บทที่ 1
บทนำ

เนื่องจากในปัจจุบัน เกิดความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอย่างไม่หยุดยั้ง ทำให้นักเคมีสนใจพัฒนาการวิเคราะห์ต่างๆ ขึ้น เพื่อใช้ในการติดตามตรวจสอบสารพิษ สารปนเปื้อนต่าง ๆ ทั้งในธรรมชาติ สิ่งแวดล้อมและอาหาร ตลอดจนมีการพัฒนางานวิจัยเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทั้งงานวิจัยทางเคมีบริสุทธิ์และเคมีประยุกต์ ซึ่งรวมไปถึงการพัฒนาเทคนิคและเครื่องมือต่าง ๆ ขึ้นมาเพื่อรองรับงานวิจัยใหม่ ๆ โดยเฉพาะระบบอัตโนมัติสำหรับป้อนสารตัวอย่างเข้าสู่เครื่องมือ ซึ่งมีความจำเป็นอย่างมากสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีจำนวนมาก จากร้อยถึงพันตัวอย่างหรือมากกว่า เพื่อจะได้ตรวจวิเคราะห์ด้วยความรวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่ายและได้ข้อมูลเป็นที่น่าเชื่อถือได้ ซึ่งนอกจากจะนำมาใช้ในการแก้ปัญหาทางการวิเคราะห์ที่กำลังเผชิญอยู่ในปัจจุบันแล้ว ยังเป็นเป็นพื้นฐานหรือนวัตกรรมในการวิจัยพัฒนาสิ่งใหม่ ๆ ให้เกิดขึ้น

ผลจากการพัฒนาการวิเคราะห์แบบระบบอัตโนมัตินี้สามารถใช้ในห้องปฏิบัติการที่มีงานวิเคราะห์เป็นประจำ เช่นโรงพยาบาล โรงงานอุตสาหกรรมและองค์กรต่าง ๆ ที่มีการวิเคราะห์สารตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมแล้ววิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติระบบหนึ่งที่ปัจจุบันได้รับความสนใจอย่างมากคือ Flow Injection Analysis หรือเรียกย่อ ๆ ว่า FI หรือ FIA

1. การวิเคราะห์แบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส[1]

ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา นักเคมีได้พยายามคิดค้นวิธีการวิเคราะห์แบบอัตโนมัติที่สะดวก รวดเร็ว ที่จะช่วยลดขั้นตอนในการทดสอบ หรือทำให้ประหยัดเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมีและสารตัวอย่างของการวิเคราะห์ลง แต่ยังคงให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และสามารถกระทำได้ทันเวลาที่ต้องการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโรงงานการผลิตเชิงอุตสาหกรรมที่ต้องมีการทดสอบคุณภาพสินค้าหรือวัตถุดิบ หรือแม้กระทั่งของเสียก่อนจะปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม จึงมีการนำระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซีส (Flow injection analysis) หรือ FIA ที่พัฒนาขึ้นโดย J. Ruzicka และ E. H. Hansen [2] ในปี ค.ศ. 1975 มาประยุกต์ใช้ในการแก้ปัญหาดังกล่าวเนื่องจากวิธีวิเคราะห์ชนิดใหม่ที่มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีจำนวนมากได้ดี และสามารถวิเคราะห์ได้อย่างทันท่วงที และมีบทบาทอย่างมากในสาขาเคมีวิเคราะห์และเคมีประยุกต์ โดยยืนยันได้จากรายงานวิจัยมากกว่า 16,500 ฉบับในช่วง 30 กว่าปีที่ผ่านมา [3]

1.1 ประวัติความเป็นมา[4-5]

ประวัติความเป็นมาของเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส หรือ เอฟไอเอ (FIA) นั้นได้มีผู้ตีพิมพ์ผลงานแสดงความคิดเห็นตามแนวคิดของตนเองซึ่งแตกต่างกันออกไปในแต่ละบุคคล

ในปี 1957 Skeggs แห่งมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย เป็นผู้ริเริ่มใช้ระบบอัตโนมัติแบบการไหลต่อเนื่องที่เรียกว่า Continuous Flow Analysis (CFA) ซึ่งประกอบด้วย flow system ร่วมกับเครื่องมือวัดต่าง ๆ เช่น สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โพเทนชิโอมิเตอร์ เป็นต้น หลักการก็คือให้รีเอเจนต์ สารตัวพา และอากาศไหลผ่านท่อเล็ก ๆ ด้วยอัตราเร็วที่เหมาะสมและคงที่ภายใต้การควบคุมของปั๊ม แล้วมาพบกันก่อนเข้าที่ส่วนผสม หรือ mixing coil ซึ่งมีความยาวที่เหมาะสม จากนั้นเข้าสู่เครื่องตรวจวัด การไหลแบบต่อเนื่องนี้ภายในท่อจะมีฟองอากาศคั่นเป็นช่วง ๆ

Stewart ผู้นำกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกัน ซึ่งได้ตีพิมพ์ผลงานขึ้นครั้งแรกเกี่ยวกับเทคนิค FIA ในปี ค.ศ. 1974 และ 1976 ได้เขียนบทความเกี่ยวกับประวัติความเป็นมาของเทคนิค FIA ว่า การพัฒนาเทคนิคนี้มาจากการฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในกระแสที่ไหลในเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี (gas chromatography) ซึ่งพัฒนาโดย James และ Martin ในปี ค.ศ. 1957 และ Stewart เชื่อว่าผลงานตีพิมพ์ของ Skeggs ในปี ค.ศ. 1957 เป็นจุดเริ่มของเทคนิคการวิเคราะห์แบบการไหลโดยมีฟองอากาศคั่น (segmented flow analysis: SFA) นอกจากนี้เขายังได้กล่าวถึงผลงานการค้นคว้าต่าง ๆ ที่เชื่อว่าเป็นผลงานที่แสดงถึงพัฒนาการสู่เทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส Stewart ได้สรุปในตอนท้ายของบทความว่าเทคนิค FIA นั้น เป็นแนวความคิดที่แฝงอยู่ในเทคนิคทางโครมาโทกราฟี แต่จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1974-1975 เทคนิคนี้จึงเริ่มได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับกัน

Ruzicka ผู้นำกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ชาวเดนมาร์ก ซึ่งเป็นผู้ตั้งชื่อเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส ได้เขียนบทความแสดงความคิดเห็นว่า เทคนิค FIA มีลักษณะที่โดดเด่นอยู่ 3 ประการที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว คือ การฉีดสารตัวอย่าง (sample injection) การแพร่กระจายที่ถูกควบคุม (controlled dispersion) และความแม่นยำในระยะเวลา (reproducible timing) และมีความเห็นว่าเทคนิค FIA นั่นมีความคล้ายคลึงกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว (liquid chromatography) มากกว่าก๊าซโครมาโทกราฟี

1.2 การพัฒนาจนถึงปัจจุบัน[4-5]

จากการค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค FIA พบว่าการพัฒนาเทคนิค FIA ถึงปัจจุบันอาจแบ่งได้เป็น 3 ช่วงใหญ่ ๆ ด้วยกันคือ

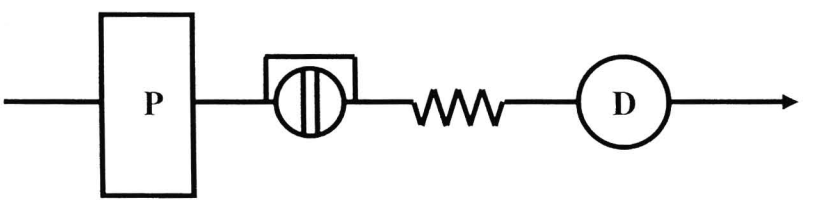
ในช่วงแรก (ระหว่างปี ค.ศ. 1975-1981) เป็นช่วงที่เกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิค FIA เพื่อให้เป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อน ที่มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ โดยอัตโนมัติของเทคนิคต่าง ๆ ที่มีความคล้ายคลึงกับที่ใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่เป็นของเหลว

ในช่วงที่สอง (ระหว่างปี ค.ศ. 1981- ปัจจุบัน) เป็นช่วงที่เทคนิค FIA ได้รับการพัฒนาอย่างกว้างขวางเพื่อเป็นแนวการวิเคราะห์แบบใหม่ สำหรับการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่องในระบบของกระแสที่ไหล (flow stream) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์โดยอุปกรณ์ชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ธาตุและศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารทางชีวภาพที่มีความซับซ้อน และการสร้างแนวคิดพื้นฐานใหม่สำหรับการวิเคราะห์ทางจลน์ศาสตร์ของของเหลวโดยวิธีการอัตโนมัติ

ในช่วงที่สาม ซึ่งเริ่มจากปัจจุบัน เป็นช่วงที่เอฟไอเอนั้นได้รับการพัฒนาให้เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่สำคัญและมีประสิทธิภาพสำหรับสารเคมีที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคและทำให้เกิดความเป็นไปได้สำหรับการออกแบบระบบอัตโนมัติสำหรับการควบคุมในการวิเคราะห์และควบคุมกระบวนการในทางอุตสาหกรรม และเพื่อศึกษาจลนศาสตร์และกลไกของปฏิกิริยาทางเคมี ตลอดถึงกระบวนการต่าง ๆ ทางกายภาพ เคมี ในสารละลาย

ในปัจจุบันนี้เทคนิค FIA ได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ทางด้านต่าง ๆ อย่างกว้างขวางเช่น ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี เคมีคลินิก เภสัชกรรม อุตสาหกรรม การเกษตร สิ่งแวดล้อม ฯลฯ

1.3 หลักการพื้นฐานของเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซีส [4-5]



รูป 1.1 แผนภาพอย่างง่ายของระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซีส

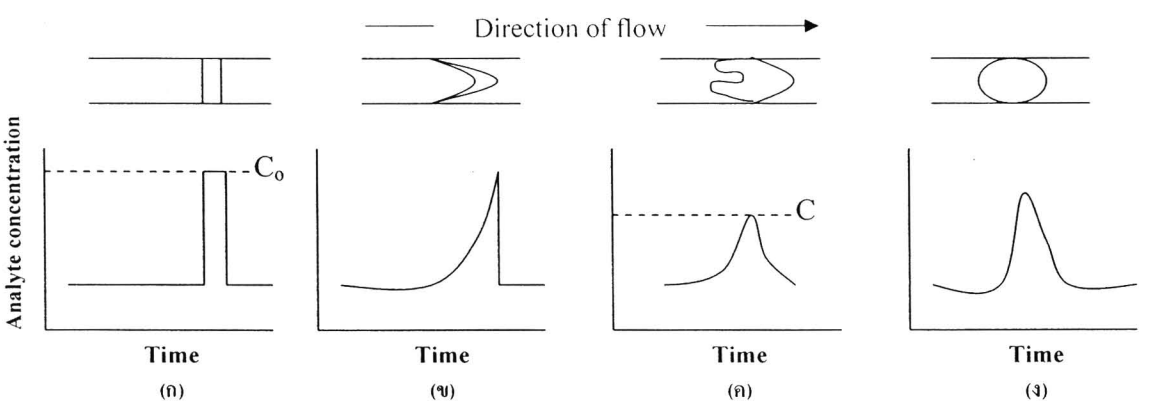
โฟลอินเจคชันอะนาลิซิส (FIA) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีอย่างอัตโนมัติชนิดใหม่ (Continuous Flow Analysis; CFA) ซึ่งอาศัยหลักการไหลอย่างต่อเนื่อง รูป 1.1 แสดงแผนภาพอย่างง่ายของระบบ FIA ซึ่งทำโดยฉีดสารตัวอย่างปริมาตรน้อย ๆ เข้าไปในกระแสตัวพาที่ไหลด้วยอัตราการไหลคงที่อย่างต่อเนื่องภายในท่อซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กสารตัวอย่างจะเข้าผสมกับกระแสตัวพาแล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหรือทางเคมีขึ้นและสามารถวัดการ

เปลี่ยนแปลงของตัวอย่างได้ เช่น การดูดกลืนแสง การเปลี่ยนค่าของกระแสไฟฟ้า ความเป็นกรดด่าง เป็นต้น สัญญาณที่ได้จะเป็นลักษณะพีคหัวตัดซึ่งจะถูกบันทึกและสามารถหาปริมาณของสารตัวอย่างได้ โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน ดังนั้นเพื่อให้ผลการทดลองเป็นที่น่าเชื่อถือ จึงต้องมีการควบคุมสภาวะของการทดลองของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างให้เหมือนกัน ซึ่งในระบบ FIA จะอาศัยหลักการพื้นฐาน 3 ประการ คือ

