บทที่ 1
บทนำ

ด้วยสาเหตุจากความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ไม่หยุดยั้ง ทำให้ต้องมีการพัฒนางานวิจัยเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะงานวิจัยทางเคมีและเคมีประยุกต์ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิคและเครื่องมือต่างๆ ขึ้นมามากมายเพื่อรองรับงานวิจัยใหม่ๆ โดยเฉพาะระบบอัตโนมัติสำหรับป้อนสารตัวอย่างเข้าสู่เครื่องมือ ซึ่งจำเป็นอย่างมากสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีจำนวนมาก จากร้อยถึงพันตัวอย่างหรือมากกว่า เพื่อจะได้วิเคราะห์ด้วยความรวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่ายและได้ข้อมูลเป็นที่น่าเชื่อถือได้ ระบบอัตโนมัตินี้จำเป็นมากในห้องปฏิบัติการที่มีงานวิเคราะห์เป็นประจำ เช่น โรงพยาบาล โรงงานอุตสาหกรรมและองค์การต่างๆ ที่มีการวิเคราะห์สารตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม โดยวิธีวิเคราะห์ระบบอัตโนมัติระบบหนึ่งที่ปัจจุบันได้รับความสนใจอย่างมากคือ Flow Injection Analysis หรือเรียกย่อๆว่า FIA หรือ FI

1.1 โฟลอินเจคชันอะนาลิซิส (Flow Injection Analysis; FIA)

1.1.1 ประวัติความเป็นมา[1-9]

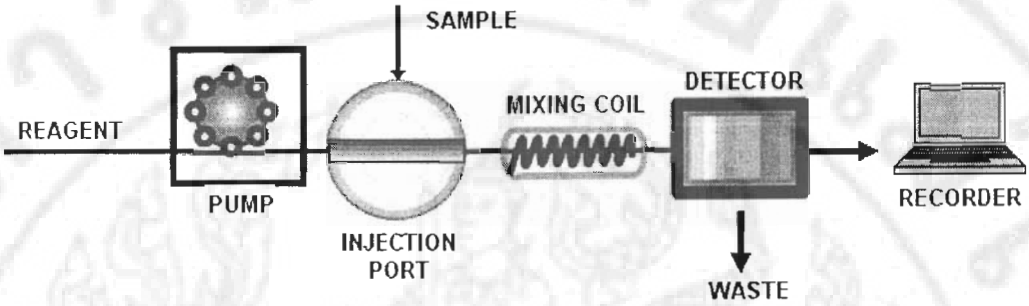
ในปี ค.ศ. 1957 Skeggs แห่งมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย เป็นผู้ริเริ่มใช้ระบบอัตโนมัติแบบการไหลต่อเนื่องที่เรียกว่า Continuous Flow Analysis (CFA) ซึ่งประกอบด้วย Flow System ร่วมกับเครื่องมือวัดต่างๆ เช่น สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โพเทนทิโอมิเตอร์ เป็นต้น หลักการก็คือให้ รีเอเจนต์ สารตัวพา และอากาศไหลผ่านท่อเล็กๆ ด้วยอัตราเร็วที่เหมาะสมและคงที่ภายใต้การควบคุมของปั๊ม แล้วมาพบกันก่อนเข้าที่ mixing coil ซึ่งมีความยาวที่เหมาะสม จากนั้นเข้าสู่เครื่องตรวจวัด การไหลแบบต่อเนื่องนี้ภายในท่อจะมีฟองอากาศคั่นเป็นช่วงๆ ต่อมาบริษัท Techicon ได้ผลิต Auto analyzer ออกสู่ตลาดเป็นบริษัทแรก

ในปี ค.ศ.1975 Ruzicka และคณะแห่งกรุงโคเปนเฮเกน ประเทศเดนมาร์ก กับ Stewart และคณะแห่งกรุงวอชิงตัน ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ศึกษาและพัฒนาระบบอัตโนมัติที่มีการไหลอย่างต่อเนื่องโดยไม่มีฟองอากาศคั่น ซึ่งนักวิจัยทั้งสองกลุ่มนี้มิได้นัดหมายกันมาก่อนเลย เทคนิคนี้เรียกว่า Flow Injection Analysis หรือ FIA เครื่องมือ FIA ที่มีขายในท้องตลาดในปี ค.ศ.1970 คือ FIA 10 ผลิตโดยบริษัท Bifok ประเทศสวีเดน

ในประเทศไทยได้มีนักวิจัยสนใจเทคนิค FIA เช่นเดียวกับต่างประเทศ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เป็นสถาบันแห่งแรกที่มีการพัฒนาเทคนิค FIA และนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยตั้งแต่ปี ค.ศ.1981 โดย สายสุนีย์ เหลียวเรืองรัตน์ และ อังศนา เหล่าสกุล และได้นำเสนอผลงานในการประชุมสัมมนา จัดโดยสมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ แห่ง

ประเทศไทย ครั้งที่ 10 ประจำปี ค.ศ.1983 ต่อมาปี ค.ศ.1985 เกตุ กรุดพันธ์ และ เฉลิม เรืองวิริยะชัย ได้พัฒนาวิธี FIA สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟต โดยใช้วัสดุที่หาได้ง่ายและมีราคาถูก ทำให้กลุ่มวิจัย FIA ดังกล่าวมีสมาชิกเพิ่มขึ้น และได้พัฒนาเทคนิคนี้เพื่อประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์สารตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม เช่น โลหะหนักในน้ำ ไอออนลบต่างๆ เช่น ซัลเฟต ฟอสเฟต ไนเตรท และคลอไรด์ เป็นต้น

1.1.2 หลักการของระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส[1,2,4,5]



รูป 1.1 แผนภาพอย่างง่ายของระบบ FIA[7]

โฟลอินเจคชันอะนาลิซิส (FIA) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีอย่างอัตโนมัติชนิดใหม่ (Continuous Flow Analysis;CFA) ซึ่งอาศัยหลักการการไหลอย่างต่อเนื่อง รูป 1.1 แสดงแผนภาพอย่างง่ายของระบบ FIA ซึ่งทำโดยการฉีดสารละลายของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างปริมาตรน้อยๆ เข้าไปในกระแสตัวพาซึ่งมีอัตราการไหลอย่างคงที่และต่อเนื่องตลอด ในท่อซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดเล็กโดยกระแสตัวพาเป็นส่วนที่จะเกิดปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่าง มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือทางฟิสิกส์ ในรูปแบบต่างๆ เช่น อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสี พีเอช (pH) ตะกอนแขวนลอยหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าเคมี เช่น กระแสไฟฟ้าขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาถูกพาเข้าไปใน โฟลธรูเซล (flow through cell) สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ด้วยเครื่องตรวจวัดสัญญาณ (detector) ที่เหมาะสมโดยขึ้นอยู่กับชนิด และธรรมชาติของสารที่จะทำการวิเคราะห์และปฏิกิริยาทางเคมีที่เลือกใช้ เช่น การวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ศักย์ไฟฟ้า (potential) ความเป็นกรด-ด่างหรือพีเอช (pH) เป็นต้น และบันทึกสัญญาณด้วยเครื่องบันทึกสัญญาณ (read out devices) คอมพิวเตอร์ หรือระบบต่างๆ เช่น เครื่องตรวจวัดแบบมีปากกาบันทึกไมโครพรอเซสเซอร์ (microprocessor) บนกระดาษ (chart recorder) คอมพิวเตอร์

ข้อที่น่าสังเกตคือ เมื่อ sample zone ที่แพร่มานั้นเมื่อไหลมาถึงเครื่องตรวจวัด ทั้งปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้น หรือกระบวนการแพร่นั้น ไม่จำเป็นต้องเกิดแบบ steady state เสมอไปแต่สำคัญที่ว่าสภาวะของการทดลองทั้งสารละลายมาตรฐาน และสารตัวอย่างในขณะนั้นจะต้องมี

