บทที่ 3
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วัสดุองค์ประกอบที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์มีส่วนสำคัญต่อการตรึงเอนไซม์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านไบโอเซนเซอร์ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีการแบ่งงานวิจัยต่างๆออกเป็นประเภทของวัสดุที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ ดังนี้

3.1 ไคโตซาน

ไคโตซานเป็นวัสดุตรึงที่มีงานวิจัยหลายงานเลือกใช้ในการตรึงกับเอนไซม์ชนิดต่างๆ ซึ่งพบว่าไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่มีความสามารถในการยึดติดที่ดี มีความยืดหยุ่นเล็กน้อย ทำให้มีคุณสมบัติในการขึ้นรูปเป็นแบบต่างๆได้ ดังในงานวิจัยของ Cetinus และคณะ(2000) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์คาตะเลส(catalase) ด้วยวิธีการยึดด้วยพันธะโควาเลนต์ในไคโตซาน ซึ่งพบว่า เสถียรภาพในเก็บรักษาของเอนไซม์ตรึงรูปในไคโตซานมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ 50 % จากเริ่มต้นหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานถึง 25 วัน ในขณะที่เอนไซม์อิสระมีระยะเวลาการเก็บรักษาไว้ได้เพียง 18 วัน โดยในงานวิจัยต่อมาของ Chang และ Juang(2005) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase) เบต้า-อะไมเลส (ß-Amylase)และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ด้วยวิธีครอสลิงค์ในไคโตซานและเคลย์(clay) แล้วพบว่า เสถียรภาพของเอนไซม์ตรึงรูปทั้ง 3 ชนิดที่ทำการทดสอบในช่วงอุณหภูมิ 15-85 องศาเซลเซียส จะยังคงมีกิจกรรมเอนไซม์สูงกว่าระดับ 71 % , 63% และ 74 % จากเริ่มต้นตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่าเสถียรภาพในการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูปมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ 81 % จากเริ่มต้นหลังจากนำกลับมาใช้แล้ว 50 ครั้ง ทั้งนี้จะสังเกตเห็นได้อีกในงานวิจัยของ Tang และคณะ(2006) ที่ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์โปรตีเอส (proteinase) บนอนุภาคนาโนของไคโตซาน แล้วพบว่าที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส เอนไซม์ตรึงรูปมีกิจกรรมเอนไซม์ลดลงจากเริ่มต้นเพียง 5 % และ 10 % ตามลำดับ ในขณะที่เอนไซม์อิสระมีกิจกรรมเอนไซม์ลดลงจากเริ่มต้นถึง 30.1 % และ 35.7 % ตามลำดับ และเสถียรภาพการเก็บรักษาของเอนไซม์ตรึงรูปมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ 80 % จากเริ่มต้นหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 8 วัน ในขณะที่เอนไซม์อิสระมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่เพียง 25 % จากเริ่มต้น และในงานวิจัยของ Wang และคณะ(2002) ซึ่งศึกษาการตรึงเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ด้วยการห่อหุ้มในไคโตซาน แล้วพบว่า เสถียรภาพในการเก็บรักษาของเอนไซม์ตรึงรูปมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ 75 % จากเริ่มต้นหลังจากที่มีการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 70 วัน โดยจากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นนี้จะแสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ตรึงรูปในไคโตซานจะมีเสถียรภาพต่ออุณหภูมิ การนำกลับมาใช้ใหม่ และการเก็บรักษาสูงกว่าเอมไซม์อิสระ

