

## Filem Mikrosfera Akrilik Terpegun Alizarin Merah S untuk Pengesanan Pendarfluor Optik Asid Borik

(Alizarin Red S Immobilized Acrylic Microspheres Film for Optical Fluorescence Sensing of Boric Acid)

RAJA ZAIDATUL AKHMAR RAJA JAMALUDDIN<sup>1,\*</sup>, MUSA AHMAD<sup>2</sup>, LEE YOOK HENG<sup>1</sup> & LING LING TAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Jabatan Sains Kimia, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia*

<sup>2</sup>*Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Sains Islam Malaysia, Bandar Baru Nilai, 71800 Nilai, Negeri Sembilan Darul Khusus, Malaysia*

<sup>3</sup>*Pusat Kajian Bencana Asia Tenggara (SEADPRI), Institut Alam Sekitar dan Pembangunan (LESTARI), Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia*

*Diserahkan: 12 Februari 2023/Diterima: 2 Mei 2023*

### ABSTRAK

Mikrosensor pendarfluor optik untuk kuantifikasi asid borik dalam sampel makanan telah dibangunkan berdasarkan filem mikrosfera poli(*n*-butil akrilat) [poli(*n*BA)]. Pencirian optik reagen alizarin merah S (ARS) terpegun pada filem mikrosfera poliakrilat dengan asid borik telah dilakukan melalui pendekatan transduksi pendarfluor. Reagen ARS telah dijerap secara fizikal pada filem mikrosfera akrilik hidrofobik untuk membentuk mikropolimer kelat dengan sokongan matriks sol-gel untuk mengelakkan larut lesap molekul ARS yang bersifat larut air. Pengkelat ARS yang terpegun pada filem mikrosfera poli(*n*BA) memberikan tindak balas pengesanan optik yang cepat dalam masa 1 minit. Julat rangsangan linear dinamik yang berguna bagi mikrosensor pendarfluor optik asid borik telah diperolehi antara 1.6  $\mu\text{M}$  dan 32.0  $\mu\text{M}$  asid borik dengan had pengesanan (LOD) pada 1  $\mu\text{M}$ . Mikrosensor pendarfluor optik asid borik berasaskan mikropolimer akrilik menghasilkan prestasi kebolehhilangan yang baik dengan nilai sisihan piawai relatif (RSD) yang dicapai dalam julat 3.3-3.6%. Mikrosensor optik yang dibangunkan telah digunakan untuk pengukuran pendarfluor asid borik dalam sampel mi kuning dan mi beras leper ('hor fun'/'kway teow') dan tidak menunjukkan perbezaan yang ketara berbanding dengan kaedah rujukan tradisional spektrometri pemancaran plasma-optik berganding secara induktif (ICP-OES).

Kata kunci: Alizarin Merah S; asid borik; mikrosfera akrilik; pendarfluor; sensor optik

### ABSTRACT

An optical microsensor for the quantification of boric acid in food samples has been developed based on poly(*n*-butyl acrylate) [poly(*n*BA)] microspheres film. Optical characterization of the immobilized alizarin red S (ARS) reagent on the polyacrylate microspheres film with boric acid has been performed via a fluorescence transduction approach. The ARS reagent was physically adsorbed on the hydrophobic acrylic microspheres film to form a chelating micropolymer with the support of a sol-gel matrix to prevent the leaching of the water-soluble ARS molecules. The immobilized ARS chelator on the poly(*n*BA) microspheres film afforded a quick optical sensing response within 1 min. A useful dynamic linear response range of the optical microsensor was established between 1.6  $\mu\text{M}$  and 32.0  $\mu\text{M}$  boric acid with a limit of detection (LOD) obtained at 1  $\mu\text{M}$ . The acrylic micropolymer-based fluorescence boric acid sensor yielded promising reproducibility results with relative standard deviation (RSD) values attained in the range of 3.3-3.6%. The developed optical chemical microsensor has been applied for fluorescence quantitation of boric acid in yellow noodle and flat rice noodle ('hor fun'/'kway teow') samples, and exhibited no significant disagreement compared with traditional inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) reference method.

Keywords: Alizarin Red S; acrylic microspheres; boric acid; fluorescence; optical chemical sensor

## PENGENALAN

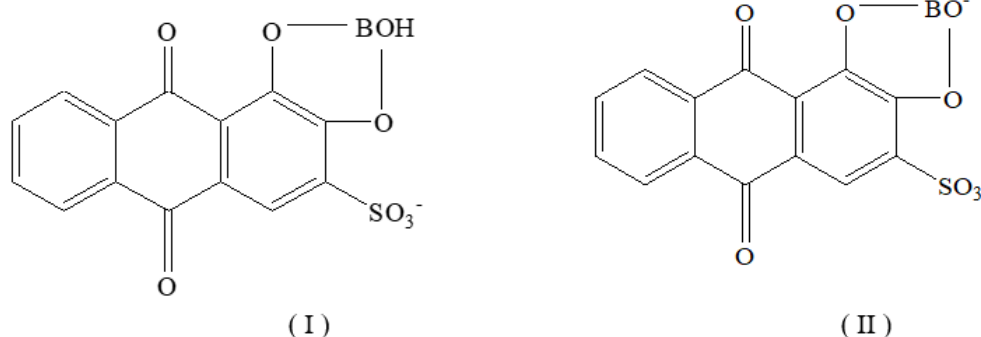
Penambahan bahan pengawet kimia dalam makanan kadang kala dianggap sebagai suatu cara yang berkesan untuk memanjangkan jangka hayat makanan tersebut (Sridhar et al. 2021). Walau bagaimanapun, penggunaan asid borik dalam makanan telah dilarang oleh Akta Makanan Malaysia 1983. Sehingga kini, asid borik masih digunakan secara meluas sebagai pengawet kimia dalam makanan untuk meningkatkan warna, tekstur dan rasa makanan atau untuk menambah baik gelatinisasi kanji (Amit et al. 2020). Asid borik telah dikelaskan sebagai sebatian beracun dan ia adalah toksik secara kronik kepada manusia. Pada dos yang rendah seperti 2.5 mg asid borik setiap kg berat badan sehari ( $\text{mg kg}^{-1} \text{ hari}^{-1}$ ), ia adalah dalam lingkungan keperluan mikronutrien manusia dan menjadi beracun kepada manusia pada tahap penggunaan 5  $\text{mg kg}^{-1} \text{ hari}^{-1}$  (Ang et al. 2010). Penggunaan jangka panjang makanan yang mengandungi asid borik boleh membawa kepada komplikasi kesihatan akut yang berkaitan dengan penyakit gastrousus, kerosakan buah pinggang dan kehilangan selera makan (Mei, Ma & Xie 2019). Selain itu, pengambilan asid borik secara tidak sengaja pada 2  $\text{g kg}^{-1}$  boleh membawa maut. Oleh itu, pemantauan rapi asid borik dalam makanan menjadi semakin penting.

