



การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของเฮมินร่วมพอลิไพโรลบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์
สำหรับการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกด้วยเทคนิคโวลแทมเมตรี

Electrochemical study of hemin/polypyrrole incorporated on carbon paste electrode for
voltammetric ascorbic acid determination

ภัทรานิตฐ์ ทองเทพ¹, สมพร มูลมั่งมี², ฉัตรชัย พลเชื้อ^{1*}

¹ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

อ. ชาญบุรี จ. ปทุมธานี

² ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ต. คลองห้า

อ. คลองหลวง จ. ปทุมธานี

*E-mail: chatchai@rmUTT.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ตรึงฟิล์มร่วมของเฮมินและพอลิไพโรลบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ขั้วไฟฟ้าที่ได้พัฒนาขึ้นได้ทำการศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้าเพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดปริมาณกรดแอสคอร์บิก เฮมินที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำหน้าที่เร่งการส่งผ่านอิเล็กตรอนจากกรดแอสคอร์บิกไปยังขั้วไฟฟ้า จากผลการทดลองพบว่าค่ากระแสออกซิเดชันจากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกในช่วง ตั้งแต่ 44 ถึง 44,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้พบว่ามี ความถูกต้องแม่นยำสูง และเป็นวิธีที่สะดวกสบายกับการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกได้หลากหลายตัวอย่าง

คำสำคัญ : การพัฒนาขั้วไฟฟ้า, การศึกษาสมบัติทางเคมีไฟฟ้า, การตรวจวัดปริมาณกรดแอสคอร์บิก

Received: Oct 31, 2014

Revised: Nov 17, 2014

Accepted: Nov 20, 2014

Abstract

This research, hemin/polypyrrole film was incorporated onto a carbon paste electrode by electro-deposition method. The modified electrode was electrochemically characterized in order to ascorbic acid determination. The hemin at electrode surface acts as the mediator to enhance electron transfer from ascorbic acid to an electrode. The anodic peak current observed in cyclic voltammetry was linearly dependent on the ascorbic acid concentration of 44 to 44,000 mg/L. The detection limit of the method is 0.5 mg/L. The developed method presents high accuracy, good precision and comfortable technique for ascorbic acid determination in various sample applications.

Keyword: Electrode modification, Electrochemical study, Ascorbic acid determination.

1. บทนำ

กรดแอสคอร์บิกในวิตามินซี เป็นที่รู้จักกันดี เกี่ยวกับการใช้เป็นสารแอนติออกซิแดนท์ซึ่งนิยมใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระ และเป็นสารที่ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันในร่างกายได้เป็นอย่างดี [1] แต่อย่างไรก็ตามการได้รับในปริมาณมากเกินไปก็อาจส่งผลต่อสุขภาพได้หากรับประทานมากเกินไป อาจก่อให้เกิดผลไม่พึงประสงค์ เช่น อาการท้องร่วง ปัสสาวะบ่อย และผื่นตามผิวหนัง หากมีอาการดังกล่าว ควรลดปริมาณที่รับประทานลง [2] ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกจึงมีความสำคัญมากสำหรับการตรวจสอบคุณภาพทั้งในอาหารและยาซึ่งมีกรดแอสคอร์บิกอยู่ ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกมีหลายวิธี เช่น การไทเทรต [3] เทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี [4] วิธีทางสเปกโตรโฟโตเมตรี [5] และอีกเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกคือ เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography (HPLC)) [6] แต่อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวยังต้องใช้สารเคมีปริมาณมาก มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์หลายขั้นตอนรวมถึงเครื่องมือบางวิธียังมีราคาสูงอีก จากการศึกษาพบว่ากรดแอสคอร์บิก เป็นสารที่สามารถตรวจวัดสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าได้ดี (Electroactive) [7] ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกเทคนิคการวิเคราะห์เป็นเคมีไฟฟ้าเนื่องจากมีจุดเด่นหลายอย่างเช่น จะมีสภาพไวต่อสัญญาณของตัววิเคราะห์มากกว่า ได้สัญญาณรวดเร็ว ไม่มีผลของสิ่งจากตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ สามารถนำไปวิเคราะห์ภาคสนามได้ดี ราคาถูก ซึ่งสนใจที่พัฒนาขั้วไฟฟ้าโดยใช้สารเคมีเป็นตัวเร่งสัญญาณทางเคมีไฟฟ้า เรียกเทคนิคนี้ว่า เคมีคอลเซนเซอร์ (Electrochemical sensor) โดยจะทำการตรึงตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้า (Electrocatalyst) บนขั้วไฟฟ้า เพื่อเร่งการส่งผ่านอิเล็กตรอนระหว่างตัววิเคราะห์ในสารละลายกับขั้วไฟฟ้า ซึ่งจะทำให้เพิ่มความไว (Sensitivity) ในการวิเคราะห์มากขึ้น โดยสนใจพัฒนาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ซึ่งมีราคาถูก

