

# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

## โครงการ

ขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปลงด้วยนาโนคอมโพสิตของโลหะเฮกซะไซยาโนเฟอไรต์และคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่เรียงตัวเป็นระเบียบสำหรับการตรวจวัดซัลไฟต์

Mettallohexacyanoferrate-ordered mesoporous carbon nanocomposite modified electrode for sulphite detection

## คณะนักวิจัย

ผศ.ดร. อารมณ์	นุ่มน่วม
รศ.ดร. เพริศพิชญ์	คณาธารณา
รศ. ดร. ปณิต	ถาวรังกูร
ผศ.ดร. วรากร	ลิมบุตร
น.ส. สุพัชชา	ปรีชาเรืองฤทธิ์

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2556 รหัสโครงการ (SCI560494S)

## 1. ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) ขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปลงด้วยนาโนคอมโพสิตของโลหะเฮกซะไซยาโนเฟอไรต์และคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่เรียงตัวเป็นระเบียบสำหรับการตรวจวัดซัลไฟต์

(ภาษาอังกฤษ) Mettallohexacyanoferrate-ordered mesoporous carbon nanocomposite Modified electrode for sulphite detection

## 2. คณะนักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร. อารมณ์ นุ่มน่วม

สถานที่ทำงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผู้ร่วมวิจัย 1. รศ.ดร. เพริศพิชญ์ คุณาธารณา

สถานที่ทำงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผู้ร่วมวิจัย 2. รศ.ดร. ปณิต ถาวรังกูร

สถานที่ทำงาน ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผู้ร่วมวิจัย 3. ผศ.ดร. วรากร ลิ้มบุตร

สถานที่ทำงาน ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผู้ร่วมวิจัย 4. น.ส. สุพัชชา ปรีชาเรืองฤทธิ์ นักศึกษาปริญญาโท สาขาเคมี

สถานที่ทำงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

## 3. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลงไปได้ด้วยดีเนื่องด้วยได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนจากหน่วยงานรวมทั้งบุคคลหลายฝ่ายด้วยกัน ในโอกาสนี้คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์สนับสนุนทุนวิจัย "ทุนโครงการวิจัย ประเภททั่วไปประจำปี งบประมาณ 2556 (SCI560494S)"

ขอขอบคุณสถานวิจัยการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยและไปโอเซนเซอร์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการวิเคราะห์

#### 4. บทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

##### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้พัฒนาเซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดซัลไฟต์ด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่เรียงตัวเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยาโนเฟอเรต (nickel hexacyanoferrate, NiHCF) บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทอง (NiHCF/OMC/Au) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวเร่งทางเคมีไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟต์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมระบบที่พัฒนาขึ้นได้ทำการตรวจวัดซัลไฟต์ในระบบไหลผ่านโดยป้อนศักย์ไฟฟ้าที่ 0.40 โวลต์ (เทียบกับ Ag/AgCl) ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงต่อซัลไฟต์ในช่วงกว้าง 2.5 ไมโครโมลาร์ ถึง 50 มิลลิโมลาร์ ชีดจำกัดการตรวจวัด 2.5 ไมโครโมลาร์ ขั้วไฟฟ้าหนึ่งอันสามารถใช้งานได้ 104 ครั้ง มีการเตรียมขั้วไฟฟ้าซ้ำที่ดี และเมื่อใช้ระบบที่พัฒนาขึ้นวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารแห้ง ผลการวิเคราะห์ที่ได้นั้นให้เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนที่ดีในช่วง  $80 \pm 1$  ถึง  $108 \pm 2\%$  และผลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Monier-Williams ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่สมาคมนักเคมีวิเคราะห์ (Association of Analytical Chemists, AOAC) ได้กำหนดไว้ พบว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่สอดคล้องกัน

##### Abstract

An amperometric sulfite sensor was fabricated based on nickel hexacyanoferrate (NiHCF) electrodeposited on a layer of ordered mesoporous carbon covering on a gold electrode surface (NiHCF/OMC/Au). The prepared NiHCF/OMC/Au displayed good electrocatalytic activity towards the oxidation of sulfite. The sulfite response was determined at an optimal applied potential of 0.40 V vs Ag/AgCl in a flow injection analysis system. Under optimum conditions, the sensor has a linear response in the 2.5  $\mu$ M to 50 mM sulfite concentration range and a 2.5  $\mu$ M limit of detection (at an S/N ratio of 3). The electrode has a high operational stability, can be used up to 104 times (with a RSD of 5.9%), and a good electrode-to-electrode repeatability (with an RSD of <7.0%, for n = 6). It was applied, in the flow injection mode, to analyze sulfite in vermicelli, instant noodles, noodles, and macaroni. Recoveries of spiked samples ranged of from  $80 \pm 1$  to  $108 \pm 2\%$ , and the results agreed well with the Monier-Williams AOAC official method.

