

คำนำ

การปนเปื้อนของสารเคมีในอาหาร ที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมทางการเกษตรรวมไปถึงการใช้ยาปราบศัตรูพืชในภาคเกษตรกรรม ส่งผลให้มีการปนเปื้อนในสารพิษตกค้างในดินแหล่งน้ำ จากการทำการเกษตรรวมถึงแหล่งน้ำธรรมชาติ และก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางน้ำและเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย ในบางครั้งก็เกิดมาจากการปนเปื้อนจากการใช้สารเคมีที่ใช้เพื่อรักษาโรคของพืชผลทางการเกษตรหรือการปศุสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเกษตรกรใช้กับฟาร์มขนาดใหญ่ ที่ต้องมีการควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อโรคต่าง ๆ ซึ่งนับวันจะมีความรุนแรงมากขึ้น ส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของประชาชนที่ประกอบอาชีพเกษตรกรรม

นอกจากนี้ในกระบวนการเก็บถนอมรักษาอาหารที่เป็นผลผลิตทางการเกษตร ก็มักจะการใช้สารต้านจุลชีพ (Antimicrobial compounds) หรือยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์เฉียบพลันรุนแรง เพื่อทำลาย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพต่างๆ สาเหตุการปนเปื้อน จากการปนเปื้อนของสารต่างๆ เหล่านี้ เป็นเหตุให้ผลผลิตทางการเกษตรของเกษตรกรไทย ถูกกีดกันทางการค้า และต้องมีการตรวจสอบอย่างเข้มงวด เนื่องจากหากตรวจพบในผลิตภัณฑ์อาหารส่งออก จะเป็นเหตุปัจจัยหลักต่อการส่งคืนสินค้า และการกีดกันทางการค้าของประเทศผู้นำเข้าในเวลาต่อมา โดยเฉพาะกลุ่มสหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา และ ญี่ปุ่น ที่เข้มงวดต่อคุณภาพของอาหารที่นำเข้าเป็นอย่างมาก

โดยในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามคิดค้นวิธีการวิเคราะห์แบบอัตโนมัติที่สะดวก รวดเร็ว ที่จะช่วยลดขั้นตอนในการทดสอบ หรือทำให้ประหยัดเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมีและสารตัวอย่างของการวิเคราะห์ลง แต่ยังคงให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และสามารถกระทำได้ทันเวลาที่ต้องการ ซึ่งเป็นที่มาของวิธีแล็บออนอะชิป (Lab-on-a-chip) หรือ ไมโครโททัลอะนาไลซิส (μ TAS) (แม้น อมรสิทธิ์และคณะ: 2552) หรือระบบปฏิบัติการขนาดจิ๋ว ที่มีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ที่พัฒนามาจากวิธีโฟลติเมตริกอะนาไลซิส แต่มีการใช้สารเคมีและสารตัวอย่างน้อยมาก เนื่องจากมีขนาดของเครื่องมือขนาดกะทัดรัด และมีชิ้นส่วนที่ใช้ในเกิดปฏิกิริยาเคมีลดขนาดลงเหลือเพียงไม่กี่ตารางเซนติเมตร แต่ยังคงมีประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ทดสอบเพื่อติดตามการปนเปื้อนที่มีอยู่ในปริมาณน้อยๆ (Trace analysis) ได้ ซึ่งเมื่อนำมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมกับเครื่องตรวจวัดที่มีสภาพไวสูง และมี

ความจำเพาะเจาะจงสูง อย่างเช่นการตรวจวัดการเรืองแสงด้วยปฏิกิริยาเคมี หรือ การเหนี่ยวนำโดยอาศัยปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมีให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ ที่สามารถตรวจวัดด้วยวิธีทางโฟโตเคมีลูมิเนสเซนซ์ (photo-chemiluminescence) จะช่วยให้การวิเคราะห์ทดสอบทำได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว และมีสภาพไวของการวิเคราะห์สูง (วิรัช เรื่องศรีตระกูล: 2548) ซึ่งในการศึกษาหรือวัดค่าความเข้มของแสงที่ปลดปล่อยออกมาจากปฏิกิริยาทางเคมี หรือเหนี่ยวนำด้วยปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมีสามารถทำได้โดยอาศัยเครื่องมือหรือวิธีการต่างๆ ไม่ซับซ้อน โดยใช้หลอดวัดแสง (photomultiplier tube, PMT) เพียงอย่างเดียวเท่านั้น เพราะว่าแหล่งกำเนิดแสงจะอยู่ในสารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นที่จะต้องใช้เครื่องแยกแสงความยาวคลื่นเดียว เพื่อมาแยกความแตกต่างของช่วงความยาวคลื่นอีก โดยระบบการตรวจวัดจะอาศัยเครื่องมือต่างๆ เพื่อลดความยุ่งยาก และขั้นตอนของการวิเคราะห์ลงให้น้อยที่สุด

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นจึงทำให้การประยุกต์ใช้ระบบปฏิบัติการขนาดจิ๋ว ได้รับความนิยมอย่างสูงในวงการนักวิทยาศาสตร์ ที่มีแนวทางการวิจัยพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีขนาดกระทัดรัด และมีราคาไม่สูงมากนัก โดยมีรายงานวิจัยหลายฉบับ (Andersson & van den Berg : 2003, Marle & Greenway: 2005) ในช่วงระยะเวลา 4-5 ปีที่ผ่านมาที่ใช้ระบบปฏิบัติการขนาดจิ๋วในการวิเคราะห์ตรวจสอบสารปนเปื้อนและสารมลพิษต่างๆ ทั้งในทางสิ่งแวดล้อม อาหารและยา รวมถึงตัวอย่างทางชีวภาพและเกษตรกรรม ซึ่งพบว่าได้เป็นผลสำเร็จที่น่าพอใจ โดยมีการใช้เครื่องมือตรวจวัดหลากหลายชนิด ทั้งวิธีสเปกโทรสโคปี อิเล็กโทรเคมีที่ทำงานร่วมกับเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบต่างๆ จึงทำให้ระบบปฏิบัติการขนาดจิ๋ว มีศักยภาพสูง และสามารถพัฒนาต่อยอดให้เป็นเครื่องมือวิเคราะห์อย่างง่ายสำหรับงานภาคสนามที่มีขนาดกระทัดรัดและมีวิธีการใช้งานที่ไม่ซับซ้อน โดยคงมีประสิทธิภาพสูง สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำและต่อเนื่อง ซึ่งนอกจากจะใช้ปริมาณสารตัวอย่างและ รีเอเจนต์ในปริมาณน้อยแล้วยังเป็นระบบปิด จึงเป็นวิธีวิเคราะห์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งช่วยประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างเมื่อทำการทดสอบตัวอย่างในปริมาณมากฯ ได้ (Garcia-Campana & Baeyens: 2001)

โดยในงานวิจัยนี้จะทำการพัฒนาและสร้างระบบปฏิบัติการขนาดจิ๋วที่มีราคาถูก ร่วมกับการตรวจวัดแบบอิเล็กโทรเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีรายงานหลายฉบับว่าสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์สารปนเปื้อนออกจากตัวอย่างอาหาร หรือสารเคมีบางชนิดที่ถูกเติมลงไปเพื่อ

รักษาผลิตผลทางการเกษตรกลุ่มสารที่ใช้ในการถนอมอาหารเช่นซัลไฟด์ ในเครท ให้สามารถตรวจวัดได้แม้มีการปนเปื้อนอยู่ในระดับต่ำๆ เพื่อจะช่วยเกษตรกรผู้ผลิต หรือหน่วยงานรับวิเคราะห์ทดสอบ ใช้ในการตรวจยืนยันถึงการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อนำไปใช้เป็นเครื่องมือติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของตัวบางชนิดเหล่านี้ในอาหารหรือผลิตผลแปรรูปทางการเกษตรที่มีจำหน่ายในท้องตลาด อย่างมีประสิทธิภาพสูงและมีราคาประหยัด และสามารถวิเคราะห์ได้แม้ว่ามีการปนเปื้อนอยู่ในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ที่กำหนดโดยกลุ่มประเทศผู้นำเข้าสินค้าทางการเกษตรของไทย

ไมโครฟลูอิดิก (Microfluidics, μ FIA)

ไมโครฟลูอิดิก (Li : 2006) คือวิทยาการใหม่ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีของการศึกษาและประยุกต์ใช้งานระบบการจัดการของไหล (fluid) เช่น ของเหลว หรือก๊าซที่มีปริมาณน้อยมาก (ระดับไมโครลิตร) ที่ไหลผ่านร่องหรือท่อที่มีความกว้าง 0.1-100 ไมโครเมตร ท่อที่เล็กมากซึ่งเป็น โครงข่ายลำเลียงการไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก จะถูกสร้างขึ้นด้วย micro-fabrication techniques ในช่วงเริ่มต้นของการพัฒนาอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกถูกสร้างขึ้นจากวัสดุฐานรอง เช่น ซิลิกอนและแก้วด้วยวิธีการสร้างลายวงจรด้วยแสง (photolithography) และแกะสลัก (etching) ซึ่งคัดแปลงมาจากอุตสาหกรรมการออกแบบและพัฒนาวงจรไฟฟ้าขนาดเล็ก (microelectronic industry) แต่กระบวนการผลิตมีราคาสูงและไม่ยืดหยุ่นจึงเป็นแรงผลักดันให้ปัจจุบันนักวิจัยส่วนใหญ่หันมาสนใจสร้างและพัฒนาอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกในพอลิเมอร์แทน เนื่องจากใช้เวลาในการผลิตน้อย มีคุณสมบัติ biocompatibility อีกทั้งยังมีราคาถูกจึงสามารถใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้งได้ด้วยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี soft lithography ที่อยู่บนรากฐานของการพิมพ์แบบ (printing) และหล่อแบบ (molding) จากแม่แบบต่างๆ โดยที่แม่แบบสามารถสร้างได้จากเทคนิคต่างๆ นอกเหนือจากเทคนิค photolithography เช่น electron beam lithography, X-ray lithography หรือ ion beam lithography เป็นต้น

ไมโครฟลูอิดิกมีประโยชน์ต่อหลากหลายวงการที่กว้างมากเช่น เคมี ชีววิทยา แพทย์ศาสตร์ เภสัชศาสตร์ สารธารณสุขศาสตร์ เกษตรศาสตร์และด้านความมั่นคงแห่งชาติเนื่องจากสอดคล้องกับพัฒนาการของโลกที่มุ่งสู่อุปกรณ์ต่างๆ ที่มีขนาดเล็กลงๆ (miniaturization) อีกทั้งเป็นอุปกรณ์

วิเคราะห์แบบพกพาที่มีราคาไม่แพง สามารถใช้แล้วทิ้งได้ไม่ต้องสิ้นเปลืองเรื่องการทำความสะดวกเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ ใช้ปริมาณสารที่เกี่ยวข้องในระดับต่ำมากจึงไม่สิ้นเปลืองในกรณีที่ต้องใช้สารเคมีราคาแพงและเมื่อใช้สารเคมีน้อยจึงควบคุมปริมาณได้อย่างแม่นยำอีกทั้งยังใช้เวลาสั้นด้วยเนื่องจากกระบวนการจะเกิดขึ้นเร็วกว่า และเนื่องด้วยเพราะขนาดที่เล็กมากจึงไม่สิ้นเปลืองพลังงานและมีโอกาสที่จะนำไปทำเป็นระบบอัตโนมัติได้สูงสามารถตรวจขั้นตอนที่ต้องเกี่ยวข้องกับมนุษย์ มีศักยภาพที่จะเป็น real-time analysis ที่สามารถควบคุมได้จากระยะไกล (remote sensing)

เคมีลูมิเนสเซนซ์ (Chemiluminescence, CL)

ทฤษฎีพื้นฐานของเคมีลูมิเนสเซนซ์ (Garcia-Campana & Baeyens: 2001)

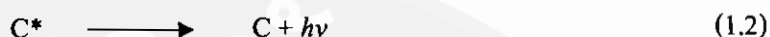
เคมีลูมิเนสเซนซ์ เป็นปรากฏการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการเปล่งคลื่นแสงที่มีความถี่อยู่ในช่วงคลื่นแสงวิสิเบิล และอินฟราเรด ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาเคมี พบว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงพลังงานภายในของสารผลิตภัณฑ์ไปอยู่ในสภาวะเร้า ซึ่งเมื่อกลับคืนมาสู่สภาวะพื้น ก็จะมีการเปล่งแสงออกมาเรียกคลื่นแสงนี้ว่า เคมีลูมิเนสเซนซ์ กระบวนการเกิดปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้จะคล้ายคลึงกับกระบวนการเกิดฟลูออรีเมตรี หรือฟอสฟอริเมตรี แต่จะแตกต่างที่หลักการพื้นฐานในกรณีของเคมีลูมิเนสเซนซ์ จะมีกระบวนการที่ไปกระตุ้นสารผลิตภัณฑ์ให้ไปอยู่ที่สภาวะเร้า โดยไม่มีการใช้แหล่งกำเนิดของคลื่นแสง แต่จะใช้ปฏิกิริยาเคมีแทน ส่วนกระบวนการเกิดฟลูออรีเมตรี หรือฟอสฟอริเมตริ้นั้นกระบวนการกระตุ้นสารผลิตภัณฑ์ให้ไปอยู่ที่สภาวะเร้า จะเป็นการรับพลังงานจากการแหล่งกำเนิดคลื่นแสงโดยตรง เช่น การใช้หลอดพลังงานแบบสารปรอทหรือ Mercury-arc Lamp เป็นต้น

กระบวนการพื้นฐานของการเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์ สามารถอธิบายได้ดังแสดงในสมการ 1.1 สารตั้งต้น A และ B จะเกิดปฏิกิริยาซึ่งกันและกันให้สารผลิตภัณฑ์ C* ที่สภาวะเร้า (*, อธิบายถึงสภาวะเร้าของสารผลิตภัณฑ์) และสารผลิตภัณฑ์ D ที่สภาวะพื้น



สารผลิตภัณฑ์ C* ที่สภาวะเร้าจะเปล่งพลังงานออกมาในรูปของพลังงานแสง ซึ่งสามารถที่จะวัดความเข้มของคลื่นแสงที่เปล่งออกมานี้โดยใช้ตัวตรวจวัดที่เหมาะสม เช่น

หลอดขยายสัญญาณแสง (photomultiplier tube) เป็นต้น เรียกคลื่นแสงที่เปล่งออกมานี้เป็นเคมีลูมินิเนสเซนซ์ ซึ่งรายละเอียด ดังแสดงในสมการ 1.2



ในบางกรณีสารผลิตภัณฑ์ C^* ที่สภาวะเร้าไม่สามารถที่จะทำหน้าที่เป็นตัวเปล่งคลื่นแสง (emitter) ได้โดยตรง แต่จะมีการถ่ายเทพลังงานในสภาวะเร้าจาสารผลิตภัณฑ์ไปยังสารตัวกลางที่เรียกว่า ฟลูออโรฟอร์ซึ่งจะเป็นสารตัวกลางที่จะทำให้เกิดกระบวนการเปล่งคลื่นแสงต่อไป ดังแสดงในสมการ 1.3

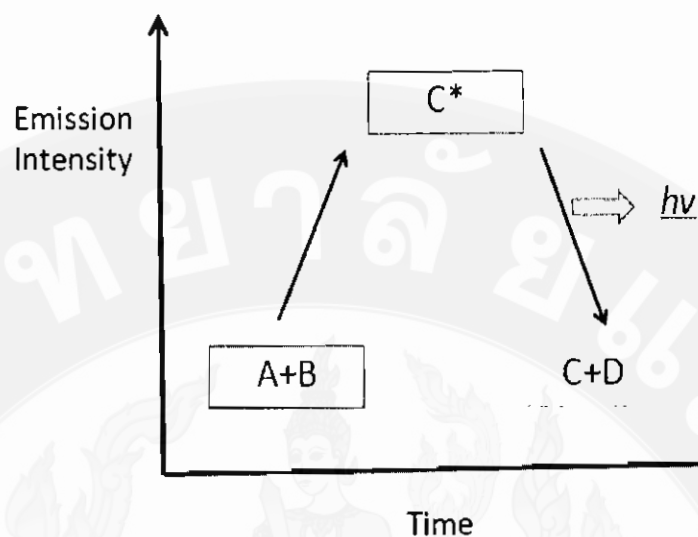


สารตัวกลางฟลูออโรฟอร์ (F^*) ที่อยู่ที่สภาวะเร้า เมื่อกลับลงมาสู่ที่สภาวะพื้นจะมีการคายพลังงานออกมาในรูปของพลังงานแสง เช่นเดียวกับในสมการ 1.3 เรียกว่า เคมีลูมินิเนสเซนซ์เช่นกัน ดังแสดงในสมการ 1.4



การเกิดเคมีลูมินิเนสเซนซ์ นี้เกิดได้ด้วยปฏิกิริยาที่จำเพาะเจาะจง เนื่องด้วยพบว่าพลังงานที่เกิดจากกระบวนการสั่น (vibrational excitation) ของโมเลกุลนั้น เมื่อกลับลงมาสู่สภาวะพื้นมักจะมีการคายความร้อนออกมามากกว่าที่จะมีการเปล่งพลังงานคลื่นแสงออกมา สำหรับการเกิดเคมีลูมินิเนสเซนซ์นั้น พบว่าส่วนใหญ่จะมีปัจจัยที่จำเป็นสามประการดังต่อไปนี้ได้แก่

1. ปฏิกิริยามีความเหมาะสมที่จะรับพลังงานจากปฏิกิริยาเคมีเพื่อให้เกิดกระบวนการกระตุ้น (electronically excited) ภายในสารตัวอย่างดังกล่าว
2. กระบวนการกระตุ้นดังกล่าวสามารถให้สารผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในสภาวะเร้าได้
3. มีการถ่ายเทพลังงานจากสภาวะเร้าไปยังโมเลกุลอื่นๆที่เรียกว่า โมเลกุลลูมินิเนสเซนซ์ (luminescent molecule) ซึ่งพร้อมที่จะคายพลังงานออกมาในรูปของพลังงานแสง เมื่อกลับลงมาสู่สภาวะพื้น ดังกระบวนการต่างๆสามารถที่จะแสดงได้ดังแสดงในรูป 1



รูป 1 หลักการพื้นฐานของการเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์

อัตราเร็วของปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์นั้น มีความสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารตัวอย่างด้วยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส ที่ใช้ตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ การเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดขึ้นเมื่อมีการผสมกันระหว่างสารตัวอย่างกับสารตั้งต้นที่จำเป็นหรืออาจเป็นรีเอเจนต์ ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาอาจแบ่งเป็นแบบง่ายๆ ได้สามแบบคือ หนึ่งการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็ว (short duration) สองการเกิดปฏิกิริยาแบบปานกลาง (medium duration) และสามการเกิดปฏิกิริยาแบบที่ใช้เวลานาน (long duration) ซึ่งลักษณะของการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวจะมีความสัมพันธ์กับลักษณะของสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดขึ้น

ความเข้มของแสงที่เปล่งออกมาจากการเกิดกระบวนการเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์นี้ ขึ้นอยู่กับอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยา ประสิทธิภาพของการเกิดสภาวะเร้าและรวมถึงประสิทธิภาพของการเปล่งคลื่นแสงเมื่อกลับลงมาสู่สภาวะพื้นของสาร

ระบบพื้นฐานของเคมีลูมินเนสเซนซ์

1. สารพวกที่ไม่ใช่สารชีวโมเลกุล

มีปฏิกิริยาเคมีลูมินเนสเซนซ์จำนวนมากเป็นที่ทราบถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยาเป็น อย่างดี และในที่นี้จะได้อธิบายกลไกที่สำคัญๆ ที่มีการประยุกต์ใช้งานกันอย่างกว้างขวางต่อไป ใน ระบบที่เป็นสถานะก๊าซ มีปฏิกิริยาของโอโซนเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญ ดังแสดงในสมการ 1.5, 1.6 และ 1.7