Azomethin H, curcumin, asid kromotropik dan alizarin merah S (ARS) adalah beberapa reagen yang biasa digunakan untuk penentuan asid borik. ARS atau dikenali sebagai asid 1,2-dihidroksiantrakuinon-3-sulfonik, misalnya, telah digunakan sebagai reagen kimia untuk pengesanan fluorimetrik asid borik dalam larutan. Zaggout, A. Qarraman dan Zourab (2007) telah mengkaji rangsangan ARS terpegun dalam matriks sol-gel sebagai sensor pH. Penentuan spektrofotometri ion logam berat dengan ARS juga telah dilaporkan oleh Alkan, Kharun dan Chmilenko (2003) untuk ion  $\text{Mo}^{6+}$  dan Saxena, Singh dan Sambhi (1994) untuk ion  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  dan  $\text{Zn}^{2+}$ , manakala Sai et al. (2007) telah membangunkan

prob ion fluorida berpendarfluor terlarut air berasaskan kompleks ARS-Al(III).

ARS ialah terbitan antrakuinon dan mempunyai diol visinal yang diketahui boleh bertindak balas dengan asid borik untuk menghasilkan ester boronat (Ibrahim & Nuri 2006). Rajah 1 menunjukkan struktur molekul kompleks ARS-asid borik dalam kedua-dua media asid dan bes. Secara amnya, ARS adalah berpendarfluor lemah disebabkan oleh pemindahan proton keadaan teruja daripada salah satu kumpulan katekol hidroksil kepada oksigen karbonil, yang mengakibatkan pelindapan pendarfluor. Apabila molekul asid borik terikat kepada kumpulan berfungsi katekol dihidroksil, ia menghapuskan proses pemindahan proton keadaan teruja (Springsteen & Wang 2001) dan menimbulkan keamatan pendarfluor yang lebih tinggi.

Beberapa kaedah telah dilaporkan mengenai penentuan asid borik atau boron dalam sampel air, tumbuhan, tanah dan logam. Walau bagaimanapun, penentuan asid borik dalam makanan masih belum diterokai. Kaedah tradisi menggunakan instrumen seperti spektrometri pemancaran plasma-atom berganding secara induktif (ICP-AES) (Szabo & Golightly 1995), spektrometri jisim plasma berganding secara induktif (ICP-MS) (Al-Ammar, Gupta & Barnes 2000), analisis suntikan berjujukan (SIA) (Mei, Ma & Xie 2019) dan kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC) (Takahashi, Yawata & Hoshino 2008) adalah sensitif dan boleh dipercayai, namun ia tidak praktikal bagi tujuan pemantauan *in-situ* jauh. Selain itu, mereka melibatkan kos analisis tinggi, prosedur analisis yang memakan masa dan rumit. Sebaliknya, teknologi sensor boleh menjadi kaedah alternatif dalam penentuan asid borik yang cepat dan mudah. Sensor kimia optik sebagai contoh, adalah reka bentuk mudah alih bagi kegunaan di lapangan, bersaiz kecil, mudah disediakan, sensitif, masa rangsangan yang cepat dan membolehkan pemantauan masa nyata melalui analisis *in-situ* (Rodriguez, Bolbot



RAJAH 1. Struktur molekul kompleks ARS-asid borik dalam media (I) asid dan (II) bes

& Tothill 2004).

Dalam kajian ini, ARS terpegun pada mikrosfera polimer *n*-butil akrilat (*n*BA) digunakan sebagai mikropolimer pengkelat untuk penentuan spektrofotometri asid borik dalam sampel makanan. Mikropolimer poli(*n*-butil akrilat) [poli(*n*BA)] ialah polimer bersilang dengan rangkaian makro yang menghasilkan keporosan yang tinggi pada permukaan. Sifat keporosan mikrosfera akrilik ini membenarkan pemindahan molekul pengkelat ARS melalui liang lalu terjerap pada permukaan penyokong mikrosfera dan menggalakkan pemindahan jisim asid borik untuk bertindak balas dengan ARS terpegun melalui koordinasi kimia untuk membentuk kompleks pendarfluor yang kuat. Oleh itu, ia memendekkan masa tindak balas dan menurunkan had pengesanan kuantiti asid borik.

## BAHAN DAN KAEDAH

### BAHAN KIMIA

Larutan stok 1.62 mM asid borik telah disediakan dengan melarutkan 0.1 g asid borik (R & M) dalam 100 mL air ternyahion. Larutan sol-gel telah disediakan mengikut kaedah yang diterangkan oleh Siti Nur Syazni et al. (2022) dengan beberapa pengubahsuaian. Secara ringkas, campuran tetraetil ortosilikat (TEOS) (Fluka), air ternyahion, 95% etanol (System) dan 0.1 M HCl dalam nisbah isi padu 3.00:3.00:3.10:0.05 dan 15 titis triton-X 100 (J.T. Baker) disediakan dalam bikar, dan dikacau selama ~2 jam sehingga larutan sol homogen diperolehi menggunakan pengacau magnet pada suhu bilik (25 °C). Larutan sol kemudiannya dibiarkan semalaman (24 jam) pada suhu ambien dalam bekas tertutup untuk membolehkan tindak balas hidrolisis dan pemeluwapan sol-gel berlaku. Kira-kira 1 mM larutan stok ARS disediakan dengan melarutkan 8.56 mg ARS (Aldrich) dalam 25 mL larutan sol-gel, manakala pencairan larutan stok ARS dilakukan dengan menggunakan etanol 95%. Larutan stok sol-gel disimpan dalam bekas bertutup dan diletakkan di dalam peti sejuk apabila tidak digunakan. Larutan penimbal disediakan daripada larutan natrium hidroksida (NaOH, System) dan larutan kalium dihidrogen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, System).

### INSTRUMENTASI

Keamatan pendarfluor direkodkan dengan menggunakan spektrofotometer Perkin Elmer. Spektrometri pemancaran plasma-optik berganding

secara induktif (ICP-OES, Perkin Elmer) digunakan bagi tujuan ujian penentusahan sensor kimia optik dalam pengukuran kepekatan asid borik dalam sampel makanan. Saiz dan morfologi permukaan mikrosfera akrilik ditentukan melalui mikroskop elektron pengimbasan pemancaran medan (FESEM, Zeiss Merlin). Sonikator (Elma) dan unit pemancar UV (Komponen RS 196-5251) telah digunakan semasa mensintesis mikrosfera poli(*n*BA). Filem mikrosfera akrilik disediakan dengan mesin penyalut-celup yang direka oleh Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia. Meter pH Metrohm digunakan untuk mengukur pH larutan penimbal.

### SINTESIS MIKROSFERA AKRILIK

Mikrosfera polimer akrilik telah disintesis berdasarkan kaedah yang dirumuskan oleh Noor Izaanin, Lee dan Tan (2022) dengan beberapa pengubahsuaian. Secara ringkasnya, 7 mL monomer *n*-butil akrilat (*n*BA, Aldrich), 0.1 g pemula-foto 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone (DMPP, Fluka), 450 µL agen taut silang 1,6-hexanediol diacrylate (HDDA, Aldrich), 0.01 g surfaktan sodium dodesil sulfat (SDS, Aldrich) dan 15 mL air ternyahion dicampurkan dalam botol sampel dan disonikasi selama 10 minit untuk menghasilkan ampaiian sfera dalam bentuk emulsi. Ampaiian sfera putih kemudiannya dipindahkan ke piring petri dan didedahkan di bawah cahaya UV selama 600 s dalam unit pemancar UV untuk memulakan proses pempolimeran foto. Aliran gas nitrogen telah dimulakan secara serentak semasa proses rawatan foto untuk menyingkirkan gas oksigen dalam kotak UV.

