ชื่อวิทยานิพนธ์ เอนไซม์เทอร์มิสเตอร์สำหรับหาปริมาณซูโครส

ผู้เขียน นางสาวสุกัลยา พลเดช

สาขาวิชา เคมีวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2545

บทคัดย่อ

เอนไซม์เทอร์มิสเตอร์ เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณสารโดยการวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิหรือจากความร้อนที่เกิดขึ้น หลักการของระบบเป็นการทำงานร่วมกันระหว่างสารชีวภาพที่เป็นเอนไซม์กับทรานสดิวเซอร์คือ เทอร์มิสเตอร์ ซึ่งมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมาก ลักษณะของระบบเอนไซม์เทอร์มิสเตอร์ประกอบด้วยคอลัมน์ที่เป็นเทฟลอน (teflon) ที่บรรจุเอนไซม์สภาวะตรึงโดยมีเทอร์มิสเตอร์ติดอยู่ตรงปลายคอลัมน์ ซึ่งอยู่ในกระบอกอะลูมิเนียม (aluminium cylinder) ที่มีการควบคุมอุณหภูมิภายใน

ในงานวิจัยนี้ทดสอบการทำงานของเอนไซม์เทอร์มิสเตอร์ในการหาปริมาณซูโครส โดยวัดความร้อนที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของซูโครสโดยเอนไซม์อินเวอร์เทส ในระบบใช้ไดอะไลเซอร์เพื่อป้องกันไม่ให้โมเลกุลขนาดใหญ่ผ่านเข้าไปอุดตันเอนไซม์รีแอกเตอร์ หาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ค่าการตอบสนองสูงและเวลาในการวิเคราะห์น้อย โดยอัตราไหลของสารละลายบัฟเฟอร์ และสารตัวอย่างคือ 1.00 และ 0.30 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรสารตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดอยู่ที่ 30 มิลลิโมลาร์ และมีช่วงการตอบสนองเชิงเส้นสูงถึง 400 มิลลิโมลาร์ เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ 8-10 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง มีความคงตัวในการใช้งานของเอนไซม์รีแอกเตอร์มากกว่า 800 ชั่วโมง นอกจากนี้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ฟรักโทส และกรดซิตริกที่แตกต่างกันของสารตัวอย่างไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ของระบบ เปรียบเทียบผลที่ได้จากการหาปริมาณซูโครสในตัวอย่างเครื่องดื่มกระป๋องด้วยเทคนิคเอนไซม์เทอร์มิสเตอร์กับสเปกโตรโฟโตเมตริก และโพลาริเมตริก โดยทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างความแตกต่างและค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของสองวิธีวิเคราะห์ ด้วยวิธีของ Bland-Altman พบว่าเอนไซม์เทอร์มิสเตอร์ให้ผลทดสอบน้อยกว่าอีกสองวิธี

Thesis Title	Enzyme Thermistor for the Determination of Sucrose
Author	Miss Sukanya Pondet
Major Program	Analytical Chemistry
Academic	2002

Abstract

Enzyme thermistor is a qualitative technique to detect the temperature or the heat change from the reaction. This technique incorporates a biological sensing element and a transducer. A thermistor is very sensitive to the temperature change. It consists of teflon column filled with immobilized enzyme and has a thermistor attached to its outlet. The temperature of the system is controlled in an aluminium cylinder.

Enzyme thermistor was used to determine sucrose by detecting the heat change from the hydrolysis of sucrose which was catalyzed by invertase. This system used a dialyser to filter off large molecules which might block the enzyme reactor. The system was optimized to obtain a high response in a short period of time. The optimum condition were 1.00 and 0.30 ml/min for the flow rates of the buffer and sample line respectively, and the sample volume was 500 µl. The limit of detection was 30 mM and the response was linear up to 400 mM. The analysis time was 8-10 min. The long term stability of the enzyme reactor is more than 800 h operation time. The presence of glucose, fructose and citric acid concentration in the sample did not affect the response of the system. The enzyme thermistor was used to determine sucrose in canned drink and beverage and compared the results to the spectrophotometric and polarimetric methods using Bland-Altman method. The result from the enzyme thermistor method were less than the other two methods.