ทั้งสามตัวข้างต้น จะมีการวัดการเปล่งคลื่นแสงเคมีลูมินเนสเซนซ์ในช่วงความยาว คลื่นที่ระบุเอาไว้และพบว่าความเข้มข้นของคลื่นแสงเคมีลูมินเนสเซนซ์ ที่ทำการวัดจะมี ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารที่ทำปฏิกิริยาในช่วงความเข้มข้นที่กว้างซึ่งมี ประโยชน์อย่างยิ่งในด้านการวิเคราะห์ปริมาณสารในสถานะก๊าซ

ในระบบที่เป็นสถานะของของเหลว มีสารรีเอเจนต์หลายตัวที่มีประโยชน์ต่อ การศึกษาปรากฏการณ์เคมีลูมินเนสเซนซ์เป็นอย่างมาก เช่น ลูมินอล อะคริดิเนียมเอสเทอร์ เอิร์ลออก ซาเลท ไดออกซีเทน และทริส(2,2'-ไบไพริดีล)รูเนียม(II) เป็นต้น

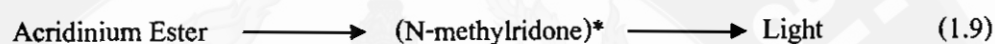
ในระบบของลูมินอล จะมีการเปล่งคลื่นแสงสีน้ำเงินที่มีความเข้มสูงสุดที่ความยาว คลื่น 425 นาโนเมตร สารออกซิเจนต์ เช่น โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตไฮโปคลอไรท์ ไอโอดีน หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถที่จะออกซิไดซ์ในระบบเคมีลูมินเนสเซนซ์ได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะพวกเปอร์ออกไซด์ ซึ่งสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยใช้แตรนซิชันไอออน เช่น โคบอลต์ (Co^{2+}) ทองแดง (Cu^{2+}) และเหล็ก (Fe^{3+}) เป็นต้น ซึ่งกลไกการเกิดเคมีลูมินเนสเซนซ์ ได้ดังแสดงใน สมการที่ 1.8

OH^- , Oxidant, Catalyst

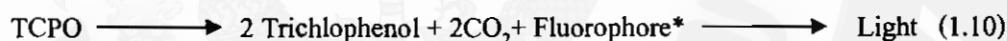


อะครีไดเนียมเอสเทอร์ ปฏิริยาการเกิดเคมีลูมินเนสเซนซ์คล้ายคลึงกับกรณีของลูมินอลแต่จะเกิดออกซิเดชัน ในสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยมีสารละลายประเภทต่างๆเป็นตัวทำละลาย กรณีนี้ไม่จำเป็นต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาที่สามารถวัดการเปล่งคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร ได้ดังแสดงในสมการที่ 1.9

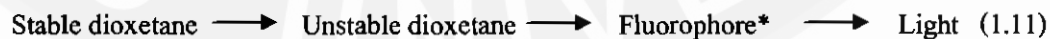
OH^- , H_2O_2



เปอร์ออกไซด์ออกซาลาเลท ในระบบของเคมีลูมินเนสเซนซ์จะเป็นปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กับสารประกอบพวกเอริลออกซาลาเลทเอสเทอร์ สารประกอบตัวกลาง (Intermediate) จะเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเอริลออกซาลาเลทและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าจะมีการถ่ายเทพลังจากสภาวะเร้าไปยังฟลูออโรฟอร์ที่เหมาะสมที่มีอยู่ในระบบของปฏิกิริยาดังกล่าว TCPO หรือ บีส-(2,4,6-ไตรคลอโรฟีนิล)ออกซาลาเลท ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทออกซาลาเลทตัวหนึ่งที่นิยมใช้ในปฏิกิริยาเคมีลูมินเนสเซนซ์ ดังแสดงในสมการที่ 1.10

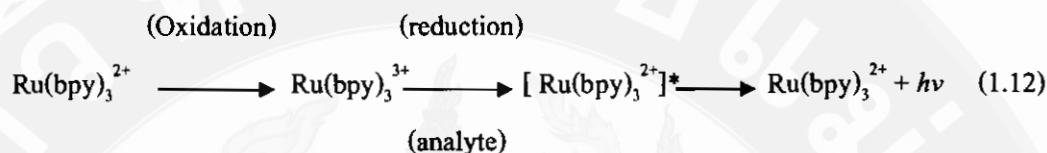


ไดออกซีเทน เป็นสารประกอบพวกไซคลิกเปอร์ออกไซด์ เป็นสารประกอบที่ไม่ค่อยจะคงตัวแต่ก็ใช้ในระบบของเคมีลูมินเนสเซนซ์ในหลายๆ ปฏิกิริยามีการเติมกลุ่มแทนที่ (Substituted) ในสารประกอบไดออกซีเทน ซึ่งทำให้สารประกอบดังกล่าวมีความคงตัวเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิห้องแต่ก็ยังคงคุณสมบัติที่สำคัญในการเกิดปฏิกิริยาเคมีลูมินเนสเซนซ์ ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเฉพาะ (Chemically Triggered) ต่อการเกิดเคมีลูมินเนสเซนซ์ ดังแสดงในสมการที่ 1.11



ในระบบของรีเอเจนต์ทริส (2,2'-ไบไพริดีล)รูทีเนียม(II) จะมีการเปล่งคลื่นแสงสีส้มที่มีความเข้มสูงสุดที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร ซึ่งเป็นผลมาจากสภาวะเร้าของสารประกอบ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ สารประกอบในสภาวะเร้านี้เกิดขึ้นมาจากหลายกระบวนการ เช่น การเกิดปฏิกิริยาจากสารตั้งต้นของ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ หรือระหว่างตัวรีดักแทนท์กับ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ กลไกการเกิดปฏิกิริยาจะเกิดผ่านการถ่ายเทอิเล็กตรอน โดยไม่มีกระบวนการสลายพันธะ (Bond Cleavage)

หรือการจัดโครงสร้างโมเลกุลใหม่ กระบวนการทั้งหมดนี้จะนำไปสู่การให้สารผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาเป็น $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ที่สามารถกระตุ้นให้ไปสู่สถานะเร้าในรูปของสารประกอบ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ในที่สุดซึ่งพร้อมจะเปล่งแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ออกมาเมื่อสารดังกล่าวกลับลงมาสู่ที่สถานะพื้นในรูปของสารประกอบ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ อีกครั้งหนึ่ง



พิจารณากลไกของการเกิดการเปล่งคลื่นแสงของ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ได้แสดงในผังสมการที่ 1.12 กรณีนี้ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ที่จะเกิดผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันให้สารผลิตภัณฑ์นี้จะเกิดปฏิกิริยารีดักชันด้วยสารที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณให้สารผลิตภัณฑ์เป็น $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ซึ่งอยู่ในสถานะเร้าและเมื่อกลับลงมาสู่สถานะพื้นก็จะมีเปล่งคลื่นแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ออกมาในรูปของพลังงานแสง ซึ่งจากหลักการดังกล่าวพบว่าค่าความเข้มของคลื่นแสง ที่สามารถตรวจวัดได้จะมีความสัมพันธ์ในลักษณะเป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ หลักการพื้นฐานของเคมีลูมิเนสเซนซ์นี้สามารถประยุกต์ใช้ในการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารตัวอย่างอื่นๆ ได้ แต่ต้องอยู่ภายใต้การศึกษาถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของรีเอเจนต์ตัวอื่นๆ ที่อยู่ในระบบการศึกษาดังกล่าว

2. สารพวกชีวลูมิเนสเซนซ์

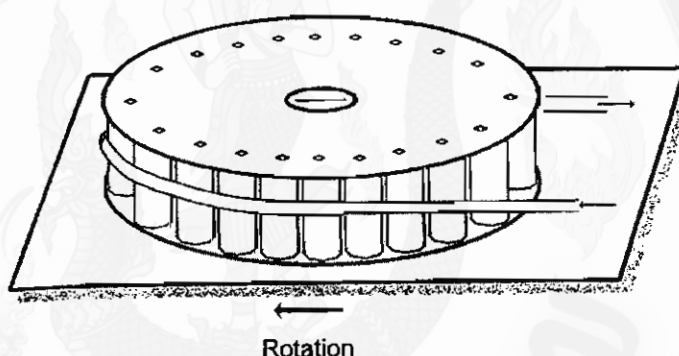
สารจำพวกชีวลูมิเนสเซนซ์ (Bioluminescence) เป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติมาจากสิ่งที่มีชีวิตในหลายๆ จำพวก เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา สัตว์ หรือพืช และโดยเฉพาะอย่างยิ่งพบในสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในทะเล เป็นต้น มีสารธรรมชาติที่ทำหน้าที่เป็นชีวลูมิเนสเซนซ์ที่สำคัญสองชนิดที่รู้จักกันโดยแพร่หลาย คือ สารจากแมลงบางชนิด *Photinus pyralis* และสารจากแบคทีเรียชนิด *Photobacterium fischeri* ปฏิกิริยาทางชีวลูมิเนสเซนซ์จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเร่งปฏิกิริยาของลูซิเฟอเรส โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลูซิเฟอริน ลูซิเฟอรินและลูซิเฟอเรสเป็นชื่อลูซิเฟอเรสเป็นเอนไซม์สำหรับสารตั้งต้นลูซิเฟอรินในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีการเปล่งคลื่นแสงออกมา

ระบบโฟลอินเจกชันพื้นฐานสำหรับการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์

ระบบโฟลอินเจกชันพื้นฐานสำหรับการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ ซึ่งมี ส่วนประกอบหลักของระบบดังนี้ (Ruzicka & Hansen : 1988)

1. ระบบขับเคลื่อนสารละลาย

เป็นระบบขับเคลื่อนสารละลายตั้งแต่หนึ่งสารละลายขึ้นไป อัตราการไหลควรมีค่าคงที่ มีค่า reproducible residence time อย่างสมบูรณ์ และรักษาค่าคงที่การกระจายตลอดทั้งระบบ การประยุกต์ใช้ในลักษณะต่างๆเช่น ใช้แรงโน้มถ่วง แรงดันก๊าซ ใช้ปั๊มรีดผ่านสายยางแรงดันต่ำ (peristaltic pump) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวางเนื่องจากมีราคาไม่สูง สามารถดัดแปลงการใช้งานให้เหมาะสมกับระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสที่พัฒนาขึ้นได้ง่าย เช่นเพอริสตาลติกปั๊ม ดังแสดงในรูป 2



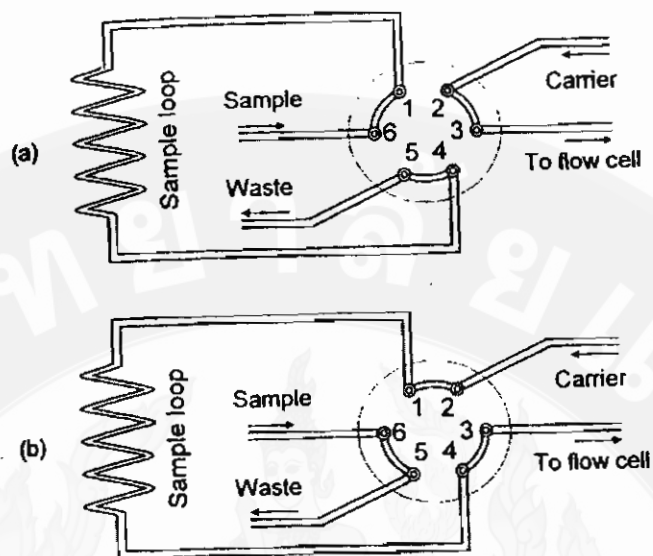
รูป 2 เพอริสตาลติกปั๊มแสดงลูกกลิ้งซึ่งทำหน้าที่บีบท่อ โดยลูกศรแสดงทิศทางการไหล

2. ระบบขนส่ง

นำไปสู่การกระจายของตัวอย่างไปยังกระแสตัวพาและบางครั้งอาจมีกระบวนการวิเคราะห์อื่นร่วมด้วย เช่น การสกัด ออสโมซิส การแลกเปลี่ยนไอออน และปฏิกิริยาอื่นที่ไม่ใช่เคมีลูมิเนสเซนซ์ก่อนที่ปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์จะเกิดขึ้นเป็นอันดับสุดท้าย

3. ระบบฉีดสารละลาย

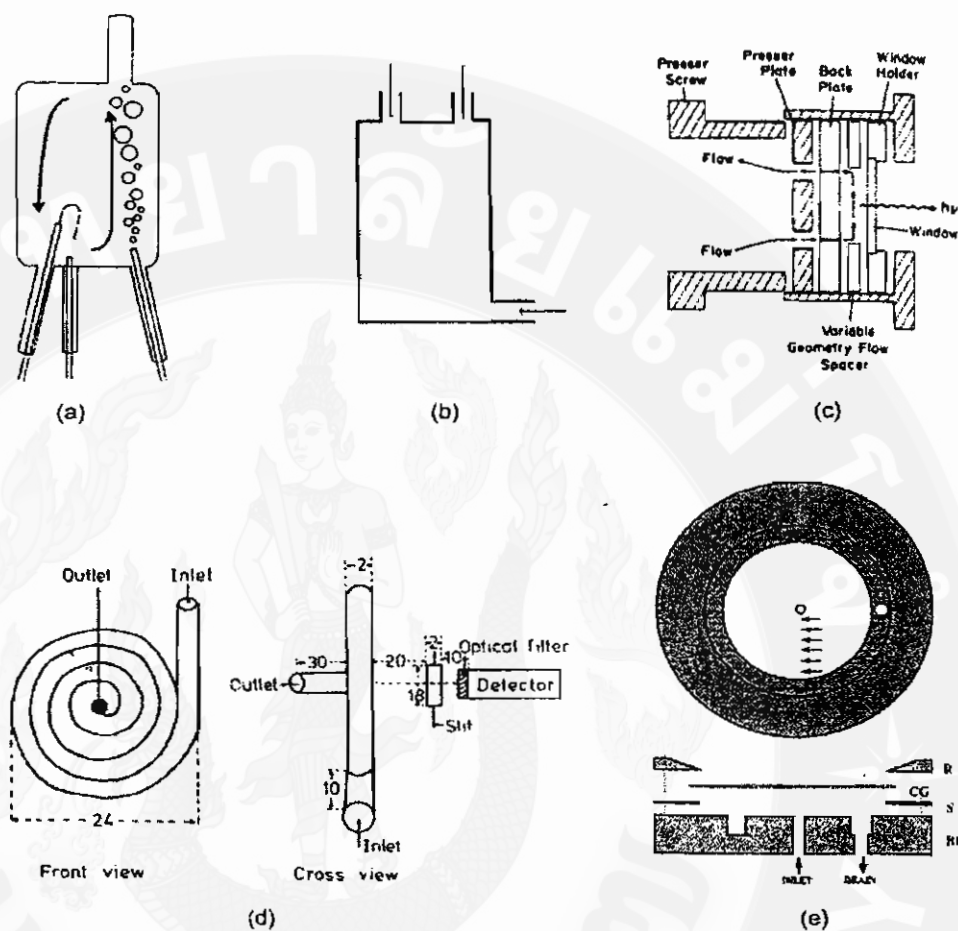
ในระบบได้มีการใส่สารที่ต้องการวิเคราะห์ที่มีปริมาณน้อยๆ เข้าไปยังกระแสการไหล ซึ่งโดยทั่วไปมีปริมาตรอยู่ในช่วง 25-250 ไมโครลิตร การฉีดสารละลายเข้าไปยังกระแสการไหลของตัวพาหรือรีเอเจนต์ไม่ควรไปรบกวนการไหลของสารละลายและควรมีความเร็วพอ ตัวอย่างของหน่วยฉีด เช่น โรตารีวาล์วแบบ 6 ทาง ดังแสดงในรูป 3 ซึ่งอาศัยหลักการดักจับปริมาตรที่แน่นอนของตัวอย่างที่อยู่ในรูป



รูป 3 แผนภาพของโรตารีอินเจกชันวาล์วแบบ 6 ทาง เมื่อ (a) สถานะเดิม และ (b) สถานะว่าง (1) ทางเข้าตัวอย่าง (2) ทางเข้าตัวพา (3) ทางออกไปยังโฟลเซลล์ (4) ทางออกตัวอย่าง (5) ทางออกของเสีย และ (6) ทางเข้าตัวอย่าง

4. โฟลเซลล์

การออกแบบโฟลเซลล์ในช่วงแรกอาศัยหลักการผสมของรีเอเจนต์โดยการเป่าอากาศเข้าไปยังสารละลาย แต่ฟองอากาศนี้กลับไปรบกวนแสงเคมีลูมิเนสเซนส์อย่างรุนแรง (รูป 4a) การปรับปรุงรูปแบบนี้ทำโดยการผสมรีเอเจนต์จากด้านตรงข้ามของเซลล์ (รูป 4b) และนำมาใช้เป็นครั้งแรกในเอฟไอเอร่วมกับการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนส์ โฟลเซลล์แบบอื่นที่รวมเข้ากับ back plate ซึ่งสามารถเคลื่อนย้ายได้เพื่อปรับปริมาตรของเซลล์ (รูป 4c) นอกจากนั้นโฟลเซลล์ที่มีการใช้กันอย่างกว้างขวางมากที่สุดคือ flat spiral ที่ทำมาจากท่อแก้ว (รูป 4d) ส่วนการพัฒนาโฟลเซลล์เมื่อไม่นานมานี้คือ fountain cell (รูป 4e) ข้อดีของเซลล์นี้สำหรับเคมีลูมิเนสเซนส์คือมันมีพื้นผิวที่กว้างซึ่งเป็นที่ที่เกิดปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนส์และแสงก็จะเปล่งออกมามาก แต่มันต้องวางในแนวนอนตามพื้นราบ มิฉะนั้นแรงโน้มถ่วงของโลกจะรบกวนการผสมและการกระจายของสารละลายที่กำลังไหลอยู่



รูป 4 โฟลเซลล์ชนิดต่างๆ เมื่อ (a) โฟลเซลล์ที่ใช้ฟองอากาศแทนการคน (b) โฟลเซลล์ที่ใช้การถ่วงเพื่อให้ไหลเข้า (c) โฟลเซลล์ที่สามารถเปลี่ยนแปลงปริมาตรได้ (d) โฟลเซลล์แบบขด และ (e) fountain cell โดยลูกศรแสดงทิศทางของการไหล

5. ระบบตรวจวัด

เป็นส่วนที่วัดสัญญาณจากสารตัวอย่างที่เราสนใจ มีตัวตรวจวัดหลายแบบที่ใช้ในระบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส การเลือกใช้จะขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของระบบที่วิเคราะห์ ตัวตรวจวัดที่นิยมใช้มากที่สุดคือ ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์โดยสารตัวอย่างจะเข้าสู่ตัวตรวจวัดไปยังโฟลเซลล์และวัดการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีตัวตรวจวัดชนิดอื่นๆที่สามารถนำมาใช้กับระบบโฟลอินเจกชันได้แก่ อะตอมมิกแอบซอร์ปชัน แอมแปร์โรเมตริก และเคมีลูมิเนสเซนซ์

