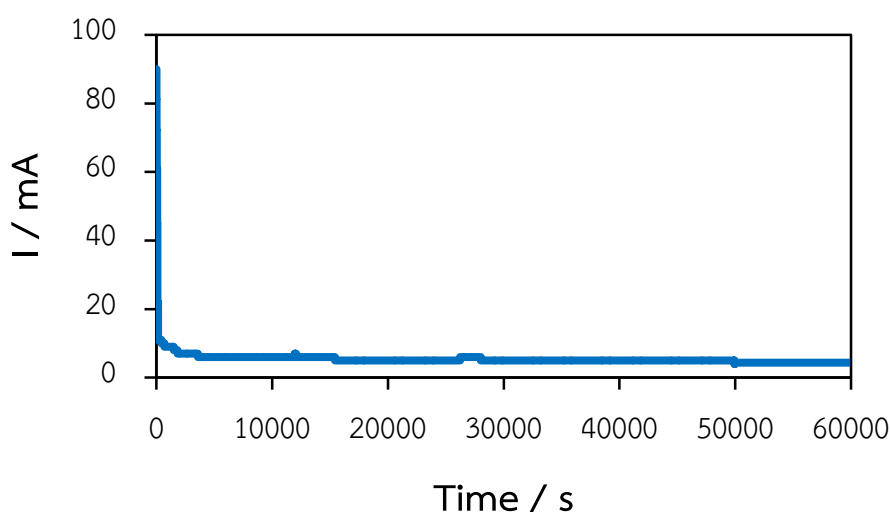
$$P = (43.56 \text{ mV})(90.54 \text{ mA})$$

$$P = 3.94 \text{ mW}$$

จากการทดลองประกอบเซลล์เชื้อเพลิงแล้ววัดค่าศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าที่ไหล ผ่านภายในเซลล์เชื้อเพลิง โดยใช้ความต้านทานภายนอกเท่ากับ 10 กิโลโอห์ม พบว่าให้ กระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ 90.54 มิลลิแอมแปร์ให้ศักย์ ไฟฟ้าสูงสุดที่ 43.56 มิลลิโวลต์ จากนั้นนำมา คำนวณหาค่ากำลังไฟฟ้าจากสมการ (M2.1) ทำให้ได้กำลังไฟฟ้าสูงสุดที่ 3.94 มิลลิวัตต์

3.5.9 ผลการหาอายุการใช้งานสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

จากการศึกษาการประกอบเซลล์เชื้อเพลิงโดยใช้ขั้ว SPCE/CNT/AuNP/GOx เป็นขั้วไฟฟ้าแอโนด ณ สารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 และใช้ขั้ว SPCE/CNT/AuNP/BOD เป็นขั้วไฟฟ้าแคโทด ณ สารละลายออกซิเจนอิ่มตัวในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ตามลำดับ โดยนำเมมเบรนเลือกผ่าน (Nafion membrane) มากั้นระหว่างครึ่งเซลล์ เมื่อทำการต่อตัวต้านทานภายนอกที่มีความต้านทาน 10 กิโลโอห์ม แล้ววัดกระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านภายในเซลล์ โดยครึ่งเซลล์แอโนดมีการติดตั้งปั๊มเพื่อให้เกิดการไหลเวียนของสารละลายกลูโคสตลอดเวลา และครึ่งเซลล์แคโทดมีการผ่านออกซิเจนตลอดเวลาเช่นกัน ทำการวัดกระแสไฟฟ้าเทียบกับเวลา ได้ผลดังรูป 82



รูป 82 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับเวลาของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยครึ่งเซลล์แอโนด (SPCE/CNT/AuNP/GOx) ใช้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และมีการติดตั้งปั๊มเพื่อให้เกิดการไหลตลอดเวลา ครึ่งเซลล์แคโทด (SPCE/CNT/AuNP/BOD) ใช้สารละลายออกซิเจนอิ่มตัวและมีการผ่านออกซิเจนตลอดเวลา