และเตรียมง่ายด้วยการเพิ่มความว่องไวในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการตรึง เฮมินที่มีโครงสร้างเป็นโลหะเหล็กอยู่ตรงกลางทำหน้าที่ช่วยเร่งการส่งผ่านอิเล็กตรอนในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกที่ขั้วไฟฟ้า

2. วัสดุและวิธีวิจัย

2.1 วัสดุ

เครื่องวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าแบบตั้งโต๊ะ Potentiostat : AUTOLAB model PGSTAT 20 voltammetric analyzer (Eco Chemie, Utrecht, Netherlands) ส่วนสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยจะใช้สารเคมีเกรดสำหรับงานวิเคราะห์ คือ เฮมิน (Hemin; Fluka) ไพโรล (Pyrrole; Fluka) กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; Merck) อะซิโตนไตริล (Acetonitrile; Merck) สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Standard ascorbic acid; Fluka) ผงกราไฟต์สังเคราะห์ (Graphite powder; Aldrich) และน้ำมันธรรมชาติ (Mineral oil; Sigma-Aldrich)

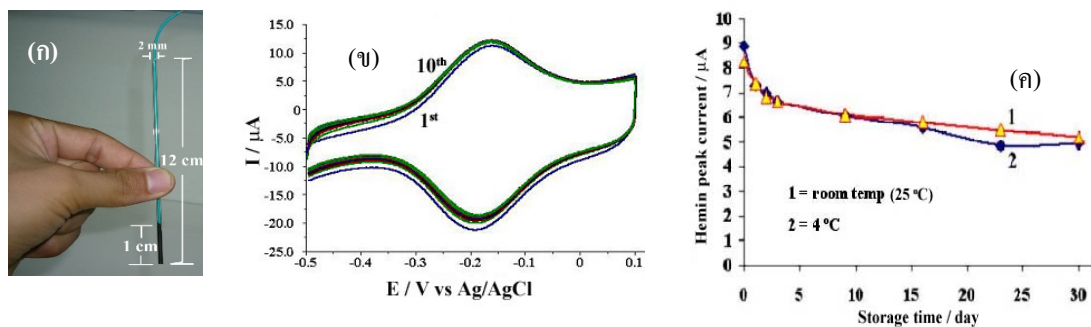
2.2 วิธีวิจัย

ใช้คาร์บอนเพสต์ (ผงกราไฟต์:น้ำมันธรรมชาติ; 60%:40% โดยน้ำหนัก) เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode) ขั้วไฟฟ้า Pt เป็นขั้วไฟฟ้าช่วย (Counter electrode) และ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) ขั้นตอนการตรึงขั้วไฟฟ้าโดยจุ่มขั้วไฟฟ้าทั้งสามลงในสารละลายที่ใช้ตรึงขั้วไฟฟ้าที่มีส่วนผสมของสารต่างๆที่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดดังนี้คือ ใช้สารละลาย 0.1 M HCl / 0.07 M pyrrole / 0.10 mM hemin ในสารละลาย 90 % CH₃CN และควบคุมศักย์ไฟฟ้า 0.7 V เป็นเวลา 60 วินาที แช่ใน 0.1 M KCl ณ อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นศึกษาคุณสมบัติทางเคมีไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าที่ตรึงเรียบร้อยแล้วในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M ในช่วงศักย์ไฟฟ้า -0.6 ถึง 0.1 V เมื่อเทียบกับ Ag/AgCl โดยใช้โหมดไซคลิกโวลแทมเมตรี (Cyclic voltammetry) ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก โดยจะวิเคราะห์ปริมาณในโหมดไซคลิกโวลแทมเมตรี scan rate 100 mV/s ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.2 M เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ในช่วงศักย์ไฟฟ้า -0.5 ถึง 0.65 V โดยจะปรับสภาวะต่างๆให้เหมาะสมกับเพื่อติดตามสัญญาณทางไฟฟ้าที่ต้องการคือ ให้ได้สภาพไว (Sensitivity) สูงๆ และได้ขีดจำกัดการวิเคราะห์ (detection limit) ต่ำๆ โดยการวิเคราะห์สัญญาณของแบบลงค์จำนวน 7 ครั้งแล้วนำข้อมูลไปหา Detection limit ในการศึกษาความถูกต้อง และความแม่นยำของวิธีสามารถทำได้โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 23.8 mM (4,188 mg/l) กรดแอสคอร์บิก แล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น จำนวน 7 ครั้ง แล้วนำมาหาความถูกต้องด้วย %Recovery และความแม่นยำด้วย %RSD และที่สำคัญยิ่งคือขั้นตอนการวิเคราะห์จะต้องไม่ยุ่งยากเพื่อให้เหมาะสมกับการประยุกต์ไปใช้ในได้จริงในภาคสนามต่อไป