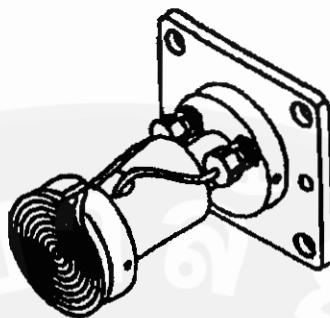
เคมีลูมิเนสเซนส์ดีเทคเตอร์ส่วนมากจะใช้หลอด PMT ชนิด end-on และ side-on โดยหลอด PMT ชนิด end-on จะใช้กับ circular photocathode ซึ่งให้ผลที่ดีกว่ากับแสงที่เปล่งจากโฟลเซลล์แบบวง แต่กระนั้นโดยทั่วไปก็มีการใช้หลอด PMT ชนิด side-on เพราะมีราคาถูก สัญญาณที่ได้รับจากหลอด PMT เป็นสัญญาณไฟฟ้า ดังนั้นจึงต้องมีการใช้เครื่องแปลงสัญญาณไฟฟ้าไปเป็นศักย์ไฟฟ้าจึงจะสามารถทำการตรวจวัดสัญญาณได้

นอกจากนั้น การตรวจวัดเชิงแสงยังสามารถวัดได้โดยใช้ semiconductor photodiodes หรือ photodiode array detectors ด้วย ถึงแม้ว่าอุปกรณ์เหล่านี้จะมีความว่องไวที่ต่ำกว่าหลอด PMT แต่มันก็มีข้อดีคือมีขนาดเล็กกว่ามากและก็ใช้เครื่องให้กำลังไฟฟ้าพลังงานต่ำกว่า ซึ่งลักษณะเช่นนี้ทำให้พวกมันมีความน่าสนใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการทำเคมีลูมิโนมิเตอร์ชนิดหัวได้ ซึ่งมีการคาดว่าจะสามารถปรับปรุงความว่องไวของดีเทคเตอร์เหล่านี้ให้ดีขึ้นได้ภายในเวลาไม่กี่ปี

ในการตรวจวัดแสง (L) ซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มของแสงที่เปล่งออกมา (I) โดยแสดงดังสมการ

$$L = IA/d^2$$

ดังนั้น ความว่องไวของการตรวจวัดจะให้ค่าที่ดีที่สุดเมื่อลดระยะทางระหว่างโฟลเซลล์จากดีเทคเตอร์ ซึ่งในทางปฏิบัติควรวางโฟลเซลล์ไว้ในตำแหน่งที่ใกล้ที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้กับบริเวณที่ไวต่อแสงของดีเทคเตอร์ เช่นในงานวิจัยของ Nosaki & Kawamoto (2000) ที่ได้ออกแบบโฟลเซลล์รีแอคเตอร์และโฟลเซลล์โฮลเดอร์สำหรับรับคลื่นแสง เคมีลูมิเนสเซนส์ โดยโฟลเซลล์รีแอคเตอร์ทำโดยการบรรจุตัวชี้คเกาะ HRP-immobilized เข้าไปในโฟลเซลล์ (ท่อเทฟลอนขนาด 6 ซม. x 0.96 มม.) โดยใช้เครื่องดูดและดูดปลายทั้งสองด้านของคอลัมน์ด้วย quartz wool จากนั้นนำโฟลเซลล์รีแอคเตอร์ไปวางไว้บนเซลล์โฮลเดอร์ของเคมีลูมิโนมิเตอร์ซึ่งอยู่ด้านหน้าของโฟโตมัลติพลายเออร์ ดังแสดงในรูป 5



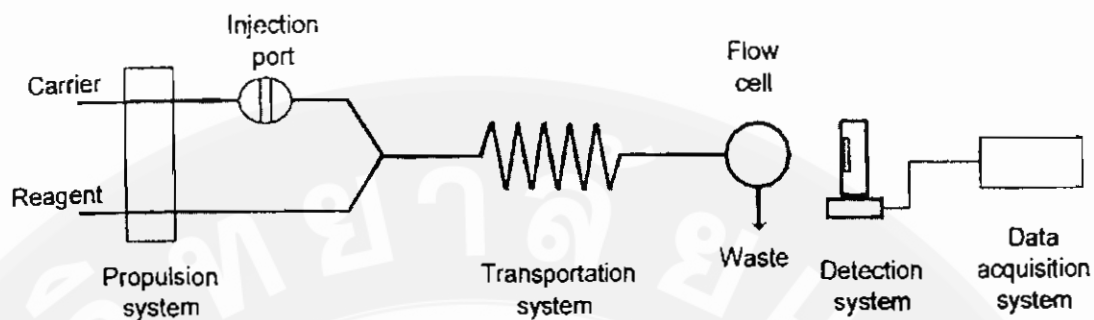
รูป 5 โฟลเซตลึร์แอคเตอร์และโฟลเซตลึร์ไฮลเดอร์สำหรับเคมีลูมินีสเซนส์มอนิเตอร์

การตรวจวัดแบบเคมีลูมินีสเซนส์อาศัยหลักการเปล่งแสงของสปีชีส์ที่สามารถถูกกระตุ้นได้ด้วยปฏิกิริยาเคมี เช่น สปีชีส์ที่ถูกกระตุ้นเมื่อลูมินอล (3-aminophthalhydrazine) เข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เมื่อถูกเร่งด้วยปฏิกิริยาดังกล่าวประกอบเช่น ไอออนโลหะหรือเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส การตรวจวัดแบบเคมีลูมินีสเซนส์คล้ายกับการตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนส์ เพียงแต่ไม่ต้องการกระตุ้นด้วยแสง

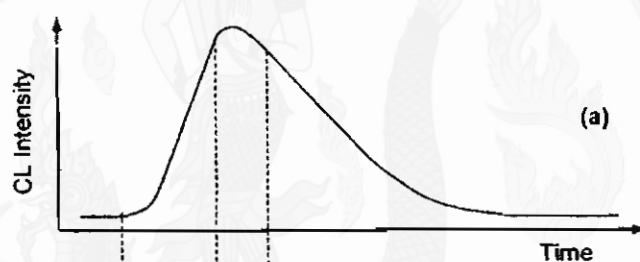
ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ ได้แก่

1. บริเวณผิวหน้าที่ไวต่อแสงของดีเทคเตอร์ (A)
2. ระยะของโฟลเซตลึร์จากบริเวณที่ไวต่อแสงของดีเทคเตอร์ (d)
3. รูปร่างแบบสามมิติของเซลล์
4. การใช้กระจก
5. การใช้เลนส์

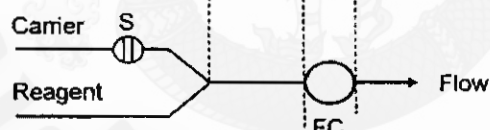
ในงานวิจัยนี้จะอาศัยเทคนิคไมโครฟลูอิดิกส์ร่วมกับเคมีลูมินีสเซนส์เพื่อวิเคราะห์ไนโตรที่โดยเครื่องมือที่ใช้และระบบการทำงานของระบบไมโครฟลูอิดิกส์กับเคมีลูมินีสเซนส์ แสดงในรูป 6



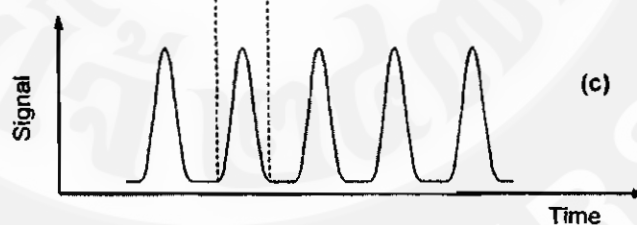
(ก)



(a)



(b)



(c)

(ข)

รูป 6 (ก) แผนภาพของเครื่องฟลูออโรอิมเมตริกซ์เคมีลูมิโนมิเตอร์ (ข) ความสัมพันธ์ของแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ปล่อยออกมากับเวลา (a) ภายหลังการผสมกับ รีเอเจนต์ เมื่อเริ่มปฏิบัติการ การเข้าไปในโฟลเซลล์และออกจากโฟลเซลล์ (FC) ของสารละลายเคมีลูมิเนสเซนซ์ (b) ชนิดของฟลักที่บันทึกได้ หลังจากฉีดตัวอย่างเดียวกันลงไปยังแมนิโฟลด์เสร็จแล้ว (c)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อออกแบบและสร้าง เครื่องมือ ด้วยเทคนิคห้องปฏิบัติการบนชิป (Lab-on-a-chip) แบบใหม่ที่มีส่วนตรวจวัดที่มีสภาพไวสูง ชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์มีลูมิเนสเซนซ์ที่เหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้าเคมี (Electro-chemiluminescence)
2. เพื่อประยุกต์นำเอาเครื่องมือและเทคนิคที่พัฒนาขึ้น มาใช้กับการทดสอบวิเคราะห์ สารต้านจุลชีพบางชนิดที่พบการปนเปื้อนในอาหาร อาทิเช่น ปริมาณไนไตรท์โดยเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์ไมโครโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยวิทยาศาสตร์พื้นฐานในสาขาเคมีวิเคราะห์ด้านอาหารและสิ่งแวดล้อม ซึ่งเน้นด้านการวิเคราะห์สารปนเปื้อนทางอาหาร ที่อาจปนเปื้อนขึ้นในกระบวนการผลิต สินค้าและการแปรรูปผลผลิตทางการเกษตร ดังนั้นการเผยแพร่ผลการศึกษาและความรู้จากการวิจัยด้านนี้แก่ผู้สนใจ จะช่วยสร้างความตื่นตัวและความเชื่อมั่นแก่ผู้บริโภค และสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความปลอดภัย ที่มีต่อการปนเปื้อนของสารพิษทางอาหาร

นอกจากนี้ยังเป็นการเสริมสร้างประโยชน์จากการวิจัย ของหน่วยงานด้านการวิเคราะห์ตัวอย่างทางอาหารและสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะหน่วยงานที่ทำงานด้านเกี่ยวข้องกับการติดตามตรวจสอบทางด้านมลพิษทางอาหารสิ่งแวดล้อม การควบคุมมลพิษทางการเกษตร หรือแม้แต่โรงงานผู้ผลิตเองที่ต้องมีการควบคุมคุณภาพของสินค้าก่อนส่งจำหน่าย ซึ่งจะเป็นการขยายขอบเขตการใช้ประโยชน์ทางวิชาการ โดยใช้ผลการวิจัยนี้เป็นแนวทางในการพึ่งตนเอง กระตุ้นและส่งเสริมให้หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชน ที่มีห้องปฏิบัติการทางเคมีวิเคราะห์ได้ตื่นตัวและหันมาพัฒนาประดิษฐ์เครื่องมือราคาถูกลง จากวัสดุ อุปกรณ์ที่มีอยู่ เป็นการทดแทนการนำเข้า เครื่องมือราคาสูงจากต่างประเทศ และพัฒนาศักยภาพของคนไทย โดยใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์และองค์ความรู้ที่มีอยู่ ในการพัฒนาประเทศแบบยั่งยืน

โดยนักวิชาการที่สนใจ นิสิต นักศึกษา และผู้ประกอบการ ในโรงงานผลิตหรือแปรรูปอาหาร สามารถที่จะนำเอาแนวทางหรือผลงานวิจัยที่ได้จากการวิจัยนี้ ไปต่อยอดเพิ่มองค์ความรู้ของตนเองหรือประยุกต์ปรับปรุงใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การตรวจเอกสาร

Deyong, *et al.* (2007) วิเคราะห์หาปริมาณไนไตรต์ด้วยระบบเคมีลูมินเนสเซนซ์ไมโครโพลอินเจกชันอะนาไลซิสซึ่งในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรต์โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกรดเปอร์ออกซิไนตริก (ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากไนไตรต์เกิดปฏิกิริยากับกรดในตัวอย่างที่เป็นน้ำ) กับลูมินอลในสถานะต่างโดยมีโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยนาต์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดเป็นสารประกอบ 3-อะมิโนฟทาเลต พร้อมกับเปล่งแสงเคมีลูมินเนสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร

Casella & Gatta (2004) การใช้ขั้วไฟฟ้าทางเคมี ที่ประกอบด้วยฟิล์มของคอปเปอร์และแทลเลียมที่ปรีคิวซ์ในเตรทให้เป็นไนไตรต์ และถูกตรวจสอบด้วยสารละลายต่าง โดยช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่ใช้คือ 0.0 และ -1.4 เทียบกับขั้วคาโลเมตมาตรฐาน

M. Pavel *et al.* (2003) การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรต์ด้วยระบบเคมีลูมินเนสเซนซ์ไมโครโพลอินเจกชันอะนาไลซิสในน้ำโดยการฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในกระแสดั้วพาที่มีการไหลอย่างต่อเนื่อง จากนั้นสารตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับสารตัวพาคือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับสารละลายรีเอเจนต์คือ ลูมินอลในสถานะต่าง เกิดเป็นสารประกอบ 3-อะมิโนฟทาเลต พร้อมกับเปล่งแสงเคมีลูมินเนสเซนซ์ออกมา

อุปกรณ์และวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

ในการศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์ด้วยวิธีไมโครฟลูอิดิกโพลีเมอร์เจ็ทร่วมกับเทคนิค เคมีลูมิเนสเซนซ์ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในอาหาร โดยมีการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องดังนี้

ตาราง 1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือ-อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิตและรุ่น	ประเทศ
1. Acrylic glass	-	Thailand
2. Digital multimeter	Uni-Trend, UT60D	Hong Kong
3. Electrochemical Analyzer	CH Instrument, CHI1230A	USA
4. Flow-rated tygon pump tube	TACS	Australia
5. Four-channeled peristaltic pump	Gilson	France
6. High voltage power supply	Sentech, PM20	UK
7. Mars carbon 6B	Staedtler	Germany
8. Personal computer	IBM	Mexico
9. Photomultiplier tube	Electron Tubes Ltd., Thorn-EMI 9878SB	UK
10. Platinum auxiliary electrode	Sigma	USA
11. Six-port injection valve	Upchurch Scientific	USA
12. Ultrapure water purification system	Millipore	France
13. Ultrasonic bath	Ney Dental Inc., 136H	USA
14. UV Spectrophotometer	Hitachi, U-2900	Japan

ตาราง 2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
1. Acetic acid	CH_3COOH	Carlo Erba	Thailand
2. Calcium chloride	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Ajax	Australia
3. Copper (II) nitrate	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$	APS	Australia
4. Dipotassium hydrogen phosphate	K_2HPO_4	Merck	Germany
5. Hydrochloric acid	HCl	Merck	Germany
6. Iron (II) sulphate	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Merck	Germany
7. Iron (III) nitrate	$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	Ajax	Australia
8. Luminol	$\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$	Sigma	Germany
9. Manganese (II) sulphate	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	QReC	New Zealand
10. Magnesium sulphate	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Ajax	Australia
11. N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Fluka	USA
12. Potassium bromide	KBr	Ajax	Australia
13. Potassium ferrocyanide	$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Merck	Germany
14. Potassium nitrate	KNO_3	Merck	Germany
15. Potassium sulphate	K_2SO_4	Carlo Erba	Italy
16. Sodium chloride	NaCl	Merck	Germany
17. Sodium hydrogen carbonate	NaHCO_3	Merck	Germany
18. Sodium hydroxide	NaOH	Merck	Germany
19. Sulfanilamide	$\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$	Fluka	USA
20. Thallium (I) acetate	$\text{Tl}(\text{CH}_3\text{COO})$	Alorich	Germany
21. Trisodium citrate dehydrate	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sigma	USA
22. Zinc sulphate	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Ajax	Australia

วิธีการวิจัย

1 การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์หาไนไตรท์ด้วยวิธีไมโครฟลูอิดิคร่วมกับเทคนิคเคมีภูมิเอนเซนซ์

1.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2.00 โมลาร์ (stock solution)

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 8.00 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยจากนั้นเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2 การเตรียมสารละลายลูมินอล เข้มข้น 0.01 โมลาร์ (stock solution)

ชั่งลูมินอล 0.1772 กรัม ละลายด้วย 0.10 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์เล็กน้อย แล้วเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วย 0.10 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์จนถึงขีดวัดปริมาตร

1.3 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ เข้มข้น 5×10^{-3} โมลาร์ (stock solution)

ชั่งโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ 0.2112 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยแล้ว จากนั้นเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.4 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1.00 โมลาร์ (stock solution)

ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 12.07 โมลาร์ มา 8.28 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีน้ำอยู่เล็กน้อยแล้วทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.5 การเตรียมสารละลายไนไตรท์ เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (stock solution)

ชั่งโซเดียมไนไตรท์ 0.1500 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยจากนั้นเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ เข้มข้น 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.15 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 7, 8, 9, 100, 150 และ 200 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ (stock solution) ปริมาตร 4.00 มิลลิลิตรและกรดไฮโดรคลอริก (stock

solution) ปริมาตร 4.00 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย น้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร จะได้สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้นต่างๆ

1.7 การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ลูมินอล

เปิดสารละลายลูมินอล (stock solution) มาปริมาตร 25.00 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นเปิดโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ (stock solution) ปริมาตร 8.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายลูมินอลแล้วปรับปริมาตรด้วย 0.10 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์จนถึงขีดวัดปริมาตร (หมายเหตุ : เก็บไว้ในที่ไม่มีแสง)

2. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาไอออนรบกวนที่มีผลต่อการวิเคราะห์หาไนไตรท์ ด้วยวิธีไนโตรฟลูอิดิคร่วมกับเทคนิคเคมีมินิเอนเซนส์

2.1 การเตรียมสารละลายไอออน (II) ไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งไอออน (II) ซัลเฟต 0.5106 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.2 การเตรียมสารละลายไอออน (III) ไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งไอออน (III) ไนเตรท 0.7419 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.3 การเตรียมสารละลายแมกนีเซียม ไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งแมกนีเซียมซัลเฟต 1.0241 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.4 การเตรียมสารละลายแคลเซียมไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งแคลเซียมคลอไรด์ 0.3713 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.5 การเตรียมสารละลายแมงกานีสไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งแมงกานีสซัลเฟต 0.3108 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.6 การเตรียมสารละลายซัลเฟตไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโพแทสเซียมซัลเฟต 0.1830 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.7 การเตรียมสารละลายไบคาร์บอเนตไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.1391 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.8 การเตรียมสารละลายคลอไรด์ไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 0.1665 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.9 การเตรียมสารละลายโบรไมด์ไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโพแทสเซียมโบรไมด์ 0.1504 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.10 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตไอออนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1834 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

3. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาไนโตรเจนโดยวิธีคัลเดอรินเมตรี

3.1 การเตรียมสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

ปีเปตกรดอะซิติกเข้มข้น 99.8 % มา 15.00 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีน้ำอยู่เล็กน้อยจากนั้นทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

3.2 การเตรียมสารละลายเอ็น -1- แนพริลเอทธีลินไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์

ชั่งเอ็น - 1 - แนพริลเอทธีลินไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ 0.2000 กรัม ละลายด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดอะซิติกจนถึงขีดวัดปริมาตร

3.3 การเตรียมสารละลายสารละลายซัลฟานิลาไมด์

ชั่งซัลฟานิลาไมด์ 0.5000 กรัม ละลายด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดอะซิติก จนถึงขีดวัดปริมาตร

3.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์เข้มข้น 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.15 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปีเปตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 3.5, 4, 4.5, 5, 7.5, 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม

สารละลาย เอ็น-1-แนฟธิลเอทริสไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เพื่อนำไปสร้างกราฟมาตรฐานเปรียบเทียบ

4. การเตรียมสารละลายสำหรับการศึกษารีดิวซ์ฟิล์มคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรด

4.1 การเตรียมสารละลายทริสโซเดียมซัลเฟต เข้มข้น 0.02 โมลาร์

ชั่งทริสโซเดียมซัลเฟต 0.5882 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

4.2 การเตรียมสารละลายแอลคาไลน์ เข้มข้น 0.03 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1200 กรัม ละลายด้วยทริสโซเดียมซัลเฟตเทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยทริสโซเดียมซัลเฟตจนถึงขีดวัดปริมาตร

4.3 การเตรียมสารละลายผสมคอปเปอร์ไนเตรท ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ และแทลเลียมอะซิเตท ที่ความเข้มข้น 0.008 โมลาร์