จากรูป 82 พบว่าเซลล์เชื้อเพลิงสามารถให้กระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ 90.01 มิลลิแอมแปร์ ศักย์ไฟฟ้าสูงสุดที่ 43.56 มิลลิโวลต์ เมื่อเวลาผ่านไป 6 นาที กระแสไฟฟ้าเหลือเพียง 45.00 มิลลิแอมแปร์ หลังจากนั้นกระแสจะเริ่มลดลงเรื่อยๆ จนมีค่าคงที่ที่ 1000 วินาที วัดกระแสที่คงที่

ได้เพียง 10.15 มิลลิแอมแปร์ และวัดศักย์ไฟฟ้าได้ 8.79 มิลลิโวลต์ ให้กำลังไฟฟ้า 91.04 มิลลิวัตต์ เมื่อคำนวณที่เวลาสุดท้ายของการทดลองที่ 60,000 วินาที พบว่าเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพยังให้กำลังไฟฟ้า 89.25 มิลลิวัตต์

3.6 สรุปผลการทดลอง

การทดลองสร้างเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ โดยสร้างขั้วไฟฟ้าแคโทดและขั้วไฟฟ้าแอโนดจากเทคนิคพิมพ์สกรีน และการประยุกต์ใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์ (CNT) มาตรึงก่อนเป็นชั้นแรกเพื่อให้นำไฟฟ้าได้ดีขึ้น หลังจากนั้นตรึงเพิ่มด้วยอนุภาคนาโนทอง (AuNP) เป็นชั้นที่สอง เพื่อช่วยให้มีการเกาะติดของเอนไซม์ได้ดีมากขึ้น แล้วตรึงด้วยเอนไซม์เป็นชั้นสุดท้าย สำหรับขั้วไฟฟ้าแคโทดทำการปรับปรุงโดยการตรึงด้วยเอนไซม์บิโกลูบินออกซิเดส (BOD) ส่วนขั้วไฟฟ้าแอโนดปรับปรุงโดยการตรึงด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (GOx) ในการทดสอบของเซลล์เชื้อเพลิง โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแอโนด (SPCE/CNT/AuNP/GOx) กับสารละลายกลูโคสเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ในสารละลาย 0.1 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.4 พบว่าเกิดปฏิกิริยาแอโนดิกบนไฮดรอกซิลโวลแทมโมแกรมที่ศักย์ไฟฟ้า 1.5 โวลต์ ส่วนครึ่งเซลล์แคโทด (SPCE/CNT/AuNP/BOD) ถูกทดสอบในสารละลายอิมิตัวออกซิเจนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 พบว่าเกิดปฏิกิริยาคาทอดิกบนไฮดรอกซิลโวลแทมโมแกรมที่ศักย์ไฟฟ้า -0.9 โวลต์

เมื่อประกอบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพและหาสภาวะที่เหมาะสม พบว่าเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพให้กำลังไฟฟ้าภายใต้สภาวะค่าพีเอชของขั้วไฟฟ้าแอโนดที่ 7.4 และขั้วไฟฟ้าแคโทดที่ 7.0 ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นที่เหมาะสมของกลูโคสที่ขั้วไฟฟ้าแอโนดเท่ากับ 100 มิลลิโมลาร์ และขั้วไฟฟ้าแคโทดจะให้ออกซิเจนอิมิตัว เมื่อวัดกระแสไฟฟ้าและศักย์ไฟฟ้าพบว่าให้กระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ 90.54 มิลลิแอมแปร์ ให้ศักย์ไฟฟ้าสูงสุดที่ 43.56 มิลลิโวลต์ ให้กำลังไฟฟ้าสูงสุดที่ 3.94 มิลลิวัตต์ และเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพมีอายุการใช้งานมากกว่า 60,000 วินาที ซึ่งคุณลักษณะต่างๆ ของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนี้สรุปได้ดัง

ตาราง 19 สภาวะที่เหมาะสมและพลังงานที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ

ตัวแปร ที่ทดลอง	SPCE/CNT/AuNP/GOx	SPCE/CNT/AuNP/BOD	เซลล์เชื้อเพลิง ชีวภาพ
พีเอช	7.4	7.0	แอโนด = 7.4 แคโทด = 7.0
ความเข้มข้นของ กลูโคส	100 มิลลิโมลาร์	-	100 มิลลิโมลาร์
ความเข้มข้นของ ออกซิเจน	-	ออกซิเจนอิ่มตัว	ออกซิเจนอิ่มตัว
ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด	-	-	43.56 มิลลิโวลต์
กระแสไฟฟ้าสูงสุด	-	-	90.54 มิลลิ แอมแปร์
กำลังไฟฟ้าสูงสุด	-	-	3.94 มิลลิวัตต์
อายุการใช้งาน	-	-	>60,000 วินาที

3.7 ข้อเสนอแนะ

1. การเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพนี้ ควรที่จะเพิ่มพื้นที่ทำงานของอิเล็กโทรด และเปลี่ยนจากหมึกคาร์บอนเป็นคาร์บอน Vulcan XC-72 ซึ่งจะทำให้การเพิ่มประสิทธิภาพการเร่งปฏิกิริยาสูงขึ้น
2. ควรเปลี่ยนเอนไซม์บิโลิรูบินออกซิเดสเป็นเอนไซม์ชนิดอื่น เช่น เอนไซม์แลคเคส เพื่อทำให้อายุการใช้งานยาวขึ้น และราคาการประดิษฐ์ถูกลง
3. ควรเปลี่ยนส่วนประกอบของการปรับปรุงเซลล์แอโนดหรือแคโทดให้แตกต่างกัน เพื่อทำให้ได้ศักย์ไฟฟ้าสูงสุดเพิ่มขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] Tangkuaram, T., Wang, J., Rodriguez, M.C., Laocharoensuk, R. and Veerasai, W. *Highly stable amplified low-potential electrocatalytic detection of NAD⁺ at azure-chitosan modified carbon electrodes*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2007. 121(1): p. 277-281.
- [2] Wang, J. and Musameh, M. *Carbon Nanotube/Teflon Composite Electrochemical Sensors and Biosensors*. Anal. Chem., 2003. 75(9): p. 2075-2079.
- [3] Yang, M., Yang, Y., Liu, Y., Shen, G. and Yu, R. *Platinum nanoparticles-doped sol-gel/carbon nanotubes composite electrochemical sensors and biosensors*. Biosensors and Bioelectronics, 2006. 21(7): p. 1125-1131.
- [4] Liu, G. and Lin, Y. *Amperometric glucose biosensor based on self-assembling glucose oxidase on carbon nanotubes*. Electrochemistry Communications, 2006. 8(2): p. 251-256.
- [5] Huang, J., Yang, Y., Shi, H., Song, Z., Zhao, Z., Anzai, J.-i., Osa, T. and Chen, Q. *Multi-walled carbon nanotubes-based glucose biosensor prepared by a layer-by-layer technique*. Materials Science and Engineering: C, 2006. 26(1): p. 113-117.
- [6] Liu, Y., Wang, M., Zhao, F., Xu, Z. and Dong, S. *The direct electron transfer of glucose oxidase and glucose biosensor based on carbon nanotubes/chitosan matrix*. Biosensors and Bioelectronics, 2005. 21(6): p. 984-988.
- [7] Lim, S.H., Wei, J., Lin, J., Li, Q. and KuaYou, J. *A glucose biosensor based on electrodeposition of palladium nanoparticles and glucose oxidase onto Nafion-solubilized carbon nanotube electrode*. Biosensors and Bioelectronics, 2005. 20(11): p. 2341-2346.
- [8] Wang, J. and Musameh, M. *Carbon-nanotubes doped polypyrrole glucose biosensor*. Analytica Chimica Acta, 2005. 539(1-2): p. 209-213.
- [9] Rubianes, M.D. and Rivas, G.A. *Carbon nanotubes paste electrode*. Electrochemistry Communications, 2003. 5(8): p. 689-694.
- [10] Wang, S.G., Zhang, Q., Wang, R., Yoon, S.F., Ahn, J., Yang, D.J., Tian, J.Z., Li, J.Q. and Zhou, Q. *Multi-walled carbon nanotubes for the immobilization of enzyme in glucose biosensors*. Electrochemistry Communications, 2003. 5(9): p. 800-803.
- [11] Tang, H., Chen, J., Yao, S., Nie, L., Deng, G. and Kuang, Y. *Amperometric glucose biosensor based on adsorption of glucose oxidase at platinum nanoparticle-modified carbon nanotube electrode*. Analytical Biochemistry, 2004. 331(1): p. 89-97.