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

3.1 ผลการศึกษาการตรึงขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ (carbon paste electrode; CPE) ด้วย เฮมิน/พอลิไพโรล (Hm/PPy)

รูปที่ 1ก แสดงภาพขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ก่อนทำการตรึงด้วยเฮมิน/พอลิไพโรล ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเตรียมขั้วไฟฟ้านี้ง่ายและราคาถูก ในการตรึงขั้วไฟฟ้าดังกล่าวจะควบคุมศักย์ไฟฟ้าให้คงที่ 0.7 V vs Ag/AgCl ซึ่งเป็นศักย์ไฟฟ้าในการเกิดฟิล์มพอลิเมอร์ของไพโรล ซึ่งในกระบวนการเกิดพอลิเมอร์ของไพโรล (Polymerization process) จะเกิดเป็นฟิล์มของพอลิไพโรลที่มีเฮมินผสมอยู่ด้านในดังได้ศึกษามาในงานวิจัยก่อนหน้านี้ [8] นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงความเสถียรของขั้วไฟฟ้าโดยนำขั้วไฟฟ้าที่ผ่านการตรึงด้วยเฮมิน/พอลิไพโรล แล้วมาพิจารณาผลของการวิเคราะห์สัญญาณเฮมินหลายรอบ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M พบว่าสัญญาณเฮมินที่อยู่ในฟิล์มของพอลิไพโรลจะมีค่าไม่แตกต่างกันคือเมื่อวิเคราะห์สัญญาณกระแสออกซิเดชันและรีดักชันของเหล็กในเฮมินจำนวน 10 ครั้งได้ %RSD เท่ากับ 1.23 และ 1.30 ตามลำดับ ดังแสดงผลในรูปที่ 1ข แสดงให้เห็นว่าการตรึงเฮมินด้วยวิธีดังกล่าวจะได้ขั้วไฟฟ้าที่มีความเสถียรมากนั่นเอง และยังได้ติดตามสัญญาณของเฮมิน เมื่อเตรียมขั้วไฟฟ้าแล้วเก็บไว้เป็นเวลา 30 วันในสารละลาย 0.1 M KCl ณ อุณหภูมิห้อง (Room temperature) และตู้เย็น (4°C) โดยสัญญาณของเฮมินยังเหลือประมาณร้อยละ 70-90 ของสัญญาณเริ่มต้น ดังแสดงในรูปที่ 1ค ซึ่งถือว่ายังอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ แต่อย่างไรก็ตาม ควรเตรียมขั้วไฟฟ้าและทำการวิเคราะห์ภายในสัปดาห์แรกจะได้ผลที่ดีกว่า