## 5.บทสรุปผู้บริหาร (Executive Summary)

### 5.1 บทนำ

อาหารที่วางจำหน่ายในปัจจุบันมักมีสารเติมแต่ง (food additive) เช่น สารกันบูด สารกันหืน ผงชูรส สี เป็นต้น เพื่อช่วยให้อาหารคงสภาพไว้ได้นาน มีรส สี และกลิ่นน่ารับประทาน กระทรวงสาธารณสุขได้มีประกาศให้สารบางชนิดสามารถใช้ผสมอาหารได้แต่มีปริมาณไม่เกินที่กำหนด และให้สารบางชนิดเป็นสารอันตรายที่ห้ามใช้ผสมอาหารแล้วก็ตาม แต่ยังมีผู้ผลิตบางรายใช้สารเหล่านี้ในปริมาณที่เกินกำหนดหรือนำสารอันตรายบางชนิดมาใช้ผสมอาหาร จนทำให้เกิดปัญหาหรืออาการเจ็บป่วยแก่ผู้บริโภค ซัลไฟต์ (sulphite) เป็นสารเติมแต่งที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร โดยใช้เป็นสารกันเสีย (preservative) สารกันหืน (antioxidant) และป้องกันอาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (García et al. 2005, Manzocco et al. 2000, Taylor et al. 1986) โดยมีการใช้สารนี้อย่างกว้างขวาง ไม่ว่าจะเป็นผักผลไม้สด ผลไม้อบแห้ง อาหารทะเลแช่แข็ง น้ำผลไม้ และใช้เป็นสารฆ่าเชื้อในการผลิตไวน์ (Hardisson et al. 2002, Isaac et al. 2006, Marin and Merkoçi 2012) หากผู้บริโภคได้รับสารนี้มากเกินไปอาจจะทำให้เกิดอาการหายใจไม่สะดวก ปวดท้อง ท้องร่วง เวียนศีรษะ อาเจียน และในรายที่มีอาการแพ้รุนแรงหรือผู้ป่วยโรคหอบหืดอาจช็อก หมดสติ และตายได้ (Vally et al. 2009) โดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) และองค์การอนามัยโลก (World Health organization, WHO) ได้กำหนดปริมาณซัลไฟต์ที่รับได้ต่อวันไว้ไม่เกิน 0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักร่างกาย (FAO/WHO 2007) และเพื่อควบคุมปริมาณซัลไฟต์ในอาหาร องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (US Food and Drug Administration, USFDA) ได้กำหนดปริมาณซัลไฟต์ในอาหารทุกชนิดไว้ไม่เกิน 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (FDA, 2000) สำหรับประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 214 (พ.ศ. 2543) กำหนดให้มีปริมาณซัลไฟต์ในเครื่องดื่ม ในภาชนะบรรจุปิดสนิทได้ไม่เกิน 70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สุภมาศ วิทยอุดมวุฒิ, 2551) ดังนั้นการตรวจวัดปริมาณซัลไฟต์ในอาหารจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

เทคนิคการวิเคราะห์ซัลไฟต์มีด้วยกันหลายวิธี เช่น ไทเทรชัน (titration) (DeVries et al. 1986, Walton 1992) โฟลว์อินเจกชัน (flow injection analysis, FIA) (Hassan et al. 2006, Navarro et al. 2010) แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) (Bruzzoniti et al. 2004, Yin et al. 2009) สเปกโตรโฟโตมิตรี (spectrophotometry) (Li and Zhao 2006, Navarro et al. 2010, Qin et al. 1998) และลิควิดโครมาโทกราฟี (liquid chromatography, LC) (Chung et al. 2008, Wei et al. 1999) อย่างไรก็ตามบางเทคนิคมีความไววิเคราะห์และความถูกต้องน้อย และบางเทคนิคต้องอาศัยการเตรียมตัวอย่างซึ่งต้องใช้เวลาอันยาวนาน ประกอบเครื่องมือบางชนิดมีราคาแพง และต้องอาศัยความชำนาญการของผู้วิเคราะห์ (Isaac et al. 2006) วิธีหนึ่งที่จะลดปัญหาดังกล่าวคือ การใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ตรวจวัดสัญญาณที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟต์ที่ขั้วไฟฟ้าเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสม (García et al. 2005, Karimi-Maleh et al. 2012, Pournaghi-Azar and Sabzi 2004, Vekez et al. 2012) เทคนิคดังกล่าวเป็นเทคนิคที่ง่าย รวดเร็ว และมีความไววิเคราะห์สูง แต่ต้องใช้ศักย์ไฟฟ้าที่สูง ทำให้อาจจะมีสัญญาณรบกวนจากสารอื่น ๆ ในตัวอย่างที่สามารถเกิดออกซิเดชันในช่วง

ศักย์ไฟฟ้าที่ต่ำกว่า ซึ่งจะมีผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์ (Pournaghi-Azar and Sabzi 2004) วิธีหนึ่งในการแก้ปัญหาดังกล่าวคือการลดศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ โดยใช้ตัวส่งผ่านอิเล็กตรอน (mediator) ที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการส่งผ่านอิเล็กตรอนระหว่างขั้วไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้า ตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนหนึ่งที่ได้มีการใช้เพื่อตัดแปลงผิวขั้วไฟฟ้าในการตรวจวัดซัลไฟต์ในอาหารคือ สารประกอบเชิงซ้อนโลหะเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต (metallohexacyanoferrate, MHCF) ซึ่งทำให้ไม่มีสัญญาณรบกวนจากสารปนเปื้อน (Alamo et al. 2010, García et al. 2005) สารประกอบชนิดนี้มีสมบัติเป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนที่ดี มีราคาถูก และสามารถสังเคราะห์ได้ง่ายด้วยการเกาะติดทางเคมีไฟฟ้า (de Tacconi et al. 2003) จึงเป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน

แม้ว่าการใช้ตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนจะช่วยลดปัญหาได้บางส่วน แต่ในกรณีที่มีปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างมีปริมาณน้อยมาก และ/หรือมีการปนเปื้อนจากตัวรบกวนมาก การตัดแปลงผิวขั้วไฟฟ้า (electrode modification) ด้วยตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอ การเพิ่มสัญญาณ หรือเพิ่มความไววิเคราะห์จึงมีความจำเป็น วิธีหนึ่งที่มีความสนใจในปัจจุบัน คือ การตัดแปลงผิวขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุนาโน เช่น ท่อนาโน แท่งนาโน อนุภาคนาโน คาร์บอนนาโนทิวป์ หรือแกรฟีน (Karimi-Maleh et al. 2012, Marin and Merkoçi 2012) เป็นต้น เนื่องจากวัสดุเหล่านี้มีพื้นที่ผิวต่อหน่วยปริมาตรสูงและมีสมบัติการนำไฟฟ้าที่ดี คาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่เรียงตัวเป็นระเบียบ (ordered mesoporous carbon, OMC) เป็นวัสดุคาร์บอนชนิดหนึ่งที่มีการใช้ในปัจจุบัน โดยมีการรายงานว่าวัสดุดังกล่าวมีพื้นที่ผิวมากกว่าและมีการนำไฟฟ้าที่ดีกว่าคาร์บอนนาโนทิวป์ และสามารถเตรียมได้ง่ายกว่า (Ndamanisha and Guo 2012) และจากการศึกษาเบื้องต้นผู้วิจัยสามารถสังเคราะห์คาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่เรียงตัวเป็นระเบียบ และได้ใช้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าให้สัญญาณการนำไฟฟ้าที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าที่ไม่ได้ตัดแปลง จึงมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ร่วมกับตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนเพื่อเตรียมเป็นวัสดุคอมโพสิต (nanocomposite) ในการเพิ่มสัญญาณและความไววิเคราะห์สำหรับตรวจวัดซัลไฟต์

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจจะพัฒนาวิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดซัลไฟต์ในอาหาร เช่น อาหารกระป๋อง อาหารแห้ง หรือน้ำผลไม้ เป็นต้น โดยการตัดแปลงขั้วไฟฟ้าทองด้วยวัสดุคาร์บอนคอมโพสิต ระหว่างคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่เรียงตัวเป็นระเบียบซึ่งนำไฟฟ้าได้ดีร่วมกับสารประกอบเชิงซ้อนโลหะเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตซึ่งมีสมบัติเป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนที่ดี ซึ่งจากการค้นคว้าเอกสารยังไม่มีการเตรียมวัสดุคอมโพสิตดังกล่าวสำหรับการตรวจวัดซัลไฟต์ และเพื่อให้การตรวจวัดมีความรวดเร็วยิ่งขึ้นจึงใช้เทคนิคการวิเคราะห์แบบโฟลว์อินเจกชัน (flow injection analysis) ร่วมด้วย จากงานวิจัยนี้คาดว่าจะได้เซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้า ที่มีความไววิเคราะห์สูง มีความจำเพาะสูงและให้ขีดจำกัดของการตรวจวัดที่ต่ำสำหรับตรวจวัดซัลไฟต์ในอาหาร

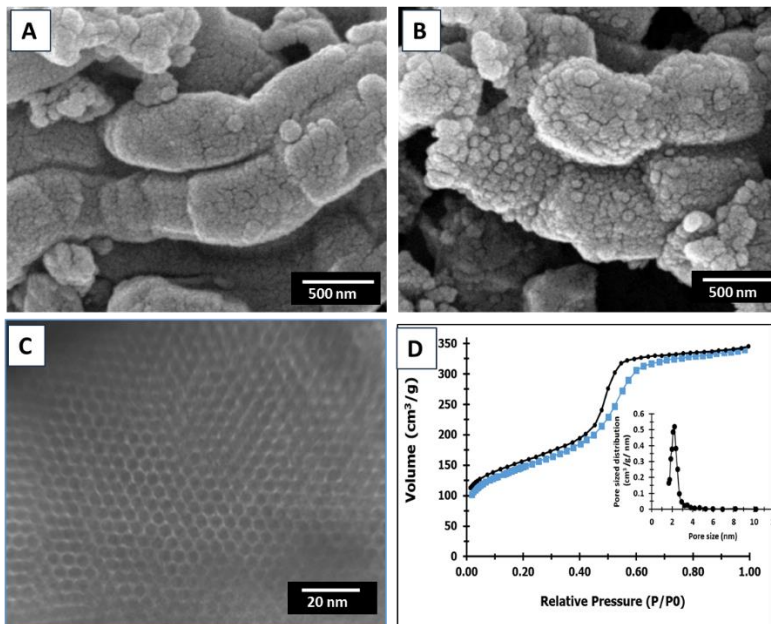
## 5.2 วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาเซนเซอร์เคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดซัลไฟต์ในอาหารโดยประยุกต์ใช้เทคโนโลยีวัสดุนาโนกลุ่มคาร์บอนที่มีรูพรุนระดับเมโซที่เรียงตัวเป็นระเบียบร่วมกับสารประกอบเชิงซ้อนนิกเกิลเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตสำหรับตัดแปลงขั้วไฟฟ้าทอง

### 5.3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 5.3.1 วิเคราะห์โครงสร้างสัณฐานวิทยาวิทยาของวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรต

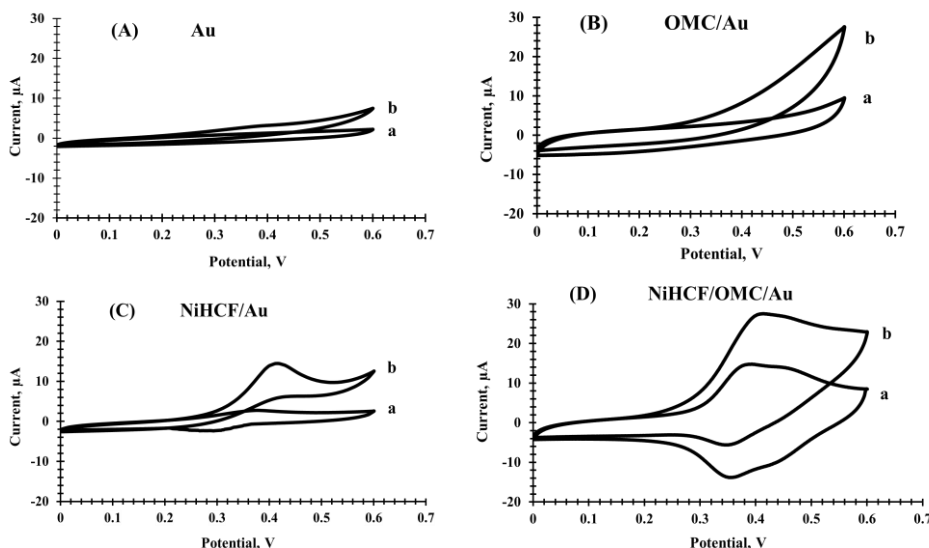
สัณฐานวิทยาของวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ และวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรตที่สังเคราะห์ได้ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (scanning electron microscopy) (SEM) (Quanta 400, FEI) จากรูป SEM จะเห็นได้ว่าวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบมีลักษณะเป็นแท่งซ้อนกันคล้ายตัวหนอน (รูปที่ 1 (A)) หลังจากเกาะติดนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรต จะเห็นมีอนุภาคเล็ก ๆ เกาะติดอยู่บนพื้นผิวของวัสดุคาร์บอน (รูปที่ 1(B)) จากการศึกษาโครงสร้างภายในของวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (Transmission electron microscopy, TEM) (รูปที่ 1(C)) จะเห็นรูพรุนที่มีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบคล้ายรังผึ้ง และจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค  $N_2$  adsorption-desorption isotherm (รูปที่ 1 (D)) พบว่ามีพื้นที่ผิวจำเพาะ  $610 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  ขนาดรูพรุน  $2.21 \text{ nm}$  และปริมาตรรูพรุน  $0.5 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$



รูปที่ 1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของ (A) วัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ (B) วัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรตที่เตรียมได้จากการเกาะติดทางเคมีไฟฟ้า (C) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ และ (D)  $N_2$  adsorption-desorption isotherm

### 5.3.2 พฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าต่อการตรวจวัดซัลไฟต์

ศึกษาปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟต์ โดยการใช้ขั้วไฟฟ้าที่มีการปรับปรุงแตกต่างกัน 4 แบบ คือ (1) ขั้วไฟฟ้าทอง (Au) (2) ขั้วไฟฟ้าทองที่ปรับปรุงผิวด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ (OMC/Au) (3) ขั้วไฟฟ้าทองที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรต (NiHCF/Au) (4) ขั้วไฟฟ้าทองที่ดัดแปลงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรต (NiHCF/OMC/Au) ในสารละลาย 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.00 จากผลการทดลองพบว่า เมื่อมีการเติม 4.00 มิลลิโมลาร์ซัลไฟต์ จะไม่ปรากฏพีคออกซิเดชันของซัลไฟต์ (โวลแทมโมแกรม b) ในกรณีของขั้วไฟฟ้าทอง (รูป 2A) และขั้วไฟฟ้าทองที่ปรับปรุงผิวด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ (รูปที่ 2B) แต่จะปรากฏสัญญาณชัดเจนในกรณีที่ขั้วไฟฟ้าทองที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรต (รูปที่ 2C) ขั้วไฟฟ้าทองที่ดัดแปลงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรต (รูปที่ 2D) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟต์ถูกเร่งด้วยชั้นนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรต (Cai et al. 1995) และพบว่าสัญญาณกระแสออกซิเดชันจะสูงขึ้นเมื่อมีชั้นของวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ (รูปที่ 2D) โดยกระแสออกซิเดชันที่สูงขึ้นเนื่องจากพื้นที่ผิวที่สูงของวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ ซึ่งทำให้เกิดการส่งผ่านอิเล็กตรอนได้ดี (Ndamanisha and Guo 2008) ดังนั้นจากการศึกษาพบว่าขั้วไฟฟ้าที่มีการปรับปรุงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ ร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไฮยาโนเฟอเรต (NiHCF/OMC/Au) จะให้สัญญาณการตอบสนองการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟต์ได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ขั้วไฟฟ้างกล่าวมาประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบโพลีอินเจคชันแอมเพอโรเมทรีในการตรวจวัดซัลไฟต์



รูปที่ 2 โวลแทมโมแกรมของขั้วไฟฟ้าทองที่มีการดัดแปลงด้วย (A) bare Au (B) OMC/Au (C) NiHCF/Au และ (D) NiHCF/OMC/Au ต่อการตรวจวัดซัลไฟต์ (a) ไม่มีซัลไฟต์ (b) 4.00 มิลลิโมลาร์ซัลไฟต์

### 5.3.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดซัลไฟต์

ในการทดลอง ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม 2 ส่วน คือ ส่วนแรกศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ซึ่งได้ศึกษาปริมาณของคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ และเวลาการเกาะติดของนิกเกิล ส่วนที่สองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในระบบไหลผ่านร่วมกับแอมเพอโรเมทรี โดยมีการศึกษาศักย์ไฟฟ้าป้อน ปริมาตรและอัตราการไหลของสารตัวอย่าง และพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ โดยในการทดลองนี้จะเปรียบเทียบค่าความไววิเคราะห์ (ความชันของกราฟ) ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 0.025, 0.050, 0.075 และ 0.10 มิลลิโมลาร์ โดยสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยมีเกณฑ์พิจารณา คือ ให้ความไววิเคราะห์สูงและเวลาการตอบสนองสั้น ซึ่งผลการทดลองสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดซัลไฟต์