1. การฉีดสารตัวอย่าง (sample injection) เป็นการนำสารตัวอย่างเข้าไปในกระแสของตัวพาที่ไหลอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ปริมาณหรือปริมาตรของสารตัวอย่างที่ถูกต้องและแม่นยำทุกครั้ง

2. เวลาในการฉีดสารที่แม่นยำ (reproducible time) ต้องใช้เวลาที่แน่นอนและสม่ำ เสมอเท่ากันทุกครั้งไม่เช่นนั้นสารตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับกระแสตัวพาด้วยสัดส่วนที่ไม่คงที่ทำให้ residence time ไม่เท่ากัน ซึ่งจะมีผลต่อการวัดของเครื่องตรวจวัดสัญญาณ

3. การแพร่ที่ถูกควบคุม (controlled dispersion) การแพร่ที่ถูกควบคุมของ sample zone ที่เกิดขึ้นในระหว่างการไหล และทำการวัดด้วยเครื่องตรวจวัด ซึ่งสังเกตได้จากพีค ที่เกิดขึ้นบนกระดาษของเครื่องบันทึกสัญญาณ ที่มีลักษณะเฉพาะของระบบ FIA เท่านั้น ส่วนการควบคุมการแพร่ของสารตัวอย่างนั้น สามารถแบ่งได้ 3 ชนิด คือการแพร่แบบจำกัด (limited dispersion) การแพร่แบบปานกลาง (medium dispersion) และการแพร่แบบมาก (large dispersion) โดยลักษณะและการนำไปใช้ของสารแต่ละชนิดจะไม่เหมือนกัน รูปแบบต่าง ๆ ของการกระจายแสดงได้ดังรูป 1.2



รูป 1.2 รูปแบบต่าง ๆ ของการกระจายที่เกิดขึ้นของสารตัวอย่างในท่อ[4]

ก) ไม่เกิดการแพร่กระจาย ข) การแพร่กระจายเนื่องจากการพา

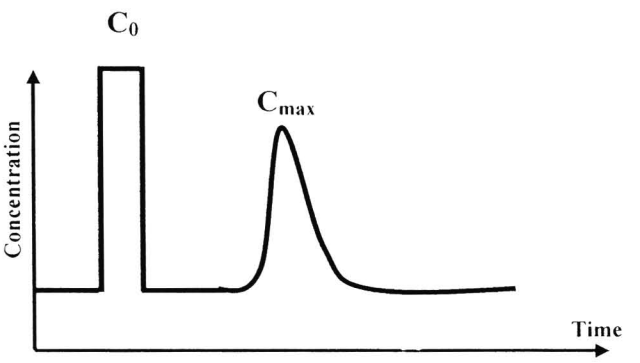
ค) การแพร่กระจายโดยการพาและการแพร่ตั้งฉากกับการไหล ง) การแพร่กระจายเนื่องจากการแพร่

1.4 **การแพร่กระจาย** (Dispersion)[5]

ขณะที่ sample zone เคลื่อนที่ผ่านท่อเล็ก ๆ ในระบบ FIA นั้น การกระจายตัวของ sample zone จะเพิ่มขึ้น การกระจายตัวใช้สัญลักษณ์ D ซึ่งมีนิยามทางคณิตศาสตร์คือ

$$D = \frac{C_o}{C}$$

เมื่อ Co และ C แทนความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ในสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปในระบบ FIA และความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ที่จุดตรวจตามลำดับ D สามารถหาได้โดยการฉีดสารละลายตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้น Co เข้าไปในระบบ FIA วัดค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างในขณะที่ถูกตรวจวัด (C) ในระบบ FIA โดยแสดงการแพร่กระจายดังรูป 1.3



รูป 1.3 การแพร่กระจายในสารตัวอย่างในระบบ FIA

การแพร่ (D) เป็นสัดส่วนโดยตรงกับ อัตราการไหล ความยาวของท่อ และขนาดหรือปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ฉีด เมื่อฉีดสารตัวอย่างปริมาณมาก การแพร่จะมีค่าเป็น 1 ภายใต้สภาวะเช่นนี้จะไม่มีการผสมของสารตัวอย่างกับการในกระแสตัวพาเกิดขึ้น จึงไม่มีการแพร่ของสารตัวอย่างเกิดขึ้นด้วย ในการวิเคราะห์โดยวิธี FIA ส่วนมากต้องการให้มีปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับกระแสตัวพาเกิดขึ้น ซึ่งในกรณีนี้การกระจาย หรือ D จะมีค่ามากกว่า 1 เสมอ

พบว่าในเทคนิค FIA จะมีการกระจายตัว 3 แบบ คือ การกระจายตัวแบบจำกัด กระจายตัวแบบปานกลาง และการกระจายตัวอย่างมาก ซึ่งมีค่าการกระจาย (D) อยู่ในช่วง 1-3, 3-10 และมากกว่า 10 ตามลำดับ

1.5 การกระจายที่ถูกควบคุม (Dispersion controlled)[5]

เมื่อศึกษาเกี่ยวข้องกับการกระจายตัวของสารตัวอย่างในกระแสตัวพาซึ่งอาจเป็นรีเอเจนต์หรือตัวทำละลาย เข้าสู่เครื่องตรวจวัดชนิดใด ๆ สารตัวอย่างจะมีการกระจายตัว 3 ลักษณะคือ

1. การกระจายตัวแบบจำกัด (limited dispersion) มีการกระจายตัวของ sample zone น้อยมาก (D มีค่าอยู่ระหว่าง 1-3) พบมากในการวิเคราะห์องค์ประกอบเดิมโดยป้องกันให้เกิดการแพร่น้อยที่สุด เช่นต้องการหาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) การนำไฟฟ้า หรือ ionic strength ของสารตัวอย่าง สารละลายที่ใช้เป็นกระแสตัวพานี้จะไม่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์สารตัวอย่างแต่อย่างใด เพียงแต่ทำหน้าที่เป็นตัวพาสารตัวอย่างเข้าสู่เครื่องตรวจวัดตามต้องการเท่านั้น การกระจายตัวของ sample zone แบบนี้เหมาะสำหรับใช้วิธีวิเคราะห์สารโดยใช้ส่วนตรวจวัดชนิดอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโคปี อินดักทีฟส์คัพเบิลพลาสมา หรือใช้กับระบบ FIA ที่ใช้เครื่องตรวจวัดชนิดไฟฟ้าเคมี

2. การกระจายตัวแบบปานกลาง (medium dispersion) มีการกระจายตัวของ sample zone บ้าง (ซึ่งจัดอยู่ในระดับปานกลาง) ในกระแสตัวพาที่ทำหน้าที่เป็นรีเอเจนต์ และ ตัวทำละลายก่อนที่จะเข้าสู่เครื่องตรวจวัด การกระจายตัวของ sample zone แบบนี้มีค่า D มีค่าอยู่ระหว่าง 3-10 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการวิเคราะห์โดยวิธี FIA เป็นส่วนมาก เพราะเป็นเวลาที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดการผสมของสารตัวอย่างกับกระแสตัวพา และสารละลายของรีเอเจนต์ทำให้เกิดสารประกอบ หรือสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถดูดกลืนรังสีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าหรือคายแสงแบบฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence) ซึ่งสามารถตรวจวัดโดยเครื่องตรวจวัดได้ การกระจายของ sample zone แบบนี้จะต้องรอให้สารทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ก่อน ความสูงของพีค จะลดลงเมื่อการกระจายตัวของ sample zone เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาหาความยาวของท่อระหว่างจุดฉีดสารตัวอย่าง และจุดตรวจวัดให้เหมาะสม

3. การกระจายตัวอย่างมาก (high dispersion) จะมีการกระจายตัวของ sample zone อย่างมากในกระแสตัวพา ซึ่งมีค่า D มากกว่า 10 ถ้าใช้ความยาวท่อที่ทำให้ mixing coil หรือ reaction part ระหว่างจุดฉีดสารตัวอย่างถึงจุดตรวจวัดยาวเกินไป พีคที่ได้จะกว้างมาก การกระจายตัวของ sample zone แบบนี้เหมาะสำหรับวิเคราะห์สารโดยวิธี FIA–titrimetry ความกว้างของพีค ที่จุดกึ่งกลางของความสูงของพีค จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ ซึ่งใช้สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ไม่จำเป็นต้องเกิดอย่างสมบูรณ์เสมอไป สิ่งที่สำคัญคือสภาวะ

ที่ใช้ในการทดลองทั้งของสารละลายมาตรฐาน และสารตัวอย่างต้องเหมือนกันทุกประการ คือ residence time อุณหภูมิ และการแพร่ของสารจะต้องคงที่

ระบบ FIA จัดเป็นระบบที่ใช้เวลาตอบสนองที่สั้น ให้สัญญาณ FIA ใช้เวลาเป็นวินาทีซึ่งทำให้วิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็ว (หลาย ๆ ตัวอย่างในระยะเวลาอันสั้น) ใช้ตัวอย่างและรีเอเจนต์ในปริมาณน้อยในระดับไมโครลิตร เมื่อระบบ FIA พร้อมที่จะใช้งานได้ จะใช้เวลาประมาณ 2-3 นาทีในการวิเคราะห์ตัวอย่างซึ่งต่างจากเทคนิคที่ไม่ใช้ FIA

อย่างไรก็ตามในบางการทดลองในขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างพบว่า ในการใช้สารเคมีเพื่อเป็นรีเอเจนต์ในการสกัดแยกสารตัวอย่างเพื่อติดตามตรวจสอบสารปนเปื้อนหรือสารมลพิษต่างๆ เหล่านั้น ในบางครั้งกลับมีการใช้งานสารเคมีที่มีพิษมากยิ่งกว่าสารที่ต้องการทดสอบเสียอีก บางครั้งมีขั้นตอนต่าง ๆ ซับซ้อนในการเตรียมตัวอย่างเพื่อให้เหมาะสมกับเครื่องมือวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ดังนั้นจึงได้มีผู้พยายามคิดค้นวิธีใหม่ ๆ มาเพื่อลดขั้นตอนการวิเคราะห์และลดการใช้งานสารเคมีเหล่านั้นให้น้อยลง โดยเฉพาะในขั้นตอนการสกัดแยกสารตัวอย่างที่สนใจออกจากเมทริกซ์ หรือสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่าง ซึ่งเป็นที่มาของเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) แบบต่าง ๆ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ที่พัฒนามาจากวิธีโฟลอินเจคชันอะนาลิ-ซีส โดยมีหลักการที่อาศัยการผสมสารละลายรีเอเจนต์ที่เหมาะสม กับตัวอย่างเพื่อให้สารตัวอย่างเปลี่ยนสถานะไปเป็นสารเคมี ที่สามารถถูกสกัดด้วยตัวทำละลายหรือแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านบางชนิด หรือ กระบวนการทางกายภาพอื่น ๆ ก่อนถูกส่งไปยังตัวตรวจวัดที่เหมาะสมต่อไป ซึ่งตัวตรวจวัดที่นิยมใช้เช่น สเปกโทรโฟโทมิเตอร์ หรือเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมี เป็นต้น

เทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) จะช่วยลดขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างที่ยุ่งยากและสามารถลดสารเคมีและสารตัวอย่างลงได้มาก ซึ่งย่อมช่วยทำให้มีของเสียจากการทดสอบน้อยลงเช่นเดียวกัน

นอกจากนี้เทคนิคการแยกแบบออนไลน์ มีโอกาสพัฒนาต่อยอดเป็นเครื่องมือภาคสนามขนาดกะทัดรัด ที่มีราคาไม่สูงมาก ที่หน่วยงานหรือสถานประกอบการขนาดเล็กสามารถสร้างขึ้นหรือซื้อหามาใช้ในงานประจำของตนเองได้ โดยยังคงประสิทธิภาพของเครื่องมือที่สร้างขึ้นเองเหล่านี้ให้มีความสามารถในการติดตามสารปนเปื้อนที่มีอยู่ในปริมาณน้อยๆ (trace analysis) ได้

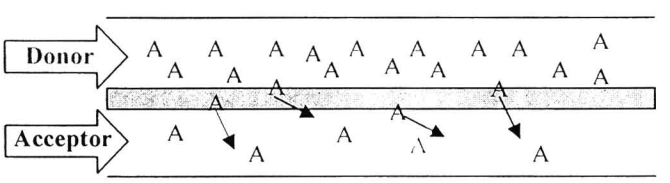
2. **เทคนิคการแยกสารแบบออนไลน์** (Online separation)[6]