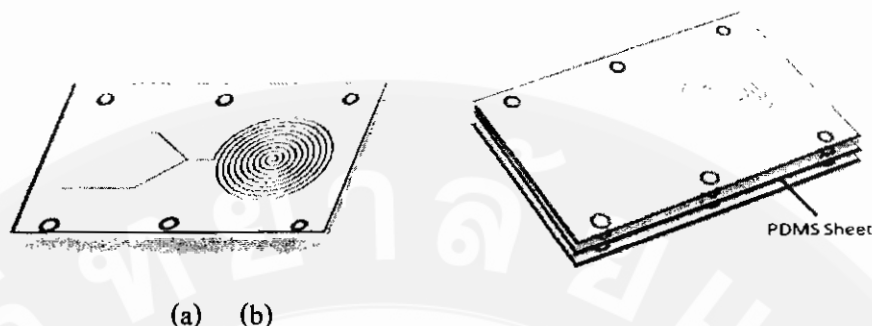
ชั่งคอปเปอร์ไนเตรท 0.2326 กรัม และแทลเลียมอะซิเตท 0.2107 กรัม ละลายด้วย 0.03 โมลาร์ สารละลายแอลคาไลน์เทลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายแอลคาไลน์จนถึงขีดวัดปริมาตร

5. การประดิษฐ์อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรที่

ไมโครฟลูอิดิกชิปประกอบด้วยแผ่นอะคริลิก 2 แผ่น ที่แกะสลักลายวงจรด้วยแสงเลเซอร์บนแผ่นใดแผ่นหนึ่ง การประดิษฐ์อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกทำโดยใช้โปรแกรม CorelDRAW Graphics Suite X5 ในการออกแบบลวดลาย จากนั้นนำไปเจาะด้วยสว่านเพื่อเชื่อมต่อเข้ากับท่อต่อเชื่อม ดังแสดงในรูป 7 จากนั้นนำแผ่นอะคริลิกทั้งสองแผ่นนี้มาประกบกันแบบแซนวิช โดยมีแผ่น PDMS แทรกระหว่างกลาง จากนั้นขันให้พอดีด้วยสกรู

5.1 การทำแผ่น Polydimethylsiloxane (PDMS)

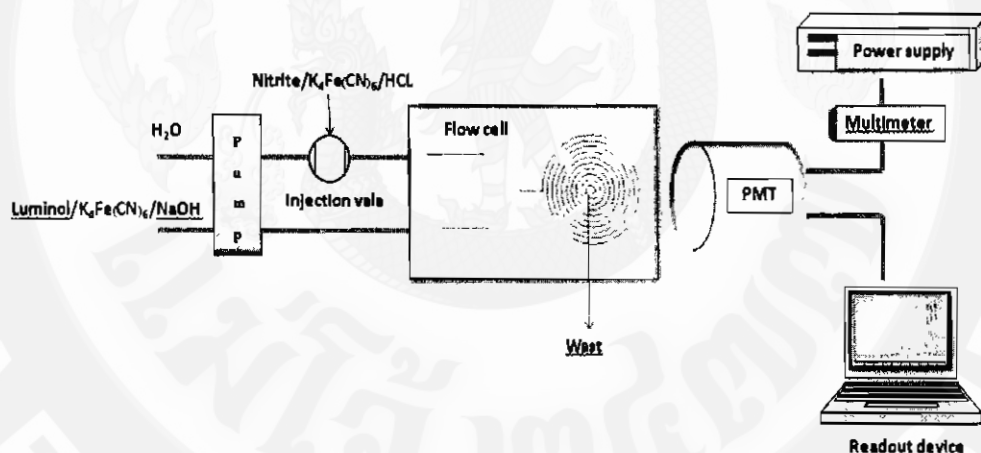
แผ่น Polydimethylsiloxane (PDMS) เตรียมโดยชั่ง Sylgard 184 silicone elastomer base มา 10.00 กรัม และ ชั่ง Sylgard 184 silicone elastomer curing agent มา 1.00 กรัม (อัตราส่วน 10:1) จะได้แผ่น PDMS ความกว้าง 8.50 เซนติเมตร ความยาว 11.5 เซนติเมตร และความหนา 0.20 เซนติเมตร สำหรับใช้ขันระหว่างแผ่นอะคริลิกทั้งสองแผ่นที่ขันด้วยสกรู เพื่อยึดติดกัน



รูป 7 ลายวงจรของไมโครฟลูอิดิกซ์สำหรับวิเคราะห์หาไนไตรท์

- (a) ลายวงจรแบบกันรอยจากมุมมองด้านบน
- (b) การประกอบกันของแผ่นชิพจากมุมมองด้านข้าง

5.2 การศึกษาวิธีไมโครฟลูอิดิกร่วมกับเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์



รูป 8 ผังการวิเคราะห์ไนไตรท์ด้วยวิธีไมโครฟลูอิดิกร่วมกับเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์

การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์จะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกรดเปอร์ออกซีไนตรัส (ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากไนไตรท์เกิดปฏิกิริยากับกรดในตัวกลางที่เป็นน้ำ) กับลูมินอล ในสภาวะด่าง โดยมีโพแทสเซียมเฟอร์โรไซเดียนไนด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดเป็นสารประกอบ 3-อะมิโนพทาเลด พร้อมกับเปล่งแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร แสงที่เปล่งออกมาจะเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของสารละลายไนไตรท์ที่ฉีดเข้าไปในระบบแล้วเกิดเป็นฟลักซ์สัญญาณขึ้น จากนั้นได้ทำการหาสภาวะในการทดลองที่เหมาะสมของระบบไมโครฟลูอิดิก เช่น ค่า

ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายในหลอดวัดแสง ความเข้มข้นสารตัวอย่างและรีเอเจนต์ อัตราการไหลของสาร และปริมาตรของการฉีดสาร เป็นต้น เพื่อประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ในโครมาโทกราฟีในอาหารต่อไป

6. การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาไนโตรเจนด้วยวิธีไมโครฟลูอิดิคร่วมกับเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์

6.1 การศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอดตรวจวัดแสง

ทำการศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายให้แก่หลอดตรวจวัดแสงในช่วง 700 - 1,000 โวลต์ ในการทดลองจะทำการปรับศักย์ไฟฟ้าไปที่ค่าเริ่มต้น 700 โวลต์ โดยมี 1.0×10^{-4} โมลาร์ สารละลายลูมินอล เจือจางโดย 0.20 โมลาร์ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ 4×10^{-4} โมลาร์ สารละลายโพแทสเซียมเพอร์โรไซด์ในน้ำเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นกระแสรีเอเจนต์ และมีน้ำปราศจากไอออนเป็นกระแสตัวพา จากนั้นทำการฉีดสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มี 0.05 โมลาร์ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก และ 2×10^{-4} โมลาร์ สารละลายโพแทสเซียมเพอร์โรไซด์ในน้ำเข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้ง ปรับศักย์ไฟฟ้าเพิ่มขึ้นครั้งละ 50 โวลต์ นำค่าที่ได้ไปพล็อตกราฟระหว่างค่าความสูงของพีคกับศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอดตรวจวัดแสง เพื่อหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่ให้ค่าสัญญาณสูงสุด

6.2 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายรีเอเจนต์ลูมินอล

ใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6.1 โดยศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายรีเอเจนต์ลูมินอล ในช่วงความเข้มข้น $1.0 \times 10^{-4} - 7.5 \times 10^{-3}$ โมลาร์ เจือจางโดย 0.20 โมลาร์ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และมี 4×10^{-4} โมลาร์ สารละลายโพแทสเซียมเพอร์โรไซด์ในน้ำเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในกระแสรีเอเจนต์และมีน้ำปราศจากไอออนเป็นกระแสตัวพา จากนั้นทำการฉีดสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^{-2} - 7.5 \times 10^{-2}$ โมลาร์ ลงไปในระบบซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละความเข้มข้น แล้วเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของไนโตรเจนในแต่ละความเข้มข้นของลูมินอล เพื่อหาค่าความชันของกราฟมาตรฐานของแต่ละความเข้มข้นของลูมินอลมาเขียนกราฟระหว่างค่าความชันกับความเข้มข้นของลูมินอล เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายรีเอเจนต์ลูมินอลที่จะนำไปใช้ต่อไป

6.3 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์โรไซด์ในน้ำในกระแสรีเอเจนต์

ใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6.1 และ 6.2 โดยศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์โรไซด์ในน้ำในช่วงความเข้มข้น $2.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-3}$ โมลาร์ ที่เจือจางโดย 0.20 โมลาร์ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในสารละลายรีเอเจนต์

จากนั้นทำการนิตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ เข้มข้น $1 \times 10^{-2} - 7.5 \times 10^{-2}$ โมลาร์ ลงไปในระบบซ้ำ 3 ครั้ง ในแต่ละความเข้มข้น แล้วเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความสูงของพีกกับความเข้มข้นของไนไตรท์ในแต่ละความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ เพื่อหาค่าความชันของกราฟมาตรฐานของแต่ละความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ มาเขียนกราฟระหว่างค่าความชันกับความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ ที่จะนำไปใช้ต่อไป

6.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในกระแสรีเอเจนต์

ใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6.1 - 6.3 โดยศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในช่วงความเข้มข้น 0.06 - 0.30 โมลาร์ ในสารละลายรีเอเจนต์จากนั้นทำการนิตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^{-2} - 7.5 \times 10^{-2}$ โมลาร์ ลงไปในระบบ ซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละความเข้มข้น แล้วเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความสูงของพีกกับความเข้มข้นของไนไตรท์ในแต่ละความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อหาค่าความชันของกราฟมาตรฐานของแต่ละความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มาเขียนกราฟระหว่างค่าความชันกับความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่จะนำไปใช้ต่อไป

6.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในสารละลายมาตรฐาน

ใช้ที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6.1 - 6.4 โดยศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ในช่วงความเข้มข้น 0.03 - 0.07 โมลาร์ ที่ใช้ปริมาตรของในสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่มี 2×10^{-4} โมลาร์ โพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ จากนั้นทำการนิตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^{-2} - 7.5 \times 10^{-2}$ โมลาร์ ลงไปในระบบซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละความเข้มข้น แล้วเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความสูงของพีกกับความเข้มข้นของไนไตรท์ในแต่ละความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เพื่อหาค่าความชันของกราฟมาตรฐานของแต่ละความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก มาเขียนกราฟระหว่างค่าความชันกับความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม

6.6 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ในสารละลายมาตรฐาน

ใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6.1 - 6.5 โดยศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ ในช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-4}$ โมลาร์

ในสารละลายมาตรฐานจากนั้นทำการฉีดยาละลายมาตรฐานไนไตรท์เข้มข้น $1 \times 10^{-2} - 8 \times 10^{-2}$ โมลาร์ ลงไปในระบบ ซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละความเข้มข้น แล้วเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความสูงของพีกกับความเข้มข้นของไนไตรท์ในแต่ละความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซไซด์ยาไนค์ เพื่อหาค่าความชันของกราฟมาตรฐานของแต่ละความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซไซด์ยาไนค์ มาเขียนกราฟระหว่างค่าความชันกับความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซไซด์ยาไนค์ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม

6.7 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวพา

ใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6.1 - 6.6 ในการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวพาจะควบคุมให้อัตราการไหลของกระแสอื่นให้มีค่าคงที่ และทำการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวพาในช่วง 0.10 - 0.40 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้สภาวะต่างๆ ตามที่ได้ทำการทดลองมาในข้างต้น จากนั้นทำการฉีดยาละลายมาตรฐานไนไตรท์ ช่วงความเข้มข้น 0.02 - 0.08 โมลาร์ ซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละความเข้มข้นเข้าไปในระบบไมโครฟลูอิดิก แล้วเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีกกับความเข้มข้นของไนไตรท์ในแต่ละอัตราการไหล จากนั้นนำเอาค่าความชันของกราฟมาตรฐานของแต่ละอัตราการไหลมาเขียนกราฟระหว่างค่าความชันกับอัตราการไหล เพื่อหาอัตราการไหลของกระแสตัวพาที่เหมาะสม

6.8 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสรีเอเจนต์

ใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6.1 - 6.7 ในการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวพาจะควบคุมให้อัตราการไหลของกระแสอื่นให้มีค่าคงที่ และทำการศึกษาอัตราการไหลของกระแสรีเอเจนต์ ในช่วง 0.10 - 0.40 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้สภาวะต่างๆ ตามที่ได้ทำการทดลองมาในข้างต้น จากนั้นทำการฉีดยาละลายมาตรฐานไนไตรท์ ช่วงความเข้มข้น 0.02 - 0.08 โมลาร์ ซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละความเข้มข้นเข้าไปในระบบไมโครฟลูอิดิก แล้วเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีกกับความเข้มข้นของไนไตรท์ในแต่ละอัตราการไหล จากนั้นนำเอาค่าความชันของกราฟมาตรฐานของแต่ละอัตราการไหลมาเขียนกราฟระหว่างค่าความชันกับอัตราการไหล เพื่อหาอัตราการไหลของกระแสตัวพาที่เหมาะสม

6.9 การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงในระบบ

ใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6.1 - 6.8 ในการศึกษาหาปริมาตรสารตัวอย่างสำหรับฉีดลงไปในกระแสตัวพาในช่วงปริมาตร 20 - 400 ไมโครลิตร แล้วนำค่าความสูงของพีกที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีกกับความเข้มข้นของไนไตรท์ในแต่ละปริมาตร จากนั้นนำเอาค่าความชันของกราฟมาตรฐานของแต่ละปริมาตร มาเขียนกราฟระหว่าง ค่าความชันกับปริมาตร เพื่อหาปริมาตรของตัวอย่างที่เหมาะสม

7. การศึกษาหาความเที่ยงของเครื่องมือและความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมโครฟลูอิดิคร่วมกับเคมีลูมิเนสเซนซ์

เพื่อหาความเที่ยงของเครื่องมือโดยฉีดสารละลายไนไตรท์มาตรฐาน ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อฉีดเข้าไปในระบบ $\mu\text{FI-CL}$ ทั้งหมด 12 ครั้ง

ส่วนการทดลองหาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ ทำการทดลองโดยใช้สารละลายไนไตรท์มาตรฐานความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 12 ขวด แล้วฉีดเข้าไปในระบบ $\mu\text{FI-CL}$ ขวดละ 3 ครั้ง

8. การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงและกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์

ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นในช่วงตั้งแต่ 0.02 – 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าระบบ $\mu\text{FI-CL}$ ที่มีสภาวะที่เหมาะสมสูงสุดจากการศึกษาได้จากการหามาข้างต้น โดยการวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์เพื่อหาความสูงของพีคสำหรับใช้เปรียบเทียบความเข้มข้นของไนไตรท์แต่ละความเข้มข้นเพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน และหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

9. การศึกษาหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์

เตรียมสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ระหว่าง 0.00 – 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ $\mu\text{FI-CL}$ เพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้โดยพิจารณาจากค่าสัญญาณพื้นหลัง (signal-to-noise ratio) ที่มีค่ามากกว่า 3 เท่า เปรียบเทียบกับสัญญาณพื้นหลัง (3 σ)

10. การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในสารตัวอย่าง แสม กุนเชียง และแหนม

10.1 การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ด้วยวิธีไมโครฟลูอิดิคร่วมกับเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์

ตัวอย่างอาหารบางชนิดในท้องตลาดแม่โจ้ที่คาดว่าจะมีสารไนไตรท์ปนเปื้อนแล้วนำมาวิเคราะห์วิธีเทคนิคไมโครฟลูอิดิคร่วมกับวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์ ตัวอย่างอาหารบางชนิดคือ แสม กุนเชียง และแหนม จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปบดให้ละเอียดแล้วนำไปเก็บในห้องแช่แข็ง (หมายเหตุ : เมื่อทำการสกัดตัวอย่างเสร็จ ตัวอย่างสามารถเก็บไว้ได้ไม่เกิน 1 สัปดาห์)

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ซึ่งตัวอย่างที่ปั่นละเอียดมา 5.00 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 35 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 0.50 โมลาร์ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6.00 มิลลิลิตรและ 0.42 โมลาร์ สารละลายซิงค์ซัลเฟต 5.00 มิลลิลิตร แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปกรองเอาสารละลายส่วนที่ใส

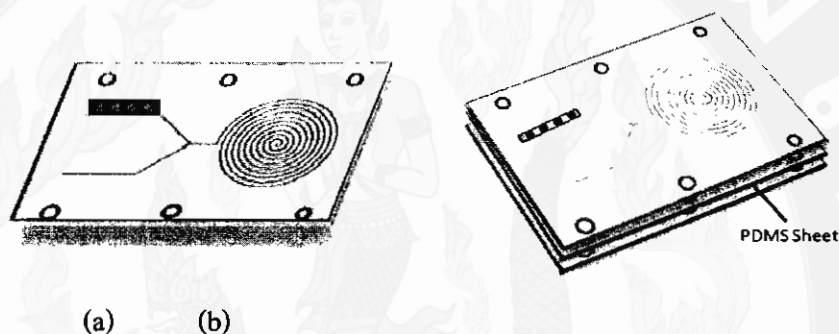
10.2.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

ปีแปดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มาใน ปริมาตรที่เหมาะสมที่คำนวณได้ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย ซัลฟานิลไมด์ ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลาย เอ็น-1-แนฟธิลเอทิลีนไดเอมีน ไคไฮโดรคลอไรด์ ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร เขย่าให้ เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นา โนเมตร นำค่าที่ได้มาพล็อตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับค่าความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) เพื่อนำมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์

ซึ่งตัวอย่างที่บดละเอียดมา 5.00 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนลงไป 40.00 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง 80 องศาเซลเซียส ใช้แท่งแก้วคนบ่อยๆ จากนั้นเติมน้ำอุ่นลงไป 250.00 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเอาไปกรองเพื่อเอาสารละลายส่วนที่ใส เมื่อได้แล้วบีบเปิดตัวอย่างส่วนที่ใสมา 40.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร สารละลาย เอ็น- 1- แนฟทิลเอทธีลีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ 2.50 มิลลิลิตร แล้วปรับด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

11. การศึกษาความเป็นไปได้ในการประกอบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกสำหรับการวิเคราะห์ในเครื่องด้วยคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรเคมีลูมินเนสเซนซ์

การประดิษฐ์อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกสำหรับการวิเคราะห์ในเครื่องด้วยคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรด มีวิธีทำเช่นเดียวกับที่แสดงในรูป 2.1 แต่มีการเพิ่มส่วนไมโครรีแอคเตอร์ที่ทำขึ้นจากการฝังแท่งคาร์บอนในโพลีเมอร์ โดยที่แท่งคาร์บอนจะถูกตรึงด้วยสารประกอบคอปเปอร์แทลเลียมในสารละลายที่เป็นเบส โดยไมโครฟลูอิดิกสำหรับการวิเคราะห์ในเครื่องด้วยคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรด ดังแสดงในรูป 9

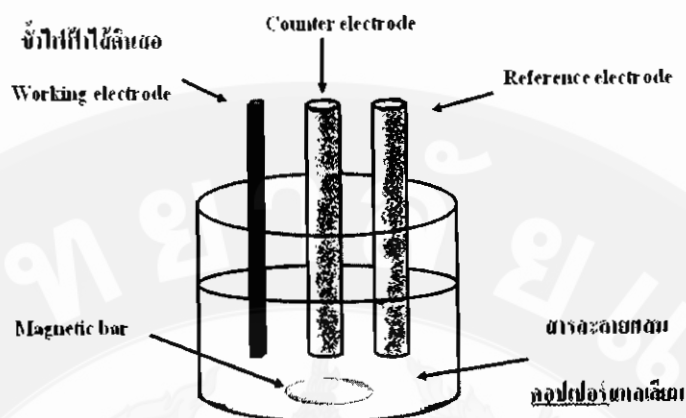


รูป 9 ลายวงจรไมโครฟลูอิดิกสำหรับการวิเคราะห์ในเครื่องด้วยวิธีอิเล็กโทรเคมีลูมินเนสเซนซ์