คุณลักษณะและสภาวะเหมือนกันทุกประการ กล่าวคือ residence time จะต้องคงที่อยู่ในอุณหภูมิคงที่ และการแพร่ของสารจะต้องคงที่ด้วย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ หรือความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าได้ และสามารถวิเคราะห์ หรือหาความเข้มข้นได้อย่างถูกต้องโดยการทำกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารละลายมาตรฐาน และนำค่าที่แปลผลจากสัญญาณ FIA ของสารตัวอย่าง ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน แล้วคำนวณหาปริมาณสารที่สนใจในสารตัวอย่างได้

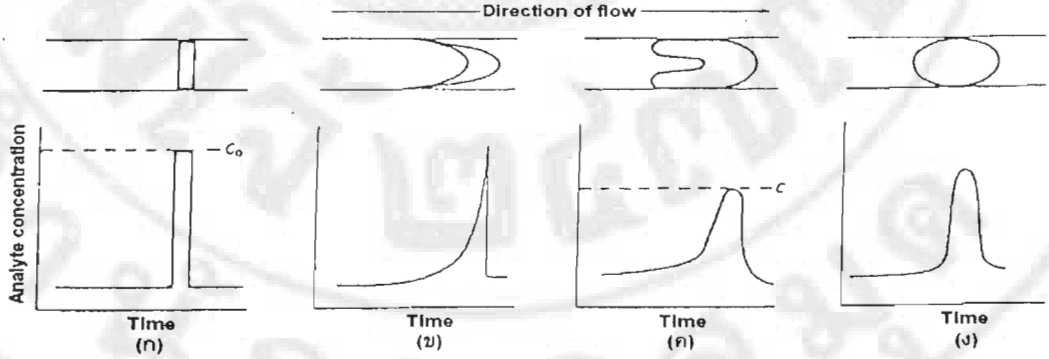
ส่วนการบันทึกโดย chart recorder ในระบบ FIA ของสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่างนั้น สามารถศึกษาได้จากความสูงของพีค (peak height) ความกว้างของพีค (peak width) พื้นที่ใต้พีค (peak area) หรือพีคต่อพีค (peak to peak) เป็นต้น

จากหลักการดังกล่าวสรุปได้ว่าหลักการพื้นฐานของเทคนิค FIA อาศัยหลัก 3 ประการ คือ

1) การฉีดสารตัวอย่าง (sample injection) เป็นการนำสารตัวอย่างเข้าไปในกระแสของตัวพาที่ไหลอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ปริมาณหรือปริมาตรของสารตัวอย่างที่ถูกต้องและแม่นยำทุกครั้ง

2) เวลาในการฉีดสารที่แม่นยำ (reproducible time) ต้องใช้เวลาที่แน่นอนและสม่ำเสมอเท่ากันทุกครั้งไม่เช่นนั้นสารตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับกระแสตัวพาด้วยสัดส่วนที่ไม่คงที่ทำให้ residence time ไม่เท่ากัน ซึ่งจะมีผลต่อการวัดของเครื่องตรวจวัดสัญญาณ

3) การแพร่ที่ถูกควบคุม (controlled dispersion) การแพร่ที่ถูกควบคุมของ sample zone ที่เกิดขึ้นในระหว่างการไหล และทำการวัดด้วย detector ซึ่งสังเกตได้จาก peak ที่เกิดขึ้นบนกระดาษของ recorder ที่มีลักษณะเฉพาะของระบบ FIA เท่านั้น ส่วนการควบคุมการแพร่ของสารตัวอย่างนั้น สามารถแบ่งได้ 3 ชนิด คือ การแพร่แบบจำกัด (limited dispersion) การแพร่แบบปานกลาง (medium dispersion) และ การแพร่แบบมาก (large dispersion) โดยลักษณะและการนำไปใช้ของสารแต่ละชนิดจะไม่เหมือนกัน รูปแบบต่างๆ ของการกระจายแสดงได้ดังในรูป 1.2



รูป 1.2 รูปแบบต่างๆ ของการกระจายที่เกิดขึ้นของสารตัวอย่างในท่อ

ก) ไม่เกิดการแพร่กระจาย ข) การแพร่กระจายเนื่องจากการพา

ค) การแพร่กระจายโดยการพาและการแพร่ตั้งฉากกับการไหล ง) การแพร่กระจายเนื่องจากการแพร่

1.1.3 **ส่วนประกอบสำคัญของระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส**[1,4]

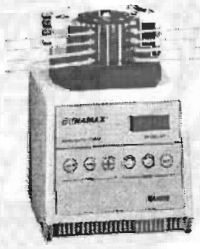
FIA manifold ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ที่สำคัญแสดงดังรูป 1.1 ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้

1) **ถังบรรจุสารเคมี** (reservoir)

เป็นภาชนะสำหรับบรรจุรีเอเจนต์ อาจมี 1 หรือ 2 ใบหรือมากกว่านั้น จะขึ้นอยู่กับชนิดของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ รีเอเจนต์ที่ไหลจะต้องไหลด้วยอัตราคงที่และอัตราการไหลจะมากขึ้นหรือน้อย ขึ้นอยู่กับความต้องการในการวิเคราะห์แต่ละสาร โดยการปรับอัตราการไหลนั้นนิยมใช้ปั๊ม

2) **เครื่องสูบหรือปั๊ม** (pump)

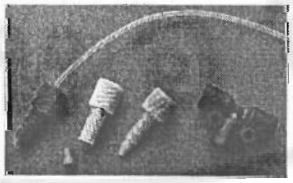
ใช้ในการควบคุมอัตราการไหลของรีเอเจนต์ และ/หรือ ตัวทำละลายให้คงที่ นิยมใช้เครื่องสูบชนิดเพอริสตาลติกปั๊ม (peristaltic pump) การใช้เครื่องสูบชนิดนี้จะต้องใช้ท่อที่มีความยืดหยุ่นสูง ซึ่งจะถูกบีบ (squeeze) โดยใช้ชุดลูกกลิ้ง (set of roller) จะทำให้เกิดการไหลของกระแสตัวพาภายในท่อ เครื่องสูบชนิดนี้จะทำให้เกิดพัลส์ (pulse) ของกระแสที่ไหลซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ในระบบ FIA พัลส์ที่เกิดขึ้นจะลดลงเมื่อจำนวนลูกกลิ้งและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลูกกลิ้งลดลง ส่วนระบบในการขับเคลื่อนอื่นๆ ที่นำมาใช้แต่ได้รับความนิยมน้อยกว่าเครื่องสูบแบบ เพอริสตาลติกปั๊ม ได้แก่ syringe pump หรืออุปกรณ์ที่ใช้ความดันของแก๊สหรือใช้ความดันจากแรงโน้มถ่วงของโลกในการขับเคลื่อนกระแสตัวพา ซึ่งอุปกรณ์ประเภทหลังนี้จะไม่ทำให้เกิดพัลส์ของการไหลแต่จะประสบปัญหาในการควบคุมอัตราการไหลของกระแสตัวพาซึ่งทำได้ลำบาก



รูป 1.3 ปั๊มแบบรีดผ่านสายยาง (peristaltic pump)[8]

3) **ข้อต่อ** (connector)

ในกรณีที่ใช้สารเคมีเป็นรีเอเจนต์ มากกว่า 1 ชนิด จะต้องใช้ข้อต่อเป็นตัวเชื่อม อาจทำด้วยพลาสติกเจาะรูให้เหมาะสมเป็นรูปตัว Y หรือ T หรือเมื่อมีการเชื่อมต่อกับอุปกรณ์ชนิดอื่นในระบบที่ต้องอาศัยการเตรียมตัวอย่างบางชนิด



รูป 1.4 ข้อต่อตรงและข้อต่อรูปตัว T[7]

4) **ส่วนฉีดสารตัวอย่าง** (injection port)