การแยกสารแบบออนไลน์ เป็นระบบการแยกสารหรือการเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างในระบบที่มีการไหลอย่างต่อเนื่องโดยในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการต่าง ๆ ในการแยกสารแบบออนไลน์ ขึ้นมากมาย อาทิเช่นการใช้คอลัมน์ชนิดแลกเปลี่ยนไอออนขนาดเล็ก (Ion-exchange micro-column) การสกัดด้วยสารละลาย (solvent extraction) ไดอะไลซีส (dialysis) ก๊าซดิฟฟิวชัน (gas diffusion) และเพอร์วาพอเรชัน (pervaporation) เป็นต้น ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะช่วยให้การวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนสูง เช่นตัวอย่างที่มีสารโมเลกุลใหญ่ สารแขวนลอย สารที่มีฤทธิ์กัดกร่อนสูง สามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยระบบ FIA ได้โดยตรงโดยไม่จำเป็นต้องผ่านการเตรียมตัวอย่างขั้นตอนก่อนแต่อย่างใด ทำให้การวิเคราะห์สามารถทำได้อย่างสะดวกมากยิ่งขึ้น

2.1 **ก๊าซดิฟฟิวชัน** (Gas diffusion)[7]

วิธีก๊าซดิฟฟิวชันเป็นเทคนิคการแยกสารตัวอย่างแบบหนึ่งที่อาศัยการละลายและการแพร่ของตัวอย่างที่อยู่ในสถานะก๊าซหรือสามารถเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของก๊าซโดยปฏิกิริยาทางเคมีได้ โดยใช้เยื่อเลือกผ่าน (gas membrane permeable) ในการแยก ซึ่งเทคนิคก๊าซดิฟฟิวชันจะอาศัยการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านของสารตัวอย่างบางชนิดที่ระเหยได้ง่าย วิธีการนี้ไม่เพียงแต่ใช้สำหรับแยกก๊าซที่ละลายได้เท่านั้นแต่ยังใช้สำหรับคัดแยกสารปนเปื้อนอื่น ๆ ออกจากระบบได้อีกด้วย วิธีก๊าซดิฟฟิวชันโฟลอินเจคชันมีรายงานครั้งแรกโดย Banden Huijsen และ Deuren-Jacobs เพื่อใช้ในการแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในพลาสมาและเลือด[8] และตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

โดยวิธีก๊าซดิฟฟิวชันถูกออกแบบมาเพื่อใช้กับการส่งถ่ายมวล (mass transfer) ด้วยกระแสการไหล 2 กระแส ที่ถูกแยกออกจากกัน โดยใช้เยื่อเลือกผ่านแผ่นบาง ๆ ที่มีการแพร่ผ่านของสารตัวอย่างผ่านรูพรุนของเยื่อเลือกผ่านซึ่งสามารถอธิบายได้ดังรูป 1.4



รูป 1.4 กระแสการถ่ายมวลของสารตัวอย่างในก๊าซดิฟฟิวชัน[7]

จากในรูป 1.4 จะมีกระแสการไหลหนึ่งเรียกว่ากระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งสามารถเป็นได้ทั้งของเหลวหรือก๊าซก็ได้ ส่วนอีกกระแสเรียกว่ากระแสตัวรับ (receptor stream หรือ acceptor stream) ซึ่งภายในกระแสตัวให้ จะประกอบด้วยสารตัวอย่างหรือรีเอเจนต์ที่ไหลอยู่ภายใน ซึ่งเมื่อฉีดสารเคมีบางอย่างเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ภายในกระแสตัวให้สารตัวอย่างหรือผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในสถานะก๊าซที่ละลายอยู่จะเกิดการเลือกผ่าน (semi-permeable) แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสตัวรับได้โดยมีสารบางตัวเท่านั้นที่จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยวิธีการถ่ายมวล ไปยังสารละลายที่อยู่ในกระแสตัวรับได้

เนื่องจากโดยทั่วไปมีเพียงก๊าซส่วนน้อยเท่านั้นที่จะแพร่ผ่านได้ แต่เมื่อผ่านเยื่อเลือกผ่านไปแล้วก๊าซดังกล่าวจะถูกดับจับด้วยสภาวะทางกายภาพหรือทางเคมีด้วยอัตราคงที่ จึงสามารถนำมาใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณได้อย่างถูกต้อง

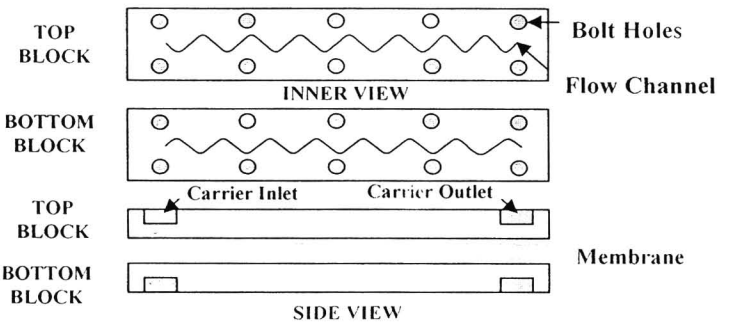
ชนิดความแตกต่างของเยื่อเลือกผ่านที่ใช้ศึกษาการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านสำหรับระบบ FIA มีอยู่หลายชนิด แต่ส่วนใหญ่ที่พบว่ามีการใช้งานมีอยู่ 3 ชนิด ดังนี้คือ

1. Porous membrane เช่น microporous Teflon หรือ PTFE
2. Nanoporous membrane เช่น silicone rubber
3. Ionic membrane เช่น nafion®

การถ่ายมวล ผ่านผนังของเยื่อเลือกผ่านจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายชนิด เช่น ความหนาของเยื่อเลือกผ่าน หรืออัตราการไหลของ donor และ acceptor stream ดังนั้นเยื่อเลือกผ่านที่บางหรือไม่หนามากจึงนิยมให้โดยทั่วไปในระบบก๊าซดิฟฟิวชันโฟลอินเจคชัน โดยปกติความหนาของเยื่อเลือกผ่านจะอยู่ระหว่าง 0.01 มิลลิเมตร ถึง 0.2 มิลลิเมตร

ชนิดของระบบเยื่อเลือกผ่านที่ใช้ในหน่วยก๊าซดิฟฟิวชันและการออกแบบหน่วยก๊าซดิฟฟิวชัน ได้ถูกตีพิมพ์เผยแพร่ในงานวิจัยหลายฉบับ แต่ส่วนใหญ่ที่นิยมใช้จะเป็นชนิดแบบราบ (flat plate) หรือชนิดท่อที่มีเปลือกห่อหุ้ม (tube in a shell) โดยตัวอย่างการออกหน่วยก๊าซดิฟฟิวชันชนิดแบนราบ แสดงดังรูป 1.5

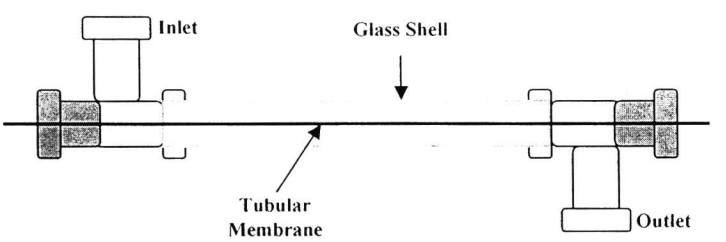
การใช้เยื่อเลือกผ่านกั้นระหว่างกระแสตัวให้ซึ่งอยู่ข้างหนึ่งของหน่วยก๊าซดิฟฟิวชัน และอีกข้างหนึ่งเป็นกระแสตัวรับโดยสารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในกระแสของกระแสตัวให้ซึ่งมีรีเอเจนต์บางชนิดละลายอยู่ และเมื่อเกิดปฏิกิริยาขึ้นสารตัวอย่างจะแพร่ผ่านรูพรุนบนเยื่อเลือกผ่านไปยังกระแสตัวรับและทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ในกระแสตัวให้เกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งสามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงนี้ได้โดยใช้เครื่องตรวจวัดที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพต่าง ๆ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยดีเทคเตอร์หลากหลายตามความเหมาะสม



รูป 1.5 หน่วยก๊าซดิฟฟิวชันแบบแบนราบ (flat plate)[7]

ปัจจัยการละลายและการแพร่ของสารตัวอย่างของระบบก๊าซดิฟฟิวชันแบบราบนี้ขึ้นอยู่กับปริมาตรของสารตัวอย่างที่ถูกฉีด ความหนาของเยื่อเลือกผ่านพื้นที่หน้าตัดของเยื่อเลือกผ่าน ขนาดของช่องในเยื่อเลือกผ่าน และอัตราการไหลของกระแสตัวพาในกระแสตัวให้กับกระแสตัวรับ

ส่วนหน่วยก๊าซดิฟฟิวชันชนิดท่อที่มีเปลือกหุ้ม (tube in a shell) แสดงดังรูป 1.6 หน่วยก๊าซดิฟฟิวชันชนิดนี้จะใช้ fiber membrane ชนิดที่เป็นท่อกลวงที่มีเปลือก (shell) ล้อมรอบซึ่งโดยทั่วไปกระแสตัวรับจะถูกปั๊มผ่านท่อภายใน (hollow fiber) และกระแสตัวให้จะถูกปั๊มผ่านเปลือกห่อหุ้ม (shell) ซึ่งล้อมรอบอยู่ภายนอก



รูป 1.6 หน่วยก๊าซดิฟฟิวชันชนิดท่อที่มีเปลือกหุ้ม (tube in a shell)[7]

2.2 **เพอร์วาพอเรชัน** (Pervaporation)[9]

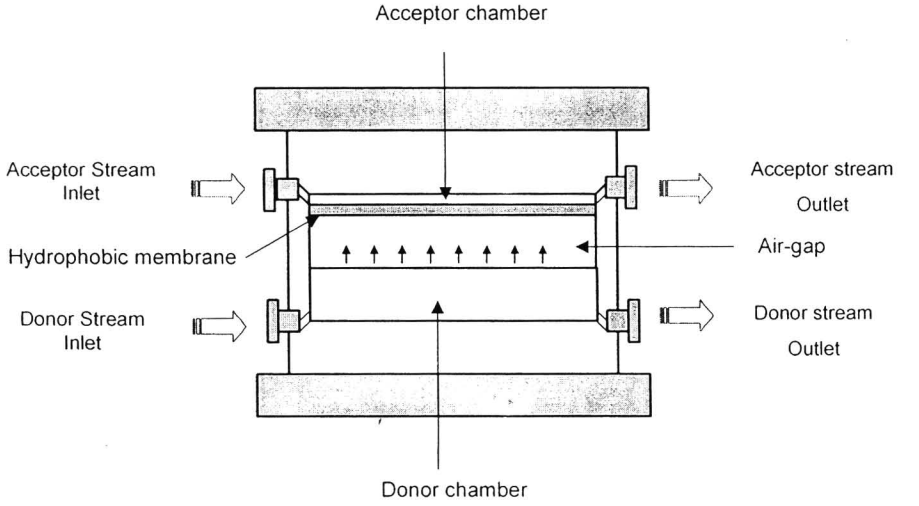
วิธีเพอร์วาพอเรชัน ถูกค้นพบโดย Kober ในปี ค.ศ. 1917 และได้มีการศึกษาพัฒนาต่อเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน คำว่า pervaporation นั้นมาจากคำว่า permeation และ evaporation (การซึมผ่านและการระเหยเป็นไอ) วิธีเพอร์วาพอเรชันนี้ เป็นกระบวนการที่อาศัยเยื่อเลือกผ่านในการแยกสาร โดยใช้ เยื่อเลือกผ่านที่มีรูพรุน คล้ายคลึงกับวิธีก๊าซดิฟฟิวชัน

แต่ในการแยกโดยใช้ วิธีเพอร์วาพอเรชันนั้น จะมีขั้นตอนการแยกบริเวณเยื่อเลือกผ่านที่แตกต่างจากวิธีก๊าซดิฟฟิวชัน อยู่ 3 ขั้นตอนคือ

1. กระบวนการดูดซับของสารตัวอย่างสู่เยื่อเลือกผ่าน
2. กระบวนการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน
3. กระบวนการคายหรือระเหยสารตัวอย่างออกจากเยื่อเลือกผ่านสู่ภายนอก

โดยสารที่ผ่านเยื่อเลือกผ่านออกมาจะอยู่ในสภาพไอ เนื่องจากความดันขาออกมีค่าต่ำกว่าความดันไออิ่มตัวขาเข้า การทำให้ความดันต่ำลงนั้น สิ่งสำคัญในวิธีนี้คือเยื่อเลือกผ่านจึงต้องเลือก เยื่อเลือกผ่านที่เหมาะสมโดยชนิดของเยื่อเลือกผ่านแบ่งเป็น hydrophilic membrane ซึ่งใช้แยกน้ำออกจากสารละลายอินทรีย์ และ hydrophobic membrane ซึ่งใช้แยกสารอินทรีย์ออกจากน้ำ