- (a) ลายวงจรแบบกันรอยจากมุมมองด้านบน ที่ฝังแท่งคาร์บอน
- (b) การประกบกันของแผ่นชิปที่ฝังแท่งคาร์บอนจากมุมมองด้านข้าง

11.1 การทดสอบการตรึงฟิล์มคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรดบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลต์แอมเมตรี และเทคนิคแอมเพโรเมตรี

เหลาแท่งคาร์บอนให้เป็นรูปทรงกลมให้มีความยาว 5.00 เซนติเมตร ขัดผิวหน้าด้วยกระดาษทรายอย่างละเอียด ล้างให้สะอาดด้วยน้ำปราศจากไอออน ซับให้แห้งแล้วนำแท่งคาร์บอนที่ได้มาจัดเซลล์ไฟฟ้าดังรูป 2.4 เพื่อทำการตรึงฟิล์มคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรดบนขั้วไฟฟ้าโดยให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าตั้งแต่ -1 ถึง 1.2 ให้เป็นไซคลิกจำนวน 50 รอบ โดยไม่ต้องคน เพื่อหาช่วงศักย์ไฟฟ้าในการวิเคราะห์ที่เหมาะสม โดยเทคนิค cyclic voltammetry สำหรับนำไปใช้ในการทดสอบด้วยวิธีแอมเพโรเมตรีต่อไป



รูป 10 การจัดรูปแบบเซลล์ไฟฟ้าเพื่อทดสอบขั้วไฟฟ้าคาร์บอนคอปเปอร์แทลเลียม

- การทดสอบคุณลักษณะของขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

นำขั้วไฟฟ้าที่ทำจากไส้ดินสอรูปทรงกลมที่ยังไม่ผ่านการตรึงฟิล์มและขั้วไฟฟ้าที่ผ่านการตรึงฟิล์มคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรดมาจัดเซลล์ไฟฟ้างดรูป 10 แต่เปลี่ยนจากสารละลายผสมคอปเปอร์แทลเลียมเป็นสารละลาย 10 มิลลิโมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าตั้งแต่ -1 ถึง 0.5 ให้เป็นไซคลิก โดยไม่ต้องมีการคน เพื่อดูไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลาย

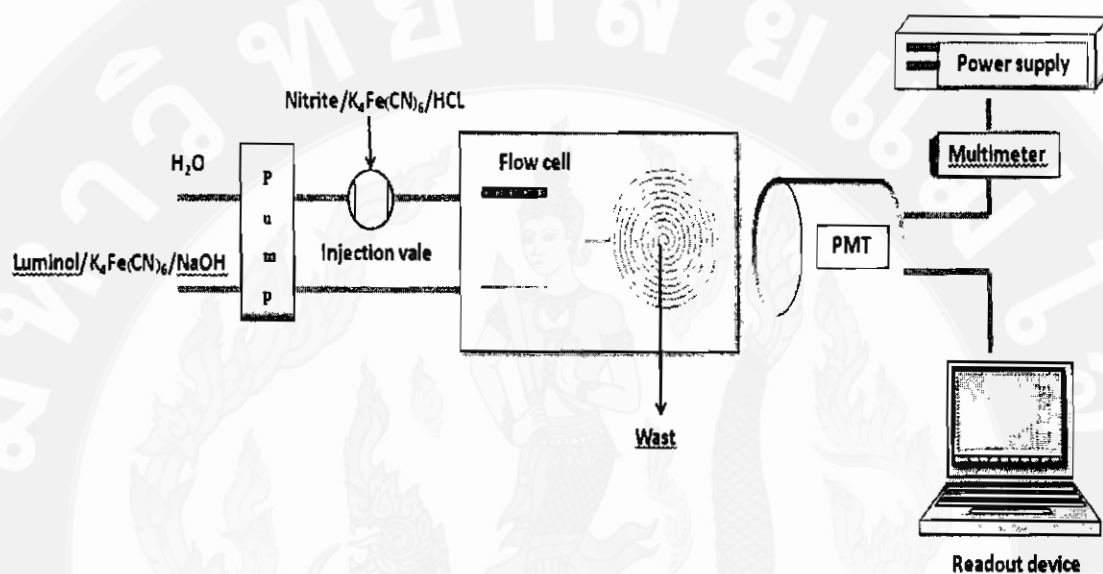
- การทดสอบด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรี

เมื่อได้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมจากวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรีแล้ว ทำการทดสอบหาปริมาณกระแสจากการรีดักชันด้วยวิธีแอมเพโรเมตรี โดยประกอบเซลล์ไฟฟ้างดรูป 10 แล้วให้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ที่ -0.7 โวลต์ พร้อมกับคนสารละลายตลอดเวลา จากนั้นหยดสารละลายไนเตรทมาตรฐาน เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ลงไปครั้งละ 30 ไมโครลิตร เพื่อวัดปริมาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เทียบกับปริมาณไนเตรทที่เติมลงไป เพื่อนำไปดูการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของกระแสที่เป็นผลมาจากการเติมไนเตรทลงไปในสารละลาย

2.2.12.2 การศึกษาความเป็นไปได้ของวิธีไมโครฟลูอิดิกซ์ร่วมกับเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์

โดยทำการเสียบแท่งคาร์บอนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.20 เซนติเมตร จำนวน 4 แท่ง ลงบนแผ่นซีพจากนั้นทำการตรึงฟิล์มคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรดบนขั้วไฟฟ้าด้วยสารละลายคอปเปอร์แทลเลียม แล้วนำไมโครฟลูอิดิกซ์มาต่อเข้าร่วมกับเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์โดยให้กระแสตัวพาของน้ำปราศจากไอออนไหลผ่านแท่งคาร์บอนที่ถูกตรึง

ด้วยสารละลายคอปเปอร์เทลเลียม จากนั้นทำการฉีดสารมาตรฐานในเครื่องเข้าไปสู่ระบบ โดยใช้สถานะที่ได้จากการศึกษาการวิเคราะห์ในโทรศัพท์ศึกษาได้จากวิธีไมโครฟลูอิดิกร่วมกับเคมีลูมินเนสเซนซ์



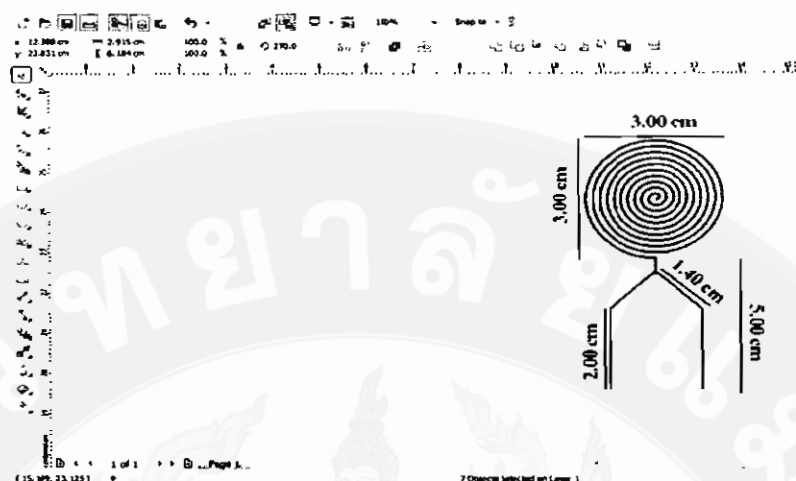
รูป 11 ผังการวิเคราะห์ในเครื่องด้วยวิธีไมโครฟลูอิดิกร่วมกับอิเล็กโทรเคมีลูมินเนสเซนซ์

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

การวิจัยฉบับนี้ ในส่วนที่ 1 ได้ทำการประดิษฐ์และทดสอบระบบไมโครฟลูอิดอย่างง่ายโดยใช้การตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ (μ FI-CL) เพื่อใช้ในการทดสอบระบบไมโครฟลูอิดิก โดยนำเครื่องมือที่มีในห้องปฏิบัติการมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องมือตรวจวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ เนื่องจากเทคนิคนี้มีข้อดีคือสามารถวิเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีสภาพไวสูง รวดเร็ว ใช้ปริมาณสารตัวอย่างและสารทำปฏิกิริยาน้อยมาก ทำให้เกิดของเสียที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมน้อย นอกจากนั้นระบบที่ใช้วิเคราะห์เป็นระบบปิด ผลคือให้ผู้ปฏิบัติการทดลองไม่ต้องสัมผัสกับสารเคมีโดยตรง และยังช่วยลดขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างให้น้อยลง ทำให้การวิเคราะห์ทำได้อย่างรวดเร็วมากยิ่งขึ้น ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวประกอบไปด้วย การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ในไมโครที่ซึ่งเป็นสารปนเปื้อนในอาหารบางชนิด โดยใช้ระบบ μ FI-CL ที่มีการควบคุมตัวแปรชนิดต่างๆ ทั้งตัวแปรทางกายภาพและทางเคมี นอกจากนั้นในส่วนที่ 2 ของงานวิจัยได้ทำการศึกษาเบื้องต้นในการใช้เทคนิคอิเล็กโตรเคมีลูมิเนสเซนซ์เพื่อหาแนวทางในการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ สำหรับใช้เป็นเครื่องมือตรวจวัดในการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์พร้อมๆ กันในตัวอย่างอาหารเช่น แสม กุนเชียง และแฮม ต่อไป

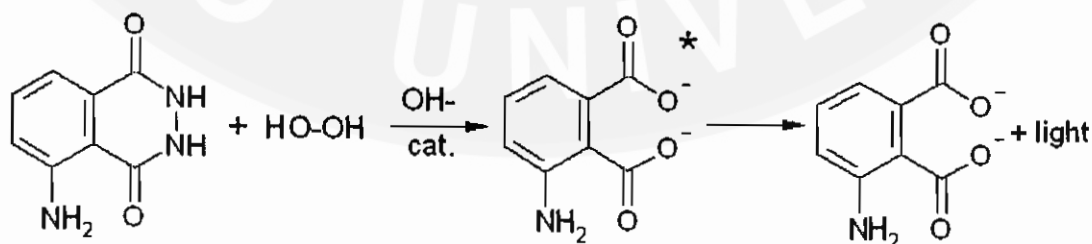
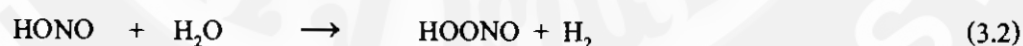
1. การพัฒนาและออกแบบระบบฟลูอิดเจกชันอะนาลิซิสอย่างง่ายสำหรับวิธีการวิเคราะห์ไนไตรท์ในอาหารตัวอย่าง

ในการทดลองส่วนที่ 1 ขั้นต้น ได้ทำการศึกษาและออกแบบการตรวจวัดแบบ μ FI-CL เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์โดยมีกระแสตัวพาคือน้ำปราศจากไอออน ส่วนกระแสรีเอเจนต์ได้แก่ 1.0×10^{-4} โมลาร์ ลูมินอลที่เจือจางใน 0.2 โมลาร์ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มี 4.0×10^{-4} โมลาร์ สารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยนาต์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาโดยอาศัยงานวิจัยของ Deyong *et al.* (2007) ในการเป็นต้นแบบของระบบการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยมีโดยใช้โปรแกรม CorelDRAW Graphics Suite X5 ในการออกแบบรูปก้นหอย โดยกำหนดเส้นกำกับบอกขนาดประกอบตัวเพื่อให้รู้ถึงความยาวและความกว้างของเส้นที่ออกแบบไว้ เป็นการป้องกันความผิดพลาดที่จะเกิดขึ้นเมื่อทำการเซาะร่องบนแผ่น PDMS ดังรูป 12



รูป 12 การออกแบบชิพสำหรับวิธีไมโครฟลูอิดิคร่วมกับเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์

ทฤษฎีของการวิเคราะห์คือ เมื่อฉีดสารละลายมาตรฐานไนไตรต์เข้าไปในระบบ $\mu\text{FI-CL}$ ที่มีน้ำเป็นกระแสดำพาสารละลายกรดเปอร์ออกซิไนไตร์จากตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานเข้าทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ (ลูมินอลในสถานะค้าง โดยมีโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซไซยาไนด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา) ในบริเวณส่วนเกิดปฏิกิริยาของเซลล์ตรวจวัด เกิดเป็นสารประกอบ 3-อะมิโนพทาเลต พร้อมกับเปล่งแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร ดังแสดงในสมการ 3.1-3.3



รูป 13 ปฏิกิริยาการเกิดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์

แสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เปล่งออกมาจะถูกตรวจวัดโดยเครื่องลูมิโนมิเตอร์อย่างง่ายที่ประกอบขึ้นเอง โดยใช้หลอดวัดแสงโฟโตมัลติพลายเออร์ (PMT) ตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เปล่งออกมาเมื่อมีการควบคุมศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้หลอดวัดแสง เพื่อสามารถวัดเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่คายออกมาได้ในเวลาที่เหมาะสม

แสงเคมีลูมิเนสเซนซ์สีฟ้าที่คายออกมามีความยาวคลื่นประมาณ 425 นาโนเมตร โดยแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ถูกผลิตขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างกรดเปอร์ออกซีไนตรัสกับลูมินอลในสารละลายเบสจะถูกตรวจวัดโดยหลอดวัดแสง PMT ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณของไนไตรท์ที่ลดลงไปในระบบ ซึ่งจะส่งสัญญาณไปยังเครื่องบันทึกสัญญาณเพื่อบันทึกผลที่ได้ออกมาในภาพของฟลักสัญญาณ

2. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยวิธีไมโครฟลูอิดิกเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์

ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ด้วยระบบ μ FI-CL ที่จะได้พัฒนาขึ้น ได้เลียนแบบโดยปรับปรุงมาจากงานวิจัยที่ใช้ระบบฟลูอิดิกเจกชันของ Thanh *et al.* (1994) และใช้เซลล์ไมโครฟลูอิดิกที่สร้างขึ้นตามที่อธิบายไว้ในบทนำ ในส่วนของหัวข้อ 2.5 โดยมีสภาวะเริ่มต้นของตัวแปรต่างๆ ก่อนที่จะทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ด้วยระบบ μ FI-CL

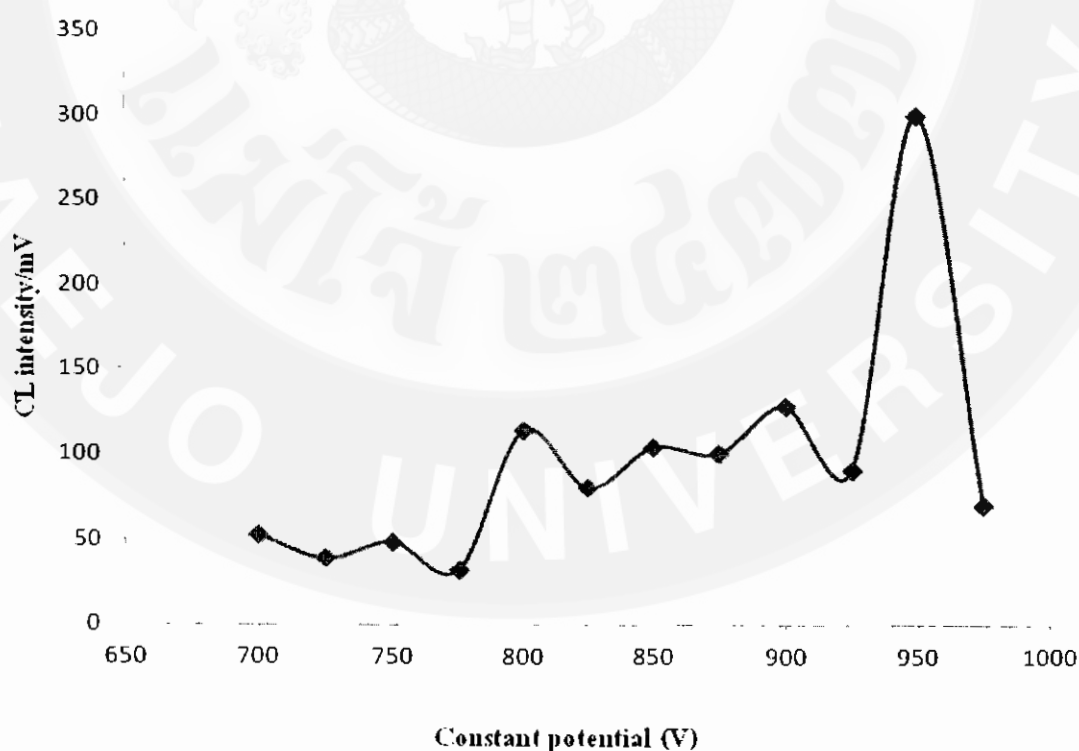
พารามิเตอร์	สภาวะเริ่มต้น
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT (โวลต์)	950
กระแสตัวพา	
น้ำปราศจากไอออน	-
กระแสรีเอเจนต์	
ความเข้มข้นของลูมินอล (โมลาร์)	1.0×10^{-4}
ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)	0.20
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฟอร์โรไซค์ยาโนด์ (โมลาร์)	4×10^{-4}

สารละลายมาตรฐานไนไตรท์

ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยไนต์ (โมลาร์)	2×10^{-4}
ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (โมลาร์)	0.05
อัตราการไหลของกระแสรีเอเจนต์และกระแสตัวพา (มิลลิลิตรต่อนาที)	0.20
ปริมาตรสารตัวอย่าง (ไมโครลิตร)	50

2.1 การศึกษาหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอดตรวจวัดแสง

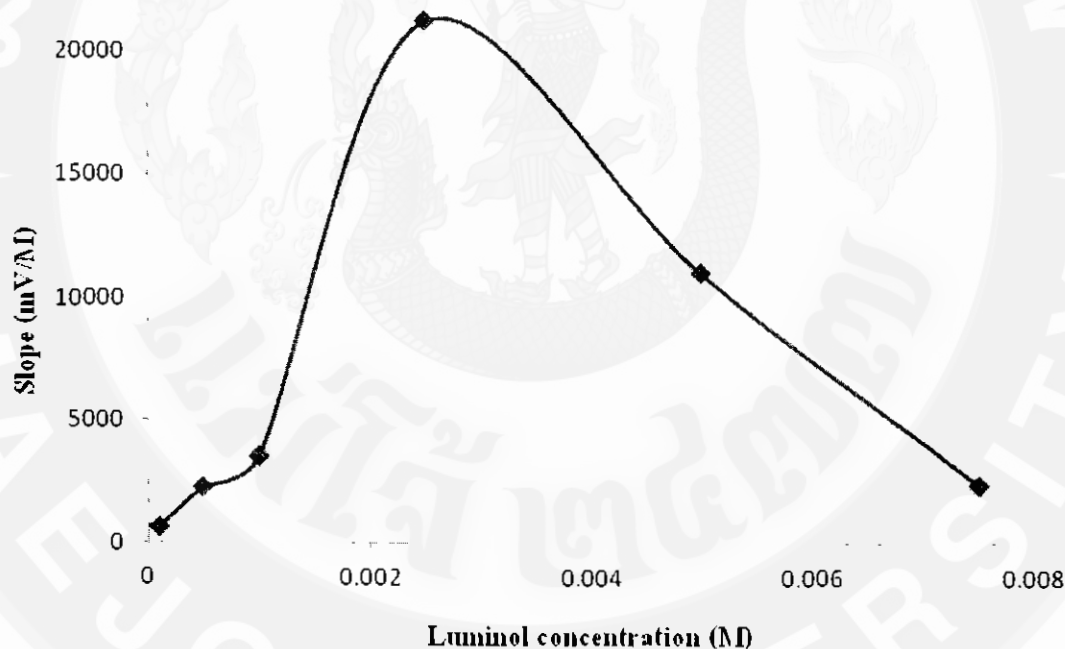
การศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT ในช่วง 700 - 1000 โวลต์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 14 โดยค่าศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT ที่เหมาะสมที่ทำให้สารละลายมาตรฐานไนไตรท์เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์กับลูมินอลที่มีต่อสัญญาณพื้นหลัง (signal-to-noise ratio) มีค่าสูงสุดเท่ากับ 950 โวลต์ ซึ่งการเพิ่มค่าศักย์ไฟฟ้ามากกว่า 950 โวลต์ ไม่ทำให้สัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้นแต่กลับทำให้สัญญาณลดต่ำลง เนื่องจากสัญญาณรบกวนจากพื้นหลังมีมากขึ้นและนอกจากนั้นยังทำให้อายุการใช้งานของหลอด PMT สั้นลง