ส่วนที่ฉีดสารละลายมาตรฐานหรือสารตัวอย่างเข้าไปทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ มีหลายแบบเช่น

4.1) แบบ Ruzicka

แสดงดังรูป 1.5 ก ทำจากพลาสติกชนิด perspex ทั้งหนาและบางนำมาประกบกันโดยมี septum กั้นและมีช่องว่างสำหรับให้ปลายเข็มของ syringe แทงลงไปยังท่อที่กระแสของตัวพาไหลอย่างต่อเนื่องอยู่ แผ่นพลาสติก 2 แผ่นนั้นติดแน่นด้วยสกรูเหล็กและสามารถคลายออกได้ง่าย เมื่อต้องการที่จะเปลี่ยนแผ่น septum ใหม่ septum อันเก่าถูกปลายเข็มของ syringeแทงลงไปประมาณ30–40 ครั้ง ปลายของ tygon tube ทั้ง 2 ที่ต่อกับส่วนฉีดสารตัวอย่างจะต้องติดแน่นพอดีไม่มีฟองอากาศหรือช่องว่าง

4.2) แบบ Betteridge

แสดงดังรูป 1.5 ข การทำงานอาศัยหลักการทำงานที่ว่าเมื่อเกิดแรงดันของสารตัวอย่างจากช่องด้านหนึ่งที่ดันมาจากหลอดฉีดยา จะดัน septum ให้โค้งตามช่องว่างด้านล่าง ทำให้สารตัวอย่างไหลออกมาทางช่องว่างอีกด้านหนึ่ง ในขณะที่สารละลายตัวพาไหลอย่างต่อเนื่องอยู่ตลอดเวลาซึ่งอยู่ในแนวตั้งฉาก จึงทำให้รีเอเจนต์และสารตัวอย่างสามารถทำปฏิกิริยากันได้กันในเวลาต่อมา ส่วนฉีดสารตัวอย่าง แบบนี้ต่างจากแบบของ Ruzicka ตรงส่วนของหลอดฉีดยาไม่ต้องมีเข็มเพื่อแทงทะลุผ่าน septum ซึ่งเป็นลักษณะที่ปราศจาก hypodermic needle ข้อดีของส่วนฉีดสารตัวอย่างแบบนี้คือ ลดปัญหาเกี่ยวกับความดัน เพราะมีการฉีดสารตัวอย่างเข้าไปขังอยู่ในส่วนของ septum ที่โค้งก่อนแล้ว จึงเข้าทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างภายในท่อ ส่วนข้อเสียก็คือ จะมีปัญหาเกี่ยวกับฟองอากาศที่เกิดขึ้น จากการที่ปลายของหลอดฉีดยาสัมผัสกับ septum อย่างไม่สนิท จะเกิดฟองอากาศในขณะที่ฉีดสารตัวอย่างได้

4.3) แบบ rotary valve

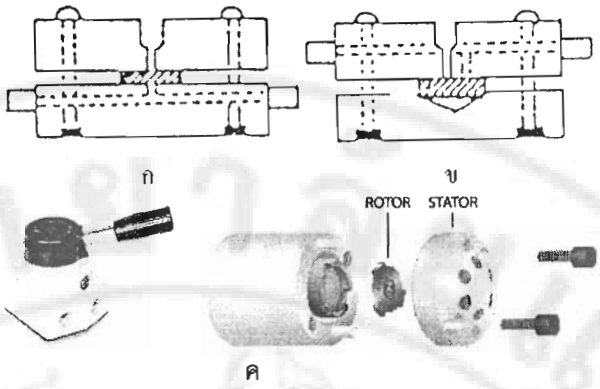
แสดงดังรูป 1.5 ค ส่วนฉีดสารตัวอย่าง แบบนี้จะประกอบด้วย 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 คือ starter

ส่วนที่ 2 คือ rotor ที่มีปริมาตรของสารตัวอย่างคงที่หรือ rotor ที่สามารถเปลี่ยนปริมาตรของสารตัวอย่างได้

การทำงานของระบบส่วนฉีดสารตัวอย่างแบบนี้ คือ ปริมาตรสารที่เป็นสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปจะมีปริมาตรที่แน่นอนทุกครั้ง โดยกำหนดจากปริมาตรภายในท่อในส่วนที่เป็น rotor สารละลายที่เป็นตัวพาจะมีการไหลอย่างคงที่ภายในสายยางของส่วนที่เป็น starter แสดงดังรูป เมื่อหมุน valve สารละลายที่เป็นตัวพาต้องไหลเข้าไปในท่อที่สารตัวอย่างอยู่แทนที่จะไหลเข้าไปในท่อที่ starter เพราะท่อสารละลายตัวพาที่ starter จะมีความต้านทานการไหลของสารละลายสูง

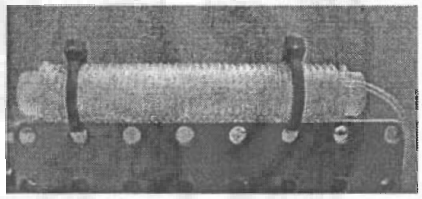
กว่าส่วนที่เป็นสารตัวอย่างก็จะทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวพา จากนั้นก็ใช้ดีเทคเตอร์วัดปริมาณการเปลี่ยนแปลงได้



รูป 1.5 injection port แบบต่างๆ ก) แบบ Ruzicka **ข)** แบบ betteridge **ค)** แบบ rotary valve

5) **ส่วนผสม** (mixing coil)

เป็นส่วนที่สารละลายมาตรฐานหรือสารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ภายหลังจากผสมกันที่ข้อต่อตัว T หรือ Y โดยจำนวนรอบหรือความยาวของท่อต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับปฏิกิริยาที่ศึกษา mixing coil ทำด้วยท่อพลาสติกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กๆ พันรอบภาชนะทรงกระบอกเส้นผ่าศูนย์กลางที่เหมาะสม



รูป 1.6 mixing coil[7]

6) **เครื่องตรวจวัด** (detector)

เป็นเครื่องวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ในปัจจุบันมีเครื่องตรวจวัดหลายชนิดที่นำมาใช้กับระบบ FIA ได้ดังตาราง 1.1 ซึ่งสามารถทำให้วิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลากหลายชนิดแล้วยังสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างในปริมาณที่มีอยู่น้อยๆ ได้อีกด้วย

7) **เครื่องบันทึกสัญญาณ** (recorder)

เป็นเครื่องบันทึกการเปลี่ยนแปลงโดยเกี่ยวข้องกับสัญญาณจากดีเทคเตอร์ จะแสดงในรูปของความสูงของพีค ความกว้างของพีค พื้นที่ใต้พีค หรือ พีคต่อพีค

8) **สารที่ทิ้ง** (waste)

เมื่อรีเอเจนต์และสารตัวอย่างทำปฏิกิริยากันไหลผ่านเครื่องวัดการเปลี่ยนแปลงแล้วจะไหลออกมาเป็นของเสีย

ตาราง 1.1 การตรวจวัดที่ใช้ในระบบ FIA[1]

SPECTROMETRY	ELECTROCHEMMICAL TECHNIQUES
1. UV/VIS	1. Amperometry
2. Turbidimetry/Nephelometry	2. Conductometry
3. Refractometry	3. Potentiometry
4. Atomic Absorption Spectrometry	- Ion selective electrode
5. Chemiluminescence/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	- Pulse Polarography
10. Flame photometry	- Square Wave Voltammetry
11. IR/FTIR	5. Choronopotentiometry
12. Raman Spectroscopy	- Potentiometry Stripping Analysis (PSA)

1.1.4 คุณลักษณะและข้อดีของระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส[4,9]

ข้อดีของ FIA ที่สำคัญมีดังนี้

1.ใช้เวลาติดตั้งสั้น ใช้ส่วนประกอบราคาไม่แพงและหาได้ง่าย

2. เปลี่ยนการวิเคราะห์สารหนึ่งไปเป็นอีกสารหนึ่งได้ง่าย

3. ต้องการพื้นที่ติดตั้งเครื่องมือไม่มากนัก

4. สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมากและรวดเร็ว อาจวิเคราะห์ตัวอย่างได้มากถึง 300 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