การแยกสารที่สนใจออกจากตัวอย่างแบบออนไลน์โดยอาศัยวิธีที่เรียกว่าเพอร์วาพอเรชันนั้นเป็นวิธีการแยกด้วยเยื่อเลือกผ่านที่ถูกพัฒนาขึ้นจากวิธีก๊าซดิฟฟิวชัน โดยกลุ่มนักเคมีชาวสเปน เพื่อใช้แยกสารที่ระเหยได้หรือระเหยได้บางส่วน (volatile and semi-volatile) ออกจากตัวอย่างที่สกปรกหรือมีการปนเปื้อนสูง เช่นตัวอย่างที่มีสารลดแรงตึงผิว สารกัดกร่อนรุนแรง สารโมเลกุลใหญ่ หรืออนุภาคขนาดใหญ่ที่แขวนลอยอยู่ในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งไม่อาจวิเคราะห์ได้ด้วยวิธีก๊าซดิฟฟิวชันแบบธรรมดา เนื่องจากสารปนเปื้อนเหล่านี้มีผลทำให้เกิดการเสียสภาพของเยื่อเลือกผ่าน หรือทำให้เกิดการอุดตันของรูพรุนในเยื่อเลือกผ่าน ทำให้ประสิทธิภาพในการแยกด้อยลง โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันนี้จะช่วยป้องกันการเสียสภาพของเยื่อเลือกผ่าน เนื่องจากมีช่องอากาศ (air-gap) ระหว่างผิวหน้าของกระแสของตัวอย่างและเยื่อเลือกผ่านดังรูป 1.7



รูป 1.7 หน่วยเพอร์วาพอเรชัน (pervaporation unit)[9]

จากข้อดีที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สารตัวอย่างบางชนิดที่มีการปนเปื้อนสูงไม่สัมผัสกับเยื่อเลือกผ่านโดยตรง ทำให้สามารถฉีดสารตัวอย่างที่สกปรกลงในการแสตัวพาได้โดยตรง เมื่อสารที่สนใจในสารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่เหมาะสมในกระแสตัวพา ก็จะทำให้สารที่สนใจเปลี่ยนไปอยู่ในรูปก๊าซ แพร่ผ่านช่องอากาศ (air gap) ที่ผิวหน้าของสารตัวอย่างแล้วค่อยซึมผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสตัวพาอีกกระแส ที่ทำหน้าที่นำสารที่สนใจเข้าสู่เครื่องตรวจวัดที่เหมาะสมต่อไป

การนำวิธีเพอร์วาพอเรชันไปใช้งานนี้ จะสามารถประยุกต์ใช้งานในด้านต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. การแยกน้ำ (dehydration) เป็นการแยกน้ำจากของเหลวอินทรีย์ เช่น การแยกน้ำออกจากแอลกอฮอล์ (ethanol, isopropanol)

2. การแยกสารอินทรีย์ออกจากสารละลายของสารอินทรีย์-น้ำ เช่น การแยกฟีนอลออกจากน้ำทิ้ง การแยกสารให้กลิ่นรส

3. การแยกสารอินทรีย์จากสารผสมอินทรีย์ เช่น *o*-xylene, *p*-xylene เป็นต้น

โดยสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ใน 2 ข้อหลังต้องมีคุณสมบัติระเหยกลายเป็นไอหรือสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นและในผลิตภัณฑ์ที่กลายเป็นไอได้ดี

จากคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้น จึงทำให้กระบวนการแยกสารแบบเพอร์วาพอเรชันสามารถแก้ปัญหาในการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สกปรก เช่นตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม หรือตัวอย่างอาหารที่มีเมทริกซ์ปนเปื้อนมากได้เป็นอย่างดี

3. ตัวตรวจวัดที่ใช้ในระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซีส[10]

สิ่งสำคัญอีกประการหนึ่งที่จะทำให้การวิเคราะห์แบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซีส สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สนใจได้อย่างจำเพาะเจาะจงและมีสภาพไวสูง คือการเลือกใช้ตัวตรวจวัดที่เหมาะสมกับสารตัวอย่างที่สนใจศึกษา ระบบในการตรวจวัดโดยเทคนิค FIA จะทำการตรวจวัดปริมาณของสารตัวอย่างโดยอาศัยสมบัติใดสมบัติหนึ่งของสารตัวอย่าง สมบัติของเครื่องตรวจวัดสัญญาณของระบบ FIA จะต้องมีสมบัติดังนี้

1. มีการตอบสนองที่รวดเร็ว
2. มีความจำเพาะ
3. มีสัญญาณรบกวนต่ำ และมีความไวสูง
4. สัญญาณที่ได้จากเครื่องตรวจวัดจะต้องไม่ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ อัตราเร็วของการไหล และอื่น ๆ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย

5. มีความแม่นยำ และให้สัญญาณที่เสถียร
6. ให้สัญญาณที่เป็นสัดส่วนเชิงเส้นกับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง
7. มีขนาดกะทัดรัด
8. มีรูปแบบที่ไม่ซับซ้อน

โดยตัวตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสามารถอาศัยทั้งทางการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงทางเคมี โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่เหมาะสม ซึ่งในปัจจุบันมีเครื่องตรวจวัดหลายชนิดที่นำมาใช้งานได้กับระบบ FIA ได้ดังตาราง 1.1 สามารถทำให้วิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลากหลายชนิดแล้วยังสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างในปริมาณที่มีอยู่น้อย ๆ ได้อีกด้วย

ตาราง 1.1 ตัวตรวจวัดที่ใช้ระบบ FIA[10]

SPECTROMETRY	ELECTROCHEMMICAL TECHNIQUES
1.UV/VIS spectrometry	1. Amperometry
2.Turbidimetry/Nephelometry	2. Conductometry
3.Refractometry	3. Potentiometry
4.Atomic absorption spectrometry	- Ion selective electode
5.Chemoluminescence/Bioluminescence	- Redox electrode
6.Fluorimetry (both molecular and atomic)	4. Voltammetry
7.ICP-AES	- polarography
8.MS& ICP-MS	- Anodic or cathodic stripping
9.Molecular emission cavity	5. Choromophotentiometry
10. Flame photometry	- Potentiometry stripping analysis
11. IR/FTIR spectrometry	(PSA)
12. Raman spectroscopy	

โดยตัวตรวจวัดส่วนใหญ่ที่ใช้ทางสเปกโทรสโคปี และ การตรวจวัดคุณสมบัติทางไฟฟ้ามักจะมีความจำเพาะที่ต่ำ และมีความไวต่ำ และมีสัญญาณรบกวนสูง และมีขนาดที่ใหญ่ ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการพัฒนาใช้เทคนิคการตรวจวัดที่มีความจำเพาะสูง แม่นยำ และมีการตอบสนองที่

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
6 ก.ค. 2555
216572

รวดเร็วและมีรูปแบบที่ไม่ซับซ้อนขึ้น โดยตัวตรวจวัดที่กำลังเป็นที่นิยมในปัจจุบัน คือเทคนิคเคมิลูมิเนสเซนต์ ซึ่งสามารถวัดได้ถึงระบบไมโครกรัมหรือนาโนกรัมได้ดี

3.1 การตรวจวัดแบบเคมิลูมิเนสเซนต์

เคมิลูมิเนสเซนต์[11] หมายถึง คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีโดยอาจเป็นรังสีอัลตราไวโอเลต วิสิเบิล หรือ รังสีอินฟราเรดก็ได้ การเกิดเคมิลูมิเนสเซนต์นั้นจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานจากสภาวะกระตุ้นไปยังสภาวะพื้นของโมเลกุลหรือไอออน ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยปฏิกิริยาทางเคมีแล้วมีการปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งก็คล้ายกันกับกระบวนการทำงานของโฟโตลูมิเนสเซนต์ (photoluminescence)

ความน่าสนใจในการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ ก็คือความสามารถในการสร้างโมเลกุลที่จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาได้โดยไม่จำเป็นต้องมีการกระตุ้นด้วยการฉายรังสีก่อน ซึ่งจะช่วยให้หลีกเลี่ยงปัญหาเกี่ยวกับการเบี่ยงเบนจากแสงรบกวน รวมไปถึงปัญหาทางด้านกระบวนการกระตุ้นให้เกิดแสง และความไม่เสถียรของแหล่งกำเนิดแสงอีกด้วย

โดยทั่วไปการวิเคราะห์และการนำไปใช้ประโยชน์ของเคมิลูมิเนสเซนต์ในตัวกลางที่เป็นของเหลว จะสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ ประเภทแรกเป็นกระบวนการเกิดปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนต์แบบทั่วไป โดยจะเป็นการใช้ประโยชน์จากการเกิดปฏิกิริยาของสารฟลูออโรฟอร์บางชนิดเช่น luminol, acridinium esters, peroxyoxalates, dioxetanes และ tris(2,2'-bipyridyl) ruthenium(II) ส่วนประเภทที่สองเป็นประเภทที่มีความเกี่ยวข้องกันกับปฏิกิริยาชนิด oxidant-analyte ซึ่งจะเป็นสารตั้งต้นโดยตรงที่ใช้ในกระบวนการปลดปล่อยแสง เคมิลูมิเนสซ์ ดังที่เรียกว่า "direct CL determination" [12] เคมิลูมิเนสเซนต์แบบนี้ที่สำคัญ คือการเกิดออกซิเดชันของเปอร์แมง-กาเนต (MnO_4^-) เป็น Mn (II)

3.2 หลักการวิเคราะห์ของเคมิลูมิเนสเซนต์[13, 14]

หลักการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ โดยทั่วไปแล้วจะอาศัยการก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่สามารถปลดปล่อยพลังงานแสงที่มีความเข้มข้นสูงออกมาอย่างต่อเนื่องในระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งจากปฏิกิริยานี้จะทำให้สามารถศึกษาหรือวัดค่าความเข้มของแสงที่ปลดปล่อยออกมาได้โดยอาศัยเครื่องมือหรือวิธีการง่าย ๆ ไม่ซับซ้อน โดยจะสามาถวัดค่าความเข้มของแสงได้ด้วยหลอดวัดแสง (photomultiplier tube; PMT) เพราะว่าแหล่งกำเนิดแสงจะอยู่ในสารเคมีที่ในการทำปฏิกิริยาอยู่แล้วจึงไม่จำเป็นที่จะต้องใช้เครื่องแยกแสงความยาวคลื่นเดียว เพื่อมาแยกความแตกต่างของช่วงความยาวคลื่น เหมือนดังเช่นในกระบวนการตรวจวัดขั้นสูงที่อยู่ในเครื่องมือหลายชนิด โดยระบบ

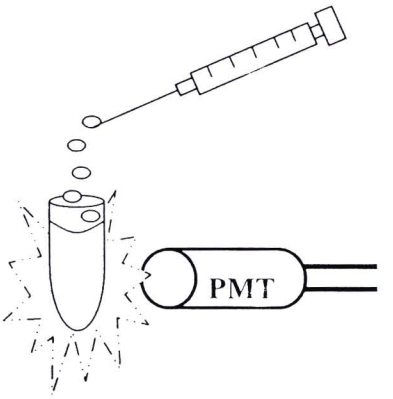
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

การตรวจวัดจะมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อลดขั้นตอนลงให้น้อยที่สุด ไม่ว่าจะเป็นกระบวนการแบบใช้แรงงานคนหรือกระบวนการแบบอัตโนมัติ เช่น การเติมรีเอเจนต์ การรวบรวมและประมวลผลข้อมูล เป็นต้น

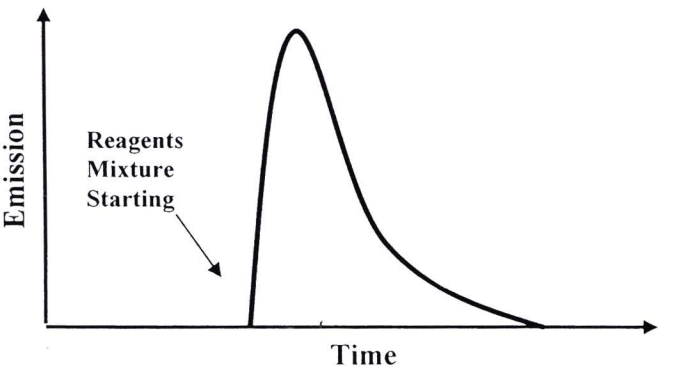
วิธีวัดค่าของแสงเคมิลูมิเนสเซนต์ มีอยู่ 2 แบบ คือ

1) ทำการวัดค่าในสารละลายที่คงตัว (static solution)