### PEMBINAAN SENSOR KIMIA OPTIK

Kaedah salutan celup digunakan untuk menyediakan filem mikrosfera akrilik. Substrat plastik dengan dimensi 5.0 cm × 0.9 cm (panjang×lebar) telah disalutkan dengan lapisan mikrosfera poliakrilat yang telah disediakan dengan menggunakan mesin penyalut celup dan dibiarkan semalaman pada suhu 25 °C. Apabila filem tersebut digunakan untuk pengukuran, ia disalut dengan reagen pengkelat ARS pada kepekatan 0.5 mM dan dikeringkan dalam keadaan ambien selama 30 minit. Kemudian, filem mikropolimer pengkelat direndamkan dalam air ternyahion selama 3 minit untuk mengeluarkan sebatian ARS yang berlebihan atau tidak terikat pada mikrosfera akrilik.

### PENGOPTIMUMAN SENSOR OPTIK PNDARFLUOR

BERASASKAN MIKROSFERA  
BAGI PENGESANAN ASID BORIK

Kajian kesan pH dijalankan dengan menukar pH medium tindak balas daripada pH 1 ke pH 12, manakala pemegunan reagen kimia dilakukan dengan menggunakan larutan ARS 1 mM. Filem mikrosfera terpegun ARS telah direndamkan dalam larutan penimbal dengan kehadiran dan ketidakhadiran asid borik 81  $\mu\text{M}$ . Spektrum pengujaan dan pemancaran direkodkan antara 440 nm dan 700 nm. Keamatan pendarfluor relatif antara ARS terpegun dan kompleks kelatnya dengan asid borik diambil pada panjang gelombang 640 nm. Kesan kepekatan reagen ARS terpegun terhadap rangsangan pendarfluor sensor asid borik telah dikaji dalam julat kepekatan ARS 0.1-1.0 mM dan kepekatan asid borik dikekalkan malar pada 81  $\mu\text{M}$  dalam larutan penimbal pH 7.0. Keamatan pendarfluor direkodkan dengan spektrofluorometer pada 640 nm. Untuk mengkaji kestabilan foto reagen ARS terpegun, filem mikrosfera terpegun 0.5 mM ARS telah disediakan dan didedahkan kepada sumber cahaya selama 8 jam. Nilai keamatan pendarfluor direkodkan pada selang 1 jam selama 8 jam pada panjang gelombang pemancaran 640 nm. Julat dinamik mikrosensor pendarfluor optik asid borik optik ditentukan dengan mengubah kepekatan asid borik daripada 1.6-320.0  $\mu\text{M}$  pada pH 7.0, dan kepekatan ARS terpegun telah ditetapkan pada 0.5 mM. Pengukuran pendarfluor diambil selepas 3 minit tindak balas pada 640 nm. Masa rangsangan mikrosensor pendarfluor optik telah dikaji dengan menggunakan tiga kepekatan asid borik yang berbeza iaitu 16  $\mu\text{M}$ , 24  $\mu\text{M}$  dan 32  $\mu\text{M}$  serta filem mikrosfera terpegun 0.5 mM ARS telah digunakan. Bacaan keamatan pendarfluor direkodkan setiap 1 minit selama 6 minit pada panjang gelombang pemancaran 640 nm. Keboleholungan sensor optik telah dikaji dengan menghasilkan tujuh replikasi sensor secara serentak, dan rangsangan pendarfluor bagi setiap individu sensor diukur secara berasingan pada dua kepekatan asid borik, iaitu 16  $\mu\text{M}$  dan 32  $\mu\text{M}$ . Kesan gangguan ion terhadap rangsangan mikrosensor pendarfluor optik asid borik telah dikaji dengan mencelupkan filem mikrosfera terpegun ARS ke dalam larutan asid borik 16  $\mu\text{M}$  pada pH 7.0 dengan kehadiran dan ketidakhadiran ion pengganggu. Ion pengganggu yang dipilih dalam kajian ini ialah ion  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{F}^-$  dan  $\text{NO}_3^-$ . Ion gangguan ditambahkan secara langsung ke dalam medium tindak balas semasa penentuan asid borik 16  $\mu\text{M}$  dijalankan sehingga ralat sebanyak  $\pm 5\%$  daripada rangsangan sensor optik

diperhatikan. Rangsangan pendarfluor sensor optik berasaskan mikrosfera terhadap pelbagai kepekatan asid borik dalam sampel makanan telah ditentusahkan dengan kaedah piawai ICP-OES mengikut prosedur yang dilaporkan oleh Krejčová dan Černohorský (2003) dengan beberapa pengubahsuaian. Dalam kajian ini, sampel makanan seperti mi kuning dan mi beras leper ('hor fun'/'kway teow') diperoleh daripada pasar basah tempatan. Sampel makanan dikeringkan dalam ketuhar pada suhu 80 °C selama 2 jam. Sebanyak 1 g setiap jenis mi kemudiannya dididihkan dalam 50 mL air ternyahion selama 5 minit dan ditapis ke dalam kelalang volumetrik 100 mL. 1 mL asid nitrik 65% kemudiannya ditambah ke dalam hasil turasan. Ujian perolehan asid borik telah dijalankan dengan menambahkan kepekatan asid borik piawai ke dalam sampel makanan yang telah dirawat dan rangsangan pendarfluor diukur dengan sensor optik asid borik yang dibangunkan berasaskan filem mikrosfera ARS.