5. ใช้ปริมาตรตัวอย่างหรือรีเอเจนต์น้อย ปริมาณ 30 – 100 ไมโครลิตร

6. สามารถใช้เครื่องตรวจวัดได้มากมาย ตามการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและฟิสิกส์

7. ระบบ FIA เป็นระบบปิดสามารถใช้กับสารที่มีพิษได้ โดยที่นักวิจัยจะมีโอกาสสัมผัสได้น้อยมาก

8. สามารถใช้รีเอเจนต์ที่ไวต่ออากาศได้

9. ได้ผลรวดเร็วขึ้นอยู่กับธรรมชาติของสารที่จะวิเคราะห์และปฏิกิริยาที่ใช้ ในบางกรณีจะได้ผลภายใน 10 วินาที

10. มีความแม่นยำและความถูกต้องสูง

11. สามารถสร้างได้ง่ายและติดตั้งได้ง่าย

ตาราง 1.2 คุณลักษณะเฉพาะของ FIA

คุณลักษณะ	อัตราการเปลี่ยนแปลง
ปริมาตรของสารตัวอย่าง	20 – 200 ไมโครลิตร
เส้นผ่านศูนย์กลางภายในท่อ	0.2 – 1 มิลลิลิตร
อัตราการไหล	0.5 – 3 มิลลิลิตร/นาที
ความยาวของท่อ	10 – 200 เซนติเมตร
ปริมาตรของ flow cell	5 – 40 ไมโครลิตร
เวลาในการตอบสนองสัญญาณ	20 – 60 วินาที
จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้	60 – 300 ตัวอย่าง/ชั่วโมง

1.2 **ระบบการตรวจวัดแบบเคมิลูมิเนสเซนซ์** (Chemiluminescence detection) [10,11]

เคมิลูมิเนสเซนซ์ หมายถึง คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีโดยอาจเป็นรังสีอัลตราไวโอเลต วิสิเบิล หรือ รังสีอินฟราเรดก็ได้ การเกิดเคมิลูมิเนสเซนซ์ นั้นจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานจากสภาวะกระตุ้นไปยังสภาวะพื้นของโมเลกุลหรือไอออน ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยปฏิกิริยาทางเคมีแล้วมีการปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งก็คล้ายกันกับกระบวนการทำงานของโฟโตลูมิเนสเซนซ์ (photoluminescence)เช่น ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescsene) หรือ ฟอสโฟเรสเซนซ์ (phosphorescence) แต่จะต่างกันตรงกระบวนเกิดเคมิลูมิเนส-เซนซ์นั้นไม่จำเป็นต้องอาศัยแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอินเทอมิเดียตเหมือนอย่างในกระบวนการโฟโตลูมิเนสเซนซ์

ความน่าสนใจในการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ ก็คือความสามารถในการสร้างโมเลกุลที่จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาได้โดยไม่จำเป็นต้องมีการกระตุ้นด้วยการฉายรังสีก่อน ซึ่งจะช่วยให้หลีกเลี่ยงปัญหาเกี่ยวกับการเบี่ยงเบนของแสงรบกวน รวมไปถึงปัญหาทางด้านกระบวนการกระตุ้นให้เกิดแสง และความไม่เสถียรของแหล่งกำเนิดแสงอีกด้วย

โดยทั่วไปแล้วลักษณะการวิเคราะห์และการนำไปใช้ประโยชน์ของเคมิลูมิเนสเซนซ์ในตัวกลางที่เป็นของเหลว จะสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ ประเภทแรกเป็นกระบวนการเกิดปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนซ์แบบทั่วไป โดยจะเป็นการใช้ประโยชน์จากการเกิดปฏิกิริยาของ สารฟลูออโรฟอร์บางชนิดเช่น luminol, arcidinium esters, peroxyoxalates, dioxetanes และ tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) ส่วนประเภทที่สองเป็นประเภทที่มีความเกี่ยวข้องกันกับปฏิกิริยาชนิด oxidant-analyte ซึ่งจะเป็นสารตั้งต้น (substrate)โดยตรงที่ใช้ในกระบวนการปลดปล่อยแสง เคมิลูมิเนสซ์ ดังที่เรียกว่า "direct CL determination"

ในประเภทแรกนั้นตัวอย่างที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนซ์ โดยส่วนใหญ่แล้วจะมีลักษณะเป็นรีเอเจนต์ (reagent) หรือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) หรือตัวยับยั้ง (quencher) แม้แต่จะเป็นตัวขยายผลของปฏิกิริยา (enhancher) ก็เป็นได้ ซึ่งจะทำให้เกิดข้อจำกัดเกี่ยวกับระบบการทำงานและการใช้ประโยชน์ได้ ส่วนในประเภทที่สองนั้นจะมีวิธีการที่ง่ายและเป็นประโยชน์มากกว่า ซึ่งจากการศึกษาในห้องทดลองก่อนหน้านี้จะมุ่งเน้นไปยังกระบวนการเกิดปฏิกิริยา เคมิลูมิเนสเซนซ์ ระหว่างตัวอย่างกับตัวออกซิไดซ์หลายชนิด (ในบางกรณีก็อาจใช้ตัวรีดิวซ์) ซึ่งจะช่วยลดระยะเวลาในการสุ่มทดสอบในกระบวนการทำงานได้

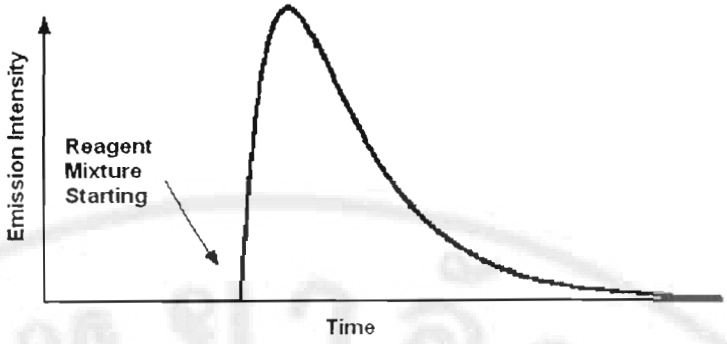
1.2.1 หลักการของเคมิลูมิเนสเซนซ์ [10]

หลักการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ โดยทั่วไปแล้วจะอาศัยการก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่สามารถปลดปล่อยพลังงานแสงที่มีความเข้มข้นสูงออกมาอย่างต่อเนื่องในระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งจากปฏิกิริยานี้จะทำให้สามารถศึกษาหรือวัดค่าความเข้มของแสงที่ปลดปล่อยออกมาได้โดยอาศัยเครื่องมือหรือวิธีการง่าย ๆ ไม่ซับซ้อน โดยจะสามารถวัดค่าความเข้มของแสงได้ด้วยหลอดวัดแสง (photomultiplier tube;PMT) เพราะว่าแหล่งกำเนิดแสงจะอยู่ในสารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาอยู่แล้วจึงไม่จำเป็นที่จะต้องใช้เครื่องแยกแสงความยาวคลื่นเดียว เพื่อมาแยกความแตกต่างของช่วงความยาวคลื่น เหมือนเช่นในกระบวนการตรวจวัดขั้นสูงที่ใช้อยู่ในเครื่องมือหลายชนิด โดยระบบการตรวจวัดจะมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อลดขั้นตอนลงให้น้อยที่สุด ไม่ว่าจะเป็นกระบวนการแบบใช้แรงงานคนหรือกระบวนการแบบอัตโนมัติ เช่น การเติมรีเอเจนต์ การรวบรวมและประมวลผลข้อมูล เป็นต้น

วิธีวัดค่าของแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์ มีอยู่ 2 แบบ คือ

