

บทคัดย่อ

แอมเพอร์เมทริกคาร์โบฟูแรนไบโอเซนเซอร์ได้ถูกพัฒนาขึ้นโดยการปรับปรุงบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าที่ใช้เป็นบริเวณตรวจวัด โดยตรงทางเคมีด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โบวินเซรัมอัลบูมิน กลีเซอรอลและกลูตาไรต์ไฮดริส วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยไบโอเซนเซอร์ อาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส วัดสัญญาณกระแสการวิเคราะห์ทางไฟฟ้าลดลงสัมพันธ์กับปริมาณคาร์โบฟูแรนเพิ่มขึ้น งานวิจัยตรวจวัดสัญญาณทางไฟฟ้าด้วยวิธีแอมเพอร์เมทริกและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของไบโอเซนเซอร์ ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ 1.2 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ระยะเวลาของการเชื่อมโยงเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสกับกลูตาไรต์ไฮดริส 10 นาที ปริมาณของโบวินเซรัมอัลบูมิน ร้อยละ 8 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณของไตรโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร pH ที่เหมาะสมเท่ากับ 8 ศักย์กระตุ้นที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ +0.75 โวลต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ ที่อุณหภูมิห้อง ประเมินการวิเคราะห์ของไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นให้ช่วงความเป็นเส้นตรง 1 ถึง 6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.991) ความไวในการตรวจวัดที่ 7.07 ร้อยละของการยับยั้ง-ลิตรต่อมิลลิกรัม ชีตจำกัดในการตรวจพบและชีตจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ เท่ากับ 1.12 และ 3.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ความเที่ยงของขั้วไฟฟ้าให้ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์เท่ากับร้อยละ 4.31 (ขั้วไฟฟ้า 3 ขั้ว) ความเที่ยงของการวิเคราะห์ให้ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์เท่ากับร้อยละ 2.80 (วัด 4 ครั้ง) นอกจากนี้ยังได้ประเมินการทำงานของไบโอเซนเซอร์ในการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในสารสกัดตัวอย่างข้าวหอมมะลิจำนวน 13 ตัวอย่าง ที่สุ่มเก็บมาจากพื้นที่ อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี พบว่าสารสกัดตัวอย่างข้าวหอมมะลิทั้ง 13 แหล่ง การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยไบโอเซนเซอร์กับเทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ปนเปื้อนในตัวอย่างข้าวหอมมะลิไม่สามารถตรวจวัดได้จากไบโอเซนเซอร์กับเทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งมีชีตจำกัดในการตรวจพบสูงถึง 1.12 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสามารถระบุได้ว่ามีปริมาณต่ำกว่าชีตจำกัดในการตรวจพบของทั้งสองวิธี ดังนั้นจึงทำการเติมสารละลายมาตรฐานคาร์โบฟูแรน 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงไปในสารสกัดตัวอย่างข้าวหอมมะลิ 3 ตัวอย่าง และทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยเทคนิคทั้งสอง ตรวจพบระดับปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยไบโอเซนเซอร์ให้ผลการวิเคราะห์ในช่วง 1.43 - 1.57 มิลลิกรัมต่อลิตร เทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในช่วง 1.39 - 1.40 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้ร้อยละของการวิเคราะห์กลับคืนมาในสารสกัดที่เติมคาร์โบฟูแรนในช่วงร้อยละ 95.6 ถึง 104.8 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนให้ผลเป็นที่น่าพอใจโดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์จากทั้งสองวิธีด้วยสถิติค่า t พบว่า t จากการคำนวณ เท่ากับ 2.86, 0.26 และ 0.95 ตามลำดับ ซึ่งมีน้อยกว่าค่า t ในตารางเท่ากับ 4.30 (ระดับความเป็นอิสระเท่ากับ 2) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สรุปได้ว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยไบโอเซนเซอร์กับวิธีมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

Abstract

An amperometric carbofuran biosensor was developed. It was constructed on carbon paste electrode chemically immobilized with alkaline phosphatase, brovine serum albumin, glycerol and glutaraldehyde on its sensing area for selective analysis of carbofuran by inhibition of catalytic reaction of alkaline phosphatase using an electrochemical analysis technique. The measurement was done by decreasing of the current signal proportional to increasing amount of carbofuran. Optimum experimental conditions were investigated in amperometric mode as follows: 1.2 unit.cm^{-2} enzyme alkaline phosphatase loading on active surface of the electrode, 10 minutes for crosslinking enzyme in glutaraldehyde, 8 % w/v of bovine serum albumin, loading of disodium phenyl phosphate at 5000 mg.L^{-1} , phosphate buffer solution (PBS; 0.1 mol.L^{-1} , pH 8.0) and applied potential of +0.75 V vs Ag/AgCl at room temperature. The designed biosensor yielded a linear range for carbofuran from 1 to 6 mg.L^{-1} ($r^2 = 0.991$) with a sensitivity of $7.07 \text{ \% Inhibition-L.mg}^{-1}$, a detection limit and a quantification limit of 1.12 and 3.75 mg.L^{-1} , a reproducibility of 4.31 %RSD (3 sensors), a repeatability of 2.80 %RSD (4 measurements). Moreover, the proposed biosensor was evaluated to determine carbofuran in Thai Jasmine rice samples and spiked samples. The Thai Jasmine rice samples were sampling from Warinchareonsri market, Mae-kimtiang market and Warin market from Warinchamrab district, Ubonratchathani province. Extractants of the samples and 1.5 mg.L^{-1} carbofuran spiked samples were determined by the proposed biosensor and the reference high performance liquid chromatography. As the results, there was not detection in extractants. The spiked samples were detected in average concentrations of 1.52 ± 0.08 , 1.43 ± 0.20 and $1.57 \pm 0.31 \text{ mg.L}^{-1}$ by the proposed biosensor and 1.39, 1.40, 1.40 mg.L^{-1} by the reference method, respectively. A recovery study of carbofuran in spiked samples showed values ranging from 95.6 to 104.8 %. The determination of carbofuran in spiked samples using the proposed biosensor was satisfactory when compared to the reference technique. Applying the paired t-test, the t-values of 2.86, 0.26 and 0.95, respectively, is significantly smaller than the tabulated critical value of 4.30 at degree of freedom of 2. It indicated that there is no significant statistical difference between these results at a confidence interval for 95 % probability.