จะมีการผสมแค่ส่วนของรีเอเจนต์ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่คายแสงเคมิลูมิเนสเซนต์และตัวอย่างเท่านั้น จากนั้นจึงนำเอาตัวอย่างที่ได้ใส่ในคิวเวตต์ แล้วนำเข้าช่องตรวจวัดของลูมิโนมิเตอร์ (luminometer chamber) ที่มีส่วนของหลอด เป็นส่วนประกอบโดยใช้หลอดฉีดยาเป็นตัวฉีดสารเคมีที่ทำให้เกิดเคมิลูมิเนสเซนต์หรือไบโอลูมิเนสเซนต์ลงไปผสมในคิวเวตต์โดยในรูป 1.8 และในรูป 1.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเข้มแสงเคมิลูมิเนสเซนต์ในช่วงเวลาที่มีการทำปฏิกิริยา ความสูงของเส้นโค้งหรือพื้นที่ใต้เส้นโค้งเป็นผลมาจากความเข้มข้นของตัวอย่างในทางกลับกันส่วนของความกว้างหรือส่วนของเส้นโค้งก็จะสามารถให้เป็นตัวแปรของการวิเคราะห์ได้



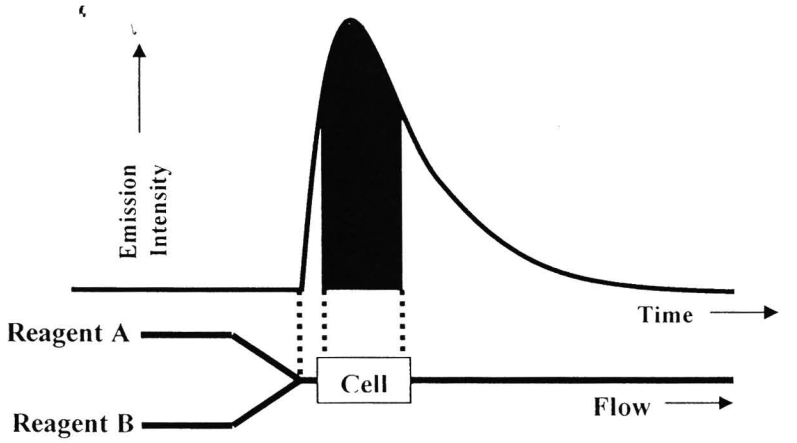
รูป 1.8 การคายเคมิลูมิเนสเซนต์ในสารละลายที่คงตัว



รูป 1.9 ค่าความเข้มแสงของเคมิลูมิเนสเซนต์เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลง[13]

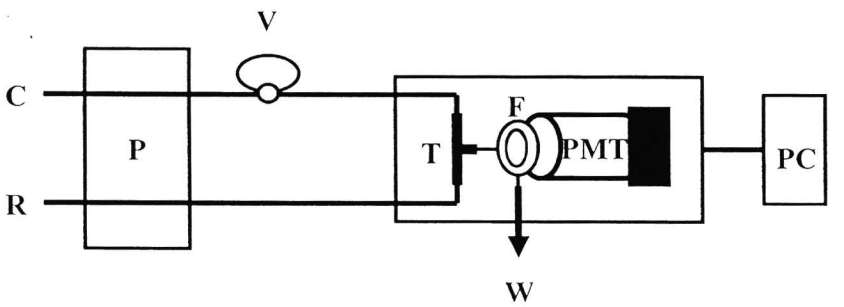
2) ทำการวัดค่าในตัวกลางที่อยู่ในระบบที่มีการไหลแบบต่อเนื่อง (continuous-flow stream หรือ segment-flow stream)

รีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดเคมิลูมิเนสเซนต์และสารตัวอย่างนั้น จะถูกส่งผ่านช่องทางที่แยกกันอยู่และจะไปผสมกันก่อนที่จะถึงส่วนของตัวตรวจวัด โดยจะมีการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่อง ดังรูป 1.10และต้องการศึกษาตรงช่วงก่อนหน้าที่มีการผสม และหลังมีการผสมกัน เพื่อให้การทำปฏิกิริยากันของสารทั้งสองเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ โดยจะมีการนำเอาค่าความแตกต่างระหว่างก่อนทำปฏิกิริยาและหลังการเข้าทำปฏิกิริยารวมไปถึงอัตราการไหลมาใช้ในการคำนวณค่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาและรวมไปถึงค่าการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของแสงในช่วงเวลาทำปฏิกิริยาอีกด้วย



รูป 1.10 ตำแหน่งของจุดสังเกตมีความสัมพันธ์กับเส้นโค้งของระยะเวลาที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสง (emission-time curve) ในกระบวนการวัดค่าของเคมิลูมิเนสเซนต์ แบบ Flow-through โดยพื้นที่ส่วนแรเงาใต้เส้นโค้งหมายถึงส่วนที่ตรวจจับของการปล่อยพลังงาน[13]

ส่วนประกอบที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ในระบบที่มีการไหลแบบต่อเนื่องของเคมิลูมิเนสเซนต์ คือ ส่วนผสม (reagent mixing chamber) เซลล์ (flow cell) เครื่องตรวจวัดสัญญาณ (photodetector หรือ photomultiplier tube และส่วนรวบรวมและจัดการข้อมูล (electronic data acquisition and processing device) โดยอุปกรณ์อื่น ๆ อาจออกแบบให้มีหน้าที่ต่าง ๆ กัน รวมไปถึงอุปกรณ์สำคัญข้างต้นจะสามารถนำมาใช้สำหรับวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ หรือไบโอลูมิเนสเซนต์ได้ ซึ่งตามความเป็นจริงแล้วในการวิเคราะห์แบบ FIA นั้นมักจะมีการปรับปรุงพัฒนาเครื่องมือให้มีความเหมาะสมกับงานอยู่แล้ว



รูป 1.11 ส่วนประกอบของเคมิลูมิเนสเซนต์โฟลอินเจคชัน : P= peristaltic pump: S= sample: T= T-shaped connector: F= flat coil cell: PMT= photomultiplier tube: W= waste[13]

ในรูป 1.11 แสดงให้เห็นถึงการติดตั้งระบบ FIA พื้นฐานสำหรับการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ โดยตัวอย่างจะถูกนำเข้าไปยังกระแสตัวพาโดยมีการปรับค่า pH ให้เหมาะสม จากนั้นจะให้รีเอเจนต์ผ่านไปผสมกับตัวยอย่างที่ข้อต่อตัว T ซึ่งจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนต์อย่างรวดเร็ว ระหว่างรีเอเจนต์และตัวอย่าง โดยที่รีเอเจนต์และตัวอย่างจะต้องมาผสมกันให้ใกล้บริเวณตรวจวัดค่า (flow through cell) ให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ในสภาวะที่มีระดับพลังงานจลน์อยู่ระดับพื้น จากนั้นจะทำการวัดค่าพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาโดยอาศัยหลอด PMT ที่เชื่อมต่อกับอุปกรณ์ในการรวบรวมข้อมูล ซึ่งจะสามารถวัดค่าของเคมิลูมิเนสเซนต์ได้ภายในเวลาแค่เสี้ยววินาทีที่หลังจากมีการผสมกันของตัวอย่างกับรีเอเจนต์ ซึ่งตรวจจุดนี้จะเป็นประโยชน์มากในการติดตามดูการเปลี่ยนแปลงของพลังงานจลน์ในการเกิดปฏิกิริยาและการปลดปล่อยพลังงานแสงที่ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว

ในส่วนของ stop-flow mode นั้น เมื่อทำการผสมรีเอเจนต์และตัวอย่างแล้ว จะมีการกักสารทั้งสองที่กำลังทำปฏิกิริยากันอยู่ไว้ที่ส่วนเซลล์ ทำการวัดค่าเพื่อจะนำไปให้ในการสร้างกราฟเส้นโค้งของค่าความเข้มแสงกับเวลา ข้อมูลทางจลนศาสตร์จะได้มาจากการวิเคราะห์ผลจากเส้นโค้งคือดูจากอัตราส่วนของความสูงของเส้นโค้งและช่วงลาดลงของเส้นโค้ง ค่าที่ได้มีความจำเพาะและละเอียดมากกว่าการดูความสูงของเส้นโค้งหรือพื้นที่ใต้เส้นโค้งเพียงอย่างเดียว

ถ้านำเอาการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์และวิธีโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส มาให้ร่วมกันก็จะเกิดผลดีเป็นอย่างมาก เนื่องมาจากความไวของการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ที่มีอยู่สูง รวมไปถึงความจำเพาะของวิธีโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส หรือแม้กระทั้งการใช้งานเคมิลูมิเนสเซนต์กับวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวที่ใช้ซิลิกาเป็นตัวกลาง

การออกแบบเซลล์ก็มีความหลากหลายมากและมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ แม้ว่าตามความเป็นจริงแล้วการวางตำแหน่งของเซลล์และระยะห่างกับตัวตรวจวัดค่าจะไม่แตกต่างกันนัก แต่ลักษณะการออกแบบที่ใช้กันมากในการวิเคราะห์แบบ FIA จะเป็นแบบเกลียวในแนวราบ (flat spiral) ซึ่งจะมีการจัดวางให้อยู่ใกล้ส่วนของหลอด PMT ให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้

สิ่งที่จำเป็นมากสำหรับการออกแบบเซลล์ก็คือ จะต้องให้ปฏิกิริยานั้นปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาให้มีค่าความเข้มข้นสูงสุดในขณะที่สารตัวอย่างนั้นอยู่หน้าตัวตรวจวัดค่า เพราะว่าการเกิดปฏิกิริยานั้นจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการใช้เซลล์ควรเลือกใช้ชนิดที่มีปริมาตรที่เหมาะสมจึงจะส่งผลให้ปฏิกิริยาขึ้นสู่จุดสูงสุดจนสามารถวัดค่าได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ซึ่งจะสามารถเพิ่มค่าสัญญาณของตัวอย่าง โดยการเพิ่มความยาวของเกลียวเซลล์ โดยทั่วไปแล้วค่าความยาวต่ำสุดของเกลียวจะดูจากอัตราการเกิดปฏิกิริยา และถ้าเพิ่มความยาวมากเกินไปก็ไม่ได้ส่งผลใด ๆ เลย อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการจำกัดการแพร่กระจายของตัวอย่างให้น้อยที่สุด จึงจะต้องพา ซึ่งในกรณีนี้จะมีการเกิดปฏิกิริยาที่สม่ำเสมอจนสามารถยอมรับผลของประสิทธิภาพของปฏิกิริยาและการแพร่กระจายได้ และเมื่อทำการเปรียบเทียบเซลล์ในวิธีการวิเคราะห์แบบสเปกโทรเมตรี อื่น ๆ พบว่าเซลล์สำหรับเคมิลูมิเนสเซนต์จะมีปริมาตรมากกว่ามาก เนื่องมาจากมีความจำเป็นที่จะต้องเก็บกักพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจากปฏิกิริยาได้มากกว่านั้นเอง

ตัวตรวจวัด (detectors) ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์คือหลอดวัดแสงชนิด photomultiplier tubes ที่จะเป็นบริเวณตกกระทบของโฟตอนทำให้เกิดเป็นซึ่งจะปลดปล่อยอิเล็กตรอนออกมาเป็น cascade-amplified และแม้ว่า PMTs จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่า liquid scintillation counters (LSCs) แต่มีข้อดีตรงที่ว่าสามารถนำไปให้ได้หลากหลายกว่าเพราะว่าลักษณะการตอบสนองต่อสเปกตรัมไม่ได้มีรูปแบบเดียว PMT จะมีการตอบสนองอย่างจำเพาะกับช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ หรือช่วงความยาวคลื่นที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาและในกรณีที่ความเข้มแสงเคมิลูมิเนสเซนต์อยู่ในระดับต่ำ ค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์จะขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ PMT ที่เหมาะสมเพราะว่าการเลือก PMT ที่เหมาะสมจะช่วยให้มีค่า signal-to-noise ratio สูง ซึ่งในกรณีนี้จะขึ้นอยู่กับความสมารถในการประยุกต์ใช้และสภาวะที่เหมาะสมและในกรณีที่มีการปลดปล่อยเคมิลูมิเนสเซนต์ออกมาในปริมาณมากนั้นสามารถที่จะใช้ตัวตรวจวัดที่เชื่อมต่อกับระบบบันทึกสัญญาณที่เป็น multimeter หรือ recorder หรือคอมพิวเตอร์ได้

3.3 ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์[13]

ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ นอกจากจะมีความจำเพาะสูงแล้วยังพบว่ามีข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์น้อยมาก ซึ่งสามารถทำการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ได้โดยอาศัยเครื่องมือง่าย ๆ เท่านั้น ซึ่งความสามารถเกี่ยวกับทางด้านข้อจำกัดในการวิเคราะห์ต่ำนั้นเป็นผลมาจากการที่ไม่ต้องอาศัยแหล่งกำเนิดแสง จากเหตุผลข้อนี้จะช่วยลดหรือยับยั้งการกระจายของ Raman และ Rayleigh และยังช่วยกรองสิ่งรบกวนจากแหล่งที่มาของแสงได้ ซึ่งจากผลเหล่านี้ทำให้สามารถใช้ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอด (photomultiplier voltage) ได้ในระดับสูง และยังมีผลทำให้เพิ่มอัตราส่วนความสัมพันธ์ระหว่าง signal-to-noise มากกว่ากระบวนการตรวจวัดแบบฟลูออโรเมตรีแบบทั่ว ๆ ไปอีกด้วย การวิเคราะห์ในลักษณะนี้จะวิเคราะห์ได้ในช่วง femto-mole และในบางกรณีอาจจะวิเคราะห์ได้ถึงส่วนของ alto-mole region ดังนั้น จึงถือได้ว่าดีกว่าการวิเคราะห์โดยทั่วไปมาก ซึ่งตามความเป็นจริงแล้วจะสามารถวิเคราะห์ได้ที่ขนาดโมเลกุลประมาณ โมเลกุล ซึ่งเล็กพอ ๆ กับเอนไซม์เลยทีเดียวและมีช่วงของความเป็นเส้นตรงที่กว้าง

3.4 FIA-chemiluminescence ในอนาคต[14]

การวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์มีความน่าสนในเป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถใช้เครื่องมือแบบง่าย ๆ ในการวิเคราะห์ และยังมีข้อจำกัดต่าง ๆ ในการวิเคราะห์น้อยมาก จากเหตุผลเหล่านี้จึงเริ่มมีความนิยมทำการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ทั้งแบบพื้นฐานและแบบขั้นสูงมากขึ้น จากการพัฒนาคิดค้นเทคนิคการวิเคราะห์นี้ร่วมกันของกลุ่มธุรกิจกลุ่มหนึ่ง ซึ่งหนึ่งในนั้นได้ค้นพบปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนต์ชนิดใหม่ ๆ เสมอ โดยเฉพาะชนิด "direct" เทคนิคนี้จะช่วยเพิ่มขีดความสามารถด้านจำนวนของตัวอย่าง ทำให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้มากชนิดขึ้น และเพื่อที่จะบรรลุเป้าหมายนี้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องแสวงหาความรู้เกี่ยวกับกับกลไกของการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น เพื่อใช้ในการคาดเดาลักษณะพฤติกรรมของเคมิลูมิเนสเซนต์

ในปัจจุบันนี้การวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนต์ก็สามารถพิสูจน์ให้เห็นแล้วว่ามีความจำเพาะสูงต่อตัวอย่างหลายชนิด และไม่จำเป็นต้องทำการแยกตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์อีกด้วย ซึ่งตรงจุดนี้พบว่าการวิเคราะห์มีขีดจำกัดของการตรวจวัดต่ำและจะมีความจำเพาะสูง และเมื่อนำประสิทธิภาพของการตรวจวัดที่ให้ขีดจำกัดต่ำนั้นสามารถนำมารวมกันกับเทคนิคโครมาโท- กราฟีของเหลว หรือการแยกแบบคาบิลลารีอิเล็คโทรฟอรีซิส ก่อให้เกิดเป็นตัวตรวจวัดในอุดมคติได้

ปัจจุบันการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับเคมิลูมิเนสเซนต์นั้นมักจะใช้อุปกรณ์ที่ทำขึ้นเองเป็นส่วนใหญ่จึงยากที่จะทำการเปรียบเทียบคำหรือวิธีการวิเคราะห์ เพราะว่ามีการใช้อุปกรณ์ที่หลากหลาย

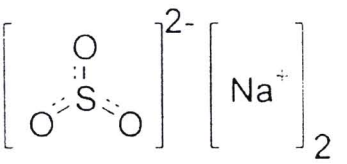
สำนักหอสมุดกลาง

และยิ่งไปกว่านั้น ยังไม่มีเคมิลูมิเนสเซนต์รีเอเจนต์ที่จะใช้เป็นตัวมาตรฐานสากล ดังนั้นควรจะมีการศึกษาและเผยแพร่เครื่องมือและวิธีการในการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพ และราคาไม่แพง เพื่อนำไปใช้ในการอ้างอิงให้เป็นสากล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาด้านการแพทย์ รวมไปถึงด้านสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ในวงการของเคมีวิเคราะห์และในการทดลองบางชนิดที่มีความซับซ้อนนั้น ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเทคนิคการวิเคราะห์แบบ FIA-direct CL emission เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ เพื่อศึกษาดูลักษณะพฤติกรรมของเคมิลูมิเนสเซนต์ที่มีต่อสารตั้งต้นหลาย ๆ อย่าง ทั้งทางด้านประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ ข้อจำกัดในการวิเคราะห์ ความกว้างของช่วงความเป็นเส้นตรงซึ่งไม่คงที่ ความเร็วของการตอบสนอง และการหมุนวนกลับมาใช้ใหม่ของตัวอย่างบริเวณหน้าตัวตรวจวัด เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุล (molecule connectivity) เพื่อช่วยให้สามารถทำนายและคาดเดาพฤติกรรมของเคมิลูมิเนสเซนต์ได้ง่ายขึ้น

4. ซัลไฟต์ [15]

สารซัลไฟต์เป็นสารเคมีที่นิยม ใช้เป็นสารกันเสียเพื่อป้องกันและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ใช้เป็นสารกันหืนเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหารที่จะทำให้เกิดการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์นั้น และที่สำคัญยังสามารถใช้เป็นสารฟอกขาวอีกด้วย เนื่องจากมีคุณสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลซึ่งเกิดขึ้นในอาหาร เช่น ผัก ผลไม้ น้ำผลไม้ น้ำหวานจากพืช และอาหารทะเล พวกกุ้ง ปู ปลา ปลาหมึก เป็นต้น ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้เอง ทำให้มีการนำสารนี้มาใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตอาหารต่าง ๆ สารในกลุ่มซัลไฟต์ที่นิยมใช้กันคือ โซเดียมซัลไฟต์



รูป 1.12 โครงสร้างของโซเดียมซัลไฟต์ [16]

4.1 ข้อมูลทั่วไปของซัลไฟต์[16]

ชื่อเคมี IUPAC : Sodium sulfite

ชื่อเคมีทั่วไป : Disodium sulfite ; Exsicated sodium sulfate; Anhydrous ; Sulftech sulfurous acid sodium salt

ชื่อพ้องอื่นๆ : Disodium sulfite; Sulfurous acid disodium salt; Sulftech; Sulfurous acid sodium salt (1:2); Sodium sulfite (Na_2SO_3)

สูตรโมเลกุล : Na_2SO_3

การใช้ประโยชน์ : ใช้เป็นสารฟอกขาว และยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

4.2 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (Physical and chemical properties)[17]

สถานะ : ผง/ของแข็ง

สี : ขาว

กลิ่น : ไม่มีกลิ่น

น้ำหนักโมเลกุล : 126.04

จุดเดือด : 900 องศาเซลเซียส

จุดหลอมเหลว : >500 องศาเซลเซียส

ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ =1) : 2.63

ความสามารถในการละลายน้ำที่ (กรัม/100 มล.) : 17 ที่ 10 องศาเซลเซียส

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) : 9.8 ที่ 10 องศาเซลเซียส

โครงสร้างผลึก : เฮกซะโกนอล (hexagonal (anhydrous))
มอนอคลินิก (monoclinic (heptahydrate))

ความหนาแน่น : 2.633 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (anhydrous)
1.561 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (heptahydrate)

4.3 ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา (Stability and reaction)[18]

สิ่งที่ควรหลีกเลี่ยง คือ สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง และสารที่ควรหลีกเลี่ยง คือสารที่ออกซิไดซ์อย่างแรง จะทำให้เกิดปฏิกิริยาคายความร้อนอย่างรุนแรง โดยกรดจะทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และสลายตัวของซัลไฟต์ คือ ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เป็นก๊าซพิษและมีฤทธิ์กัดกร่อน โซเดียมซัลไฟด์ที่เหลือ สามารถติดไฟได้ มีความเสี่ยงต่อการเกิดอันตรายเนื่องจากไฟไหม้ ทำให้ผิวหนัง และเนื้อเยื่อเกิดอาการระคายเคืองอย่างรุนแรง

4.4 อันตรายต่อสุขภาพ[18]

สารซัลไฟต์ที่มีต่อทางการหายใจ โดยเมื่อหายใจเอาฝุ่นเข้าไป อาจทำทำให้ระบบทางเดินหายใจเกิดอาการระคายเคือง และอาจเสียชีวิตได้ จากก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และหากสัมผัสทางผิวหนังจะทำให้ผิวหนังระคายเคืองถ้าสัมผัสเป็นเวลานาน ส่วนการกินหรือกลืนเข้าไป

ทำให้ระบบการย่อยเกิดอาการ ระคายเคือง ถ้าผู้ป่วยเป็นโรคหอบหืดจะเกิดอาการอักเสบอย่าง รุนแรงถ้ากลืนหรือกินเข้าไปปริมาณมาก ๆ อาจจะทำให้เกิด การเสียดท้องและท้องร่วงอย่างรุนแรง เมื่อสัมผัสถูกตา ทำให้เกิดการระคายเคืองและแผลไหม้ สารซัลไฟต์ผลกระทบต่อพันธุ์กรรมและมีความเป็นพิษระดับปานกลาง

4.5 บทบาทสารซัลไฟต์ในอาหาร[19]

สารซัลไฟต์มีคุณสมบัติสำคัญหลายประการในการถนอมอาหาร คือ

1. ป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีผลต่อจุลินทรีย์ตามลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ gram negative bacteria, gram positive bacteria ราและยีสต์ ประสิทธิภาพจะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย ยิ่งค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำประสิทธิภาพยิ่งสูงและค่าที่เป็นความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของยิสต์ รา และต้องใช้ปริมาณมากถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จึงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ ส่วนไบซัลไฟต์จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่ากรดซัลฟิวรัส

2. ยับยั้งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ปฏิกิริยานี้ส่วนใหญ่เกิดขึ้นกับผักและผลไม้สด ซึ่งเมื่อถูกหั่นหรือตัดและพื้นผิวสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยน phemolic compound ซึ่งไม่มีสีไปเป็นสาร *o*-quinone ที่มีสีซึ่งเป็นผลมาจากปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ phenolase เอนไซม์นี้มีอยู่ในผักและผลไม้สด ส่วนเอนไซม์อื่น ๆ เช่น tyrosinase, catecholase, phenolxidase และ ascorbinase ก็ให้ปฏิกิริยาเช่นเดียวกัน สารที่มีสีที่เกิดขึ้นนี้สามารถ polymerize และถูกออกซิไดซ์ต่อจนมีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อเติมสารซัลไฟต์ลงไปจะเกิดปฏิกิริยากับเอ็นไซม์เป็นผลยับยั้งให้เอนไซม์หมดสภาพไป

3. ยับยั้งปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ อาหารที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตที่ต้องใช้ความร้อนจะเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีระหว่างน้ำตาลกับโปรตีนหรือกรดอะมิโนได้สารที่มีสีเกิดขึ้น หรือเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลเนื่องจากความร้อนทำให้โมเลกุลของน้ำตาลสูญเสียน้ำแล้ว polymerise ได้สาร hydroxymethyl furfural ซึ่งมีสีน้ำตาล

รวมทั้งปฏิกิริยาการสลายตัวของวิตามินซี (ascorbic acid) สารซัลไฟต์ที่เติมลงไปจะทำปฏิกิริยากับโปรตีน หรือน้ำตาล หรือวิตามินซี ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสี

4. เป็นสารต้านอะนุมูลอิสระ และเป็นตัวรีดิวส์ ด้วยคุณสมบัติการเป็นตัวต้านอะนุมูลอิสระ และ ตัวรีดิวส์ จึงมีบทบาทป้องกันการสูญเสียวิตามินซีในระหว่างการแปรรูปและการเก็บผลิตภัณฑ์ของผักและผลไม้ ป้องกันการเหม็นหืนของไขมัน น้ำมันระเหยและคาโรทีนอยด์ ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่น รส ที่ผิดไป และใช้เป็นสารฟอกสี พวกน้ำตาลและแป้ง

4.6 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารซัลไฟต์ในอาหาร [20]

1. ชนิดของอาหารและปริมาณของสารซัลไฟต์ที่เติมลงไปในอาหารที่มีองค์ประกอบที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารที่เติมลงไปในปริมาณที่มาก เช่น โปรตีน น้ำตาล และวิตามัน จะมีผลทำให้สารซัลไฟต์ส่วนใหญ่อยู่ในรูปซัลไฟต์รวม ปฏิกิริยากับสารอาหารบางชนิดได้ sulfonates ที่คงตัว เช่น 3-deoxy-4-sulphopenxosulose และ 3-deoxy-4-sulphohexosulose อาหารที่มีก๊าซออกซิเจนแทรกอยู่หรือบรรจุในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้าออกได้จะมีผลทำให้ซัลไฟต์ในอาหารถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟต (SO_4^{2-}) ซึ่งมีความคงตัวรวมทั้งปริมาณซัลไฟต์ที่เติมลงไปในอาหาร ถ้าเติมลงไปในปริมาณที่มากทำให้ซัลไฟต์เหลือตกค้างอยู่ในอาหารในรูปซัลไฟต์อิสระจำนวนมาก ซึ่งส่วนนี้จะเป็นกำหนดปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดที่มีในอาหาร นอกจากนี้อาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำกว่า 4 จะทำให้ซัลไฟต์บางส่วนระเหยไปในรูปของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์