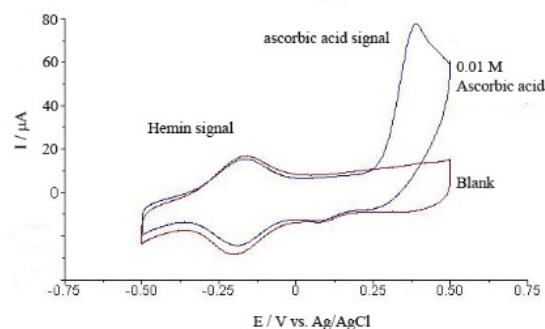


รูปที่ 1 แสดง (ก) รูปขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ที่เตรียมเรียบร้อยแล้ว (ข) แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ เฮมินบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์จากการวิเคราะห์จำนวน 10th ครั้ง (ค) ผลการศึกษาความเสถียรของฟิล์มเฮมินบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ที่ดั่งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและตู้ควบคุมอุณหภูมิในช่วง 30 วัน โดยการวัดค่า กระแสออกซิเดชันของเฮมินที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

3.2 ผลการเร่งปฏิกิริยาของขั้วไฟฟ้าเฮมิน/พอลิไพโรล กับสัญญาณกรดแอสคอร์บิก

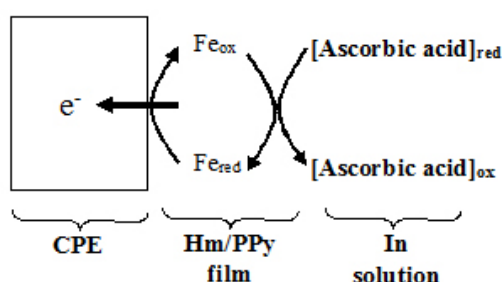
จากการศึกษาผลการเร่งปฏิกิริยาการส่งผ่านอิเล็กตรอนของ กรดแอสคอร์บิก ที่ขั้วไฟฟ้าที่ตรึงด้วยเฮมิน/พอลิไพโรล ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์กรดไฮโดรคลอริก 0.20 M (เป็นสารละลายแบบลงค์) และสัญญาณของกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 0.01 M พบว่า ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ที่ตรึงด้วย เฮมิน/พอลิไพโรล สามารถ

ตรวจวัดสัญญาณของกรดแอสคอร์บิกได้เป็นอย่างดีที่ศักย์ไฟฟ้า 0.40 V vs Ag/AgCl ดังรูปที่ 2 โดยสัญญาณปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของเฮมินที่อยู่ในฟิล์มพอลิไพโรลเกิดขึ้นที่ -0.17 V และ -0.19 V ตามลำดับ



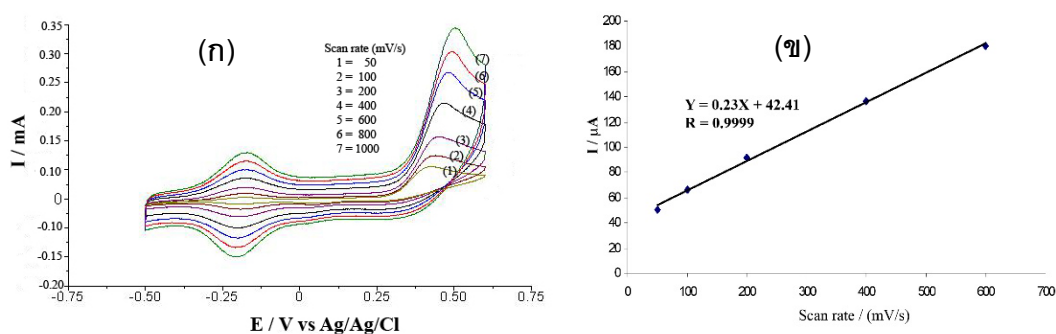
รูปที่ 2 แสดงสัญญาณไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 0.01 M กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เปรียบเทียบกับสัญญาณของ แบลงค์ (Blank) ของ ขั้วไฟฟ้า Hm/PPy-CPE, scan rate 100 mV/s

โดยกรดแอสคอร์บิกจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ให้อิเล็กตรอนกับขั้วไฟฟ้า ลักษณะกลไกการถ่ายโอนอิเล็กตรอนสามารถแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาที่ขั้วไฟฟ้าในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก ผ่าน Fe ที่อยู่ในโครงสร้างของเฮมิน

จากกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า เหล็ก (Fe) ที่มีอยู่ในโครงสร้างของเฮมินทำหน้าที่เร่งการส่งผ่านอิเล็กตรอนระหว่างกรดแอสคอร์บิกในสารละลาย กับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ เรียกลักษณะการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว ว่า เหล็กทำหน้าที่เป็นตัวเมดิเอเตอร์ (mediator) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของกลุ่มงานของ Mekki และคณะ ที่ได้นำเสนอสมมติการณ์เป็นตัวเร่งการส่งผ่านอิเล็กตรอนของเฮมินในปฏิกิริยาออกซิเดชันของ peroxynitrite [9]

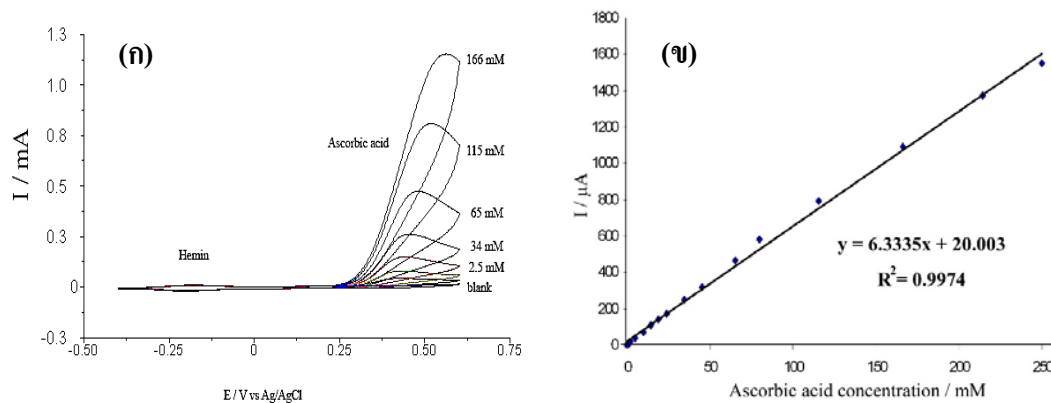


รูปที่ 4 แสดงผลของการแปรเปลี่ยนค่า scan rate ของขั้วไฟฟ้า Hm/PPy-CPE ในสารละลายกรดแอสคอร์บิก 0.01M (ก) ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ค่า scan rate ต่างๆ (ข) กราฟเปรียบเทียบค่า scan rate กับ กระแสออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก

การศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างขั้วไฟฟ้าโดยการแปรเปลี่ยน scan rate แล้ว พิจารณาค่ากระแสของกรดแอสคอร์บิก ซึ่งได้ผลแสดงดัง รูปที่ 4(ก) แสดงให้เห็นว่าลักษณะการเกิดปฏิกิริยาที่ขั้วไฟฟ้าของกรดแอสคอร์บิก เป็นปฏิกิริยาด้านออกซิเดชันทางเดียวไม่มีสัญญาณรีดักชัน นั่นคือเป็นปฏิกิริยาที่ไม่สามารถย้อนกลับได้ (Non reversible) โดยกรดแอสคอร์บิกจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ขั้วไฟฟ้าอย่างเดียว และจากรูป 4(ข) จะได้ว่ากระแสออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับ scan rate แสดงให้เห็นว่าลักษณะการเกิดปฏิกิริยาเป็นแบบ surface control คือกระแสจะถูกควบคุมด้วยอัตราการเคลื่อนที่ของกรดแอสคอร์บิกบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเป็นสำคัญ

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณของ กรดแอสคอร์บิกด้วยขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพอสที่ตรึงด้วย เอมีน/พอลิไพโรล

จากการทดลองที่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดพบว่า สามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกได้ในช่วงการทำงาน (Working range) เท่ากับ 0.25 – 250 mM (44 – 44,000 mg/L) ซึ่งมีค่าความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน (correlation coefficient) เท่ากับ 0.9986 และมีขีดจำกัดการวิเคราะห์ต่ำสุด (detection limit) เท่ากับ 0.50 mg/L ดังแสดงผลการทดลองในรูปที่ 5 ในการศึกษาความถูกต้อง และความแม่นยำของวิธีสามารถทำได้ โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 23.8 mM (4,188 mg/l) กรดแอสคอร์บิก แล้วนำมาหาความถูกต้องด้วย %recovery ได้ 86.5 ± 0.2 % (n=7) และความแม่นยำด้วย %RSD ได้ 0.98% (n=7) แสดงให้เห็นว่าเทคนิคที่ได้พัฒนามีข้อดีคือ สามารถวิเคราะห์ได้ง่าย ได้ผลการวิเคราะห์รวดเร็วโดยใช้เวลาในการวิเคราะห์เท่ากับ 1 นาทีต่อตัวอย่าง มีความถูกต้อง แม่นยำสูง และมีช่วงการทำงานกว้างเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกได้หลากหลายตัวอย่างโดยเฉพาะตัวอย่างที่มีกรดแอสคอร์บิกในปริมาณสูงๆเช่น ตัวอย่างยา หรืออาหาร เป็นต้น



