ชื่อ-สกุล ผู้อธิบายงานวิจัย พรพิมล ศรีคำหา สาขาวิชาที่ชำนาญพิเศษ
☐ นาย ■ น.ส. ☐ นาง ☐ ดร. ☐ อ. ☐ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศ.
☐ กายภาพ ☐ เกษตร
☐ ชีวภาพ ■ วิศวะ-เทคโน
☐ วิทย์-ศึกษา ☐ ทรัพย์-แวดล้อม
☐ แพทย์ ☐ ทั่วไป
ที่ทำงาน สายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะพลังงานและวัสดุ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กทม. 10140 โทร. 4278094

MULTI-ENZYME BIOSENSOR FOR SUCROSE MEASUREMENT PART I

P.Srikamta, W.Surareungchai, M.Tanticharoen, K.Krissanangkura and K.Kirtikara

Biosensor Research Group, Biotechnology Division
School of Energy and Materials, KMITT

The sucrose sensor consisted of a platinized carbon paper (PCP) and immobilized invertase (INV) and glucose oxidase (GOD). The sensor was attached to the tip of platinum electrode by a 250 mesh nylon sheet. Sucrose diffused through the nylon, was then converted to glucose and fructose.

$$\text{Sucrose} + H_2O \xrightarrow{INV} \alpha\text{-D-glucose} + \text{fructose} \quad \text{-------- (1)}$$

α-D-glucose was mutarotated to β-D-glucose and was oxidized enzymatically to gluconic acid and H_2O_2

$$\beta\text{-D-glucose} + O_2 + H_2O_2 \xrightarrow{GOD} \text{gluconic acid} + H_2O_2 \quad \text{-------- (2)}$$

By applying a potential of + 500 mV (vs Ag/AgCl) at the electrode, H_2O_2 was oxidized. The output current was proportional to sucrose concentration. The mutarotation was accelerated by co-immobilization of INV and GOD with mutarotase hence the sucrose detection was faster.

The response for the enzymes electrode, in 0.1 M KCl and 0.1 M sodium acetate buffer pH 5.6, was linear to sucrose concentration between 2-12 mM. Response time was within 1 minute. The relative standard deviation for 7.4 mM sucrose was 0.008% (n=33).

มัลติเอนไซม์ไบโอเซนเซอร์สำหรับการวัดปริมาณน้ำตาลซูโครส

พรพิมล ศรีคำหา, วีระศักดิ์ สุระเรืองชัย, มรกต ตันติเจริญ, คณิต กฤษณังกูร และกฤษณพงศ์ กีรติกร

กลุ่มวิจัยไบโอเซนเซอร์ สายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะพลังงานและวัสดุ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ซูโครสเซนเซอร์สร้างขึ้นโดยการตรึงเอนไซม์อินเวอร์เทสและกลูโคสออกซิเดสบน platinized carbon paper (PCP) แล้วนำไปยึดกับขั้วแพลตินัมโดยมีแผ่นไนลอน (250 เมช) เป็นตัวยึดซูโครสที่แพร่ผ่านฝ้าไนลอนเข้าไปถึงชั้นของเอนไซม์ถูกเปลี่ยนเป็น α-D-glucose

$$\text{Sucrose} + H_2O \xrightarrow{INV} \alpha\text{-D-glucose} + \text{fructose} \quad \text{-------- (1)}$$

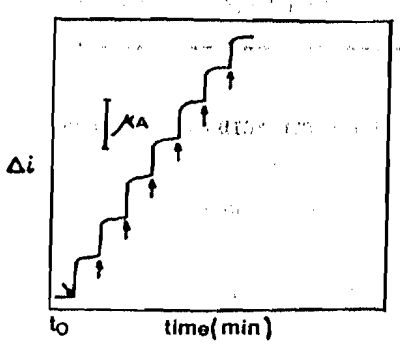
α-D-glucose มิวตาโรเตตไปเป็น β-D-glucose ซึ่งถูกออกซิไดส์ต่อไปโดยกลูโคสออกซิเดสได้กรดกลูโคนิคและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

$$\beta\text{-D-glucose} + O_2 + H_2O_2 \xrightarrow{GOD} \text{gluconic acid} + H_2O_2 \quad \text{-------- (2)}$$