2. กรรมวิธีการผลิต อาหารที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตที่ต้องใช้ความร้อนจะทำให้ซัลไฟต์บางส่วนสลายตัวเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ระเหยไป หรือถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟตและบางส่วนทำปฏิกิริยากับสารอาหาร ยิ่งขั้นตอนการผลิตมีมากหรือมีอุณหภูมิสูงปริมาณตกค้างในอาหารก็จะยิ่งลดน้อยลง

3. ระยะเวลาและอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษา อาหารที่เติมสารซัลไฟต์ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานและเก็บไว้ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมเช่น อุณหภูมิหรืออาหารสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศจะทำให้สารซัลไฟต์สลายไปในรูปของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟต ดังนั้น ยิ่งเก็บไว้นานปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ตกค้างอยู่ในอาหารยิ่งลดลง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

4.7 ชนิดของอาหารที่ใช้สารซัลไฟต์[20]

สารซัลไฟต์ใช้ในการถนอมอาหารหลายชนิดดังนี้

1. ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้

ผักและผลไม้แห้ง การใช้สารซัลไฟต์ในผักและผลไม้แห้งเพื่อช่วยถนอมสี กลิ่น วิตามินซี และคาโรทีนอยด์ นอกจากนี้ยังป้องกันการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ในผลไม้ใช้วิธีรมควันด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือพ่นเป็นละอองฝอยของสารละลายซึ่งในรูปของสารละลายจะให้ผลไม่ดีนัก เนื่องจากแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อของผลไม้ได้น้อยและถูกล้างออกด้วยน้ำตาล ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะหายไปในระหว่างการเก็บรักษา ขึ้นอยู่กับเวลาในการรมควันและอุณหภูมิ อุณหภูมิที่พอเหมาะคือ 110-120 องศาฟาเรนไฮด์

ผักและผลไม้สด เพื่อควบคุมการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ถนอมวิตามินซี และป้องกันการเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์

ผลไม้ถนอม เช่น ผลไม้ดอง แช่อิ่มและแยม จะป้องกันการเน่าเสียจากเชื่อจุลินทรีย์ ทำให้วิตามินซีคงอยู่ได้เป็นเวลาหลายเดือน โดยปริมาณของซัลไฟต์ลดลงเรื่อยๆ

2. เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ สารซัลไฟต์ความสำคัญในการทำไวน์หลายขั้นตอน ตั้งแต่การใช้สารซัลไฟต์ในรูปของสารละลายทำความสะอาดเครื่องมืออุปกรณ์ การกำจัดเชื่อจุลินทรีย์ในผลไม้ก่อนการหมักเพื่อให้ได้ยีสต์ที่บริสุทธิ์เหมาะในการทำไวน์ในระหว่างการหมัก สารซัลไฟต์จะเป็นตัวป้องกันการเปลี่ยนแปลงหลังการหมักเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ ในระหว่างการหมักปริมาณซัล-ไฟต์ที่เหมาะสมคือ 50-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับคุณภาพขององุ่นอุณหภูมิ ความเข้มข้นของน้ำตาลและระดับของการปนเปื้อน ในระหว่างการเก็บไวน์หลังการหมัก ระดับของสารซัลไฟต์ควรจะมีอยู่ระหว่าง 50-75 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. น้ำผลไม้และเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ ใช้สารซัลไฟต์เพื่อป้องกันการเปลี่ยนสีที่ไม่ได้เกิดจากเอนไซม์ ป้องกันการปนเปื้อนของเชื่อจุลินทีรย์และเป็นวัตถุกันหืน ปริมาณของสารซัลไฟต์ที่ใช้ขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ชนิดของสารซัลไฟต์องค์ประกองของน้ำผลไม้ ไบซัลไฟต์และเมตาซัลไฟต์ที่ใช้ประสิทธิผลในการรักษาน้ำผลไม้ตระกูลส้มได้ดีกว่ากรดซัลฟิวรัส โดยปกติปริมาณสารซัลไฟต์ที่ใช้ประมาณ 350-600 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือมากกว่าทั้งนี้เพราะว่าสารซัลไฟต์ที่เติมจะให้ซัลไฟต์อิสระเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

4. ผลิตภัณฑ์เนื้อ สารซัลไฟต์สามารถหยุดการเจริญของแบคทีเรียเนื้อสด และผลิตภัณฑ์เนื้อได้ ขณะเดียวกันยังทำให้สีของเนื้อคงตัวระยะหนึ่งด้วย แต่ในประเทศสหรัฐอเมริกาห้ามใช้สารซัลไฟต์ในเนื้อสด และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์และเนื้อปลา เนื่องจากเป็นแหล่งของวิตามินบี 1

แต่มีการใช้สารซัลไฟต์ในกุ้งเพื่อป้องกันการเกิดจุดดำ ในบางประเทศอนุญาตให้ใช้สารซัลไฟต์ได้ในบางผลิตภัณฑ์ ส่วนประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศกลุ่มสหภาพยุโรประบุว่าต้องแสดงปริมาณของซัลไฟต์ในฉลาดผลิตภัณฑ์อาหารที่มีปริมาณซัลไฟต์เกินกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารหมักดองและเครื่องดื่ม

4.8 ปริมาณของสารซัลไฟต์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร[20]

ปริมาณของซัลไฟต์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของอาหารและแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ เช่น

ประเทศญี่ปุ่น อนุญาตให้ใส่สารซัลไฟต์ในอาหาร ดังนี้

ผลไม้แห้ง (ลูกเกด)	2,000	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
วุ้น	500	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์	350	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
น้ำผลไม้	150	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
กุ้ง	100	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
อาหารอื่น (ยกเว้นในผักสด)	30	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2

อนึ่งประเทศญี่ปุ่นได้อนุญาตให้ใช้สารโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์ ในอาหารได้ด้วย

ประเทศนอร์เวย์ สวีเดน อนุญาตให้ใส่สารซัลไฟต์ในอาหาร ดังนี้

ไวน์	200-400	มิลลิกรัมต่อลิตร
น้ำผลไม้แห้ง	10-300	มิลลิกรัมต่อลิตร
แอปเปิ้ลแห้ง	1,500-2,000	มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
มันฝรั่งแห้ง	500	มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ประเทศไทยอนุญาตให้ใช้สารซัลไฟต์เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ดังนี้

น้ำตาลทราย	40	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
น้ำตาลมะพร้าว	40	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
วุ้นเส้น เส้นหมี่ เส้นก๋วยเตี๋ยว	500	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
ลูกเกด	1,500	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2
กุ้งแช่แข็ง	100	มิลลิกรัมต่อลิตร SO_2

ส่วนอาหารประเภทหมักดอง เช่น หน่อไม้ดอง กระท้อนแช่อิ่ม ขิงหั่นฝอย ไม่อนุญาตให้ใส่[21]

4.9 **ความเป็นพิษของสารซัลไฟต์**[20]

ความเป็นพิษในคน เกิดอาการหายใจติดขัด เจ็บหน้าอก ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วง เป็นลมพิษ ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย ความดันโลหิตต่ำ การได้ยินเสื่อม โลหิตจาง ในผู้ที่เกิดอาการอย่างรุนแรงจะปรากฏอาการช็อก หมดสติและเสียชีวิต โดยเฉพาะผู้ป่วยที่เป็นโรคหืด ถ้าได้รับสารซัลไฟต์ 45 มิลลิกรัม จะเกิดอาการระคายเคืองหลอดอาหาร ปวดท้อง ปวดศีรษะ ถ้าได้รับสารซัลไฟต์ในรูปสารละลาย (80-100 มิลลิกรัม) หรือในรูปของแคปซูลของโซเดียมซัลไฟต์ (115-760 มิลลิกรัม) จะเกิดอาการปวดศีรษะ การได้ยินเสื่อม อ่อนเพลีย การทำงานของไตลดลง และโลหิตจาง ถ้าได้รับโซเดียมซัลไฟต์ 4-5.8 กรัมต่อวัน (70-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จะเกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง

ความเป็นพิษในสัตว์ ในหนูทดลอง เมื่อให้สารซัลไฟต์สูงกว่า 0.5% ของอาหารทำให้เกิดอาการกระเพาะอาหารอักเสบ อุจจาระมีเลือดปน จากการศึกษาระยะสั้นเป็นเวลา 10-56 วัน โดยให้ซัลไฟต์ร้อยละ 5 ในอาหารพบว่า ทำให้เกิดอาการโลหิตจาง เลือดออก ม้ามโต กระเพาะอาหารมีเลือดออก เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารถูกทำลาย ในกระต่าย สารโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์จะทำให้กล้ามเนื้อหัวใจกระต่ายหดเกร็ง โดยไม่มีผลต่อจังหวะการเต้นของหัวใจ ความดันเลือดลดลงและมีเลือดคั่งในอวัยวะต่าง ๆ

5. **วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์**

ปัจจุบันมีวิธีมาตรฐาน (AOAC Method) ในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ และได้รับความนิยมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ในอาหาร และผลิตภัณฑ์อาหาร ดังเช่น

1) Iodometric method[22]

การวิเคราะห์ด้วยวิธีการไทเทรตโดยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ในตัวอย่างเป็นของเหลวสามารถวิเคราะห์ปริมาณได้โดยการไทเทรตกับสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน โดยปิเปตน้ำตัวอย่างมาในปริมาตรที่พอประมาณแล้วเติม กรดซัลฟิวริก 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5 นาที เมื่อครบแล้วให้เติมสารละลายอินดิเคเตอร์น้ำแป้งลงใน จากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานไอโอดีน สังเกตการณ์เปลี่ยนสี (ไม่มีสีเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินม่วง) แล้วคำนวณหาปริมาณของซัลเฟอร์ไดออกไซด์จากปริมาณของไอโอดีนที่ใช้ไปทั้งหมด

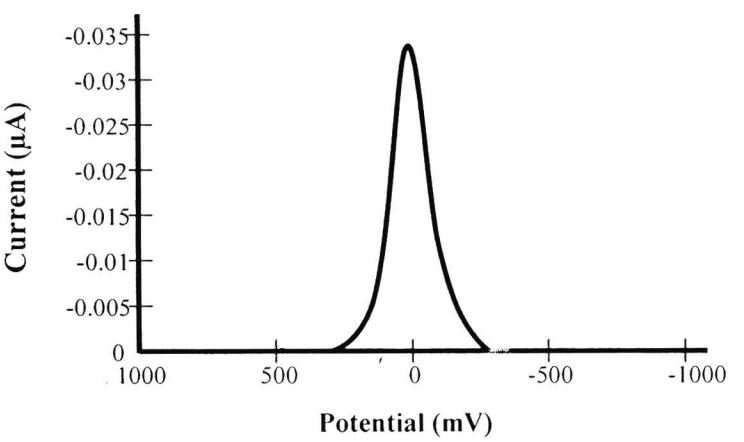
2) Differential Pulse Polarographic method [22]

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์แบบโพราโรกราฟี ได้เริ่มทำการศึกษาเมื่อ ค.ศ. 1987 เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่วัดปริมาณก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยทำการกลั่นด้วยกรด (acid distillation) ในการแยกซัลไฟต์ออกจากอาหาร โดยเติมกรดซัลฟิวริก 35% (v/v) ลงไปในตัวอย่าง

แล้วทำการผ่านก๊าซไนโตรเจนผ่านยังตัวอย่าง เพื่อไล่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ลงในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (ammonium acetate ใน ethanol) แล้วนำไปวัดปริมาณกระแสจากการแพร่ของสารละลายโดยวิธีดิฟเฟอร์เรนเชียล พัลส์โพลาโรกราฟี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานปรอทหยด เพื่อนำค่าของกระแสที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น เพื่อหาความเข้มข้นของซัลไฟต์ในอาหารตัวอย่างได้ โดยกระบวนการวิเคราะห์นี้จะสามารถประยุกต์ใช้ที่ความเข้มข้นที่มากกว่า 10ไมโครกรัมของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดต่อจำนวนตัวอย่าง (กรัม) สภาวะการทำงานของเครื่องโพราโรกราฟี และตัวอย่างโพราโรแกรมที่เกิดขึ้น แสดงดังตาราง 1.2 และรูป 1.13