รูป 14 การศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอดตรวจวัดแสง PMT

2.2 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายลูมินอลในกระแสอิเล็กโตร

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1 มาใช้ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายลูมินอลที่อยู่ในกระแสอิเล็กโตร ที่ถูกปรับให้มีสภาพเป็นด่างด้วย 0.20 โมลาร์ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งกำหนดช่วงการศึกษาในช่วงความเข้มข้น $1.0 \times 10^{-4} - 7.5 \times 10^{-3}$ โมลาร์ พบว่าการศึกษาค่าความเข้มข้นของกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลดังแสดงในรูป 15 ทำให้ได้ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายอิเล็กโตรลูมินอล เท่ากับ 2.5×10^{-3} โมลาร์ ซึ่งถ้าเพิ่มความเข้มข้นมากกว่านี้ ก็ไม่ทำให้สัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้นแต่กลับลดลงทำให้ความชันของกราฟมาตรฐานมีค่าต่ำลง ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงจะกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายลูมินอล มีค่าเท่ากับ 2.5×10^{-3} โมลาร์

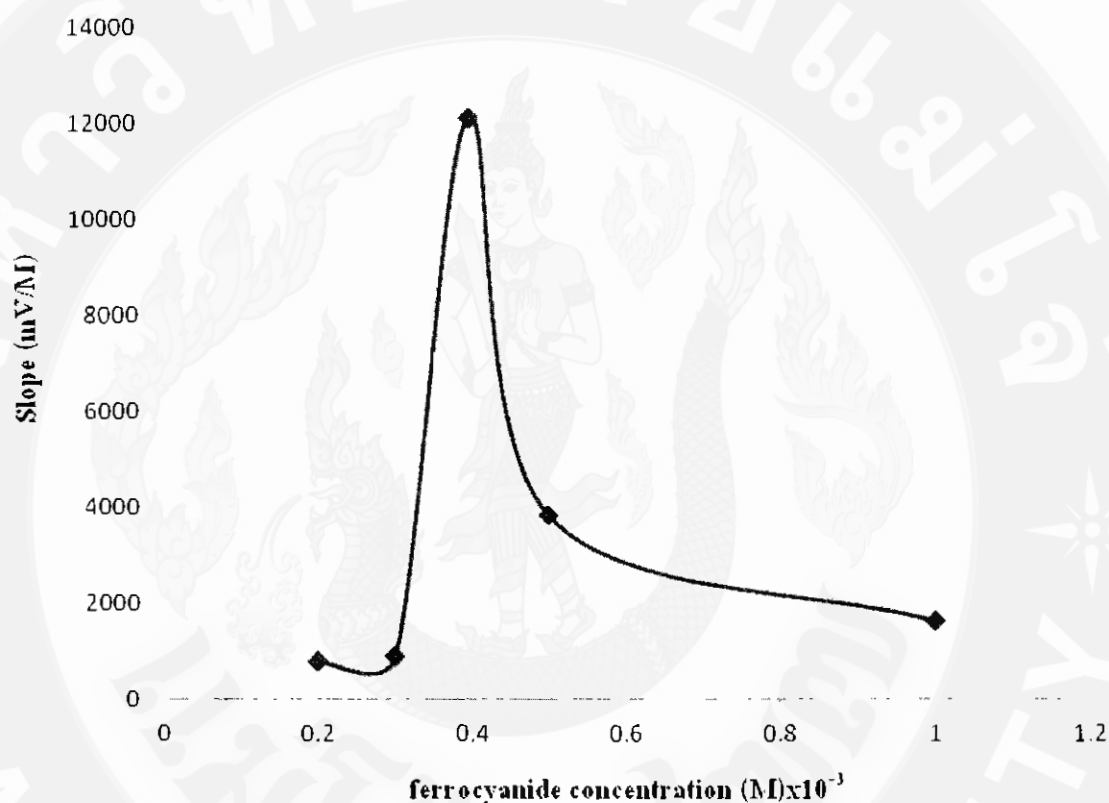


รูป 15 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายลูมินอลในกระแสอิเล็กโตร

2.3 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยนาตในกระแสอิเล็กโตร

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1 - 3.2 มาใช้ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรโซดัยนาตที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ในช่วงความเข้มข้น $2.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-3}$ โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 16

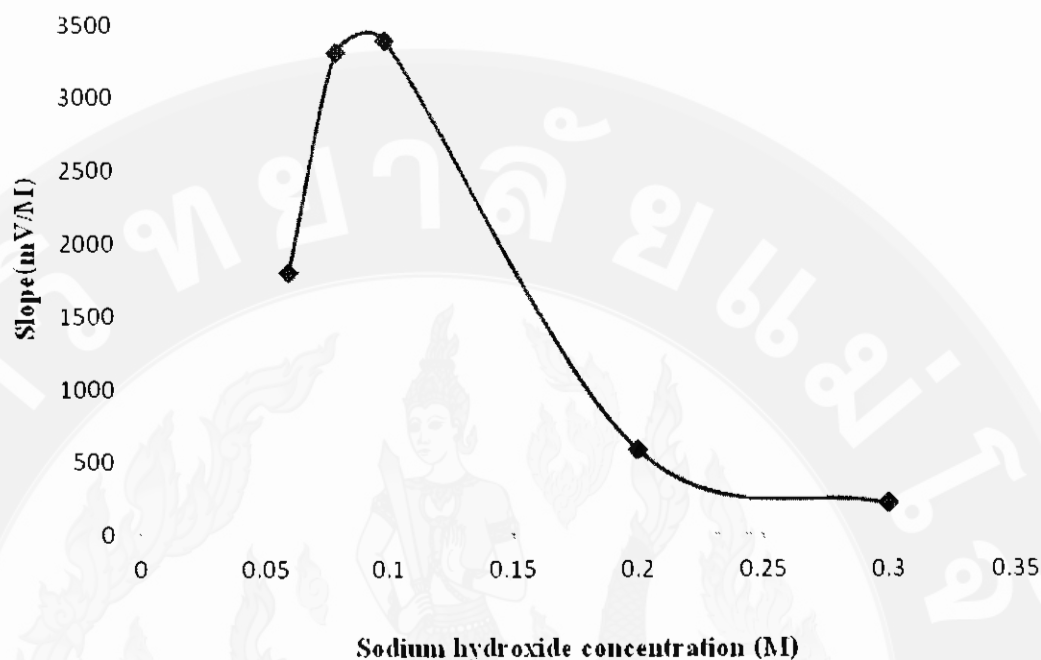
โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซค์ยาไนต์ที่ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ได้สูงสุดและทำให้กราฟมาตรฐานมีค่าความชันสูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.0×10^{-4} โมลาร์ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงจะกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซค์ยาไนต์ มีค่าเท่ากับ 4.0×10^{-4} โมลาร์



รูป 16 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซค์ยาไนต์ในกระแสรีเอเจนต์

2.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในกระแสรีเอเจนต์

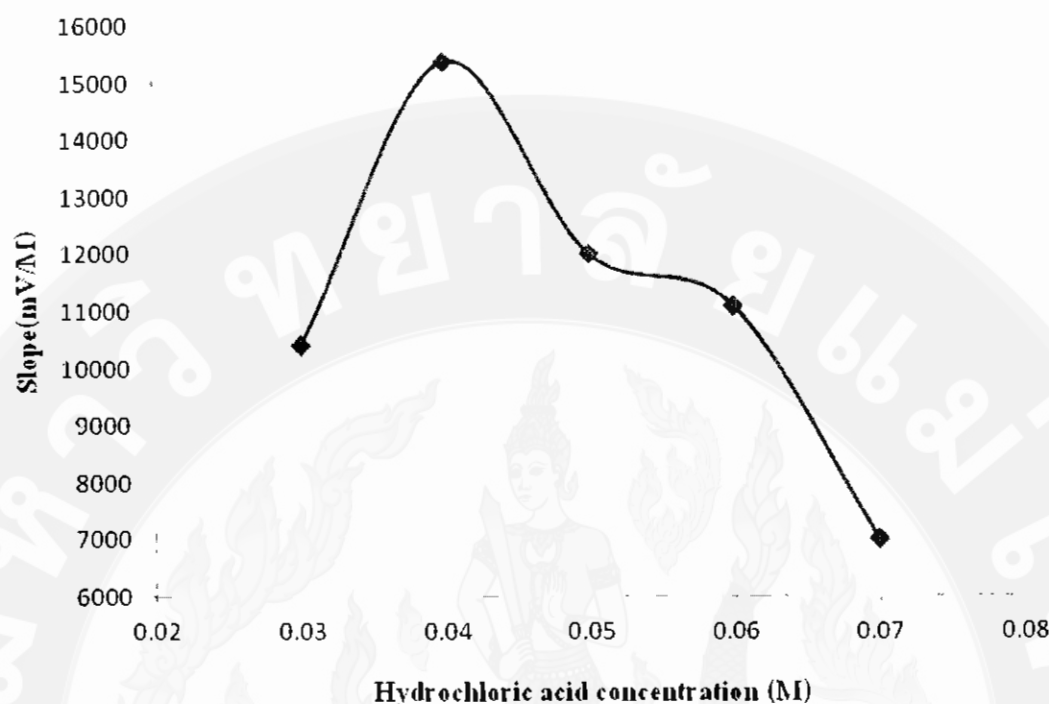
จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1 - 2.3 มาใช้ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในช่วงความเข้มข้น 0.06 - 0.30 โมลาร์ พบว่าได้ผลดังกราฟระหว่างความชันกับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่แสดงในรูป 17 ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.10 โมลาร์ ซึ่งถ้าเพิ่มความเข้มข้นให้มากกว่านี้ก็ไม่ทำให้สัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้นแต่กลับทำให้สัญญาณลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว



รูป 17 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในกระแสรีเอเจนต์

2.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในสารละลายมาตรฐาน

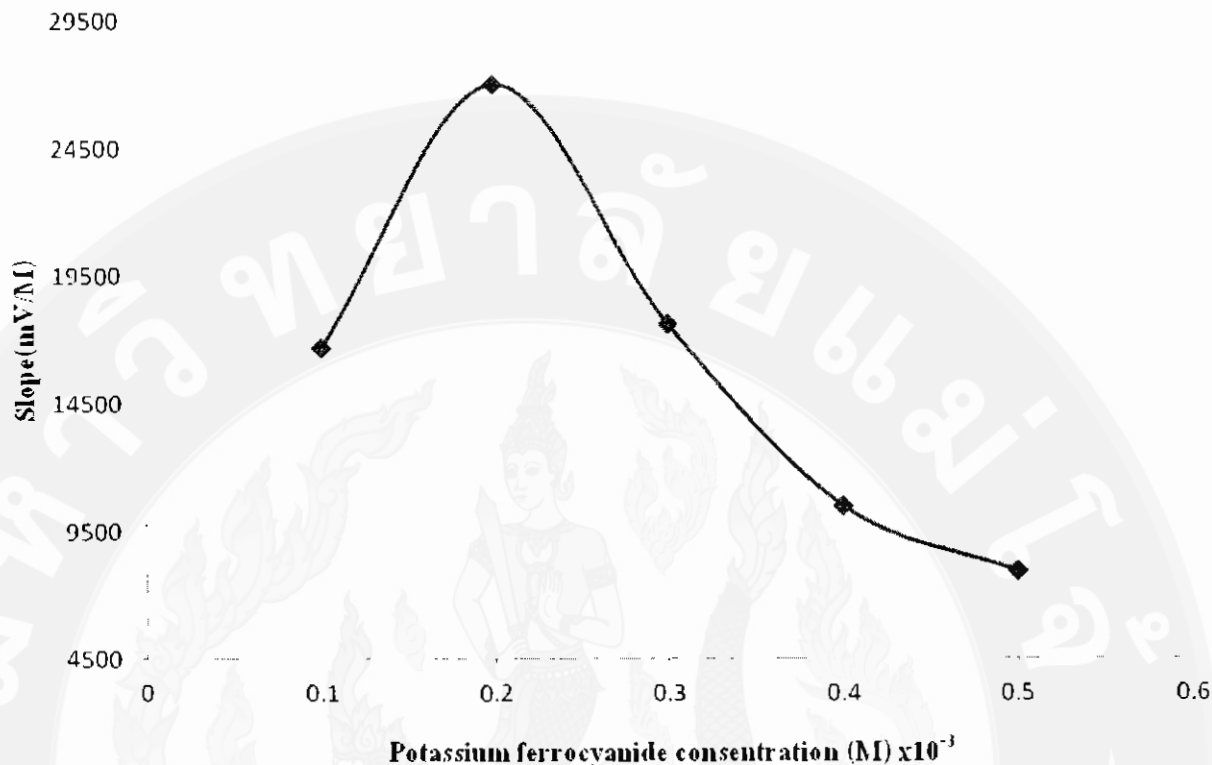
จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1-2.4 มาใช้ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ในช่วงความเข้มข้น 0.03 – 0.07 โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 18 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ที่ช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ได้สูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 0.04 โมลาร์ ถ้าเพิ่มความเข้มข้นมากกว่านี้จะทำให้สัญญาณการคายแสงและความชันของกราฟลดต่ำลง ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงจะกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก มีค่าเท่ากับ 0.04 โมลาร์



รูป 18 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในสารละลายมาตรฐาน

2.6 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซด้าไนต์ที่ใช้เดิมในสารละลายมาตรฐาน

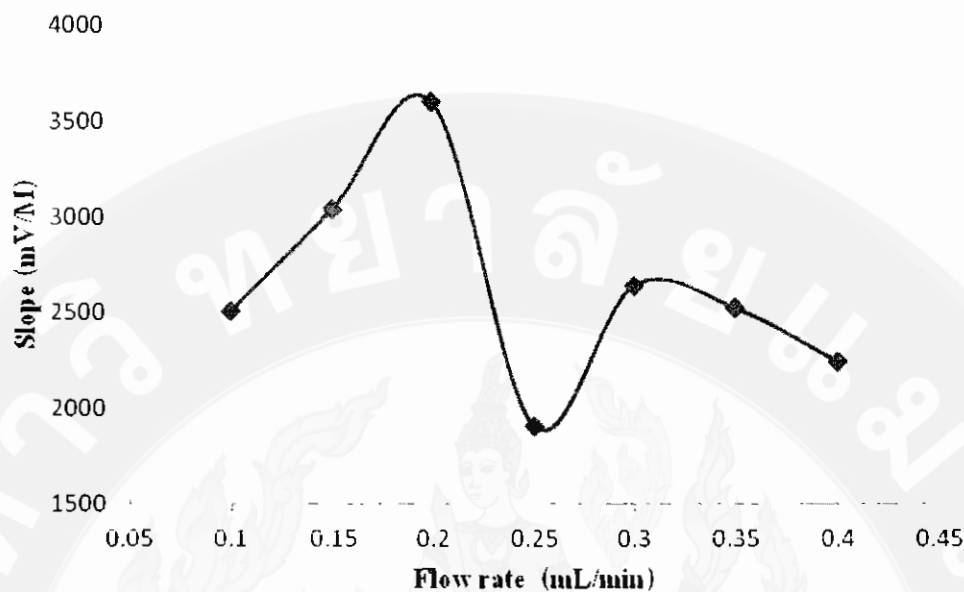
จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1-2.5 มาใช้ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซด้าไนต์ที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของสารละลายมาตรฐานในไตรท์ ในช่วงความเข้มข้น 1.0×10^{-4} - 5.0×10^{-4} โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 19 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซด้าไนต์ที่ช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ได้สูงสุดและทำให้กราฟมาตรฐานมีค่าความชันสูงสุด มีค่าเท่ากับ 2.0×10^{-4} โมลาร์ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงจะกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซด้าไนต์ มีค่าเท่ากับ 2.0×10^{-4} โมลาร์



รูป 19 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซค์ยานิคที่ใช้
เดิมในสารละลายมาตรฐาน

2.7 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวพา

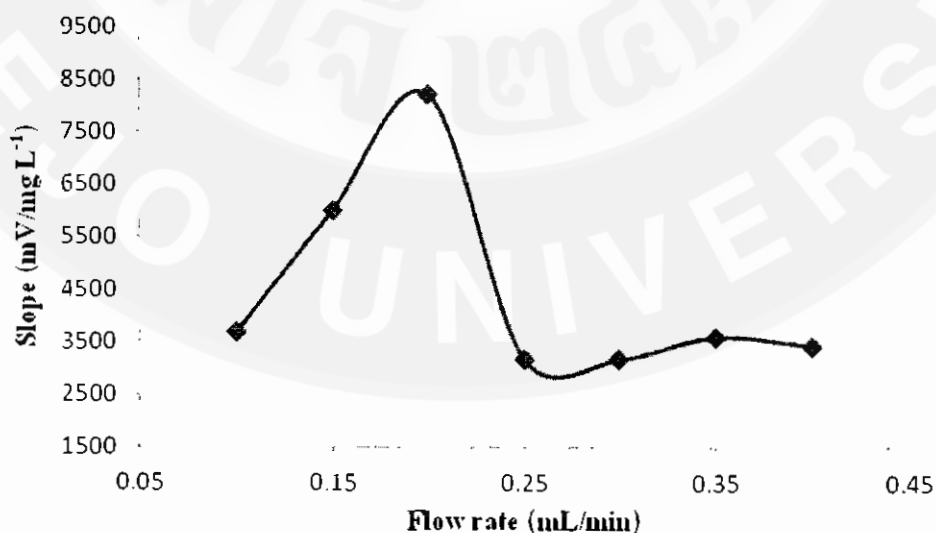
จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1-2.6 มาใช้ในการหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวพาในช่วง 0.10 - 0.40 มิลลิลิตรต่อนาที เนื่องจากอัตราการไหลเป็นปัจจัยสำคัญในการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาของเคมีลูมิเนสเซนซ์มีค่าจำกัดค่าหนึ่ง ถ้าอัตราไหลที่ใช้ไม่เหมาะสมจะไม่สามารถวัดหาแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่คายออกมาได้ด้วยเซลล์ที่สร้างขึ้น ซึ่งจากรูป 20 อัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวพาที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที



รูป 20 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวพา

2.8 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสอิเล็กโตรด

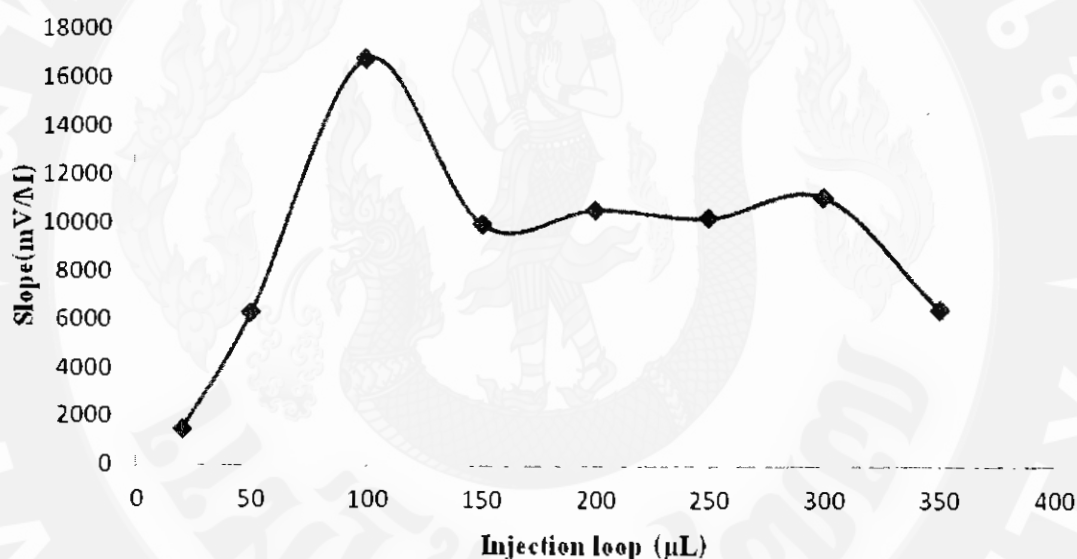
จากการศึกษาสถานะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1-2.7 มาใช้ในการหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสอิเล็กโตรด ในช่วง 0.10 - 0.40 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 21 โดยอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวพาที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกสแกนเคมีมินิเนสเซนส์ได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.20 มิลลิลิตรต่อนาที



รูป 21 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสอิเล็กโตรด

2.9 การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไประบบ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1 - 2.7 มาใช้ในการหาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไประบบในช่วง 20 - 350 ไมโครลิตร พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 22 โดยปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไประบบ ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 100 ไมโครลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับค่า sample throughput ที่ทำให้อัตราเร็วในการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อชั่วโมงมีค่าเหมาะสม และที่ปริมาณสารตัวอย่างสูงกว่า 100 ไมโครลิตร จะทำให้ประสิทธิภาพการคายแสงลดลงและทำให้ความชันของกราฟมาตรฐานมีค่าลดลง



รูป 22 การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไประบบ

2.10 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ทดสอบระบบ μ FI-CL ด้วยสารละลายมาตรฐานไนโตรที่

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเบื้องต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรที่ด้วยระบบ μ FI-CL สามารถสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมเบื้องต้นสามารถทำให้ระบบ μ FI-CL มีประสิทธิภาพสูงสุด จากปัจจัยต่างๆ ทั้งทางกายภาพและทางเคมีได้ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 4 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ทดสอบระบบ μ FI-CL ด้วยสารละลายมาตรฐานไนไตรท์

พารามิเตอร์	ช่วงการศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT (โวลต์)	700-1,000	950
กระแสอิเล็กตรอน		
ความเข้มข้นของลูมินอล (โมลาร์)	$1.0 \times 10^{-4} - 7.5 \times 10^{-3}$	2.5×10^{-3}
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฟอร์ไรไซด์ (โมลาร์)	$2.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-3}$	4×10^{-4}
ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)	0.06 – 0.30	0.10
กระแสตัวพา		
น้ำปราศจากไอออน	-	-
สารละลายมาตรฐานไนไตรท์		
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเฟอร์ไรไซด์ (โมลาร์)	$1.0 \times 10^{-4} - 5.0 \times 10^{-4}$	2×10^{-4}
ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (โมลาร์)	0.03 – 0.07	0.04
อัตราการใช้ของกระแสอิเล็กตรอนและกระแสตัวพา (มิลลิเมตรต่อวินาที)	0.10-0.40	0.20
ปริมาตรสารตัวอย่าง (ไมโครลิตร)	20-400	100

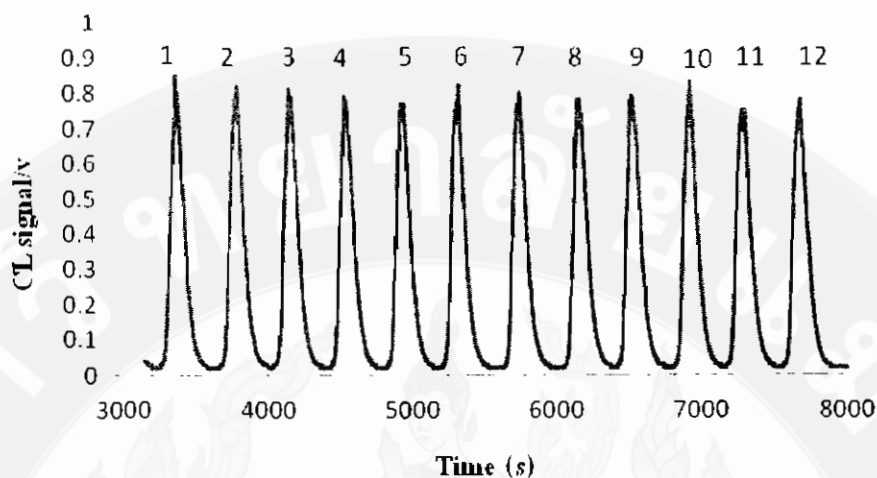
2.11 การศึกษาหาความเที่ยงของเครื่องมือและความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธีไมโครฟลูอิดิคร่วมกับเทคนิคเคมีฐานในสถานะ

2.11.1 การศึกษาหาความเที่ยงของเครื่องมือวิเคราะห์

ในการศึกษาหาความเที่ยงของเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบวิธี μ FI-CL ได้ทำการทดสอบโดยการนำสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ ที่มีสภาวะดังตาราง 3.1 จำนวน 12 ครั้ง พบว่า ได้ผลดังตาราง 5 และรูป 23 มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 3.79 ซึ่งเป็นค่าที่พอที่ยอมรับได้

ตาราง 5 ผลการศึกษาหาความเที่ยงของเครื่องมือ μ FI-CL

ครั้งที่	ค่าความสูงของพีค (V)
1	0.85
2	0.82
3	0.81
4	0.79
5	0.77
6	0.82
7	0.80
8	0.78
9	0.79
10	0.83
11	0.75
12	0.78
ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$)	0.79
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	0.03
เปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	3.79



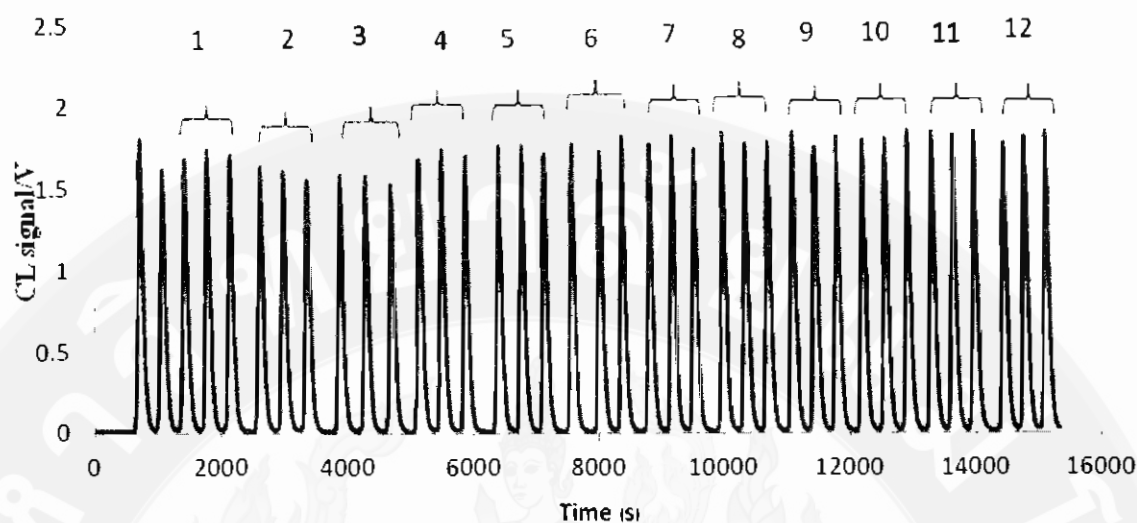
รูป 23 สัญญาณ $\mu\text{FI-CL}$ ในการศึกษาหาความเที่ยงของเครื่องมือ

2.11.2 การศึกษาหาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์

ในการศึกษาหาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์แบบวิธี $\mu\text{FI-CL}$ ได้ทำการทดสอบโดยการนำสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบที่มีสภาวะดังตาราง 4 จำนวน 12 ขวด ขวดละ 3 ครั้ง พบว่า ได้ผลดังแสดงในตาราง 6 และรูป 24 มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 5.17 ซึ่งสูงกว่า 5% ไปเล็กน้อยแต่ก็ยังเป็นค่าที่พอที่จะยอมรับได้

ตาราง 6 ผลการศึกษาหาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์แบบวิธี $\mu\text{FI-CL}$

ขวดที่	ค่าความสูงของพีก (V)
1	1.71 $\pm$ 0.03
2	1.60 $\pm$ 0.03
3	1.55 $\pm$ 0.05
4	1.71 $\pm$ 0.03
5	1.74 $\pm$ 0.03
6	1.77 $\pm$ 0.05
7	1.78 $\pm$ 0.06
8	1.79 $\pm$ 0.04
9	1.79 $\pm$ 0.50
10	1.81 $\pm$ 0.03
11	1.83 $\pm$ 0.00
12	1.83 $\pm$ 0.02
ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$)	1.74
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	0.09
เปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	5.17



รูป 24 สัญญาณ μ FI-CL ในการศึกษาหาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์

2.12 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงและกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ไนไตรท์

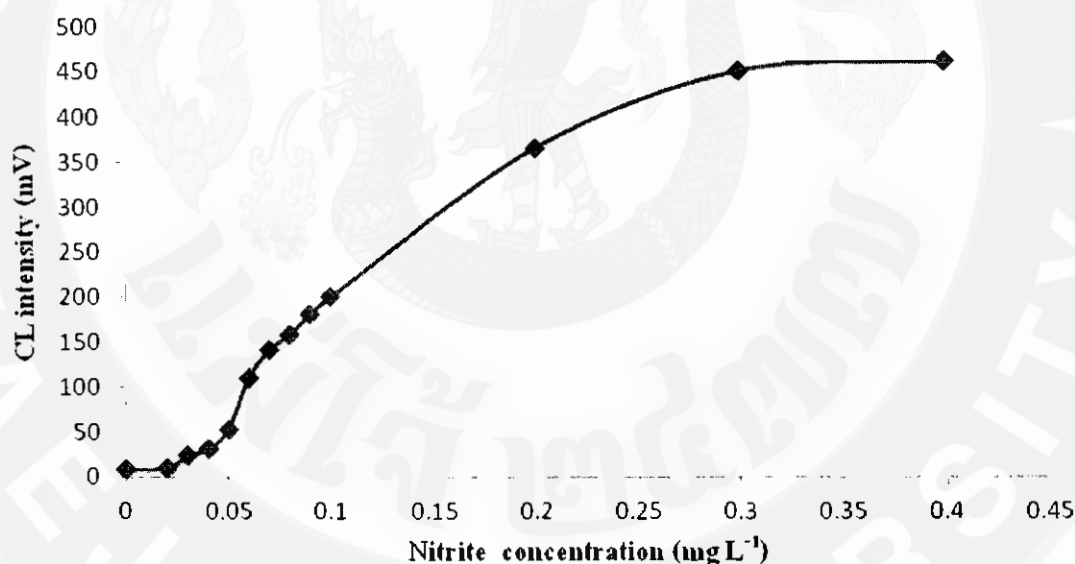
ในการหาช่วงความเป็นเส้นตรงที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยระบบ μ FI-CL ได้ทำการศึกษาโดยนำสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่มีความเข้มข้นในช่วง 0.02 – 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ ภายได้สภาวะที่เหมาะสมตามตาราง 4 พบว่าได้ผลดังแสดงในตาราง 7 และเมื่อพล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคสัญญาณกับความเข้มข้น พบว่าได้กราฟความสัมพันธ์ แสดงดังรูป 25

ตาราง 7 ผลการศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ไนไตรท์

ความเข้มข้นของไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความสูงของพีค (มิลลิโวลต์)
0.00	8.0 $\pm$ 0.00
0.02	10.0 $\pm$ 1.00
0.03	24.0 $\pm$ 1.00
0.04	31.0 $\pm$ 1.53
0.05	53.0 $\pm$ 0.58
0.06	110.0 $\pm$ 0.60

ตาราง 7 ผลการศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ไนไตรท์ (ต่อ)

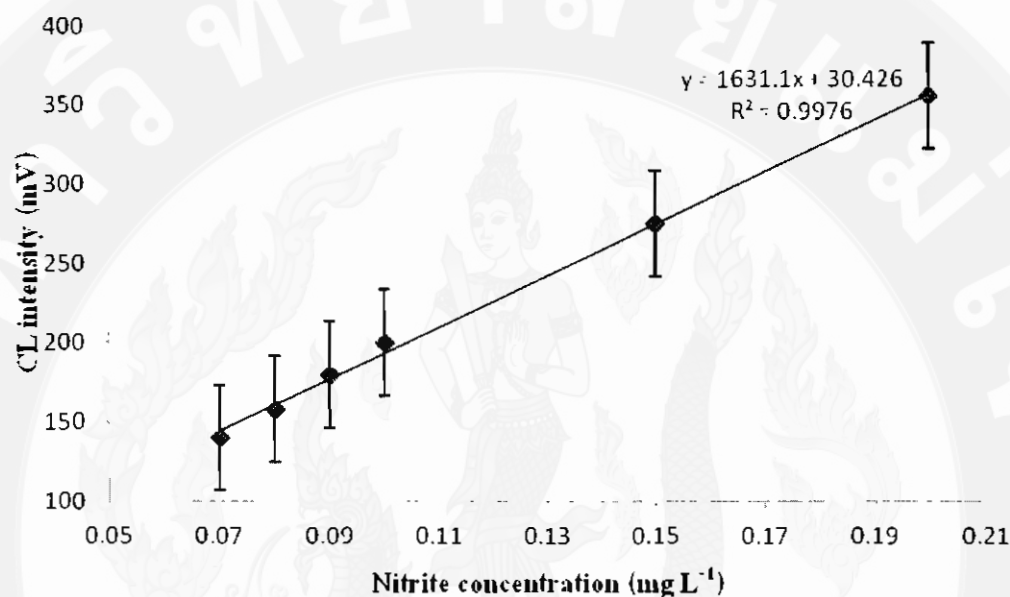
0.07	140.0±1.50
0.08	158.0±0.60
0.09	180.0±0.00
0.10	200.0±0.1
0.20	355.0±0.30
0.30	450.0±0.50
0.40	460.0±0.0.3



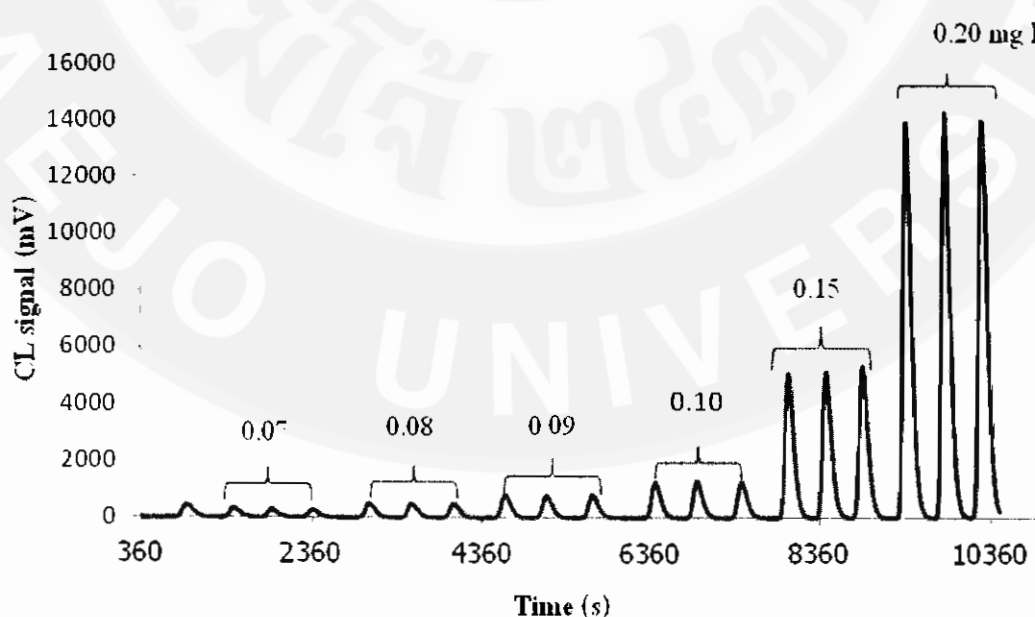
รูป 25 ผลการศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ไนไตรท์

จะสังเกตได้ว่ากราฟความสัมพันธ์ของความสูงของฟลักซ์สัญญาณที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์ มีลักษณะเป็นเส้น โค้ง ดังแสดงในรูป 25 แต่อาจจะพอกกล่าวได้ว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ไนไตรท์ด้วยเทคนิค $\mu\text{FI-CL}$ อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.07- 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อสร้างกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ระหว่างสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ (มิลลิโวลต์) กับ

ความเข้มข้นของไนไตรท์พบว่ากราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์เชิงสมการ $y = 1631.1x + 30.426$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์เท่ากับ 0.9976 ดังแสดงในรูป 26 โดยลักษณะของพิกสัญญาณของ $\mu\text{FI-CL}$ ที่ได้แสดงดังรูป 27



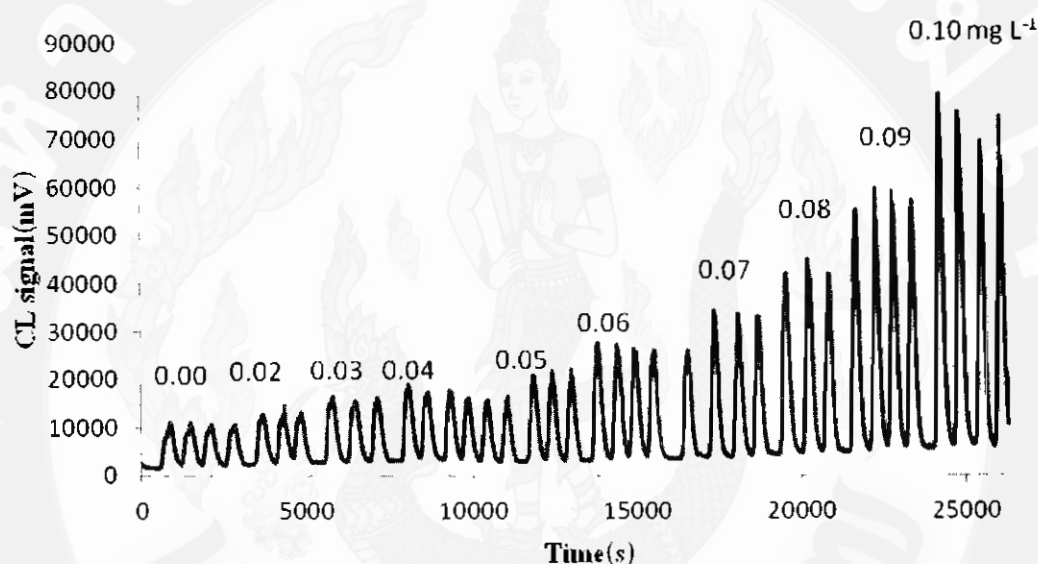
รูป 26 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาไนไตรท์



รูป 27 พิกสัญญาณ $\mu\text{FI-CL}$ ของไนไตรท์ที่ความเข้มข้นช่วง 0.07 - 0.20 mg L⁻¹