1) ทำการวัดค่าในสารละลายที่คงตัว (static solution)

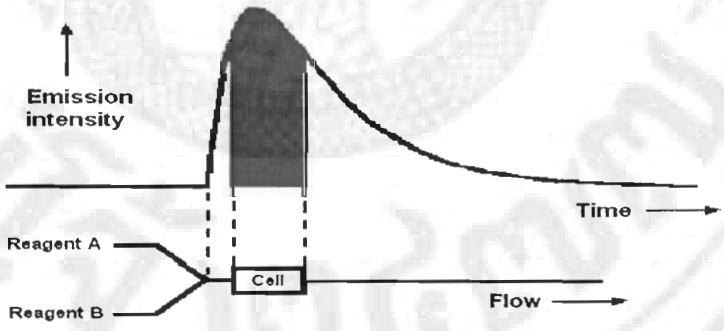
จะมีการผสมแค่ส่วนของรีเอเจนต์ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่คายแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์ และตัวอย่างเท่านั้น จากนั้นจึงนำเอาตัวอย่างที่ได้ใส่ในคิวเวตต์ แล้วนำเข้าช่องตรวจวัดของลูมิโนมิเตอร์ (luminometer chamber) ที่มีส่วนของหลอด PMT เป็นส่วนประกอบโดยใช้หลอดฉีดยาเป็นตัวฉีดสารเคมีที่ทำให้เกิดเคมิลูมิเนสเซนซ์ หรือไบโอลูมิเนสเซนซ์ ลงไปผสมในคิวเวตต์ ในรูป 1.7 จะแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเข้มแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์ในช่วงเวลาที่มีการทำปฏิกิริยา ความสูงของเส้นโค้งหรือพื้นที่ใต้เส้นโค้งเป็นผลมาจากความเข้มข้นของตัวอย่าง ในทางกลับกันส่วนของความกว้างหรือส่วนลาดของเส้นโค้งก็จะสามารถใช้เป็นตัวแปรของการวิเคราะห์ได้



รูป 1.7 ค่าความเข้มแสงของเคมิลูมิเนสเซนซ์เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลง[10]

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

รีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดเคมิลูมิเนสเซนซ์และสารตัวอย่างนั้น จะถูกส่งผ่านช่องทางที่แยกกันอยู่ และจะไปผสมกันก่อนที่จะถึงส่วนของตัวตรวจวัด โดยจะมีการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่อง ดังรูป 1.8และต้องการศึกษาตรงช่วงก่อนหน้าที่มีการผสม และหลังมีการผสมกัน เพื่อให้การทำปฏิกิริยากันของสารทั้งสองเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ โดยจะมีการนำเอาค่าความแตกต่างระหว่างก่อนทำปฏิกิริยาและหลังการเข้าทำปฏิกิริยา รวมไปถึงอัตราการไหลมาใช้ในการคำนวณค่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาและรวมไปถึงค่าการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของแสงในช่วงเวลาทำปฏิกิริยาอีกด้วย

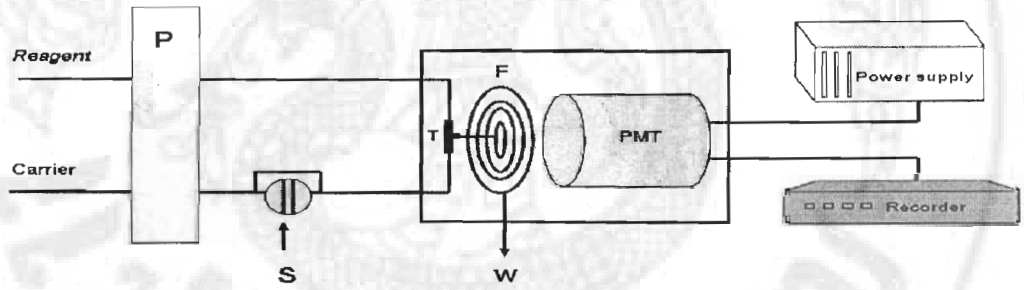


รูป 1.8 ตำแหน่งของจุดสังเกตมีความสัมพันธ์กับเส้นโค้งของระยะเวลาที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสง (emission-time curve) ในกระบวนการวัดค่าของเคมิลูมิเนสเซนซ์ แบบ flow-through โดยพื้นที่ส่วนแรเงาใต้เส้นโค้งหมายถึงส่วนที่ตรวจจับของการปล่อยพลังงานแสง[10]

ส่วนประกอบที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ในระบบที่มีการไหลแบบต่อเนื่องของเคมิลูมิเนสเซนซ์ คือ ส่วนผสม (reagent mixing chamber) เซลล์ (flow cell) เครื่องตรวจวัด

สัญญาณ (photodetector หรือ photomultiplier tube) และส่วนรวบรวมและจัดการข้อมูล (electronic data acquisition and processing device) โดยอุปกรณ์อื่น ๆ อาจออกแบบให้มีหน้าที่ต่างๆกันรวมไปถึงอุปกรณ์สำคัญข้างต้นจะสามารถนำมาใช้สำหรับวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ หรือ ไบโอลูมิเนสเซนซ์ได้ ซึ่งตามความเป็นจริงแล้วในการวิเคราะห์แบบ FIA นั้นมักจะมีการปรับปรุงพัฒนาเครื่องมือให้มีความเหมาะสมกับงานอยู่แล้ว

ในรูป1.9 แสดงให้เห็นถึงการติดตั้งระบบ FIA พื้นฐานสำหรับการวิเคราะห์แบบเคมิ-ลูมิเนสเซนซ์ โดยตัวอย่างจะถูกนำเข้าไปยังกระแสตัวพาโดยมีการปรับค่า pH ให้เหมาะสม จากนั้นจะให้รีเอเจนต์ผ่านไปผสมกับตัวอย่างที่ข้อต่อตัว T ซึ่งจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนซ์อย่างรวดเร็ว ระหว่างรีเอเจนต์และตัวอย่าง โดยที่รีเอเจนต์และตัวอย่างจะต้องมาผสมกันให้ใกล้บริเวณตรวจวัดค่า (flow through cell) ให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ในสภาวะที่มีระดับพลังงานจลน์อยู่ระดับพื้น จากนั้นจะทำการวัดค่าพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาโดยอาศัยหลอด PMT ที่เชื่อมต่อกับอุปกรณ์ในการรวบรวมข้อมูล ซึ่งจะสามารถวัดค่าของเคมิลูมิเนสเซนซ์ได้ภายในเวลาแค่เสี้ยววินาทีหลังจากมีการผสมกันของตัวอย่างกับรีเอเจนต์ ซึ่งตรงจุดนี้จะเป็นประโยชน์มากในการติดตามดูการเปลี่ยนแปลงของพลังงานจลน์ในการเกิดปฏิกิริยาและการปลดปล่อยพลังงานแสงที่ซึ่งจะมีความเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว



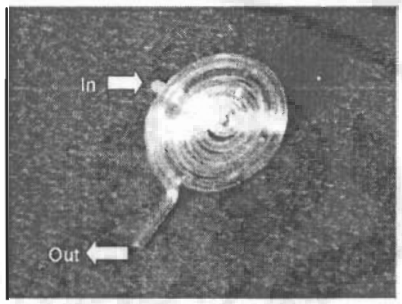
รูป 1.9 ส่วนประกอบของ CL-FIA;P= peristaltic pump: S=sample: T=T-shaped connector: F= flat coil cell: PMT= photomultiplier tube: W= waste [10]