รูปที่ 5 แสดงช่วงความเป็นตรงของการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก scan rate 100 mV/s ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.2 M HCl (ก) ไซคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับกระแส (ข) แสดงเส้นกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิก

4. สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการตรึงเฮมิน/พอลิไพโรล บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพชท์ พบว่าเหล็กในเฮมินมีบทบาทช่วยเร่งการส่งผ่านอิเล็กตรอนในการตรวจวัดปริมาณกรดแอสคอร์บิกได้เป็นอย่างดี เทคนิคที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ได้ในช่วงการทำงาน (Working range) เท่ากับ 44 ถึง 44,000 mg/L มีค่าความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน (correlation coefficient) เท่ากับ 0.9974 และมีขีดจำกัดการวิเคราะห์ต่ำสุด (detection limit) เท่ากับ 0.5 mg/L มีความแม่นยำสูง (%RSD = 0.98%) และมีความถูกต้องสามารถยอมรับได้ (%recovery = 86.55%) และที่สำคัญเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมีข้อดีคือ สามารถวิเคราะห์ได้ง่าย ได้ผลการวิเคราะห์รวดเร็ว และราคาอุปกรณ์ที่จะนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างได้หลากหลาย โดยเฉพาะตัวอย่างประเภทอาหารและยา

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนบางส่วนจาก “โครงการการสร้างภาคีในการผลิตบัณฑิตระดับปริญญาโท-เอก” สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) (ภัทรานิษฐ์ ทองเทพ)

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] S.J. Padayatty, A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J.H. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, S.K. Dutta, M. Levine, Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention, *J. Am. Coll. Nutr.* **22** (2003): 18-35.
- [2] P. M. Bradshaw, B. Celia, A. C. Clark, P. D. Prenzler and R. S. Geoffrey, Ascorbic acid: A review of its chemistry and reactivity in relation to a wine environment, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **51** (2011): 479-498.
- [3] G.S. Deshmukh, M.G. Bapat, Determination of ascorbic acid by potassium iodate, *Anal. Chem.* **145** (1955): 254-256.
- [4] H. Iwase, I. Ono, Determination of ascorbic acid in food by column liquid chromatography with electrochemical detection using eluent for pre-run sample stabilization, *J. Chromatogr. A* **806** (1998): 361-364.
- [5] S. Vermeir, M.L. Hertog, A. Schenk, K. Beullens, B.M. Nicolai, J. Lammertyn, Evaluation and optimization of high-throughput enzymatic assays for fast l-ascorbic acid quantification in fruit and vegetables, *Anal. Chim. Acta* **618** (2008): 94-101.
- [6] L. Nova kova, P. Solich, D. Solichova, HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids, *Trend Anal Chem.* **27**, (2008): 942-958.
- [7] C.S. Erdurak-Kilic, B. Uslu, B. Dogan, U. Ozgen, S.A. Ozkan, M. Coskun, Anodic voltammetric behavior of ascorbic acid and its selective determination in pharmaceutical dosage forms and some Rosa species of Turkey, *J. Anal. Chem.* **61** (2006): 1113-1120.
- [8] จ. พลเชื้อว. การพัฒนาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพอสด้วยเฮมิน/พอลิไพโรล สำหรับการตรวจวัดปริมาณไนไตรท์ในน้ำดื่ม. ว วิทย เทคโนโลยี มทร รัตนบุรี. **3 (2)** (2013): 38-44.
- [9] S. F. Peteua, T. Bosea, M. Bayachou, Polymerized hemin as an electrocatalytic platform for peroxynitrite's oxidation and detection, *Electrochim Acta.* **780** (2013) 81-88.