และจากคุณสมบัติของไคโตซานที่มีความยืดหยุ่นจึงทำให้ในงานวิจัยบางงานนำไคโตซานไปใช้เป็นองค์ประกอบในวัสดุตรึงเพื่อแก้ปัญหาการเปราะแตกหักของวัสดุ ตัวอย่างเช่น ในงานวิจัยของ Yang และคณะ(2004) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส(glucose oxidase) ด้วยวิธีการห่อหุ้มลงบนไคโตซานที่มีเซอร์โครเนียร์ออกไซด์(ZrO_2)เป็นองค์ประกอบ โดยพบว่าเซอร์โครเนียร์ออกไซด์มีลักษณะเปราะแตกหักง่ายจึงใช้ไคโตซานซึ่งมีความยืดหยุ่นมาผสมในวัสดุตรึง ทำให้วัสดุตรึงที่ได้มีความแข็งแรงและมีพื้นผิวเป็นรูพรุนซึ่งเหมาะกับการยึดติดเอนไซม์ได้ดี ทั้งนี้เมื่อนำเอนไซม์ตรึงรูปในวัสดุตรึงนี้ไปทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเทคนิคทางไฟฟ้า จะพบว่ามีความไวต่อการตอบรับสัญญาณสูงโดยใช้เวลาน้อยกว่า 10 วินาที และเสถียรภาพในการเก็บรักษาของเอนไซม์ตรึงรูปมีกิจกรรมเอนไซม์ 75.2 % จากเริ่มต้น หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 1 เดือน

จากงานวิจัยที่ได้กล่าวมาข้างต้นนั้นจะเห็นได้ว่า มีการเลือกใช้ไคโตซานเป็นวัสดุในการตรึงเอนไซม์หลากหลายชนิดรวมไปถึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดส ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอล ดังในงานวิจัยของ Wang และคณะ(2003) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสลงบนซิลิก้าโซลเจลที่มีไคโตซานเป็นองค์ประกอบ โดยไคโตซานจะช่วยลดการเปราะแตกหักของซิลิก้าโซลเจล ทำให้วัสดุตรึงมีความแข็งแรงขึ้น เมื่อนำไปทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเทคนิคทางไฟฟ้าจะมีความไวต่อการตอบรับสัญญาณเร็วกว่า 2 วินาที และเสถียรภาพในการเก็บรักษาของเอนไซม์ตรึงรูปจะมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ 75 % จากเริ่มต้นหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 60 วัน และในงานวิจัยของ Xu และคณะ(2006) เป็นอีกงานวิจัยที่ศึกษาการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสลงบน ซิลิก้าโซลเจลที่มีคาร์บอกซีเมททิวไคโตซาน(o-carboxymethyl-chitosan) เพื่อการลดการเปราะหักอีกเช่นกัน ซึ่งพบว่าความไวต่อการตอบรับสัญญาณเร็วกว่า 5 วินาที ซึ่งจะเห็นได้ว่าไคโตซานเป็นวัสดุตรึงที่มีความยืดหยุ่น ไม่เปราะแตกหักง่าย และมีความสามารถในการยึดติดเอนไซม์ได้ดี จึงทำให้มีเสถียรภาพในการทำงานและการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังสามารถช่วยให้มีความไวต่อการตอบรับสัญญาณในทางไฟฟ้าอีกด้วย

3.2 อนุภาคนาโนของโลหะ

อนุภาคนาโนของโลหะ เช่น ทอง เงิน โคบอนต์ ฯลฯ เป็นวัสดุตรึงอีกชนิดหนึ่งที่มีหลายงานวิจัยสนใจนำมาผสมในวัสดุตรึงต่างๆ ตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Luo และคณะ(2004) ได้ศึกษาการตรึงกลูโคสออกซิเดสด้วยการห่อหุ้มในไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนทองจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีใช้ตัวรีดิวซ์ขนาดเฉลี่ย17 นาโนเมตรเป็นองค์ประกอบ โดยพบว่า วัสดุตรึงที่มีอนุภาคนาโนทองเป็นองค์ประกอบนั้นมีความเสถียรในการทำงานและการเก็บรักษาของเอนไซม์สูงกว่าวัสดุตรึง

ที่ไม่มีอนุภาคนาโนทอง เนื่องจากอนุภาคนาโนทองมีความสามารถในการช่วยยึดติดเอนไซม์ในวัสดุตรึงที่ดี และนอกจากนี้ยังมีความสามารถในการถ่ายเทอิเล็กตรอนและนำไฟฟ้าที่ดี จึงทำให้มีความไวต่อการตอบรับสัญญาณสูงกว่าวัสดุตรึงที่ไม่อนุภาคนาโนทองเป็นองค์ประกอบถึง .5 เท่า