ในส่วนของ stop-flow mode นั้น เมื่อทำการผสมรีเอเจนต์และตัวอย่างแล้ว จะมีการกักสารทั้งสองที่กำลังทำปฏิกิริยากันอยู่ไว้ที่ส่วนเซลล์ ทำการวัดค่าเพื่อจะนำไปใช้ในการสร้างกราฟเส้นโค้งของค่าความเข้มแสงกับเวลา ข้อมูลทางจลนศาสตร์จะได้มาจากการวิเคราะห์ผลจากเส้นโค้ง คือดูจากอัตราส่วนของความสูงของเส้นโค้งและช่วงลาดลงของเส้นโค้ง ค่าที่ได้มีความจำเพาะและละเอียดมากกว่าการดูความสูงของเส้นโค้งหรือพื้นที่ใต้เส้นโค้งเพียงอย่างเดียว

ถ้านำเอาการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์และวิธีโครมาโทกราฟีของเหลว มาใช้ร่วมกันก็จะเกิดผลดีเป็นอย่างมาก เนื่องมาจากความไวของการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ที่มีอยู่สูง

รวมไปถึงความจำเพาะของเทคนิคทางโครมาโทกราฟี โดยเฉพาะอย่างยิ่งโครมาโทกราฟีของเหลวคาบิลลารี ที่ใช้ซิลิกาเป็นตัวกลาง

การออกแบบเซลล์ก็มีความหลากหลายมากและมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ แม้ว่าตามความเป็นจริงแล้วการวางตำแหน่งของเซลล์และระยะห่างกับตัวตรวจวัดค่าจะไม่แตกต่างกันนัก แต่ลักษณะการออกแบบที่ใช้กันมากในการวิเคราะห์แบบ FIA จะเป็นแบบเกลียวในแนวราบ (flat spiral) ดังรูป 1.10 ซึ่งจะมีการจัดวางให้อยู่ใกล้ส่วนของหลอด PMT ให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้



รูป 1.10 spiral flat coil cell [7]

สิ่งที่จำเป็นมากสำหรับการออกแบบเซลล์ก็คือ จะต้องให้ปฏิกิริยานั้นปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาให้มีค่าความเข้มข้นสูงสุดในขณะที่สารตัวอย่างนั้นอยู่หน้าตัวตรวจวัดค่า (detector) เพราะว่าการเกิดปฏิกิริยานั้นจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการใช้เซลล์ควรเลือกใช้ชนิดที่มีปริมาตรที่เหมาะสม จึงจะส่งผลให้ปฏิกิริยาขึ้นสู่จุดสูงสุดจนสามารถวัดค่าได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ซึ่งจะสามารถเพิ่มค่าสัญญาณของตัวอย่างโดยการเพิ่มความยาวของเกลียวเซลล์ โดยทั่วไปแล้วค่าความยาวต่ำสุดของเกลียวจะดูจากอัตราการเกิดปฏิกิริยา และถ้าเพิ่มความยาวมากเกินไปก็ไม่ได้ส่งผล ใด ๆเลย อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการจำกัดการแพร่กระจายของตัวอย่างให้น้อยที่สุด จึงจะต้องออกแบบให้มีวาล์วให้อยู่ใกล้กันกับเซลล์ให้มากที่สุดจนกว่าจะมีการเติมรีเอเจนต์ลงในกระแสตัวพา ซึ่งในกรณีนี้จะมีการเกิดปฏิกิริยาที่สม่ำเสมอจนสามารถยอมรับผลของประสิทธิภาพของปฏิกิริยาและการแพร่กระจายได้ และเมื่อทำการเปรียบเทียบเซลล์ในวิธีการวิเคราะห์แบบสเปกโทรเมตรี อื่นๆ พบว่าเซลล์สำหรับเคมิลูมิเนสเซนซ์จะมีปริมาตรมากกว่ามาก เนื่องมาจากมีความจำเป็นที่จะต้องเก็บกักพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจากปฏิกิริยาไว้มากกว่านั่นเอง

ตัวตรวจวัด (detectors) ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์คือ photomultiplier tubes (PMT) ที่จะเป็นบริเวณตกกระทบของโฟตอนทำให้เกิดเป็น photocathode ซึ่งจะปลดปล่อยอิเล็คตรอนออกมาเป็น cascade-amplified และแม้ว่า PMTs จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่า liquid scintillation counters (LSCs) แต่มีข้อดีตรงที่ว่าสามารถนำไปใช้

ได้หลากหลายกว่า เพราะว่าลักษณะการตอบสนองต่อสเปกตรัมไม่ได้มีรูปแบบเดียว PMT จะมีการตอบสนองอย่างจำเพาะกับช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ หรือช่วงความยาวคลื่นที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา และในกรณีที่ความเข้มแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์อยู่ในระดับต่ำ ค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์จะขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ PMT ที่เหมาะสม เพราะว่าการเลือก PMT ที่เหมาะสมจะช่วยให้มีค่า signal-to-noise ratio สูง ซึ่งในกรณีนี้จะขึ้นอยู่กับความสามารถในการประยุกต์ใช้และสภาวะที่เหมาะสม และในกรณีที่มีการปลดปล่อยเคมิลูมิเนสเซนซ์ออกมาในปริมาณมากนั้นสามารถที่จะใช้ตัวตรวจวัดชนิดอื่นตรวจวัดได้ เช่น multimeter หรือ recorder

1.2.2 ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์[10]

ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ นอกจากจะมีความจำเพาะสูงแล้วยังพบว่ามีข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ต่ำมาก ซึ่งสามารถทำการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ได้โดยอาศัยเครื่องมือง่าย ๆ เท่านั้น ซึ่งความสามารถเกี่ยวกับทางด้านข้อจำกัดในการวิเคราะห์ต่ำนั้นเป็นผลมาจากการที่ไม่ต้องอาศัยแหล่งกำเนิดแสง จากเหตุผลข้อนี้จะช่วยลดหรือยับยั้งการกระจายของ Raman และ rayleigh และยังช่วยกรองสิ่งรบกวนจากแหล่งที่มาของแสงได้ ซึ่งจากผลเหล่านี้ทำให้สามารถใช้ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอด (photomultiplier voltage) ได้ในระดับสูง และยังมีผลทำให้เพิ่มอัตราส่วนความสัมพันธ์ระหว่าง signal-to-noise มากกว่ากระบวนการตรวจวัดแบบ ฟลูออโรเมตริกแบบทั่ว ๆ ไปอีกด้วย การวิเคราะห์ในลักษณะนี้จะวิเคราะห์ได้ในช่วง femtomole และในบางกรณีอาจจะวิเคราะห์ได้ถึงส่วนของ attomole region ดังนั้นจึงถือได้ว่าดีกว่าการวิเคราะห์โดยทั่วไปมาก ซึ่งตามความเป็นจริงแล้วจะสามารถวิเคราะห์ได้ที่ขนาดโมเลกุลประมาณ 120 โมเลกุล ซึ่งเล็กพอๆ กับเอนไซม์เลยทีเดียวและมีช่วงของความเป็นเส้นตรงที่กว้าง

1.2.3 FIA-chemiluminescence ในอนาคต[10]

การวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์มีความน่าสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถใช้เครื่องมือแบบง่าย ๆ ในการวิเคราะห์ และยังมีข้อจำกัดต่าง ๆ ในการวิเคราะห์น้อยมาก จากเหตุผลเหล่านี้จึงเริ่มมีความนิยมทำการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ทั้งแบบพื้นฐานและแบบขั้นสูงมากขึ้น จากการพัฒนาคิดค้นเทคนิคการวิเคราะห์นี้ร่วมกันของกลุ่มธุรกิจกลุ่มหนึ่ง ซึ่งหนึ่งในนั้นได้ค้นพบปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนซ์ชนิดใหม่ ๆ เสมอ โดยเฉพาะชนิด "direct" เทคนิคนี้จะช่วยเพิ่มขีดความสามารถด้านจำนวนของตัวอย่าง ทำให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้มากชนิดขึ้น และเพื่อที่จะบรรลุเป้าหมายนี้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องแสวงหาความรู้เกี่ยวกับกลไกของการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น เพื่อใช้ในการคาดเดาลักษณะพฤติกรรมของเคมิลูมิเนสเซนซ์

