บทคัดย่อ

ซัลไฟต์ถูกนำมาเติมลงในอาหารและเครื่องดื่มเพื่อใช้เป็นสารกันบูดและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามเนื่องจากสารชนิดนี้มีผลกระทบต่อสุขภาพและอาจมีผลให้เกิดอาการแพ้หากมีปริมาณเจือปนในอาหารมาก ปริมาณซัลไฟต์ที่จึงมีความสำคัญและผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จำเป็นต้องมีการระบุปริมาณซัลไฟต์ตามกฎหมาย ในงานวิจัยนี้จะพัฒนาซัลไฟต์เคมิคัลเซนเซอร์ที่มีสภาพไวและความจำเพาะเจาะจงสูงจำนวน 2 ขั้วไฟฟ้าโดย i) การทำอิเล็กโทรโพลิเมอร์เซชันของโพลิอะนิลีน (ANi) ในเมทริกซ์ของมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวป์ (MWCNT) และอิเล็กโตรเดพโพสิทฟิล์มของอนุภาคทองนาโน (AuNPs) บนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน และ ii) ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยนาโนคอมโพสิตของมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวป์-โพลี(อัลลิลไดเมธิลแมโมเนียม คลอไรด์)-อนุภาคทองนาโน หรือ (CNTs-PDDA-AuNPs/GC) และพัฒนาขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไบโอเซนเซอร์โดยอาศัยการตรึงเอนไซม์การตรึงเอนไซม์ฮอร์ชแรดิชเปอร์ออกซิเดส (HRP) ลงบนโพลิเมอร์ ชนิด poly(aniline-co-o-aminobenzoic acid) หรือ p(Ani-*co*-*o*-Aba) แล้วเคลือบผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยไคโตซาน (CS)

ซัลไฟต์เซนเซอร์พัฒนาโดยการทำอิเล็กโตรพอลีเมอร์ไรเซชันอะนิลีน (ANi) ในเมทริกซ์ของมัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวป์ (MWCNT) และการทำอิเล็กโตรเดพโพสิทฟิล์มอนุภาคทองนาโน (AuNPs) บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน ผลการทดลองพบว่ามัลติวอลล์คาร์บอนนาโนทิวป์ที่มีหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิก (MWCNT-COOH) เป็นเมทริกซ์ที่เหมาะสมสำหรับการทำอิเล็กโตรพอลีเมอร์ไรเซชันอะนิลีนและขั้วไฟฟ้าที่เหมาะสมคือ AuNPs_MWCNT-COOH_PANi_GC เมื่อนำซัลไฟต์เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมาใช้เป็นตัวตรวจวัดในเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีโดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.067 M (pH เท่ากับ 7.0) เป็นสารละลายอิเล็กโตรไลต์เกื้อหนุนในการตรวจวัดซัลไฟต์ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.6 โวลต์ (เทียบกับขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ และมีขั้วแพลทตินัมเป็นขั้วไฟฟ้าช่วย) ในการศึกษาคุณลักษณะของเทคนิควิเคราะห์แอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น พบว่ามีช่วงการตอบสนองของค่ากระแสแบบเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของซัลไฟต์ ตั้งแต่ 1 ถึง 16 mM (r^2 = 0.9964) มีขีดจำกัดในการวิเคราะห์ที่ 0.0927 mM มีความเที่ยงของสัญญาณสูงโดยให้ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 4.12 (n = 5)

เมื่อนำเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิสมาใช้ร่วมกับการตรวจวัดแบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วซัลไฟต์เซนเซอร์จะทำให้ได้เทคนิควิเคราะห์ที่ใหม่ สภาพไวสูง และมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดซัลไฟต์ (SO_3^{2-}) ในตัวอย่างเครื่องดื่ม งานวิจัยในส่วนนี้จะพัฒนาซัลไฟต์เซนเซอร์โดยการดัดแปรขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนด้วยวัสดุขนาดนาโนลูกผสมของคาร์บอนนาโนทิวป์-โพลิเมอร์นำไฟฟ้า-อนุภาคทองขนาดนาโนลงบนผิวหน้าของ (CNTs-PDDA-AuNPs/GC) จากการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาที่ขั้วซัลไฟต์เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นในสารละลายเฟสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี พบว่าขั้วฟ้า CNTs-PDDA-AuNPs/GC สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟต์ทำให้การวิเคราะห์มีสภาพไวและมีความจำเพาะเจาะจงสูง โดยสามารถวัดปริมาณซัลไฟต์ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.4 โวลต์ (เทียบกับขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์) มีช่วงการตอบสนองแบบเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1-200 mg L^{-1} (r^2 = 0.9997) ซัลไฟต์เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เท่ากับ 0.03 ppmมีความเที่ยงของสัญญาณเท่ากับ 1.5% ซัลไฟต์เซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์ซัลไฟต์ในตัวอย่างน้ำผลไม้ และไวน์ เทคนิควิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็วถึง 23 ตัวอย่าง/ชั่วโมง