นอกจากอนุภาคนาโนทองแล้วยังมีการใช้อนุภาคนาโนเงิน ซึ่งพบว่าเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดีที่สุดในโลหะต่างๆและมีประสิทธิภาพในการถ่ายเทอิเล็กตรอนได้ดีกว่าอนุภาคนาโนทอง ดังในงานวิจัย Ren และคณะ(2005) ซึ่งได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสด้วยวิธีครอสลิงค์ลงในพอลิไวนิวบิวทิวรอล (polyvinyl butyral) ที่มีอนุภาคนาโนเงินจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีรีเวิสไมเซลล์ขนาดเฉลี่ย 7 นาโนเมตรเป็นองค์ประกอบ โดยพบว่า วัสดุตรึงที่มีอนุภาคนาโนเงินจะมีช่วงการตอบรับสัญญาณเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุตรึงที่ไม่มีอนุภาคนาโนเงิน โดยมีค่าเพิ่มจาก 0.531 ไปเป็น 31.7 ไมโครแอมแปร์ และเวลาที่ใช้ในการตอบรับสัญญาณมีค่าลดลงจาก 60 วินาที เหลือเพียง 20 วินาทีเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุตรึงที่ไม่มีอนุภาคนาโนเงิน และในงานวิจัยของ Ren และคณะ (2005) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสด้วยการครอสลิงค์ในพอลิไวนิวบิวทิวรอลที่มีอนุภาคนาโนผสมเงินและทองซึ่งได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีรีเวิสไมเซลล์เป็นองค์ประกอบ โดยพบว่าช่วงการตอบรับสัญญาณของวัสดุตรึงที่มีอนุภาคนาโนผสมระหว่างเงินกับทองเป็นองค์ประกอบจะมีค่าสูงกว่าวัสดุตรึงที่ไม่มีอนุภาคนาโนผสมของโลหะ อีกทั้งยังพบว่าวัสดุตรึงที่มีอนุภาคนาโนผสมที่อัตราส่วนระหว่างเงินต่อทอง 50:50 มีช่วงการตอบรับสัญญาณสูงกว่าอัตราส่วน 75:25 ทั้งนี้เนื่องจากที่อัตราส่วนระหว่างเงินต่อทอง 75 : 25 จะมีขนาดของอนุภาคประมาณ 3 นาโนเมตร ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีขนาดเล็กกว่าขนาดของเอนไซม์มาก จึงอาจทำให้มีการดูดติดเอนไซม์ที่พื้นผิวอนุภาคนาโนของโลหะผสมแบบซ้อนทับกันและโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงไป จึงทำให้การถ่ายเทมวลสารของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่แพร่จากอิเล็กโทรดไปยังสารละลายถูกจำกัด ส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าต่ำตามไปด้วย และในงานวิจัยของ Huang และคณะ (2004) ได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีใช้ตัวรีดิวซ์ซึ่งมีความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตและสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดร์แตกต่างกัน 10 เท่า ทั้งนี้เพื่อให้การสังเคราะห์ที่ได้เกิดเป็นอนุภาคนาโนเงินทั้งหมด โดยพบว่า ที่ความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 0.001 โมล่าร์จะมีขนาดเฉลี่ยของอนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้เท่ากับ 45 นาโนเมตร เช่นเดียวกันกับในงานวิจัยของ Yakutik และ Shevchenkoได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินด้วยวิธีรีเวิสไมเซลล์ที่ความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเดียวกัน แล้วพบว่า อนุภาคนาโนเงินที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะทรงกลม และมีขนาดเฉลี่ยของอนุภาค 30 นาโนเมตรขึ้นไป

และในการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสนั้นได้มีการนำอนุภาคนาโนของโลหะมาผสมในวัสดุตรึงด้วยเหมือนกัน ดังเช่น ในงานวิจัยของ Xu และคณะ(2004) ได้ศึกษาการตรึง

เอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสลงในซิลิก้าโซล – เจลที่มีอนุภาคนาโนเงินซึ่งได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีรีเวิสไมเซลล์ขนาดเฉลี่ย 40 นาโนเมตรเป็นองค์ประกอบในวัสดุตรึงนี้ โดยพบว่าอนุภาคนาโนเงินจะช่วยปรับปรุงการนำไฟฟ้า และการดูดติดกับเอนไซม์ ทำให้มีความไวและมีเสถียรภาพต่อการตอบรับสัญญาณ โดยการตอบรับสัญญาณลดลงเพียง 10 % จากเริ่มต้น หลังจากเก็บรักษาไว้ 1 สัปดาห์ และลดลงเพียง 18 % จากเริ่มต้น หลังจากเก็บรักษาไว้ 2 สัปดาห์ และในงานวิจัยต่อมาของ Xu และคณะ(2006) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสด้วยการห่อหุ้มในคาร์บอกซีเมททิวไคโตซานที่มีองค์ประกอบของอนุภาคนาโนทองเป็นองค์ประกอบ โดยพบว่า มีความไวต่อการตอบรับสัญญาณเพียง 5 วินาที เช่นเดียวกับในงานวิจัยของ Luo และคณะ (2005) ซึ่งศึกษาการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสด้วยการห่อหุ้มในไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนทองจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีใช้ตัวรีดิวซ์เป็นองค์ประกอบ แล้วพบว่า มีเสถียรภาพในการเก็บรักษาเอนไซม์ที่ดี โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ 85 % จากเริ่มต้น หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานถึง 4 สัปดาห์ และเสถียรภาพในการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูปมีกิจกรรมเอนไซม์ลดลงเพียง 6 % จากเริ่มต้น หลังจากมีการใช้งานอย่างต่อเนื่อง 50 ครั้ง และในงานวิจัยของ Tangkuaram และคณะ(2006) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสด้วยการห่อหุ้มในไคโตซานที่มีอนุภาคนาโนทองจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีใช้ตัวรีดิวซ์ขนาดเฉลี่ย 16.8 นาโนเมตร แล้วพบว่า เสถียรภาพในการเก็บรักษาเอนไซม์มีค่าสูง โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือ 95% จากเริ่มต้น หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 30 วัน

จากงานวิจัยที่กล่าวมาทำให้ทราบว่าอนุภาคนาโนของโลหะต่างๆมีคุณสมบัติที่สำคัญสองประการ คือ ความสามารถในการดูดติดกับเอนไซม์ได้ดี จึงทำให้ป้องกันการหลุดออกของเอนไซม์จากวัสดุตรึง และช่วยในถ่ายเทอิเล็กตรอนและการนำไฟฟ้าที่ดี จึงทำให้ไบโอเซนเซอร์มีความไวต่อการตอบรับสัญญาณที่ดี

3.3 คาร์บอนนาโนทิวบ์และวัสดุอื่นๆ

คาร์บอนนาโนทิวเป็นวัสดุตรึงอีกชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติในการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่ดี เช่นเดียวกับอนุภาคนาโนเงิน ดังเช่นตัวอย่างในงานวิจัยของ Wang และคณะ (2003) ซึ่งได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสลงในคาร์บอนนาโนทิวบ์แบบหลายชั้น (multiwalled carbon nanotube)แล้วพบว่า เสถียรภาพในการเก็บรักษาเอนไซม์ตรึงรูปในคาร์บอนนาโนทิวบ์แบบหลายชั้นมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ 86.7 % จากเริ่มต้นหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานถึง 4 เดือน ในขณะที่เสถียรภาพการเก็บรักษาของเอนไซม์ตรึงรูปใน glassy carbon (GC) มีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่เพียง 37.2 % จากเริ่มต้น หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4

องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 4 เดือน ทั้งนี้จะพบว่าการตรึงเอนไซม์ลงบนคาร์บอนนาโนทิวบ์แบบหลายชั้น นอกจากจะช่วยให้มีเสถียรภาพในการเก็บรักษาเอนไซม์แล้ว ยังช่วยในการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่ดีอีกด้วยจึงทำให้ไบโอเซนเซอร์ที่ได้มีความไวต่อการตอบรับสัญญาณ ดังในงานวิจัยของ Luo และคณะ(2005) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสด้วยวิธีการห่อหุ้มลงในไคโตซานที่มีคาร์บอนนาโนทิวเป็นองค์ประกอบ แล้วพบว่า อัตราการถ่ายเทอิเล็กตรอนระหว่างกลูโคสออกซิเดสกับอิเล็กโทรดมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 7.73 ต่อวินาที และมีความไวต่อการวิเคราะห์สารและเสถียรภาพที่ดี อีกทั้งยังมีการใช้คาร์บอนนาโนทิวบ์และอนุภาคนาโนของโลหะต่างๆผสมในวัสดุตรึง ดังเช่นในงานวิจัยของ Yang และคณะ(2005) ซึ่งได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสด้วยการครอสลิงค์ลงในวัสดุตรึงไคโตซานที่มีส่วน ประกอบอนุภาคนาโนโคบอลต์เฮกซะไซยาโนเฟอเรต (cobalt hexacyanoferrate nanoparticle) และคาร์บอนนาโนทิวบ์แล้ว พบว่า สัญญาณทางไฟฟ้ามีค่าสูงขึ้น 70 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุตรึงที่ปราศจากอนุภาคนาโนโคบอลต์เฮกซะไซยาโนเฟอเรตและคาร์บอนนาโนทิวบ์ และการตอบรับสัญญาณใช้เวลาน้อยกว่า 10 วินาที ซึ่งแสดงให้เห็นว่า อนุภาคนาโนโคบอลต์เฮกซะไซยาโนเฟอเรตสามารถช่วยในการปรับปรุงในปฏิกิริยารีดอก และคาร์บอนนาโนทิวบ์มาช่วยในการปรับปรุงการถ่ายเทอิเล็กตรอนให้ดีขึ้น และในงานวิจัยของ Yang และคณะ(2006) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดส (cholesterol oxidase) ด้วยวิธีการครอสลิงค์ลงในไคโตซานที่มีคาร์บอนนาโนทิวบ์แบบหลายชั้นและอนุภาคนาโนของแพททินัม (platinum nanoparticle) เป็นองค์ประกอบ โดยพบว่าอนุภาคนาโนแพททินัมช่วยในการปรับปรุงการทำงานของตัวเร่งปฏิกิริยาทางไฟฟ้า (electrocatalytic activity) ส่วนคาร์บอนบอนนาโนทิวบ์มีคุณสมบัติในการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่ดี จึงทำให้การตอบรับสัญญาณใช้เวลาเพียง 5 วินาที และเสถียรภาพในการเก็บรักษาของเอนไซม์ตรึงรูปมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลืออยู่ 90 % จากเริ่มต้น หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 1 สัปดาห์

นอกจากนี้ยังพบว่ามีใช้วัสดุอื่นๆในการตรึงเอนไซม์ ดังเช่นในงานวิจัยของ Fernandes และคณะ (2004) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์ฮอร์สแรดิชเปอร์ออกซิเดสด้วยพันธะโควาเลนต์บนพอลิอะนิไลน์ (polyaniline) แล้วพบว่า พีเอชของสารตั้งต้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ตรึงรูป คือ พีเอช 6 และเสถียรภาพในการเก็บรักษาของเอนไซม์มีค่าสูง โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือเกือบ 100% จากเริ่มต้นหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 70 วัน และในงานวิจัยของ Brahimและคณะ(2002) ได้ศึกษาการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสด้วยการห่อหุ้มในพอลิพิรอล (polypyrrole) โดยพบว่า การตอบรับสัญญาณใช้เวลาเพียง 35-40 วินาที เสถียรภาพในการนำกลับมาใช้ใหม่ของเอนไซม์มีค่า 98-102 % โดยการวิเคราะห์ในวันเดียวกันและต่างวันกันจะมีค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย 4.14 % และ5.1 % ตามลำดับ