ในปัจจุบันนี้การวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์ก็สามารถพิสูจน์ให้เห็นแล้วว่ามีความจำเพาะสูงต่อตัวอย่างหลายชนิด และไม่จำเป็นต้องทำการแยกตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์อีกด้วย ซึ่งตรงจุดนี้พบว่าการวิเคราะห์มีขีดจำกัดของการตรวจวัดต่ำและจะมีความจำเพาะสูง และเมื่อคิดถึงประสิทธิภาพของการตรวจวัดที่ให้ขีดจำกัดต่ำนั้นสามารถนำมารวมกันกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว หรือการแยกแบบคาบิลลารีอิเลคโทรฟอรีซีส ก่อให้เกิดเป็นตัวตรวจวัดในอุดมคติได้

ปัจจุบันการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับเคมิลูมิเนสเซนซ์นั้นมักจะใช้อุปกรณ์ที่ทำขึ้นเองเป็นส่วนใหญ่ จึงยากที่จะทำการเปรียบเทียบค่า หรือวิธีการวิเคราะห์ เพราะว่ามีการใช้อุปกรณ์ที่หลากหลาย และยิ่งไปกว่านั้น ยังไม่มีเคมิลูมิเนสเซนซ์รีเอเจนต์ที่จะใช้เป็นตัวมาตรฐานสากล ดังนั้นควรจะมีการศึกษาและเผยแพร่เครื่องมือและวิธีการในการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพ และราคาไม่แพง เพื่อนำไปใช้ในการอ้างอิงให้เป็นสากล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาด้านการแพทย์ รวมไปถึงด้านสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ในวงการของเคมีวิเคราะห์และในการทดลองบางชนิดที่มีความซับซ้อนนั้น ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเทคนิคการวิเคราะห์แบบ FIA – direct CL emission เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ เพื่อศึกษาดูลักษณะพฤติกรรมของเคมิลูมิเนสเซนซ์ที่มีต่อสารตั้งต้นหลาย ๆ อย่าง ทั้งทางด้านประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ ข้อจำกัดในการวิเคราะห์ ความกว้างของช่วงความเป็นเส้นตรงซึ่งไม่คงที่ ความเร็วของการตอบสนอง และการหมุนวนกลับมาใช้ใหม่ของตัวอย่างบริเวณหน้าตัวตรวจวัด เมื่อไม่นานมานี้ ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุล (molecule conectivity) เพื่อช่วยให้สามารถทำนายและคาดเดาพฤติกรรมของเคมิลูมิเนสเซนซ์ได้ง่ายขึ้น

1.3 ซัลไฟด์[12-14]

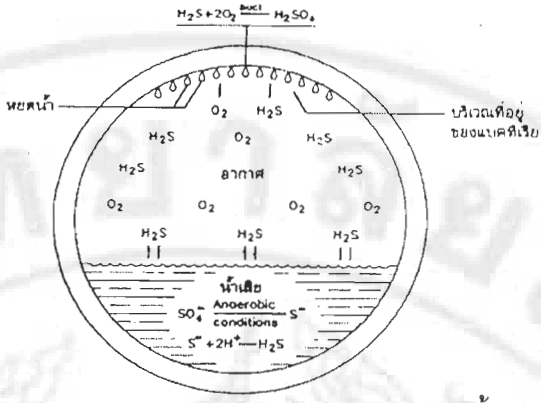
1.3.1 แหล่งที่พบซัลไฟด์

ซัลไฟด์มักพบได้ในน้ำใต้ดินโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำพุร้อน และยังพบในน้ำเสียซึ่งเกิดจากการย่อยสลายของอินทรียสารจากโรงงานอุตสาหกรรมบางอย่าง แต่ก็เป็นส่วนน้อย ซัลไฟด์ส่วนใหญ่ในน้ำเสียเกิดจากแบคทีเรียที่รีดิวส์ซัลเฟตในสภาวะที่น้ำมีพีเอชต่ำ ซัลไฟด์อาจหนีจากน้ำในรูปของไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งมีกลิ่นเหม็น ระดับความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เริ่มมีกลิ่นอยู่ในช่วง 0.025-0.25 ไมโครกรัมต่อลิตร ไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นก๊าซพิษที่สามารถฆ่าคนได้ คนงานที่ลงไปในท่อระบายน้ำเสียที่มีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์อยู่ในปริมาณสูงอาจเสียชีวิตทันที

นอกจากนี้ภายในท่อน้ำเสีย ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่อยู่เหนือระดับน้ำจะถูกออกซิไดซ์บนผิวท่อบริเวณที่อยู่เหนือน้ำเสีย รูป 1.11 ท่อส่วนนี้เรียกว่า crown ถ้าผิวท่อไม่มีความชื้น ผล

ปฏิกิริยาจะได้ซัลเฟอร์ แต่โดยปกติท่อจะมีความชื้นและมีแบคทีเรียชื่อ Thiobaccillus อาศัยอยู่ ซัลไฟด์จะถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนกลายเป็นกรดซัลฟิวริกซึ่งกัดกร่อนท่ออย่างรุนแรง

$$H_2S + 2O_2 \longrightarrow H_2SO_4$$



รูป 1.11 การเกิด crown corrosion ภายในท่อน้ำเสีย[13]

จากประกาศของกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม[15]เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคารบ้านเรือนและโรงงาน (ภาคผนวก ก) ได้ระบุไว้ว่าน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชนหรืออุตสาหกรรมควรมีปริมาณของซัลไฟด์ไม่เกินที่กฎหมายกำหนดคือ 1-4 มิลลิกรัมต่อลิตร

นอกจากนี้ในโรงงานอบพืชแบบใช้พลังงานความร้อนใต้ พิพบที่อาศัยน้ำร้อนจากแห่งน้ำพุร้อนธรรมชาติ ก็ต้องมีการตรวจสอบปริมาณซัลไฟด์ของน้ำร้อนที่จ่ายให้แก่ขดลวดความร้อนของเตาอบ

ดังนั้นการติดตามตรวจสอบปริมาณซัลไฟด์ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนหรือชุมชนรวมไปถึงน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ก็จำเป็นต้องติดตามตรวจสอบอย่างสม่ำเสมอ เพราะเป็นดัชนีวัดคุณภาพน้ำที่สำคัญอย่างหนึ่ง

1.3.2 ประเภทของซัลไฟด์[12]

ซัลไฟด์ในน้ำและน้ำเสียสามารถจำแนกได้เป็น 3 ประเภทคือ

1.) **ซัลไฟด์ทั้งหมด** (total sulfide) ได้แก่ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลาย (Dissolved H_2S) อิออนซัลไฟด์ (S^{2-}) และอิออนไบซัลไฟด์ (HS^{-}) รวมทั้งสารประกอบโลหะซัลไฟด์ที่ปนกับตะกอนโลหะแขวนลอย ปริมาณซัลไฟด์ขึ้นอยู่กับพีเอชของน้ำ กล่าวคือ ที่พีเอช 11และ12 จะมีซัลไฟด์ (S^{2-}) ละลายอยู่น้อยกว่า 0.05% และ 0.5% ตามลำดับ

2.) **ซัลไฟด์ละลาย** (dissolved sulfide) ซัลไฟด์ละลายคือ อิออนซัลไฟด์ (S^{2-}) และอิออนไบซัลไฟด์ (HS^-) ที่เหลืออยู่ภายหลังการกำจัดตะกอนแขวนลอยออกจากน้ำด้วยวิธีฟล้อคคูเลชันและตกตะกอน

3.) **ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์อิสระ** (un-ionized hydrogen sulfide) ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ได้แก่ สารละลายซัลไฟด์ ซึ่งไม่แตกตัวเป็นอิออน

$$H_2S_{(g)} \rightleftharpoons HS^-_{(aq)} + H^+_{(aq)}$$

ซึ่งสัดส่วนของ H_2S และ HS^- จะขึ้นอยู่กับพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำทั้งหมด(TDS)