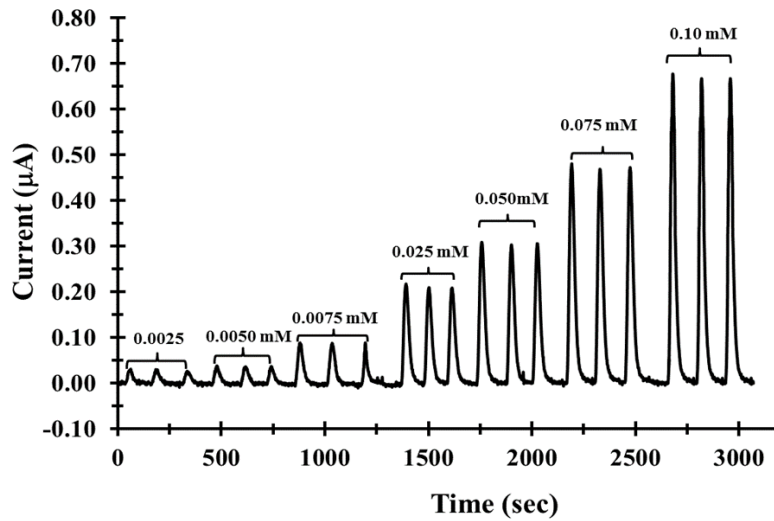
ปัจจัยที่ศึกษา	สภาวะที่ศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
ขั้นตอนการปรับปรุงขั้วไฟฟ้า		
ปริมาณ OMC ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	1.0, 1.5, 2.0, 2.5	2.0
เวลาเกาะติด Ni (s)	60, 120, 180, 240	180
ขั้นตอนการตรวจวัดในระบบไหลผ่านร่วมกับแอมเพอโรเมทรี		
ศักย์ไฟฟ้า	3.5, 4.0, 4.5, 5.0	4.0
ปริมาตรของสารตัวอย่าง ( $\mu\text{L}$ )	200, 250, 300	250
อัตราการไหลของสารตัวอย่าง ( $\mu\text{L min}^{-1}$ )	600, 700, 750, 800	750
พีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์	5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0	7.0

### 5.3.4 ประสิทธิภาพของวิธี

#### 5.3.4.1 ช่วงการตอบสนองเชิงเส้นและขีดจำกัดการตรวจวัด

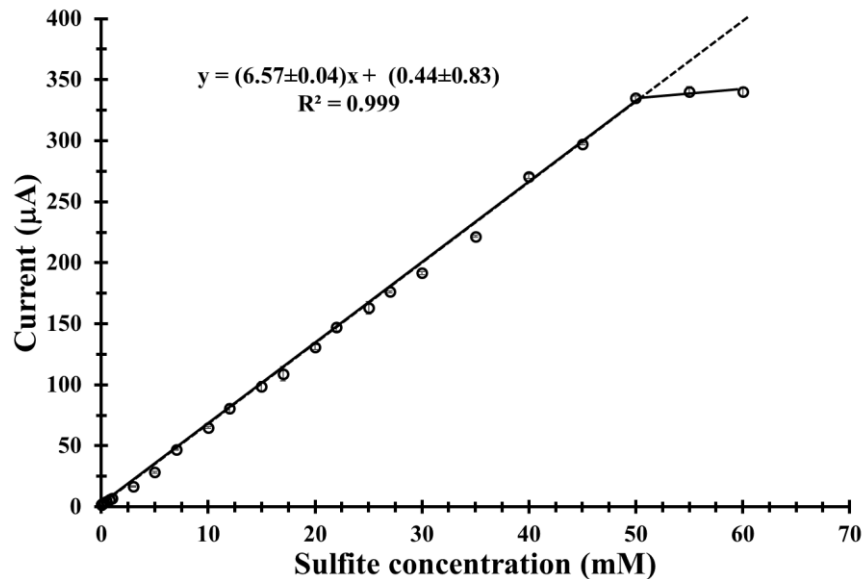
ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดซัลไฟต์ ได้ศึกษาช่วงการตอบสนองเชิงเส้นตรงและขีดจำกัดในการตรวจวัด โดยฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ในช่วงความเข้มข้น 0.0025 – 60 มิลลิโมลาร์ โดยลักษณะแอมเพอโรแกรมที่ได้จากการฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์แสดงได้ดังรูปที่ 3





รูปที่ 3 ตัวอย่างของสัญญาณการตอบสนองที่ได้จากการฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ ช่วงความเข้มข้น 0.0025-0.1 มิลลิโมลาร์ ในระบบโพลีวินเจคชันแอมเพอโรเมทรี ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

จากผลการทดลองพบว่าระบบโพลีวินเจคชันแอมเพอโรเมทรีที่มีการดัดแปลงขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยานอเฟอเรต ให้ช่วงการตอบสนองเชิงเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.0025-50 มิลลิโมลาร์ (รูปที่ 4) โดยให้ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดที่ 0.0025 มิลลิโมลาร์ ( $S/N \geq 3$ )



รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในระบบโพลีวินเจคชันแอมเพอโรเมทรี ช่วงความเข้มข้น 0.0025 ถึง 60 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

### 5.3.4.2 ความจำเพาะเจาะจง (selectivity)

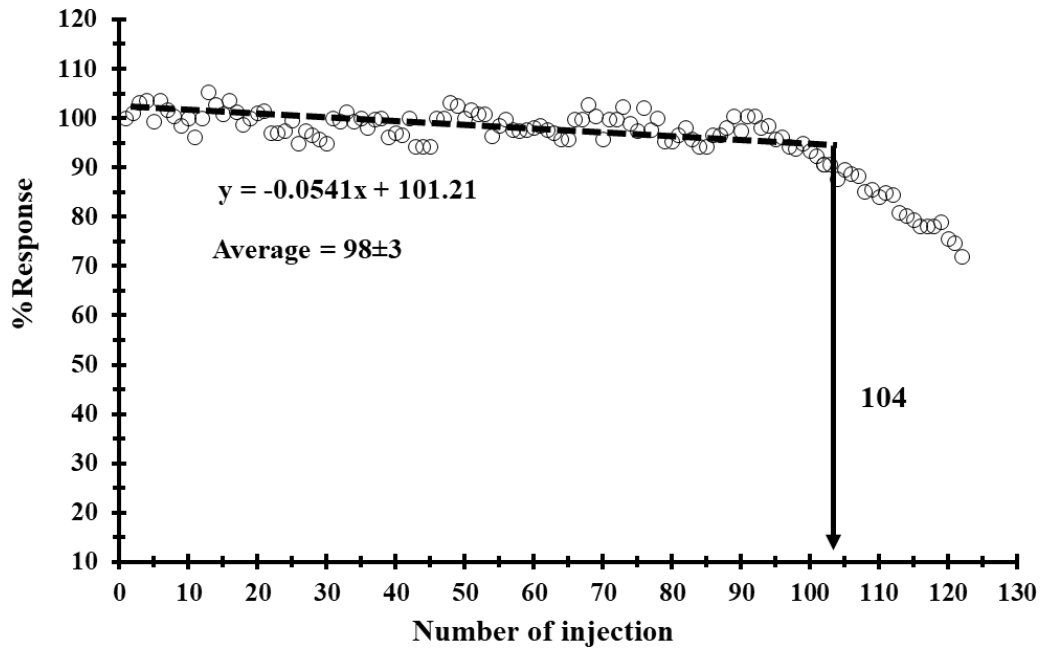
ศึกษาความจำเพาะเจาะจงของขั้วไฟฟ้าในระบบแอมเพอโรเมตริกสำหรับการตรวจวัดซัลไฟต์ ในการทดลองได้ทดสอบสารที่อาจมีการปนเปื้อนในอาหารแห้ง เช่น กรดแอสคอบิก แอสคอบาท กรดซิตริก กรดทาทาริก เกลือต่างๆ แป้ง ซูโครส และ กลูโคส โดยเติมสารละลายดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ผสมกับสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ซึ่งเป็นตัวควบคุม โดยพิจารณาจากค่า tolerance ที่มีค่าสัญญาณเบี่ยงเบนจากสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ สูงกว่า 5 % จากผลการทดลองพบว่าสัญญาณของการผสมสารดังกล่าวไม่มีผลต่อสัญญาณการตรวจวัดซัลไฟต์ดังแสดงในตารางที่ 2 มีเพียงสัญญาณของกรดแอสคอบิก แอสคอบาท ที่ความเข้มข้นมากกว่าซัลไฟต์ 3 เท่าที่ส่งผลต่อสัญญาณของซัลไฟต์

ตารางที่ 2 Tolerance ratio ของตัวรบกวนที่อาจพบในการตรวจวัดซัลไฟต์

*Tolerance ratio (sulfite:interference)	Interferences
1:10,000	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , sorbate, nitrate, nitrite
1:1,000	Citric acid
1:600	Tartaric acid
1:100	Glucose, sucrose, starch
1:3	Ascorbic acid, ascorbate

### 5.3.4.3 ความเสถียรในการใช้งานของขั้วไฟฟ้า

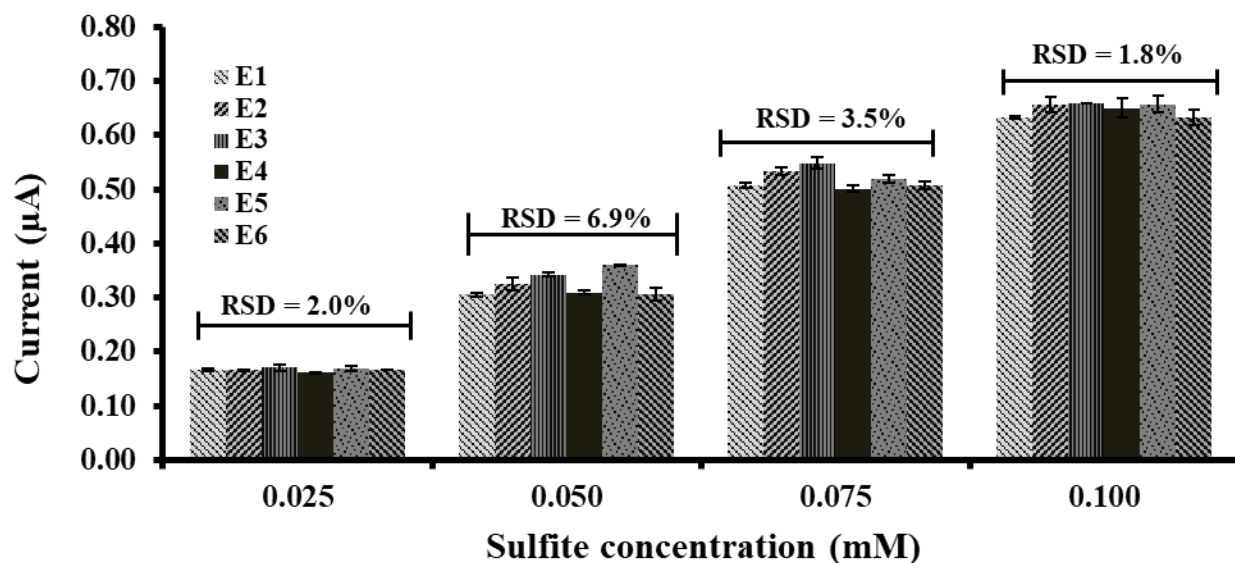
เพื่อความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของข้อมูลที่ได้ จึงศึกษาเสถียรภาพของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงผิวหน้าด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยานอเฟอเรต ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ต่อเนื่องหลายครั้งจากการศึกษาพบว่าขั้วไฟฟ้าสามารถใช้ซ้ำอย่างต่อเนื่องได้ 104 ครั้ง (รูปที่ 5) โดยที่ค่าเฉลี่ยของ %สัญญาณการตอบสนองอยู่ที่ 98±3 % สัญญาณการตอบสนองที่ได้ยังอยู่ในช่วง ±10% (Taverniers et al. 2004) ของสัญญาณการตอบสนองที่ได้จากการฉีดครั้งแรก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าที่ดัดแปลงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยานอเฟอเรตที่พัฒนาขึ้นมีเสถียรภาพสูง