การพัฒนาแอมเพอร์โรเมทริกไบโอเซนเซอร์แบบใหม่สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยการตรึงเอนไซม์ฮอร์ชแรดิชเปอร์ออกซิเดส (HRP) ลงบนโพลิเมอร์ ชนิด poly(aniline-co-o-aminobenzoic acid) หรือ p(Ani-*co*-*o*-Aba) แล้วเคลือบผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยไคโตซาน (CS) การตรึงเอนไซม์ HRP บนโครงสร้างของโคพอลิเมอร์และเคลือบชั้นนอกสุดของขั้วไฟฟ้าด้วยชั้นฟิล์มของ CS ทำให้ขั้วไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถเร่งปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ดี ทำให้การวิเคราะห์มีสภาพไวและมีความจำเพาะเจาะจงสูง ได้ศึกษาผลของตัวแปรต่าง ๆ ที่มีต่อการตรวจวัด เช่น อัตราส่วนโมลของโคพอลิเมอร์ p(Ani-*co*-*o*-Aba), ปริมาณของเอนไซม์ HRP และ CS, pH ของสารละลายอิเล็กโตรไลต์เกื้อหนุนและศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วไฟฟ้าใช้งานเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง พบว่าไบโอเซนเซอร์แบบใหม่ที่พัฒนาขึ้นให้การตอบสนองที่เร็วและให้สัญญาณที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มมากขึ้นในช่วงตั้งแต่ 10 μM ถึง 1,000 μM ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ เท่ากับ 1.8 μM (S/N =3) ในการศึกษาผลของตัวรบกวนที่มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าขั้วไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นให้ค่า tolerance ต่อโดปามีน (dopamine: DA) กรดแอสคอบิก (ascorbic acid: AA) กลูโคส (glucose: Glu) และ กรดยูริก (uric acid: UA) เป็นที่น่าพอใจ ขั้วไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีความความเสถียรดีมากถึงสองสัปดาห์

Key words: ซัลไฟต์เซนเซอร์, คาร์บอนนาโนทิวป์, พีดีดีเอ, ฮอร์ชเรดิชเปอร์ออกซิเดส, ระบบโฟลอินเจคชัน-อะนาลิซิส, ไวน์

Abstract

Sulfites are commonly used as preservatives in food and beverages to inhibit microbiological growth. Despite these advantages, sulfite should be applied in strictly limited amounts due to its potential toxicity. The level of sulfite in food has been subjected to legislation since it was discovered that at certain concentration level sulfite causes allergic reactions in some individuals. This work presents development of two sensitive and selective sulfites sensors based on i) electropolymerization of aniline (ANi) in matrix of multiwall carbon nanotube (MWCNT) and electro-deposit of gold nanoparticles (AuNPs) film on the surface of the glassy carbon (GC) electrode and ii) a glassy carbon electrode modified with multiwall carbon nanotubes-poly (diallyldimethylammonium chloride)-gold nanoparticles composites (CNTs-PDDA-AuNPs/GC) and a novel hydrogen peroxide biosensor based on immobilizing horseradish peroxidase (HRP) on poly(aniline-co-o-aminobenzoic acid) or p(Ani-co-o-Aba) and then covered with chitosan (CS) film.

Electropolymerization of aniline (ANi) in matrix of multiwall carbon nanotube (MWCNT) and electro-deposit of gold nanoparticles (AuNPs) film on the surface of the glassy carbon (GC) electrode was proposed to develop a sulfite sensor. Carboxylic functionalized multiwall carbon nanotube (MWCNT-COOH) was the optimum matrix for polyaniline electropolymerization and the optimum composites for modified the electrode was AuNPs_MWCNT-COOH_PANi_GC. The developed amperometric sensor was performed using 0.067 M phosphate buffer pH 7.0 as the supporting electrolyte at the potential of 0.6 V (Ag/AgCl and Pt wire as reference and counter electrodes). The figure of merit of this developed sensor (AuNPs_MWCNT-COOH_PANi_GC) was demonstrated. The linear dynamic range of sulfite was found 1 to 16 mM (r^2 = 0.996). The detection limit was 0.0927 mM sulfite. The developed method provided high precision signal with RSD of 4.12 (n=5).

A new approach is presented for sensitive and selective measurement of sulfite (SO_3^{2-}) in beverages based on a simple flow injection system with amperometric detection. In this work, the sulfite sensor was a glassy carbon electrode modified with multiwall carbon nanotubes-poly(diallyldimethylammonium chloride)-gold nanoparticles composites (CNTs-PDDA-AuNPs/GC). Electrochemical oxidation of sulfite with this electrode was first studied in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) using cyclic voltammetry. The results indicated that the CNTs-PDDA-AuNPs/GC electrode possesses electrocatalytic activity for the oxidation of sulfite with high sensitivity and selectivity. Sulfite was quantified using amperometric measurement with the new sensor at +0.4 V vs Ag/AgCl in conjunction with flow injection. The linear working range for the quantitation of sulfite was 2 to 200 mg L^{-1} (r^2 = 0.998) with detection limit of 0.03 mg L^{-1} (3σ of blank) and an estimated precision of 1.5%. The proposed method was successfully applied to

the determination of sulfite in fruit juices and wines with a sample throughput of 23 samples h^{-1}.

A novel amperometric biosensor for hydrogen peroxide (H_2O_2) determination was proposed by immobilizing horseradish peroxidase (HRP) on poly(aniline-co-o-aminobenzoic acid) or p(Ani-co-o-Aba) and then covered with chitosan (CS) film. The immobilized HRP displayed an excellent electrocatalytic activity to the reduction of hydrogen peroxide. The effects of experimental variables such as the o-Aba mol ratios in p(Ani-co-o-Aba) synthesis, HRP and CS concentrations, pHs of supporting electrolyte solution and applied potentials for the working electrode were investigated for the optimized conditions. This novel biosensor exhibits a fast response toward H_2O_2 with a linear range from 10 to 1,000 μM and a detection limit of 1.8 μM based on the signal-to-noise ratio (S/N = 3). The developed biosensor shows satisfactory tolerance with other potential interferences such as dopamine (DA), ascorbic acid (AA), glucose (Glu) and uric acid (UA), and also shows a good stability for about 2 weeks.

Key words: sulfite sensor, CNTs, PDDA, polyaniline, Horseradish peroxidase, flow injection analysis, wine