- [12] Salimi, A., Compton, R.G. and Hallaj, R. *Glucose biosensor prepared by glucose oxidase encapsulated sol-gel and carbon-nanotube-modified basal plane pyrolytic graphite electrode*. Analytical Biochemistry, 2004. 333(1): p. 49-56.
- [13] Rivas, G.A., Miscoria, S.A., Desbrieres, J. and Barrera, G.D. *New biosensing platforms based on the layer-by-layer self-assembling of polyelectrolytes on Nafion/carbon nanotubes-coated glassy carbon electrodes*. Talanta, 2007. 71(1): p. 270-275.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกอ. และ สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า)
 -
2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
 - เชิงพาณิชย์ (มีการนำไปผลิต/ขาย/ก่อให้เกิดรายได้ หรือมีการนำไปประยุกต์ใช้โดยภาคธุรกิจ/บุคคลทั่วไป)
 -
 - เชิงนโยบาย (มีการกำหนดนโยบายอิงงานวิจัย/เกิดมาตรการใหม่/เปลี่ยนแปลงระเบียบข้อบังคับหรือวิธีทำงาน)
 -
 - เชิงสาธารณะ (มีเครือข่ายความร่วมมือ/สร้างกระแสความสนใจในวงกว้าง)
 -
 - เชิงวิชาการ (มีการพัฒนาการเรียนการสอน/สร้างนักวิจัยใหม่)
 -
3. อื่นๆ (เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ หนังสือ การจดสิทธิบัตร)
การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ ประเภทโปสเตอร์ 6 ครั้ง

1. Nontanan Gobutr, Anchana Preechaworapun and **Tanin Tangkuaram**. Biofuel cell based on the reaction of bio-nanotechnology. Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2012). 11-13 January 2012, The Empress hotel, Chiang Mai, Thailand.
2. **Tanin Tangkuaram**, Anchana Preechaworapun and Orawan Chailapakul. An amperometric glucose biosensor based on a glucose oxidase immobilized through a Prussian blue film on a gold nanoparticle/carbon nanotube-modified glassy carbon electrode. 14th Asian Chemical Congress 2011 (14th ACC). 5-8 September 2011, the Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand.

3. **Tanin Tangkuaram**, Nontanan Gobutr, Anchana Preechaworapun, Orawan Chailapakul. Development of an amperometric glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized through a Prussian blue film on a gold nanoparticle/carbon nanotube modified glassy carbon electrode. **The 2nd** Regional electrochemistry meeting of South-East Asia 2010. REMSEA. 16-19 November 2010, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
4. Pittayaporn Boontakham, **Tanin Tangkuaram**, Viruntachar Kreafo and Anchana Preechaworapun. Electrochemical glucose biosensor based on glucose oxidase bound with carbon nanotube-ferric cyanide and AuNP. Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2009). January 14-16, 2009, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand.
5. **Tanin Tangkuaram**, Anchana Preechaworapun, Orawan Chailapakul. A glucose biosensor based on a glucose oxidase modified glassy carbon electrode. The 11st Mentors meet mentee conference. 19-21 October, 2011. The holiday inn resort regent beach, Cha-Um, Petchburi, Thailand.
6. **Tanin Tangkuaram**, Sirithorn Saetang, Anchana Preechaworapun and Orawan Chailapakul. Development oxygen biosensor and its application for detect oxygen in natural water. The 10th Mentors meet mentee conference. 14-16 October, 2010. The holiday inn resort regent beach, Cha-Um, Petchburi, Thailand.