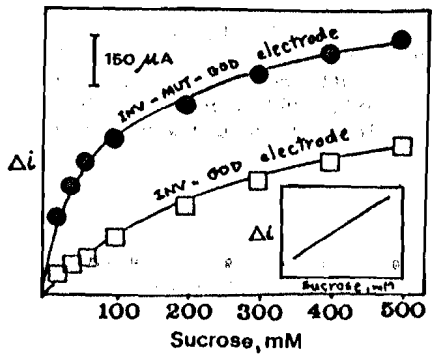
เมื่อป้อนศักย์ไฟฟ้าขนาด 500 มิลลิโวลต์เข้าไปเทียบกับขั้วอ้างอิง(Ag/AgCl)เกิดการออกซิไดส์ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และก่อให้เกิดกระแสอิเลคตรอนขึ้น ขนาดของกระแสที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนกับปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง การตอบสนองของเซนเซอร์เร็วขึ้นเมื่อตรึงเอนไซม์มิวตาโรเตสที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูป อัลฟาเป็นเบต้าของกลูโคสร่วมกับอินเวอร์เทสและกลูโคสออกซิเดส

ซูโครสเซนเซอร์ตอบสนองต่อน้ำตาลซูโครสได้อย่างเชิงเส้นในช่วงความเข้มข้นของซูโครสตั้งแต่ 2-12 มิลลิโมลาร์ (ทำการวัดใน 0.1 โมลาร์โซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์พีเอช 5.6 ที่มี 0.1 โมลาร์โปตัสเซียมคลอไรด์) ใช้เวลาในการตอบสนองไม่เกิน 1 นาทีจากการทำการวัดซ้ำจำนวน 33 ครั้งที่ความเข้มข้นซูโครส 7.4 มิลลิโมลาร์ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานร้อยละ 0.008

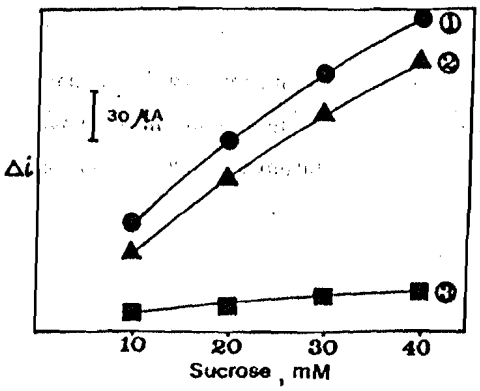
ชื่อเรื่อง (ไทย) มัลติเอนไซม์ไบโอเซนเซอร์สำหรับการวัดปริมาณน้ำตาลซูโครส



รูปที่ 1 แสดงลักษณะสัญญาณการตอบสนองของเอนไซม์อิเลคโทรด (INV-MUT-GOD electrode) โดยการวัดสารละลายตัวอย่างน้ำตาลซูโครส (ใน 0.1 M KCl in 0.1 M Na-acetate buffer pH 5.6) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ(↑) สัญญาณกระแสไฟฟ้า (i) เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นซูโครสสูงมาก ขึ้นความแตกต่างระหว่างขนาดกระแสไฟฟ้าจากจุดเริ่มต้น (t_0) ถึงจุดที่คงที่ (Δi) สัมพันธ์กับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส



รูปที่ 2 แสดงลักษณะกราฟทางจลน์ศาสตร์ของเอนไซม์อิเลคโทรดที่แตกต่างกันโดยผลของมิวตาโรเตส ทำให้การตอบสนองไวมากขึ้น และให้ขนาดสัญญาณ (Δi) สูงขึ้นจากรูปเล็กแสดงกราฟมาตรฐานจากเชิงเส้นที่ได้จาก INV-MUT-GOD electrode



รูปที่ 3 แสดงผลการกำจัดสารแทรกสอดที่เป็นกลูโคสโดยการสร้างชั้นเอนไซม์ GOD-CAT ในกราฟ (1) ผลจากการวัดโดย INV-MUT-GOD ซึ่งจะให้ขนาดสัญญาณที่สูงกว่า (2) ที่เป็น INV-MUT-GOD ควบคู่กับชั้น GOC-CAT เมื่อหาปริมาณกลูโคสโดย GOD electrode (3) ได้สัญญาณในขนาดที่เมื่อรวมกับที่กำจัดแล้วจะเท่ากับสัญญาณที่ยังไม่ได้กำจัดกลูโคส

Reference

1. Bennetto, H.P., De keyzer, D.R., Dalaney, G.M., Koshy, A.,Mason, J.R., Mourla, G., Razack, L.A., Stirling, J.L., Thurston, C.F., Auderton, D.J. and Mullen, W.H. (1988) Int. Ind. Biotech., 8:2, 5-10
2. Bennetto, H.P., De Keyer, D.N., Dalaney, G.M., Koshy, A., Mason, J.R., Razack, L.A., Stirling, J.L. and Thurston, C.F.(1987)Int.Analyst 1,22-27
3. Scheller, F. and Rennenberg, R. (1983) Anal. Chim. Acta. 152, 265-9