ตาราง 1.2 สภาวะการทำงานของเครื่องมือและดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์โพลาโรกราฟี[22]

พารามิเตอร์	สภาวะ
Pulse amplitude	50 มิลลิโวลล์
ศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้น(linitial potential)	-0.45 โวลล์
ศักย์ไฟฟ้าสุดท้าย(final potential)	-0.80 โวลล์
Drop time	1 วินาที
Scan rate	5 มิลลิโวลต์ต่อนาที
Differential pulse range	10 ไมโครแอมแปร์
ขั้วไฟฟ้าทำงาน(working electrode)	Dropping Hg electrode
ขั้วไฟฟ้าช่วย(auxiliary electrode)	Pt wire counter electrode
ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง(reference electrode)	Ag/Ag reference electrode



รูป 1.13 ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลาโรแกรม[22]

3) Optimized Monier-Williams method[22]

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ โดย Monier - Williams ได้เริ่มทำการศึกษาเมื่อ ค.ศ. 1989 มีหลักการคือสารตัวอย่างที่มีปริมาณซัลไฟต์นำไปให้ความร้อนด้วยการรีฟรักซ์กับกรด ซึ่งจะทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยทำการพ่นก๊าซไนโตรเจนผ่านไปยังตัวอย่างที่มีซัลไฟต์อยู่ พร้อมกับการรีฟรักซ์ โดยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะเกิดการกลั่นออกมาผ่านไปยังภาชนะที่มีสารละลายเปอร์ออกไซด์อยู่ ซึ่งก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะถูกออกซิไดซ์ให้เป็นซัลฟิวริก แล้วทำการไทเทรตกับสารมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ วิธีการดังกล่าวสามารถวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

4) Flow Injection analysis method[22]

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ได้เริ่มทำการศึกษาเมื่อ ค.ศ. 1990 มีหลักการคือนำตัวอย่างที่มีปริมาณซัลไฟต์ทำปฏิกิริยากับคาร์มาไกต์กรีน โดยขั้นตอนระบบโฟลอินเจคชันนั้น ขั้นแรกสารละลายตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วทำปฏิกิริยากับกรดทำให้เกิดการออกซิไดซ์เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะแพร่ผ่านหน่วย gas diffusion cell ซึ่งจะทำการผสมกับสารละลาย คาร์มาไกต์กรีนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีของสารละลาย คาร์มาไกต์กรีนขึ้น ซึ่งสามารถทำปริมาณความแตกต่างของสีซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของปริมาณซัลไฟต์ แล้วตรวจวัดด้วยสเปกโทรโฟโรมิเตอร์ ได้ วิธีการวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

5) Ion Exclusion Chromatographic method[22]

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ได้เริ่มทำการศึกษาเมื่อ ค.ศ. 1990 โดยทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างที่มีปริมาณซัลไฟต์ แล้วทำการฉีดเข้าภายในโครมาโทรกราฟีของเหลวหรือเอ็กซ์คลูชันโครมาโทรกราฟีชนิดไอออนลบ ซึ่งขึ้นอยู่กับ exclusion ของปริมาณซัลไฟต์ ภายในคอลัมน์ และตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมี วิธีการวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

สำหรับวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในงานวิจัยนี้จะได้เลือกใช้วิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์โพลาโรกราฟี ซึ่งสามารถวิเคราะห์หาปริมาณของสารตัวอย่างได้ในปริมาณที่น้อยกว่า มีความไวและความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์สารประกอบอนินทรีย์ที่อยู่ในรูปโมเลกุลที่สามารถละลายในตัวทำละลายได้ด้วย

6. สรุปสาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากการติดตามตรวจสอบปริมาณของซัลไฟต์ทั้งในผลิตภัณฑ์อาหารหรือแม้แต่ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมต่างๆ จะพบว่าได้มีรายงานเกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ต่าง ๆ ให้เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารฟอกขาวประเภทซัลไฟต์ ในสารตัวอย่างทางอาหารและจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีเมทริกซ์ต่าง ๆ กัน ซึ่งกระบวนการวิเคราะห์นั้นพบว่ามีหลากหลายเทคนิคในการศึกษาสารฟอกขาวประเภทซัลไฟต์ เช่น เทคนิคไอโอโดเมตริกไทเทรชัน สเปกโตรโฟโตเมตรี[23] แอมแปร์โรเมตรี[24-25] โพลาโรกราฟี[26] ไอออนโครมาโทกราฟี [27] แคปพิลลารีอิเล็กโทรฟอริซิส[28-29] จลน์ศาสตร์[30] และโฟลอินเจคชันอะนาลิซีส[31]

โดยเทคนิคทางโฟลอินเจคชันในการวิเคราะห์หาซัลไฟต์สามารถเลือกใช้ตัวตรวจวัดต่าง ๆ เช่นสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ คอนดักโทมิเตอร์ และแอมแปร์โรมิเตอร์ ฯลฯ ตามความเหมาะสม แต่การใช้เครื่องมือตรวจวัดที่กล่าวมาข้างต้น มีสภาพไวค่อนข้างต่ำจึงมีผู้ประยุกต์ใช้เครื่องมือตรวจวัดชนิดเคมิลูมิเนสเซนต์มาใช้ในการวิเคราะห์ซัลไฟต์ร่วมกับเทคนิคโฟลอินเจคชัน

จากการสืบค้นรายงานในการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยเทคนิคทางโฟลอินเจคชัน โดยมีเครื่องตรวจวัดชนิดเคมิลูมิเนสเซนต์พบว่าสามารถหาปริมาณได้ในระดับต่ำและมีค่าสัมประสิทธิ์การเบี่ยงเบนที่มีประสิทธิภาพสูง โดยสรุประบบเคมิลูมิเนสเซนต์ชนิดต่างๆ ที่มีรายงานมาแล้วมีดังแสดงในตาราง 1.3

ตาราง 1.3 ตัวอย่างการศึกษาหาปริมาณของสารซัลไฟต์ โดยเทคนิคทางโฟลอินเจคชันเคมิลูมิเนสเซนต์

ตัวอย่างที่ศึกษา	สารที่ใช้ทำปฏิกิริยา	ระดับความเข้มข้นที่วัดได้ (โมลาร์)	ขีดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (โมลาร์)	ค่าสัมประสิทธิ์การเบี่ยงเบน	อ้างอิง
น้ำตาล	$Ru(bipy)_3^{2+}$ - (bipy 2,2'-bipyridyl)-SO_3^{2-} - $KMnO_4$	5.0×10^{-8} - 1.25×10^{-4}	2.5×10^{-8}	4.9% (n = 6)	32
น้ำตาล	$Ru(bipy)_3^{2+}$ - $KBrO_3$	2.5×10^{-8} - 9.5×10^{-5}	3.8×10^{-9}	4.6% (n = 9)	33
น้ำตาล	$Ru(bipy)_3^{2+}$ - $K_2S_2O_8$		4.1×10^{-8}	4.3% (n = 9)	34
เบียร์ และไวน์	Riboflavin phosphate กับ $KMnO_4$	1.5×10^{-7} - 1.0×10^{-4}	0.06 mg l^{-1}	3.7% (n=11)	35
ซัลเฟอร์ได	Tris(1,10-Phemanthroline)		7×10^{-10}	2.3% (n = 9)	36
ออกไซด์ใน	Ruthenium-KIO_4	0.1-100 mg l^{-1}			
อากาศ		1.0×10^{-7} - 1.5×10^{-4}	0.03 mg l^{-1}	5.0% (n = 11)	37
เบียร์ และไวน์	Auto-oxidation sensitized by rhodamine 6G	0.05 – 10 mg l^{-1}			

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

นอกจากนี้ปัจจุบันยังได้มีรายงานเกี่ยวกับการพัฒนาบางชนิดเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online-separation) เกิดขึ้นเนื่องจากสารตัวอย่างที่มีสารปนเปื้อนภายในตัวอย่างมาก ทำให้รบกวนการวิเคราะห์ จึงมีความพยายามในการพัฒนาการแยกแบบออนไลน์ขึ้น เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่มีอิทธิพลต่อการทดลอง และรบกวนการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สนใจเพื่อให้ถูกกำจัดแยกออกไป หรือทำปฏิกิริยากับสารละลายทำให้สารตัวอย่างเปลี่ยนโครงสร้าง โดยเทคนิคที่สนใจพัฒนาขึ้นคือ เทคนิคก๊าซดิฟฟิวชันโฟลอะนาไลซิส (GDFI) และเพอร์วาพอเรชันโฟลอะนาลิซิส (PFI) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่นำมาใช้เพื่อแยกสารที่สนใจจากสารละลายตัวอย่างที่เกิดการปนเปื้อน โดยในเทคนิคทางเพอร์วาพอเรชันจะอาศัยการทำปฏิกิริยาของซัลไฟต์กับกรดให้ได้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ขึ้นภายด้านบนของสารละลายที่ระเหยสู่ช่องอากาศเหนือสารละลายก่อนที่จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสตัวพาต่อไป ส่วนเทคนิคทางก๊าซดิฟฟิวชันจะอาศัยการแยกสิ่งปนเปื้อนผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยสารปนเปื้อนไม่สามารถที่จะเข้าสู่ระบบได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีเฉพาะสารตัวอย่างที่สนใจสามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสตัวพาได้ โดยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์นั้นจะมีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ที่พัฒนาเพิ่มเติมขึ้นจากวิธีโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการวิธีวิเคราะห์ สารปนเปื้อนในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม ดังแสดงในตาราง 1.4

ในงานวิจัยนี้จะนำข้อดีของเคมิลูมิเนสเซนต์ ซึ่งมีสภาพไวสูงและมีความจำเพาะที่ดีมาใช้เป็นตัวตรวจวัดในเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโฟลอะนาลิซิส เพื่อให้เกิดวิธีการวิเคราะห์ซัลไฟต์แบบใหม่ขึ้น ซึ่งจะมีประสิทธิภาพสูง โดยไม่ต้องต้องมีการเตรียมตัวอย่างและใช้สารเคมีที่มีราคาต่ำและความเป็นพิษต่ำ สำหรับการเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ตาราง 1.4 ตัวอย่างการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์

ตัวอย่างที่ศึกษา	สารที่ใช้ทำปฏิกิริยา	ระดับความเข้มข้นที่วัดได้	ขีดความเข้มข้นต่ำสุด	ค่าสัมประสิทธิ์การเบี่ยงเบน	จำนวนตัวอย่าง/ชั่วโมง	ระบบการแยกแบบออนไลน์	อ้างอิง
ไวน์	Iodine reagent	0.5-2.0 mg l^{-1}	0.05 mg l^{-1}	1.6% (n = 11)	60	GDFI-spectrometry	38
ไวน์ และ น้ำผลไม้	N,Ndimethylphenylene diamine (DMPD) และ Fe^{3+}	1-25 mg l^{-1}	0.25 mg l^{-1}	3.3% (n = 10)	40	GDFI-spectrometry	39
ไวน์	Bromocresol green เป็น อินดิเคเตอร์	1-20 mg l^{-1}	0.1 mg l^{-1}	1.5% (n = 8)	120	GDFI-spectrometry	40
ไวน์ และ น้ำผลไม้	Acid medium	1.0-50 mg l^{-1}	0.03 mg l^{-1}	0.2% (n = 10)	120	GDFI-spectrometry	41
ไวน์ และ น้ำผลไม้	HCl และ bromocresol green	1-20 mg l^{-1}	0.81 mg l^{-1}	2.75% (n=10)	60	GDFI-spectrometry	42
ไวน์ และ น้ำผลไม้	Ni(II)/tetraglycine complex of luminol	5.0×10^{-8} - 5×10^{-6} M	2.8×10^{-8} M	4.6% (n=10)	60	GDFI-spectrometry	43
		1.0×10^{-6}- 5×10^{-4} M	5×10^{-7} M	4.6% (n = 9)	120	GDFI-amperometry	44

7. **วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. เพื่อออกแบบและสร้างเครื่องมือราคาถูกแต่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารฟอกขาวบางชนิดในกลุ่มซัลไฟต์ ด้วยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) ชนิดเพอวาพอเรชัน ร่วมกับวิธีโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส ที่มีส่วนตรวจวัดที่มีสภาพไวสูงชนิดเคมิลูมิเนสเซนต์

2. เพื่อนำเอาเครื่องมือและเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้กับการวิธีวิเคราะห์สารปนเปื้อนในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม โดยเน้นในการวิเคราะห์สารฟอกขาวในกลุ่มซัลไฟต์

3. เพื่อศึกษาและสร้างองค์ความรู้ใหม่ โดยเน้นในด้านเคมีวิเคราะห์วิเคราะห์สมัยใหม่ ที่ใช้เครื่องมือราคาถูกและสารเคมีน้อยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม