

บทคัดย่อ

งานวิจัยได้พัฒนาไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณปรอทและคาร์โบฟูแรนด้วยวิธีวิเคราะห์ทางอ้อมในระบบการไหลแบบอัตโนมัติ โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ (1) การวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยไบโอเซนเซอร์ในระบบการไหลอัตโนมัติ และ ส่วนที่ (2) การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยไบโอเซนเซอร์ในระบบการไหลอัตโนมัติ

ตอนที่ 1 พัฒนาไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณปรอท โดยตรึงและใช้ประโยชน์ของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสจากการยับยั้งการทำงานด้วยปรอทแบบการวิเคราะห์ทางอ้อม ตรึงเอนไซม์แบบกายภาพบนผิวหน้าของคาร์บอนเพส ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ ดังนี้ อัตราการไหลของสารละลายตัวพา ศักย์กระตุ้นสารตัวกลางทางไฟฟ้า ระยะเวลาในการบ่มเอนไซม์ด้วยปรอท การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสด้วยปรอท ความไวของการวิเคราะห์ ความเที่ยงตรงของไบโอเซนเซอร์ และขีดความสามารถต่ำสุดต่อการตรวจวัดและการวิเคราะห์ปรอท ผลการทดลองพบว่า อัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่เหมาะสม $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ศักย์กระตุ้นสารตัวกลางทางไฟฟ้าที่ $+0.46 \text{ V}$ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ระยะเวลาในการบ่มเอนไซม์ด้วยปรอทที่ 6 นาที กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ (y) กับปริมาณปรอท (x) มี 2 แบบ คือ แบบเส้นโค้งได้ความสัมพันธ์ $y = 2.68 \ln x + 12.52$ และ $R^2 = 0.984$ พบว่าในช่วงของการวิเคราะห์ได้ตั้งแต่ $0.5 - 73.5 \text{ mg/L}$ และแบบเส้นตรงได้ 2 ช่วง ความสัมพันธ์ $y = 0.90x + 11.51$ ได้ค่า $r^2 = 0.906$ และความสัมพันธ์ $y = 0.20x + 16.25$ ได้ค่า $r^2 = 0.998$ สามารถตรวจวัดปริมาณปรอทในช่วงความเข้มข้น $0.5-7.5 \text{ mg/L}$ และ $7.5 - 31.5 \text{ mg/L}$ ตามลำดับ ความไวของการตรวจวัดคือ -0.0106 ถึง $0.20 \text{ \%Inhibition} \cdot \text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$ ความเที่ยงตรงของไบโอเซนเซอร์ที่ $2.30 \text{ \%RSD}$ และขีดความสามารถต่ำสุดของการตรวจวัดและการวิเคราะห์ คือ 0.14 mg/L และ 0.50 mg/L ตามลำดับ

ตอนที่ 2 พัฒนาไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในระบบการไหลแบบอัตโนมัติ การวิเคราะห์ทางอ้อมของไบโอเซนเซอร์อาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสด้วยคาร์โบฟูแรน ทำการตรึงเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสด้วยวิธีทางกายภาพบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าแบบคาร์บอนเพสของเซลล์เคมีไฟฟ้า ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ ดังนี้ อัตราการไหลของสารละลายตัวพา ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้กระตุ้นสารตัวกลางทางไฟฟ้า ระยะเวลาบ่มเอนไซม์ด้วยคาร์โบฟูแรน ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ความเที่ยงตรงของไบโอเซนเซอร์ ความไวในการตรวจวัด และขีดความสามารถต่ำสุดของการตรวจวัดปริมาณคาร์โบฟูแรน ผลการทดลองพบว่า อัตราการไหลของสารละลายตัวพาที่เหมาะสมคือ 2.0 mL/min ศักย์ไฟฟ้าสำหรับกระตุ้นสารตัวกลางทาง

ไฟฟ้าที่ +0.75 V ระยะเวลาบ่มเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสด้วยคาร์โบฟูแรนใช้เวลา 8 นาที ช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ 0.016 – 0.050 mg/L กราฟมาตรฐานให้สมการความเป็นเส้นตรง $y = 1.69x + 1.44$ และ $r^2 = 0.991$ ความไวในการตรวจวัดเท่ากับ $1.69 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ความเที่ยงตรงของไบโอเซนเซอร์ให้ค่า % RSD เท่ากับ 2.80% และขีดความสามารถต่ำสุดที่ตรวจวัดปริมาณคาร์โบฟูแรนคือ 0.008 mg/L

Abstract

In this research, development of biosensor for the determination of mercury and carbofuran based on flow injection analysis (FIA) was studied. The research was divided into two parts. The first one was about the development of biosensor for the determination of mercury and the second one was about the biosensor for the determination of carbofuran based on flow injection analysis.

Part I about indirect determination of mercury ion studied and utilized by immobilization of glucose oxidase was investigated. The physicochemical immobilization of glucose oxidase (GOx) with 5% w/w manganese oxide as mediator with suitable carbon paste on electrochemical cell based on FIA was reported. Measurements were performed by electrochemically monitoring of electro active substance from the catalytic activity of the enzyme. Optimizations of experiment parameters were investigated in terms of flow rate, voltage, incubation time of enzyme inhibition, working range, precision, sensitivity, limit of detection and quantification, respectively. The results of the biosensor based on FIA revealed optimum conditions with flow rate at $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, voltage of $+0.46 \text{ V}$ versus Ag/AgCl and incubation time at 6 min. Two types of working ranges response with Hg of biosensor were obtained showing dynamic relation to mercury ion at $0.5 - 73.5 \text{ mg/L}$ with $y = 2.68 \ln(x) + 12.52$ and $R^2 = 0.984$, and the linear range to mercury ion of $7.5 - 31.5 \text{ mg/L}$ with $y = 0.90x + 11.51$ and $r^2 = 0.906$. and $7.5 - 31.5 \text{ mg/L}$ with $y = 0.20x + 16.25$ and $r^2 = 0.998$. Moreover, the biosensor showed the sensitivity of -0.0106 and $0.20 \text{ \%Inhibition L} \cdot \text{mg}^{-1}$ with precision of $2.30 \text{ \%RSD}$ and the limit of detection and quantification of 0.14 and 0.50 mg/L of mercury ion, respectively.

Part II of amperometric biosensor for the determination of carbofuran based on flow injection analysis was developed. Indirect determination of carbofuran could be studied by inhibition and utilized by physical immobilization of enzyme alkaline phosphatase with suitably carbon paste on electrochemical cell. Measurements were performed by electrochemically monitoring the inhibition of the catalytic activity of enzymes. Electrochemical characterization and optimization of experiment parameters were investigated in terms of flow rate, voltage, incubation time of

enzyme inhibition, linear range, precision, sensitivity and detection limit. The results of the biosensor showed optimum conditions with flow rate at 2.0 mL/min and voltage at +0.75 V, 8 minutes of incubation time. Moreover, the biosensor obtained the linear range of 10 – 30 µg/L with linear equation of $y = 1.69x + 1.44$ and linear regression of $r^2 = 0.991$ with showing sensitivity $1.69 \text{ \%Inhibition.}\mu\text{g.L}^{-1}$, precision of biosensor at 2.80 % RSD with detection limit of 8 µg/L carbofuran.