รูปที่ 5 เสถียรภาพของชีวไฟฟ้าที่ดัดแปลงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับ นิกเกิลเฮกซะไซยาโนเฟอเรต ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

#### 5.3.4.4 ความสามารถในการทำซ้ำได้ในการปรับปรุงชีวไฟฟ้า

จากการเตรียมชีวไฟฟ้าที่มีการดัดแปลงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ ร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยาโนเฟอเรตทั้งหมด 6 ชั่วไฟฟ้า โดยแต่ละชีวไฟฟ้าวิเคราะห์ด้วยการฉีดสารละลาย มาตรฐานซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.025 0.050 0.075 และ 0.10 มิลลิโมลาร์ จากผลการทดลองพบว่าค่ากระแส สัญญาณเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ซัลไฟต์ทั้งสี่ความเข้มข้นมีค่า  $0.166 \pm 0.0034$ ,  $0.324 \pm 0.022$ ,  $0.519 \pm 0.018$  and  $0.648 \pm 0.011$  โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ (relative standard deviation, RSD) เท่ากับ 2.0, 6.9, 3.5 and 1.8% ตามลำดับ ดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 สัญญาณการทำซ้ำที่ได้จากการเตรียมขั้วไฟฟ้าที่มีการปรับปรุงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยานอเฟอเรตจำนวน 6 ขั้วไฟฟ้า

### 5.3.5 วิเคราะห์ตัวอย่าง

เพื่อเป็นการยืนยันว่าขั้วไฟฟ้าที่มีการดัดแปลงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยานอเฟอเรตที่พัฒนาขึ้น สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงได้ จึงได้สุ่มซื้อตัวอย่างอาหารแห้งจากตลาดในอำเภอหาดใหญ่ จ.สงขลา จำนวน 7 ตัวอย่าง ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อจะนำไปวิเคราะห์ต้องชั่งตัวอย่างละ 2 กรัม แช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ 100 มิลลิลิตร นำไปคั่นเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำแต่ละตัวอย่างกรองด้วยกระดาษกรอง ซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นได้เปรียบเทียบกับวิธี Monier-Williams ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดซัลไฟต์โดย AOAC ดังตารางที่ 3 ซึ่งจากการผลการทดลองเห็นได้ว่าปริมาณซัลไฟต์ที่ทำการตรวจวัดในอาหารด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน (student T-test, ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

**ตารางที่ 3** เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารแห้งที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลินเจคชั่นแอมเพอโรเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานที่ตัดแปลงด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยาโนเฟอเรตที่พัฒนาขึ้นและวิธีมาตรฐาน (titration method)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น		%ค่าการได้กลับคืน
	วิธีที่พัฒนาขึ้น	วิธีมาตรฐาน	
เส้นหมี่ขาวแห้ง 1	8.90±1.3	8.900±0.040	85-113
เส้นหมี่ขาวแห้ง 2	23.6±1.4	23.60±1.10	80-104
เส้นหมี่ขาวแห้ง 3	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	81-106
เส้นหมี่ขาวอบแห้ง4	9.40±1.1	9.400±0.030	92-106
บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป	10.4±0.2	10.40±0.010	88-108
วุ้นเส้น	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	81-108
มักกะโรนี	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	80.-104

ND<sup>a</sup> = Non detectable

## 5.4 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

### 5.4.1 สรุปผลการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์สรุปได้ว่าผลการวิจัยเป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่วางไว้คือได้มีการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุคาร์บอนรูพรุนระดับเมโซที่จัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบร่วมกับนิกเกิลเฮกซะไซยาโนเฟอเรต เพื่อนำไปตรวจวัดซัลไฟต์ในอาหารแห้ง ระบบที่พัฒนาขึ้นให้ช่วงการตอบสนองเป็นเส้นตรงที่กว้างตั้งแต่ 0.0025-50 มิลลิโมลาร์ และมีขีดจำกัดการตรวจวัดที่ 0.0025 มิลลิโมลาร์ โดยมีเสถียรภาพในการใช้งานที่ดี สามารถวิเคราะห์ซัลไฟต์ได้อย่างต่อเนื่อง 104 ครั้ง ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นเพียงแค่ 1.5 นาที อีกทั้งยังมีความสามารถในการใช้ซ้ำที่ดี

นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารแห้ง โดยใช้ระบบโพลินเจคชั่น แอมเพอโรเมทรี พบว่าสอดคล้องกับวิธีมาตรฐานซึ่งเป็นวิธีที่ใช้โดยองค์กร AOAC

#### 5.4.2 ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัย

ผลการวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้จริงได้ แต่เนื่องจากเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์มีขนาดใหญ่ อีกทั้งขั้วไฟฟ้าที่ใช้นั้นมีราคาแพง จึงสามารถวัดในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งอาจจะพัฒนาเป็นอุปกรณ์ที่มีขนาดเล็กพกพาสะดวก ราคาถูก และสามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ เช่น ขั้วไฟฟ้าแบบสกรีนพริ้นต์ (screen print electrode) ซึ่งเป็นขั้วไฟฟ้าขนาดเล็ก ราคาถูก สามารถใช้งานแล้วทิ้งได้เลย (disposable electrode)

#### เอกสารอ้างอิง

สุภมาศ วิทยอุดมวุฒิ. ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ อันตรายที่มาพร้อมอาหาร. กองพัฒนาศักยภาพผู้บริโภค. สำนักงานคณะกรรมการอาหาร และยา, (2551).