1.3.3 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์[12]

1.) Methylene Blue Method

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์แบบ methylene blue เป็นวิธีการวิเคราะห์ทางด้านคัลเลอริเมตรีที่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ได้มาใหม่ๆ จากบ่อน้ำหรือน้ำพุร้อน วิธีการนี้สามารถใช้ได้กับการวิเคราะห์น้ำเสียหรือน้ำที่ถูกออกซิไดซ์ไปบางส่วน หรือน้ำพุร้อนที่มีซัลเฟอร์ โดยจะต้องมีการกำจัดสารรบกวนออกไปแล้ว วิธีการแบบ methylene blue จะอาศัยการเกิดปฏิกิริยาของ sulfide, ferric chloride, และ dimethyl-p-phenylene-diamine ได้สาร methylene blue เกิดขึ้น หลังจากนั้นเติม ammonium sulfate ลงไปเพื่อกำจัดสีของ ferric chloride ที่เหลือ กระบวนการวิเคราะห์นี้จะสามารถประยุกต์ใช้ที่ความเข้มข้นของซัลไฟด์ระหว่าง 0.1 - 20.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.) Iodometric Method

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์แบบวิธี iodometric มีหลักการคือ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ไอโอดีนจะออกซิไดซ์ซัลไฟด์ให้เป็นซัลเฟอร์ ซึ่งปริมาณของไอโอดีนจะสมมูลย์กับซัลไฟด์ แล้ววัดปริมาณไอโอดีนที่เหลือโดยการไตเตรตกับโซเดียมไธโอซัลเฟต วิธีนี้เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเหมาะสำหรับตัวอย่างน้ำที่เพิ่งเก็บมาจากบ่อบาดาล น้ำพุ หรือน้ำเสีย

3.) Gas Dialysis Method

เทคนิคการทำ dialysis ของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นวิธีการวิเคราะห์แบบต่อเนื่อง (continuous-flow) โดยจะประกอบด้วยซัลไฟด์ที่สามารถแลกเปลี่ยนระหว่างกันได้ สารตัวอย่างจะถูกส่งต่อเข้ากับส่วนผสมเพื่อคนตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ โดยซัลไฟด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านของ gas dialysis ซึ่งถูกควบคุมอุณหภูมิให้คงไว้ที่อุณหภูมิห้อง กระบวนการนี้จะแยกซัลไฟด์ออกจากสิ่งเจือปนต่างๆในสารตัวอย่าง และยังเป็นการกำจัดสิ่งรบกวนอื่นๆที่ประกอบอยู่ด้วยเช่น ความขุ่นและสี โดยวิธีนี้จะเติมสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิด เช่น ascorbic acid เพื่อจะเพิ่มร้อย

ละการกลับคืนของซัลไฟด์ วิธีการนี้เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นระหว่าง 0.002-0.100 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.) Ion-Selective Electrode method

การวัดศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าจำเพาะ (Ion-Selective Electrode,ISE) จะอาศัยความสัมพันธ์ของปริมาณของไอออนซัลไฟด์ในตัวอย่างโดยในการวิเคราะห์จะต้องมีการเติมสาร alkaline antioxidant reagent (AAR) ลงไปในสารตัวอย่างและสารมาตรฐานเพื่อช่วยการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟด์โดยก๊าซออกซิเจนของอากาศ และเพื่อปรับค่าความแรงของ อิออน และค่าพีเอชของสารละลายให้คงที่ การสร้างกราฟมาตรฐานในรูปของความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total dissolved sulfide) เพื่อเปรียบเทียบกับสารตัวอย่างและสารมาตรฐานทั้งหมดต้องทำที่อุณหภูมิเดียวกัน โดยช่วงของการวิเคราะห์ซัลไฟด์จะอยู่ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.032-100 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าช่วงความเข้มข้นข้างต้นจำเป็นต้องทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นก่อน จึงจะสามารถนำไปตรวจวัดโดยวิธีใช้ขั้วไฟฟ้าเลือกจำเพาะแบบนี้ได้

1.4 สรุปสาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

Safavi และคณะ[16] ได้พัฒนาวิธีเคมิลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชัน (CL-FI) วิธีการวิเคราะห์มีพื้นฐานจากการวัดการคายแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์ จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟด์กับ Dichlorofluorescein (DCF) ที่อยู่ในสภาพเบสในสารละลาย N-bromosuccinimide (NBS) หรือจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟด์กับ Fluorescein ที่มีสภาพเบสในสารละลายN-chlorosuccinimide (NCS) กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์จะเป็นเส้นตรงในช่วง 4×10^{-17}-1×10^{-5} M และ 2×10^{-7}-1×10^{-4} M สำหรับระบบเคมิลูมิเนสเซนซ์แบบ NBS-DCF-Sulfide และ NCS-fluorescein-sulfide ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดคือ 1×10^{-7} M และ 8×10^{-8} M สำหรับระบบเคมิลูมิเนสเซนซ์แบบ NBS-DCF-Sulfide และ NCS-fluorescein-sulfide ตามลำดับ ไอออนรบกวนที่สำคัญคือ NH_4^+, SO_3^{2-}, SCN^-, Cd^{2+}, Fe^{3+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Al^{3+}, Zn^{2+}, Co^{2+}และCr^{3+} สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 60 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

Safavi และคณะ[17] ได้พัฒนาวิธี CL-FI วิธีการวิเคราะห์มีพื้นฐานจากการวัดการคายแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์ จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟด์กับ Dichlorofluorescein (DCF) ที่อยู่ในสภาพเบสในสารละลาย Trichloroisocyanuric acid (TCCA) หรือจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟด์กับ Fluorescein ที่มีสภาพเบสในสารละลาย Sodiumdichloroisocyanurate (SDCC) กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์จะเป็นเส้นตรงในช่วง 1×10^{-8}-4×10^{-5} M และ 8×10^{-8}-6×10^{-5} M สำหรับระบบ เคมิลูมิเนสเซนซ์แบบ SDCC-Sulfide และ TCCA-sulfide ขีดต่ำสุดของการ

ตรวจวัดคือ 7×10^{-9} M และ 4×10^{-8}M สำหรับระบบเคมิลูมิเนสเซนซ์แบบ SDCC-Sulfide และ TCCA-sulfide ตามลำดับ ไอออนรบกวนที่สำคัญคือ NH_4^+, SO_3^{2-}, SCN^-, Cd^{2+}, Fe^{3+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Al^{3+}, Zn^{2+}, Co^{2+}และCr^{3+} สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 65 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

Satienperakul และคณะ[18] ได้พัฒนาวิธีเคมิลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชัน (CL-FI) ซึ่งวิธีการวิเคราะห์มีพื้นฐานจากการวัดการคายแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์ จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของอาร์เซนิกกับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่มีสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ความเข้มแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์จะถูกตรวจวัดโดย หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์จะเป็นเส้นตรงในช่วง 0.5-5.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดคือ 0.3 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่วนไอออนรบกวนที่สำคัญคือ S^{2-}, I^-, Fe^{2+},Mn^{2+} และ Co^{2+} สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 150 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

1.5 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.เพื่อศึกษาหลักการพื้นฐานและเทคนิคเคมิลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชัน และหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาซัลไฟด์ โดยใช้เทคนิคเคมิลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชันที่พัฒนาขึ้น

2. นำเทคนิคเคมิลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชันที่พัฒนาขึ้น ไปประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ในตัวอย่างน้ำจากธรรมชาติ เช่น ในน้ำเสียจากชุมชนหรือน้ำจากบ่อน้ำพุร้อนธรรมชาติในเขตจังหวัดเชียงใหม่ หรือน้ำทิ้งจากแหล่งเกษตรกรรม หรือโรงงานแปรรูปผลผลิตต่างๆ