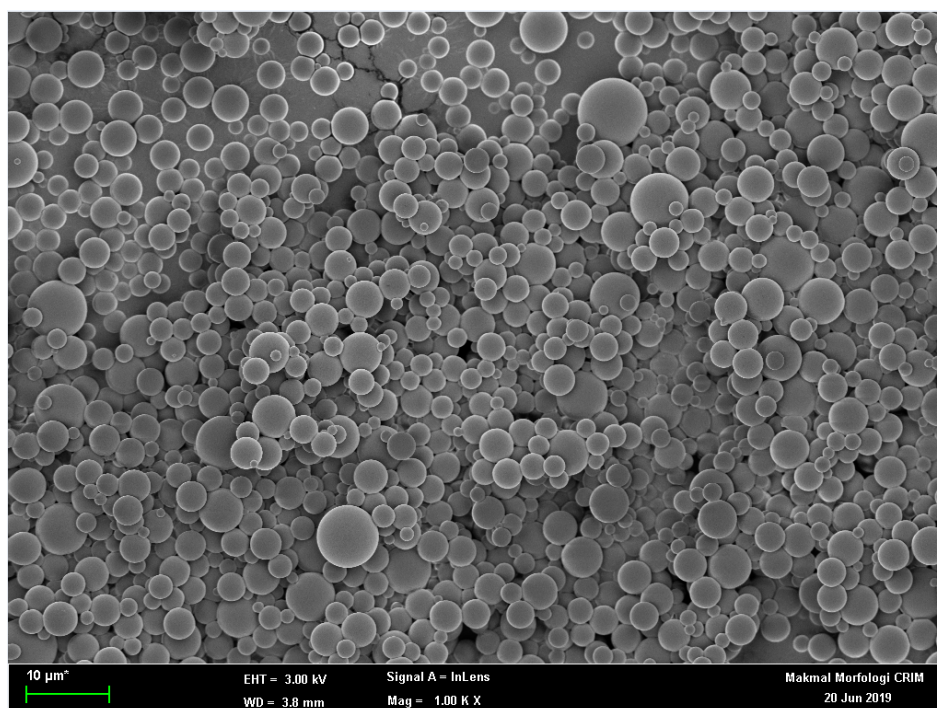
#### HASIL DAN PERBINCANGAN

##### RANGSANGAN PNDARFLUOR FILEM MIKROSFERA ARS DAN KOMPLEKS KELATNYA DENGAN ASID BORIK

Mikrosfera polimer akrilik berfungsi sebagai matriks pemegunan yang baik untuk sebatian pengkelat ARS kerana bersifat hidrofobik, bukan ion, saiz kecil, lengai kimia serta kestabilan fizikal dan kimia yang baik (Nurlely et al. 2021). Mikrosfera akrilik yang telah disintesis melalui kaedah pempolimeran foto emulsi berada dalam julat saiz 1.56-8.36  $\mu\text{m}$  (Rajah 2). Oleh kerana saiz mikrosfera akrilik yang kecil, ia menyediakan luas permukaan yang besar untuk tindak balas kimia berlaku pada permukaan mikrosfera (Noor Izaanin, Lee & Tan 2022). Agen taut silang 1,6-heksanediol diakrilat (HDDA) digunakan untuk menambahbaik sifat fizikal polimer akrilik yang terhasil, seperti mengawal sifat elastik, keliatan dan kelembutan mikropolimer (Nurlely et al. 2021). Sodium dodesil sulfat (SDS) diperkenalkan untuk membentuk misel yang stabil untuk mengelakkan penggumpalan mikrosfera akrilik.

Potensi kehilangan molekul penderiaan kimia sering menimbulkan masalah kerana reagen kimia yang terlarut lesap daripada matriks pemegun boleh mengakibatkan sensor kimia yang dibina menjadi kurang sensitif terhadap molekul sasaran. Oleh itu, matriks sol-gel digunakan untuk menyediakan filem penderiaan untuk mengurangkan larut lesap molekul ARS daripada filem mikrosfera akrilik. Reagen ARS telah dipegunkan





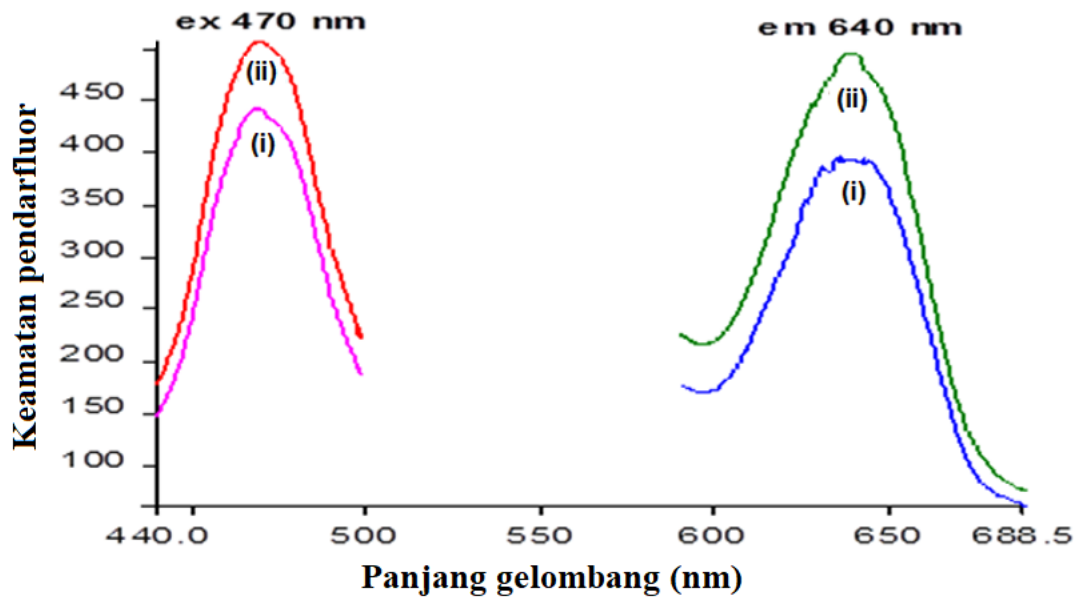
RAJAH 2. Mikrograf FESEM bagi mikrosfera poliakrilat yang ditangkap oleh mikroskop elektron pengimbasan pancaran medan yang beroperasi pada 15 kV

pada mikrosfera akrilik dengan kaedah penjerapan fizikal. Rajah 3 menunjukkan spektrum pengujaan dan pemancaran ARS terpegun pada mikrosfera akrilik sebelum dan selepas bertindak balas dengan asid borik pada pH 7.0. Keamatan pengujaan dan pemancaran direkodkan pada panjang gelombang pengujaan ( $\lambda_{ex}$ ) dan pemancaran ( $\lambda_{em}$ ) masing-masingnya pada 470 nm dan 640 nm. Reseptor pengkelat ARS membentuk kompleks pendarfluor kuat dengan asid borik seperti yang dicirikan oleh peningkatan keamatan pendarfluor relatif sensor mikrofilem optik. Unsur boron asid borik terikat kepada atom pengkoordinat atau atom penderma daripada ligan ARS lalu ikatan koordinasi boron-oksigen yang terbentuk telah menghapuskan proses pemindahan proton keadaan teruja dan menunjukkan isyarat peningkatan pendarfluor. Keamatan pendarfluor relatif maksimum antara panjang gelombang pemancaran sensor sebelum dan selepas bertindak balas dengan asid borik diperoleh pada 640 nm. Oleh itu, panjang gelombang kerja yang digunakan dalam analisis kuantitatif sensor optik berikutnya ditetapkan pada 640 nm. Panjang gelombang pemancaran adalah didapati serupa dengan reagen

ARS sahaja yang terpegun dalam filem sol-gel. Ini menunjukkan mikrosfera akrilik adalah sangat lengai terhadap bahan kimia dan pelarut tanpa mengubah sifat kimia ARS terpegun dan kumpulan berfungsi molekul ARS terpegun kekal utuh untuk bertindak balas dengan asid borik. Xu et al. (2005) juga melaporkan pemerhatian yang sama dalam kajian mereka yang berkaitan dengan sensor ion optik menggunakan mikrosfera.

#### PEMBANGUNAN DAN PENGOPTIMUMAN SENSOR PENDARFLUOR ASID BORIK

pH optimum mikrosensor pendarfluor optik asid borik didapati berada pada pH neutral disebabkan oleh keamatan pendarfluor maksimum yang diperoleh pada panjang gelombang pemancaran pada 640 nm. Hasil pemerhatian ini adalah tekal dengan hasil kerja yang dilaporkan sebelum ini oleh beberapa penyelidik (Chimpalee et al. 1993; Ibrahim & Nuri 2006; Springsteen & Wang 2002, 2001) menggunakan reagen yang sama untuk pengesanan asid borik. Didapati bahawa kompleks ester boronat mempunyai kestabilan kimia yang rendah dalam keadaan berasid, manakala dalam



RAJAH 3. Spektrum pengujian pendarfluor dan pemancaran ARS terpegun pada filem mikrosfera poli(*n*BA) sebelum (i) dan selepas (ii) tindak balas dengan larutan asid borik pada pH 7.0

medium bes daripada pH 7.5–9.5, adalah dijangkakan anion borat yang terbentuk akan meningkat dengan banyaknya. Apabila pH meningkat melebihi pH 9.5, anion borat mempunyai afiniti yang kuat terhadap tapak diol. Peningkatan dalam aktiviti ion OH<sup>-</sup> akan bersaing untuk tapak pengikat borat dan mengakibatkan penurunan kadar pembentukan kompleks dengan asid borik. pH optimum untuk ARS terpegun bertindak balas dengan asid borik diperoleh pada pH 7.0 dan dikekalkan dalam uji kaji pengoptimuman sensor seterusnya.

Kesan muatan reagen ARS pada mikrosfera akrilik telah dikaji untuk menentukan kepekatan ARS optimum bagi tindak balas dengan asid borik. Kepekatan ARS dipelbagaikan dalam julat 0.1–1.0 mM pada pH 7.0. Luas permukaan mikrosfera akrilik yang besar membenarkan kepekatan reagen ARS yang tinggi dimuatkan pada permukaan mikrosfera. Apabila kepekatan reagen ARS yang lebih tinggi dipegunkan pada mikrosfera, ia membenarkan kadar tindak balas kimia yang lebih tinggi berlaku antara ARS terpegun dan asid borik, dengan itu meningkatkan keamatan pendarfluor. Rangsangan sensor optik perlahan-lahan menjadi mendatar apabila kepekatan ARS terpegun melebihi 0.5 mM. Ini menunjukkan bahawa keseluruhan ligan pengkelat ARS terpegun pada permukaan mikrosfera telah digunakan sepenuhnya untuk bertindak balas dengan asid borik. Oleh itu,

kepekatan ARS terpegun telah ditetapkan pada 0.5 mM untuk semua kajian pencirian sensor optik asid borik. Plot yang sama juga telah dilaporkan oleh Chen dan Yu (2009) dan Xu et al. (2006). Chen dan Yu (2009) menggunakan mikroarah silika dalam kajian pengesanan karbon dioksida untuk meningkatkan kapasiti permukaan pengikatan bagi pemegungan asid 1-hidroksi-3,6,8-pirentrisulfonat (HPTS). Tren keputusan yang sama juga dilihat oleh Xu et al. (2006) menggunakan nanoarah emas dalam pembangunan biosensor hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dengan enzim horseradish peroksidase (HRP) terpegun.

Kajian kestabilan foto bagi sensor optik telah dijalankan untuk mengkaji kesan cahaya ke atas kestabilan kimia reagen ARS terpegun. Reagen ARS terpegun tidak menunjukkan penurunan ketara dalam keamatan pendarfluor dalam tempoh 8 jam, menunjukkan tiada tindak balas penguraian foto fasa reagen berlaku apabila ia terdedah secara langsung kepada sumber cahaya untuk jangka masa yang agak lama. Nilai RSD yang rendah pada 0.01% untuk keamatan pendarfluor ARS terpegun menunjukkan bahawa reagen ARS terpegun adalah stabil foto. Oleh itu, kesensitifan ARS dapat dikekalkan pada tahap yang tinggi apabila dipegunkan disebabkan oleh kesan perlindungan foto daripada matriks sokongan yang digunakan (Nurlely et al. 2022). Hun dan Zhang

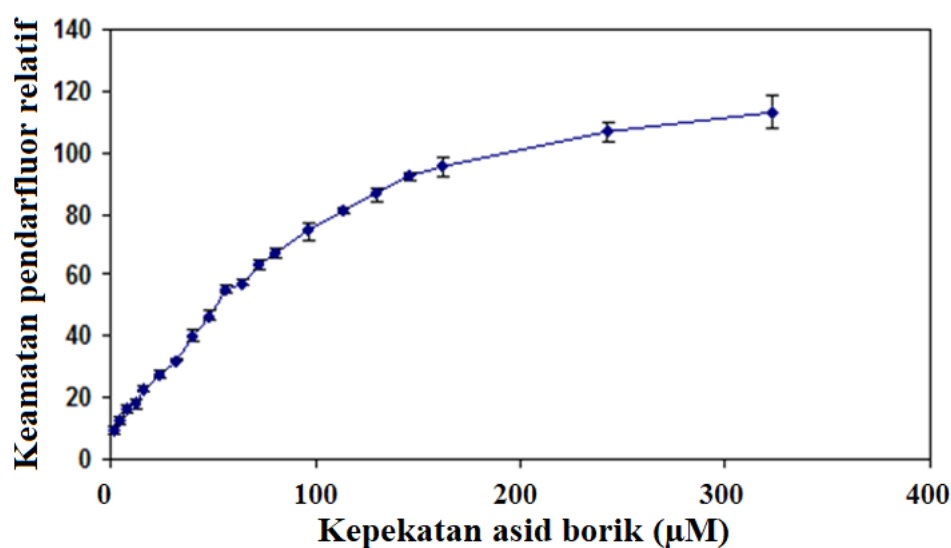
(2007) melaporkan nanosensor pendarfluor berdasarkan nanozarah silika terdop kalsin untuk penentuan kalsium dalam serum darah. Penggunaan bahan sokongan nanozarah silika juga telah menghalang perubahan warna molekul kalsin terpegun oleh sumber foto.

Julat rangsangan linear dinamik sensor optik ditentukan dengan menggunakan pelbagai kepekatan asid borik berjalut daripada 1.6-320.0  $\mu\text{M}$ . Keluk rangsangan pendarfluor sensor asid borik optik ditunjukkan dalam Rajah 4. Rangsangan sensor meningkat dengan peningkatan kepekatan asid borik dan isyarat pendarfluor relatif menjadi hampir malar apabila kepekatan asid borik meningkat sehingga 160  $\mu\text{M}$ . Pada peringkat ini, ARS terpegun telah bertindak balas sepenuhnya untuk membentuk kompleks dengan asid borik. Sebarang peningkatan kepekatan asid borik yang selanjutnya tidak memberikan peningkatan yang ketara dalam rangsangan pendarfluor relatif. Rajah 5 menggambarkan julat kalibrasi linear sensor optik terhadap asid borik merentasi julat kepekatan 1.6-32.0  $\mu\text{M}$  dalam keadaan optimum. Had pengesanan (LOD) sensor diperoleh pada 1  $\mu\text{M}$  ( $0.76 \text{ mg L}^{-1}$ ) asid borik.

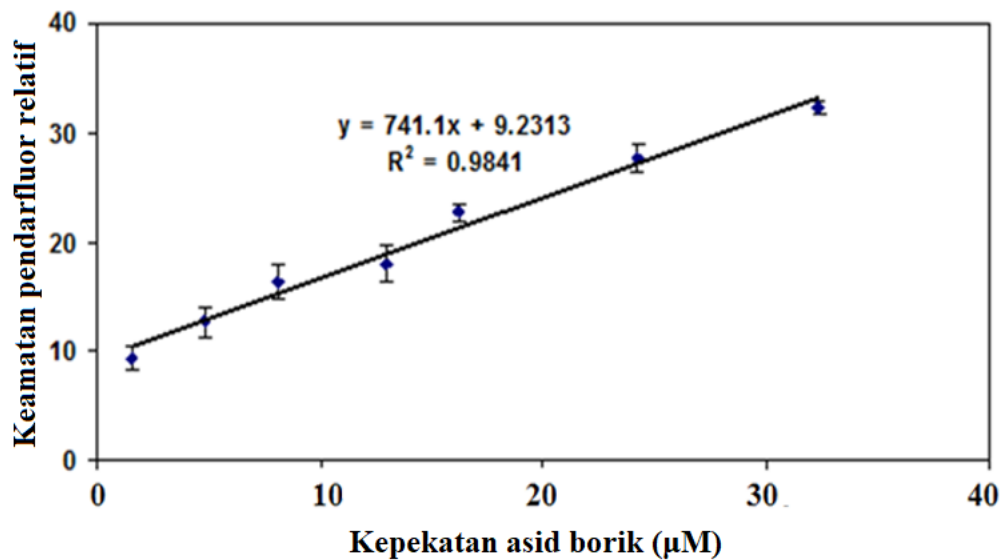
Masa rangsangan bagi filem mikrosfera terpegun 0.5 mM ARS telah dikaji dengan menggunakan asid borik 16  $\mu\text{M}$ , 24  $\mu\text{M}$  dan 32  $\mu\text{M}$ . Keputusan hasil kajian menunjukkan bahawa semakin rendah kepekatan asid borik digunakan, semakin lama masa yang diperlukan untuk mencapai rangsangan sensor keadaan mantap.

Menurut Musa dan Narayanaswamy (1995), masa yang diperlukan untuk eriokrom sianin R (ECR) terpegun untuk mencapai rangsangan keadaan mantapnya adalah bergantung kepada kepekatan analit yang digunakan. Lebih tinggi kepekatan analit yang digunakan, lebih cepat sensor mencapai tindak balas keadaan mantapnya. Kajian lain yang dijalankan oleh Safavi dan Bagheri (2005) dan Zare-Dorabei, Norouzi dan Ganjali (2009) masing-masing menggunakan ARS dan bis(tiofenal)piridin-2,6-diamina (BPD) terpegun dalam membran selulosa triasetil mendedahkan bahawa masa rangsangan yang diperlukan untuk kepekatan analit rendah adalah lebih lama kerana bahan analit mesti melalui tiga peringkat tindak balas, iaitu proses resapan, tindak balas penguraian kompleks dan tindak balas pembentukan kompleks. Ketebalan membran juga merupakan faktor yang mempengaruhi masa rangsangan sensor (Nurlely et al. 2022), dengan masa rangsangan yang lebih lama akan diambil apabila membran yang lebih tebal digunakan sebagai matriks pembawa.

Dalam kajian ini, sensor optik berasaskan mikrosfera akrilik mengambil masa kira-kira 1 minit untuk menghasilkan rangsangan keadaan mantap. Oleh itu, masa rangsangan ditetapkan pada 1 minit untuk pengukuran keamatan pendarfluor sensor optik dalam kajian pengoptimuman sensor selanjutnya. Masa rangsangan pantas yang diperoleh adalah disebabkan oleh pemindahan jisim asid borik ke luas permukaan



RAJAH 4. Rangsangan pendarfluor relatif bagi sensor filem mikrosfera optik antara julat kepekatan asid borik 1.6  $\mu\text{M}$  dan 320.0  $\mu\text{M}$  pada panjang gelombang pancaran 640 nm



RAJAH 5. Lengkung kalibrasi sensor pendarfluor dalam julat kepekatan asid borik 1.6-32.0 µM pada panjang gelombang pancaran 640 nm ( $n=3$ )

besar filem mikrosfera akrilik terpegun ARS. Saiz kecil mikrosfera akrilik memudahkan resapan asid borik ke dalam filem mikrosfera pada semua sudut (iaitu 3 dimensi) berbanding dengan filem satah (iaitu dua dimensi) (Noor Izaanin, Lee & Tan 2022), dengan itu menggalakkan kadar tindak balas kompleks antara ARS terpegun dan borik melalui tindak balas kimia koordinasi. Sensor ion berasaskan mikrosfera yang direka oleh Xu et al. (2005) berasaskan templat gel silika terdop menunjukkan bahawa sensor bersaiz kecil berupaya mengurangkan isi padu sampel, memendekkan masa rangsangan, meningkatkan kesensitifan dan menurunkan had pengesanan sensor yang dibangunkan.

Kebolehulangan sensor merujuk kepada rangsangan antara individu sensor serupa yang dibina secara serentak (Nahdya et al. 2022). Kebolehulangan mikrosensor pendarfluor optik telah dikaji dengan mengukur rangsangan individu sensor secara berasingan dengan kepekatan asid borik yang sama. Sisihan piawai relatif (RSD) kebolehulangan bagi tujuh ujian penentuan sensor berbeza yang dilakukan menggunakan asid borik 16 µM dan 32 µM telah diperolehi pada 3.3% dan 3.6%, yang menunjukkan kebolehulangan yang baik bagi kaedah fabrikasi sensor ini. Menurut Siti Nur Syazni et al. (2022), variasi dalam rangsangan penyerapan optik adalah dijangka, terutamanya apabila ukuran penyerapan dibuat pada titik berbeza bagi filem yang berbeza. Walau

bagaimanapun, faktor utama nilai RSD yang tinggi dikaitkan dengan kaedah fabrikasi sensor dan operasi sensor (Nurlely et al. 2022). Ini dikaitkan dengan variasi dalam kuantiti matriks yang digunakan, kepekatan reagen, saiz zarah dan bentuk sensor yang dibangunkan.

Sensor optik yang dibangunkan berdasarkan filem mikrosfera ARS untuk penentuan asid borik juga telah dinilai dengan kehadiran ion asing seperti  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{F}^-$  dan  $\text{NO}_3^-$ . Kesan gangguan daripada ion  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{3+}$  dijangka kerana ion tersebut boleh membentuk kompleks dengan reagen ARS. Jadual 1 menggariskan had toleransi ion gangguan semasa penentuan asid borik 160 µM dijalankan dengan mikrosensor pendarfluor optik asid borik. Walaupun ion  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{Al}^{3+}$  dijangka bertindak balas dengan ARS terpegun, tetapi kesan gangguannya dalam penentuan asid borik pada pH neutral adalah tidak ketara. Menurut Fatibello-Filho dan Vieira (2009), pembentukan kompleks ARS-Zn(II) berlaku dalam medium tindak balas pH 9.0, manakala kompleks ARS-Al(III) terbentuk dalam medium berasid (~pH 4.0) (Sai et al. 2007). Ion  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{3+}$  memberi kesan gangguan dengan ketara kerana kompleks ARS-Cu(II) (Homayon et al. 2008) dan ARS-Fe(III) (Abbaspour & Baramakeh 2006) telah terbentuk pada sekitar pH 7.0. Economou et al. (2004) memerhatikan kesan gangguan signifikan daripada ion  $\text{Fe}^{3+}$  dalam tindak balas antara asid kromotropik dan



asid borik. Nemdruk dan Karalova (1969) mengesahkan kesan gangguan paling ketara daripada ion  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  dan  $Fe^{3+}$  dalam penentuan asid borik kerana ion ini adalah ion logam peralihan berwarna yang boleh menjejaskan pengukuran rangsangan optik. Ini menunjukkan bahawa kepilihan tindak balas kimia antara reagen terpegun dan analit adalah sangat bergantung kepada jenis reagen kimia yang digunakan, pH dan sifat agen pelekat yang digunakan (Siti Nur Syazni et al. 2022). Sedikit kesan gangguan negatif daripada ion  $F^-$  juga diperhatikan dalam kajian ini kerana ia boleh membentuk kompleks dengan asid borik. Nor Azah dan Musa (2002) telah mentakrifkan gangguan negatif sebagai kesan gangguan yang disebabkan oleh tindak balas antara ion gangguan dan analit dan mengakibatkan tindak balas yang tidak lengkap, dengan itu merendahkan rangsangan sensor; gangguan positif berlaku apabila ion gangguan bertindak balas dengan reagen dan kompleks analit serta

menimbulkan isyarat sensor yang lebih tinggi.

Untuk menilai kebolegunaan mikrosensor pendarfluor optik asid borik dalam analisis sampel sebenar, dua jenis sampel makanan yang disuntik dengan asid borik piawai telah dianalisis oleh kedua-dua kaedah ICP-OES dan sensor optik pendarfluor. Ujian perolehan dilakukan dengan menambahkan kepekatan asid borik yang diketahui pada matriks sampel makanan. Peratusan perolehan asid borik yang diperolehi dalam kajian ini ialah 101.8-104.6% bagi sampel mi kuning dan 99.9-101.2% bagi sampel mi beras leper. Seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 2, nilai  $t$  yang dihitung menandakan tiada perbezaan yang ketara antara kaedah konvensional dan sensor optik yang dicadangkan untuk pengesanan asid borik, yang menunjukkan bahawa kedua-dua kaedah ini adalah setanding untuk analisis kuantitatif kepekatan asid borik.

JADUAL 1. Had toleransi ion gangguan dalam penentuan asid borik  $160 \mu M$  pada pH 7.0 ( $n=3$ ) dengan menggunakan sensor optik berasaskan mikrosfera akrilik yang dibangunkan

| Ion gangguan | Had toleransi |
|--------------|---------------|
| $Zn^{2+}$    | 250           |
| $Al^{3+}$    | 500           |
| $Mn^{2+}$    | 25            |
| $Cu^{2+}$    | 10            |
| $Fe^{3+}$    | 1             |
| $F^-$        | 100           |
| $NO_3^-$     | 250           |

JADUAL 2. Data untuk penentuan kepekatan asid borik dalam mi beras leper dan mi kuning menggunakan kedua-dua sensor kimia optik dan kaedah ICP-OES

| Sampel makanan | Kepekatan asid borik piawai yang disuntik |                | Kepekatan asid borik yang ditentukan oleh ICP-OES ( $n=3$ ) | Kepekatan asid borik yang ditentukan oleh sensor optik ( $n=3$ ) |              | Nilai $t$ |
|----------------|---|----------------|---|--|--------------|-----------|
|                | Disuntik (mM)                             | Diperoleh (mM) | Sebenar (mM)  | Diperoleh (mM)   | Sebenar (mM) |           |
| Mi kuning      | 5.00                                      | 5.94±0.76      | 0.94  | 5.80±0.36  | 0.80         | 0.1929    |
| Mi beras leper | 13.00                                     | 13.52±0.36     | 0.52  | 13.38±0.29   | 0.38         | 0.3510    |

## KESIMPULAN

Sensor optik dengan masa rangsangan yang pantas dalam penentuan asid borik secara kuantitatif telah dibangunkan berdasarkan filem mikrosfera akrilik terpegun ARS. Penggunaan transduksi pendarfluor menghasilkan isyarat optik dengan kebolehlulangan yang tinggi bagi sensor asid borik yang dibangunkan. Oleh kerana polimer akrilik yang bersaiz mikro telah dipilih sebagai matriks penyokong bagi pemegungan ARS, fasa reagen mempamerkan masa ransangan yang cepat, rangsangan linear yang luas terhadap kepekatan asid borik dan had pengesanan rendah pada tahap mikromolar dapat dicapai. Berbanding dengan kaedah rujukan ICP-OES, sensor optik yang dibangunkan menunjukkan potensi yang bagus bagi pengesanan asid borik dalam sampel makanan. Kelebihan lain kaedah sensor optik yang dicadangkan termasuk kaedah fabrikasi sensor yang mudah, kos rendah dan tidak memerlukan langkah pra-rawatan sampel yang rumit.

## PENGHARGAAN

Penghargaan dan terima kasih yang tidak terhingga kepada Kementerian Pendidikan Tinggi Malaysia yang telah membiayai geran penyelidikan Skim Geran Penyelidikan Fundamental dengan kod projek penyelidikan FRGS/1/2019/STG01/UKM/02/4.

## RUJUKAN

- Abbaspour, A. & Baramakeh, L. 2006. Novel zirconium optical sensor based on immobilization of Alizarin Red S on a triacetylcellulose membrane by using principle component analysis artificial neural network. *Sensors & Actuators B: Chemical* 114(2): 950-956.
- Al-Ammar, A.S., Gupta, R.K. & Barnes, R.M. 2000. Elimination of boron memory effect in inductively coupled plasma-mass spectrometry by ammonia gas injection into the spray chamber during analysis. *Spectrochimica Acta Part B* 55: 629-635.
- Amit, Z., Lasem, L.A., Muhd Hariz, L.A.R., Nur Nayli Nasuha, A.R., Nur Hazira, A.M. & Ling, J.H. 2020. Contents of boric acid in noodles and processed foods. *Borneo Journal of Resource Science and Technology* 10(1): 70-78.
- Ang, S.S., Abu Bakar, S., Fatimah, A.B., Nor Azah, Y., Ahmed Sahib, A. & Lee, Y.H. 2010. Risk and health effect of boric acid. *American Journal of Applied Sciences* 7: 620-627.
- Chen, S.C. & Yu, L.L. 2009. Highly sensitive and linear optical fiber carbon dioxide sensor based on sol-gel matrix doped with silica particles and HPTS. *Sensors & Actuators B: Chemical* 143: 205-210.
- Chimpalee, N., Chimpalee, D., Boonyanitchayakul, B. & Burns, D.T. 1993. Flow-injection spectrofluorimetric determination of boron using Alizarin Red S in aqueous solution. *Analytica Chimica Acta* 282(3): 643-646.
- Economou, A., Themelis, D.G., Bikou, H., Tzanavaras, P.D. & Rigas, P.G. 2004. Determination of boron in water and pharmaceuticals by sequential-injection analysis and fluorimetric detection. *Analytical Chimica Acta* 510(2): 219-224.
- Fatibello-Filho, O. & Vieira, H.J. 2009. Spectrophotometric flow injection system for determination of Zn<sup>2+</sup> in ophthalmic formulations using Alizarin Red S. *Eclética Química* 34: 67-72.
- Homayon, A.P., Karimi, M., Moniri, E. & Soudi, H. 2008. Development of a sensitive spectrophotometric method for determination of copper. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* 2: 096-099.
- Hun, X. & Zhang, Z. 2007. Preparation of a novel fluorescence nanosensor based on calcein-doped silica nanoparticles, and its application to the determination of calcium in blood serum. *Microchimica Acta* 159: 255-261.
- Ibrahim, S. & Nuri, N. 2006. Voltammetric determination of boron by using Alizarin Red S. *Analytica Chimica Acta* 572: 253-258.
- Krejčová, A. & Černohorský, T. 2003. The determination of boron in tea and coffee by ICP-AES method. *Food Chemistry* 82(2): 303-308.
- Alkan, M., Kharun, M. & Chmilenko, F. 2003. Spectrophotometric determination of molybdenum with Alizarin Red S in the presence of poly(sulfonylpiperidinylmethylene hydroxide). *Talanta* 59(3): 605-611.
- Mei, J., Ma, X. & Xie, J. 2019. Review on natural preservatives for extending fish shelf life. *Foods* 8: 890.
- Musa, A. & Narayanaswamy, R. 1995. Development of an optical fibre Al(III) sensor based on immobilized chrome azurol S. *Talanta* 42: 1337-1344.
- Nahdya, K., Lau, H.Y., Zamri, I., Lee, Y.H. & Tan, L.L. 2022. Biosensor DNA voltametric berasaskan nanozarah emas bersalut elektrod bercetak skrin karbon untuk pengesanan DNA organisma terubahsuai genetik (GMO). *Sains Malaysiana* 51(10): 3285-3294.
- Nemdruk, A.A. & Karalova Z.K. 1969. *Analytical Chemistry of Boron*, Terj. Kondor, R. Ann Arbor: Humphrey Science Publishers.
- Noor Izaanin, R., Lee, Y.H. & Tan, L.L. 2022. A simple potentiometric biosensor based on carboxylesterase for the analysis of aspartame. *Sains Malaysiana* 51(9): 2913-2924.
- Nor Azah, Y. & Musa, A. 2002. A flow cell optosensor for determination of Co(II) based on immobilised 2-(4-pyridylazo) resorcinol in chitosan membrane by using stopped flow, flow injection analysis. *Sensors & Actuators B: Chemical* 86: 127-133.
- Nurlely, Musa, A., Lee, Y.H. & Tan, L.L. 2022. Optical

- enzymatic formaldehyde biosensor based on alcohol oxidase and pH-sensitive methacrylic-acrylic optode membrane. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 267: 120535.
- Nurlely, Musa, A., Lee, Y.H. & Tan, L.L. 2021. Potentiometric enzyme biosensor for rapid determination of formaldehyde based on succinimide-functionalized polyacrylate ion-selective membrane. *Measurement* 175: 109112.
- Saxena, R., Singh, A.K. & Sambhi, S.S. 1994. Synthesis of a chelating polymer matrix by immobilizing Alizarin Red S on Amberlite XAD-2 and its application to the preconcentration of lead(II), cadmium(II), zinc(II) and nikel(II). *Analytica Chimica Acta* 295(1-2): 199-204.
- Rodriguez, B.B., Bolbot, J.A. & Tothill, I.E. 2004. Development of urease and glutamic dehydrogenase amperometric assay for heavy metals screening in polluted samples. *Biosensors and Bioelectronics* 19: 1157-1167.
- Safavi, A. & Bagheri, W. 2005. Design of a copper (II) optode based on immobilization of dithiozone on a triacetylcellulose membrane. *Sensors & Actuators B: Chemical* 107: 53-58.
- Sai, R.S., Ravi, M.K., Nageswara, G.R., Anil, K.K. & Janardhana, C.A. 2007. A water-soluble fluorescent fluoride ion probe based on Alizarin Red S–Al(III) complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 66: 457-461.
- Siti Nur Syazni, M.Z., Goh, C.T., Mohammad, B.K. & Tan, L.L. 2022. Bio-doped microbial nanosilica as optosensing biomaterial for visual quantitation of nitrite in cured meats. *Biosensors* 12: 388.
- Springsteen, G. & Wang, B. 2002. A details examination of boronic acid-diol complexation. *Tetrahedron* 58(6): 5291-5300.
- Springsteen, G. & Wang, B. 2001. Alizarin Red S as a general optical reporter for studying the binding of boronic acids with carbohydrates. *Chemical Communications* 17: 1608-1609.
- Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P.S. & Kapoor, A. 2021. Food preservation techniques and nanotechnology for increased shelf life of fruits, vegetables, beverages and spices: A review. *Environmental Chemistry Letters* 19: 1715-1735.
- Szabo, A.S. & Golightly, D.W. 1995. Determination of boron in liquid nutritional foods by ICP-AES. *Journal of Food Composition and Analysis* 8: 220-231.
- Takahashi, T., Yawata, S. & Hoshino, H. 2008. Determination of boron in water samples at nanogrARS per cubic decimeter levels by reversed-phase partition high-performance liquid chromatography with precolumn complexation reaction using salicylaldehyde and 1-amino-8-naphthol-3,6-disulfonate. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 391: 1101-1106.
- Xu, C., Wygladacz, K., Qina, Y., Retter, R., Bell, M. & Bakker, E. 2005. Microsphere optical ion sensors based on doped silica gel templates. *Analytica Chimica Acta* 537(1-2): 135-143.
- Xu, S.Y., Tu, G.L., Peng, B. & Han, X.Z. 2006. Self-assembling gold nanoparticles on thiol-functionalized poly(styrene-co-acrylic acid) nanospheres for fabrication of a mediatorless biosensor. *Analytica Chimica Acta* 570: 151-157.
- Zaggout, F.R., A. Qarraman, A.El-F. & Zourab, S.M. 2007. Behavior of immobilized Alizarin Red S into sol-gel matrix as pH sensor. *Materials Letters* 61(19-20): 4192-4195.
- Zare-Dorabei, R., Norouzi, P. & Ganjali, M.R. 2009. Design of a novel optical sensor for determination of trace gadolinium. *Journal of Hazardous Materials* 171: 601-605.

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: anne2282@yahoo.com