Alamo LST, Tangkuaram T, Satiemperakul S. 2010. Determination of sulfite by pervaporation-flow injection with amperometric detection using copper hexacyanoferrate-carbon nanotube modified carbon paste electrode. *Talanta* 81: 1793-1799.

Bruzzoniti MC, Andrensek S, Novic M, Perrachon D, Sarzanini C. 2004. Determination of epichlorohydrin by sulfite derivatization and ion chromatography: Characterization of the sulfite derivatives by ion chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography A* 1034: 243-247.

Cai C-X, Ju H-X, Chen H-Y. 1995. Catalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide at a microband gold electrode modified with nickel hexacyanoferrate. *Analytica Chimica Acta* 310: 145-151.

Chung SWC, Chan BTP, Chan ACM. 2008. Determination of free and reversibly-bound sulfite in selected foods by high-performance liquid chromatography with fluorometric detection. *Journal of AOAC International* 91: 98-102.

de Tacconi NR, Rajeshwar K, Lezna RO. 2003. Metal Hexacyanoferrates: Electrosynthesis, in Situ Characterization, and Applications. *Chemistry of Materials* 15: 3046-3062.

DeVries JW, Ge H, Ebert FJ, Magnuson JM, Ogawa MK. 1986. Analysis for total sulfite in foods by using rapid distillation followed by redox titration. *Journal - Association of Official Analytical Chemists* 69: 827- 830.

FAO/WHO. 2007. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.

García T, Casero E, Lorenzo E, Pariente F. 2005. Electrochemical sensor for sulfite determination based on iron hexacyanoferrate film modified electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical* 106: 803-809.

Hardisson A, Rubio C, Frías I, Rodríguez I, Reguera JI. 2002. Content of sulphite in frozen prawns

- and shrimps. *Food Control* 13: 275-279.
- Hassan SSM, Hamza MSA, Mohamed AHK. 2006. A novel spectrophotometric method for batch and flow injection determination of sulfite in beverages. *Analytica Chimica Acta* 570: 232-239.
- Isaac A, Davis J, Livingstone C, Wain AJ, Compton RG. 2006. Electroanalytical methods for the determination of sulfite in food and beverages. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 25: 589-598.
- Karimi-Maleh H, Ensafi A, Beitollahi H, Nasiri V, Khalilzadeh M, Biparva P. 2012. Electrocatalytic determination of sulfite using a modified carbon nanotubes paste electrode: application for determination of sulfite in real samples. *Ionics* 18: 687-694.
- Li Y, Zhao M. 2006. Simple methods for rapid determination of sulfite in food products. *Food Control* 17: 975-980.
- Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lerici CR. 2000. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology* 11: 340-346.
- Marín S, Merkoçi A. 2012. Nanomaterials Based Electrochemical Sensing Applications for Safety and Security. *Electroanalysis* 24: 459-469.
- Navarro MV, Payán MR, López MAB, Fernández-Torres R, Mochón MC. 2010. Rapid flow injection method for the determination of sulfite in wine using the permanganate–luminol luminescence system. *Talanta* 82: 2003-2006.
- Ndamanisha JC, Guo L. 2008. Electrochemical determination of uric acid at ordered mesoporous carbon functionalized with ferrocenecarboxylic acid-modified electrode. *Biosensors and Bioelectronics* 23: 1680-1685.
- Ndamanisha JC, Guo L-p. 2012. Ordered mesoporous carbon for electrochemical sensing: A review. *Analytica Chimica Acta* 747: 19-28.
- Pournaghi-Azar MH, Sabzi RE. 2004. Electrocatalytic Oxidation of Sulfite on a Cobalt Pentacyanonitrosylferrate Film Modified Glassy Carbon Electrode. *Electroanalysis* 16: 860-865.
- Qin W, Zhang Z, Zhang C. 1998. Reagentless chemiluminescence flow sensor for sulfite. *Analytica Chimica Acta* 361: 201-203.
- Taverniers I, De Loose M, Van Bockstaele E. 2004. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 23: 535-552.
- Taylor SL, Higley NA, Bush RK. 1986. Sulfites in Foods: Uses, Analytical Methods, Residues, Fate, Exposure Assessment, Metabolism, Toxicity, and Hypersensitivity. Pages 1-76 in C.O. Chichester EMM, Schweigert BS, eds. *Advances in Food Research*, vol. Volume 30 Academic

Press.

- Vally H, Misso NLA, Madan V. 2009. Clinical effects of sulphite additives. *Clinical & Experimental Allergy* 39: 1643-1651.
- Vekez JH, Muenza JP, Aguirre MJ, Ramirez G, Herrera F. 2012. Electrochemical Oxidation of Sulfite in Aqueous Solution by Glassy Carbon Electrode Modified with Polymeric Co(II) Meso-Tetrakis (2-Thienyl) Porphyrin. *International Journal of Electrochemical Science* 7: 3167-3177.
- Walton B. 1992. Potentiometric titration of sodium sulfate in sodium sulfite solutions. *The Analyst* 117: 1757-1759.
- Wei F, Chen MS, Yu L, Chang L, Li DM. 1999. Determination of total sulfite in wine by high performance liquid chromatography(HPLC) with fluorescence detection. *Se pu = Chinese journal of chromatography/Zhongguo hua xue hui* 17: 583-585.
- Yin L, Yuan D, Guo J, Liu X. 2009. Determination of sulfite in flue gas desulfurization with seawater by ion chromatography. *Chinese Journal of Chromatography (Se Pu)* 27: 825-828.



## ภาคผนวก

### ผลงานตีพิมพ์

1. Supatcha Preecharueangrit, Panote Thavarungkul, Proespichaya Kanatharana, Apon Numnuam. 2018. Amperometric sensing of sulfite using a gold electrode coated with ordered mesoporous carbon modified with nickel hexacyanoferrate. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 808: 150-159  
Journal Impact Factor (2016): 3.012