2.13 การศึกษาหาคัดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์

การหาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ทำได้โดยการนำสารมาตรฐานไนโตรที่ที่มีความเข้มข้นต่ำๆ ในช่วง 0.00 - 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบเพื่อสังเกตความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจพบฟลักสัญญาณได้ โดยพิจารณาจากความสูงของฟลักสัญญาณ เทียบกับพื้นหลังพบดังแสดงในรูป 28



รูป 28 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือในการวิเคราะห์ไนโตร

Miller & Miller (1993) ที่ได้กล่าวว่า ขีดจำกัดของการตรวจหา หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ทำกรวิเคราะห์ซึ่งสามารถให้สัญญาณเป็น 2 หรือ 3 เท่าของพื้นหลังหรือสัญญาณรบกวน ซึ่งอาจอนุมานได้จากกราฟระหว่าง signal-to-noise ratio กับความเข้มข้นของไนโตรที่ในรูป 28 ดังนั้นความเข้มข้นที่ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีสัญญาณสูงขึ้นประมาณ 3 เท่าของสัญญาณแบสค์ จึงเป็นขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ และทำให้สามารถกล่าวได้ว่าวิธี $\mu\text{FI-CL}$ ที่พัฒนาขึ้นไม่สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนโตรที่ต่ำกว่า ที่ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.14 การศึกษาอิทธิพลไอออนรบกวน

การหาอิทธิพลจากไอออนรบกวนที่สำคัญและพบได้ในธรรมชาติ ทำได้โดยการนำสารละลายในไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าเครื่อง $\mu\text{FI-CL}$ เพื่อใช้เป็นพิกเปรียบเทียบกับ จากนั้นนำสารละลายอีก 1 ขวดที่ประกอบไปด้วยสารละลายในไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายมาตรฐานของไอออนรบกวนที่จะศึกษา 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร (อัตราส่วน 1:1) มาฉีดเข้าเครื่อง $\mu\text{FI-CL}$ เปรียบเทียบพิกที่ได้กับพิกที่ใช้เปรียบเทียบ (พิกสูงหรือต่ำกว่าเกิน 5% ถือว่าเกิดการรบกวน) ทำการทดลองเช่นเดิมโดยเปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 ผลการหาไอออนรบกวนแสดงดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 ผลของการศึกษาไอออนรบกวนที่มีผลต่อการวิเคราะห์ในไตรท์

	Species	Tolerance (ratio)
ไอออนบวก	$\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$	>1:100
	Mn^{2+}	>1:100
	$\text{Fe}^{2+}, \text{Fe}^{3+}$	>1:10
ไอออนลบ	$\text{Br}^-, \text{SO}_4^{2-}$	>ไม่มีผล
	$\text{HPO}_4^{2-}, \text{HCO}_3^-$	>1:100
	Cl^-	>1:1

จากผลการทดลองพบว่า Mn^{2+} , HPO_4^{2-} , HCO_3^- มีผลทำให้พิกสูงขึ้นตั้งแต่ความเข้มข้นของ Mn^{2+} , HPO_4^{2-} และ HCO_3^- มากกว่า 1:100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Ca^{2+} , Mg^{2+} มีผลทำให้ความสูงของพิกลดลงตั้งแต่ความเข้มข้นของ Ca^{2+} , Mg^{2+} มากกว่า 1:100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Cl^- มีผลทำให้ความสูงของพิกลดลงตั้งแต่ความเข้มข้นของ Cl^- มากกว่า 1:1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไอออนที่เกิดการรบกวนมากที่สุดแม้มีในปริมาณน้อยได้แก่ Cl^- , Fe^{2+} และ Fe^{3+} ไอออนที่กล่าวมาข้างต้นจะเกิดการรบกวนต่อการวิเคราะห์ถึงแม้จะมีความเข้มข้นของไอออนรบกวนในปริมาณที่ต่ำ และไอออนที่ไม่

เกิดการรบกวนหรือไม่มีผลได้แก่ Br^- และ SO_4^{2-} แต่อาจเกิดการรบกวนต่อการวิเคราะห์ถ้าปริมาณความเข้มข้นของไอออนมีในปริมาณที่สูงๆ

2.15 การหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างอาหาร แสม กุนเชียง และแหนม ด้วยวิธี $\mu\text{FI-CL}$

จากการทดลองหาไนโตรเจนในอาหารในห้องตลาด 3 ชนิดได้แก่ แสม กุนเชียง และแหนม ด้วยวิธี $\mu\text{FI-CL}$ เทียบกับกราฟมาตรฐานไนโตรเจนที่สร้างขึ้นช่วงความเข้มข้น 0.07 – 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้ผลดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 ความเข้มข้นของไนโตรเจนในตัวอย่างอาหาร โดยวิธี $\mu\text{FI-CL}$

ตัวอย่าง	ความสูงพีก (มิลลิโวลต์)	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)
แสม	320.776	0.178 ± 0.011
กุนเชียง	229.964	0.120 ± 0.009
แหนม	292.053	0.160 ± 0.010

2.16 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างอาหาร แสม กุนเชียง และแหนม ด้วยวิธีคัลเลอรีเมตรี

การทดลองการศึกษาหาปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีคัลเลอรีเมตรี เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี $\mu\text{FI-CL}$ ซึ่งวิธีคัลเลอรีเมตรีเป็นวิธีมาตรฐานที่กำหนดโดย AOAC

2.16.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

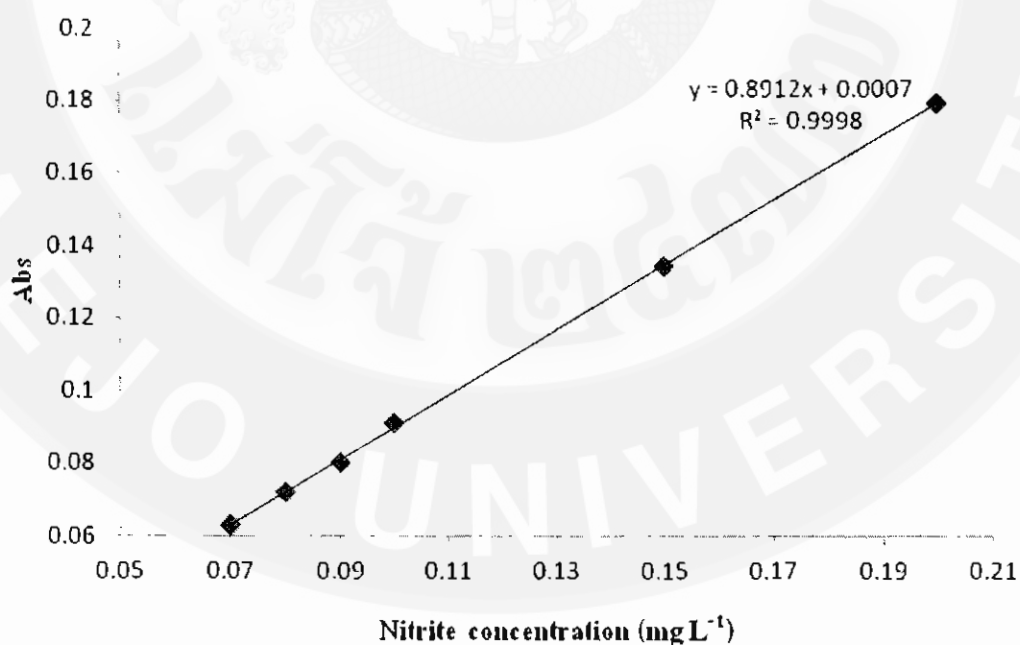
เมื่อนำสารละลายมาตรฐานไนโตรเจน ความเข้มข้น 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.15 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ได้ค่าการดูดกลืนแสงดังตาราง 10 และสามารถนำมาสร้างกราฟมาตรฐานดังแสดงในรูป 29 โดยมีสมการเส้นตรง คือ $y = 0.8912x + 0.0007$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9998

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

ตาราง 10 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยวิธีคัลเลอรีเมตรี

ความเข้มข้นของไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
0.07	0.063
0.08	0.072
0.09	0.080
0.10	0.091
0.15	0.134
0.20	0.179



รูป 29 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ด้วยวิธีคัลเลอรีเมตรี

2.16.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างอาหาร แสม กุนเชียง และแหนม

จากการทดลองหาปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธีคัลเลอรีเมตรีเพื่อใช้เป็นวิธีมาตรฐาน เทียบกับวิธี $\mu\text{FI-CL}$ ที่พัฒนาขึ้นด้วยวิธี t-test แสดงผลดังในตาราง 11 จาก t-test ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่า t-critical (2.776) ดังนั้นค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ตรวจพบจึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีมาตรฐานที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตาราง 11 การวิเคราะห์หาไนโตรเจนในตัวอย่างอาหาร แสม กุนเชียง และแหนม โดยวิธี $\mu\text{FI-CL}$ เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานคัลเลอรีเมตรี

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	วิธี $\mu\text{FI-CL}$	วิธีคัลเลอรีเมตรี	t-value
แสม	0.178 ± 0.011	0.194 ± 0.005	2.227
กุนเชียง	0.122 ± 0.009	0.108 ± 0.006	2.133
แหนม	0.160 ± 0.010	0.145 ± 0.003	2.590

2.17 การหาล้อยละการกลับคืน

การหาล้อยละการกลับคืนสามารถหาได้จากการเปรียบเทียบผลที่ได้จากวิธีการเดิมสารมาตรฐานกับวิธีกราฟมาตรฐานพบว่าในตัวอย่างมีค่าร้อยละการกลับคืนดังแสดงในตาราง 12

ตาราง 12 ร้อยละการกลับคืนของไนโตรเจนในตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานไนโตรเจนที่เติมลงใน ตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นที่ อ่านได้	ความเข้มข้นที่ กลับคืน	ร้อยละการ กลับคืน
แฮม	0.00	0.0244	-	-
	0.07	0.0947	1.0043	100.43
	0.08	0.1101	1.0712	107.12
	0.09	0.1162	1.0200	102.00
	0.10	0.1346	1.1020	110.20
	0.15	0.1837	1.0620	106.20
	0.20	0.2266	1.0110	101.10
			เฉลี่ย	104.51
กุนเชียง	0.00	0.0214	-	-
	0.07	0.0917	1.0042	100.42
	0.08	0.1009	0.9937	99.37
	0.09	0.1119	1.0055	100.55
	0.10	0.1285	1.0710	107.10
	0.15	0.1702	0.9920	99.20
	0.20	0.2339	1.0625	106.25
			เฉลี่ย	102.15

ตาราง 12 ร้อยละการกลับคืนของไนโตรเจนในตัวอย่าง (ต่อ)

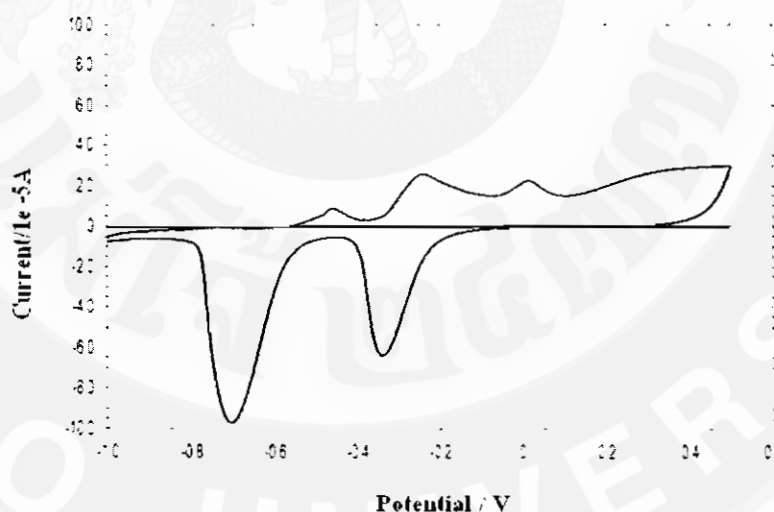
แทนม	0.00	0.0257	-	-
	0.07	0.1034	1.1100	111.00
	0.08	0.1162	1.1312	113.12
	0.09	0.1285	1.1422	114.22
	0.10	0.1407	1.1500	115.00
	0.15	0.1764	1.0047	100.47
	0.20	0.2511	1.1270	112.70
			เฉลี่ย	111.08

3. การศึกษาความเป็นไปได้ของวิธีไมโครฟลูอิดิกซ์ร่วมกับเทคนิคอิเล็กโทรเคมีมินิเซน

ในส่วนที่ 2 ได้ทำการศึกษาหาความเป็นไปได้ของวิธีไมโครฟลูอิดิกซ์ร่วมกับเทคนิคอิเล็กโทรเคมีมินิเซน เบื้องต้นได้ทำการประดิษฐ์ขั้วไฟฟ้าดัดแปร copper-thallium composite film ขึ้นโดยอาศัยพื้นฐานจากงานวิจัยของ Casella and Gatta (2004) ที่ใช้เทคนิคทางอิเล็กโทรเคมีคลรีคักชัน ในการรีดิวซ์สารประกอบไนเตรทเป็นสารประกอบไนไตรต์ โดยใช้วิธีไซคลิกโวลแทมเมตรีในสถานะที่มีตัวกลางเป็นเบส

3.1 การทดสอบคุณลักษณะของขั้วไฟฟ้าด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

จากการทดลองนำขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเปลือยที่ทำจากไส้ดินสอดูปทรงกลมที่ยังไม่ผ่านการตรึงฟิล์มและขั้วไฟฟ้าดัดแปรคาร์บอนที่ผ่านการตรึงฟิล์มคอปเปอร์เทลเลียมอิเล็กโทรดมาทดสอบคุณลักษณะด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 มิลลิโมลาร์ และสารละลายโปแตสเซียมไนเตรดเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ แล้วให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าตั้งแต่ -1 ถึง 0.5 พบว่า แท่งคาร์บอนที่ผ่านการตรึงฟิล์มคอปเปอร์เทลเลียมอิเล็กโทรด มีความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรดเป็นไนไตรต์ได้ดีกว่าแท่งคาร์บอนที่ยังไม่ผ่านการตรึง ดังแสดงในรูป 30



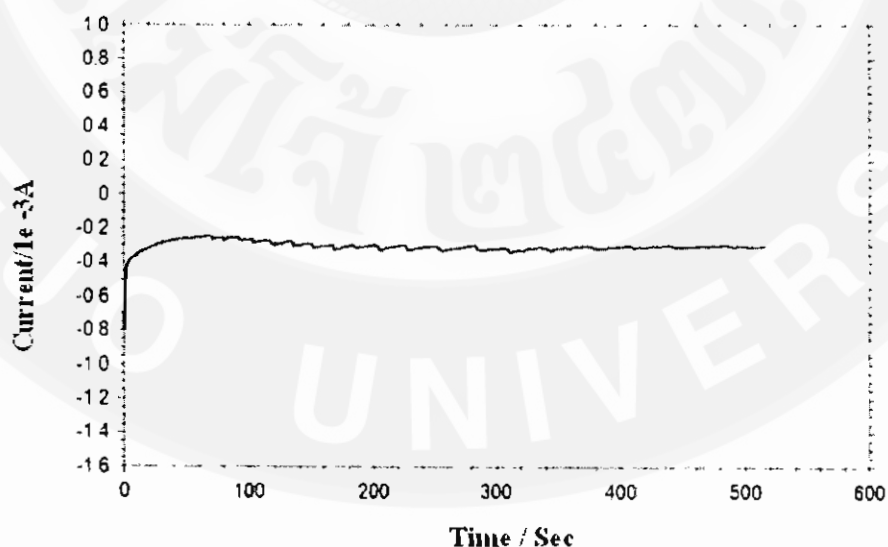
รูป 30 ไซคลิกโวลแทมเมตรีของไส้ดินสอดัดแปรที่ผ่านการตรึงฟิล์มคอปเปอร์เทลเลียม (สีน้ำเงิน) และ ไส้ดินสอดที่ยังไม่ผ่านการฟิล์มคอปเปอร์เทลเลียม (สีแดง) ที่ศักย์ไฟฟ้าช่วง -1 ถึง 0.5 ในสารละลาย 10 mM NaOH / 5 mM NO_3^- ที่ Scan rate, 50 mV s^{-1} .

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมพบว่า ช่วงการเปลี่ยนแปลงของกระแสรีดักชันและกระแสออกซิเดชันของสารประกอบไนเตรดเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่อยู่ในตัวกลางโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10

มิลลิโมลาร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเปลือย และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนที่ได้ผ่านการตรึงฟิล์มคอปเปอร์แทลเลียมจะมีช่วงการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้ามากกว่าสีแดงที่ยังไม่ได้ถูกตรึงฟิล์มคอปเปอร์แทลเลียมที่แทบจะไม่สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของ)ฏิกิริยาได้เลย จากผลการทดลองเบื้องต้นนี้ทำให้ทราบว่าฟิล์มคอปเปอร์แทลเลียมเกาะอยู่บนแท่งคาร์บอนมีส่วนที่ทำให้เกิดการรีดิวซ์สารประกอบไนเตรทเป็นสารประกอบไนไตรต์ และจะถูกนำไปทดสอบการใช้งานที่เกี่ยวกับการรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ในระบบแอมเปโรเมตริกและระบบไมโครฟลูอิดิกส์ต่อไป

3.2 การทดสอบด้วยเทคนิคแอมเปโรเมตริก

เมื่อได้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมจากวิธีไซคลิกโวลแทมเมตริกแล้ว ตรงตำแหน่ง -0.7 V ที่ปรากฏรีดักชันพีคแล้ว ได้ทำการทดสอบหาปริมาณกระแสจากการรีดักชันของไนเตรทด้วยวิธีแอมเปโรเมตริก แล้วให้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ที่ -0.7 โวลต์ โดยทำการเติมสารละลายไนเตรทมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ลงไปในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไปครั้งละ 30 ไมโครลิตร เพื่อวัดปริมาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เทียบกับปริมาณไนเตรทที่เติมลงไปได้ผลดังแสดงในรูป 31 โดยผลจากแอมเปโรแกรมแสดงว่าปริมาณของกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไนเตรทที่เติมลงไปอย่างมีนัยสำคัญ



รูป 3.31 การวัดแอมเปโรเมตริกของไนเตรทผ่านการตรึงคอปเปอร์แทลเลียมแล้วที่ค่าศักย์ไฟฟ้า -0.7 โวลต์

3.3 การศึกษาความเป็นไปได้ของวิธีไมโครฟลูอิดิกร่วมกับเทคนิคอิเล็กโทรเคมีลูมินเนสเซนซ์

การประดิษฐ์อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทด้วยการรีดิวซ์ไนเตรทด้วยคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรด มีวิธีทำการสร้างส่วนตรวจวัดชนิดไมโครฟลูอิดิกด้วยพลาสติก อะคริลิก ประกับกับพอลิเมอร์ PDMS แต่มีการเพิ่มส่วนไมโครรีแอคเตอร์ที่ทำขึ้นจากการฝังแท่งคาร์บอนในโพลีเอสเตอร์ โดยที่แท่งคาร์บอนจะถูกตรึงด้วยสารประกอบคอปเปอร์แทลเลียมในสารละลายที่เป็นเบส โดยการออกแบบชิพสำหรับไมโครฟลูอิดิกสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทด้วยคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรด ดังแสดงในรูป 32



รูป 32 การออกแบบชิพสำหรับวิธีไมโครฟลูอิดิกร่วมกับอิเล็กโทรเคมีลูมินเนสเซนซ์

เมื่อนำมาต่อเข้าสู่ระบบ μ FI-CL ดังแสดงในรูป 3.22 โดยระบบไมโครฟลูอิดิกที่พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรท ซึ่งคาดว่าคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรดจะทำหน้าที่รีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ แต่ในการทดลองของเราได้ทำการทดลองยังไม่สำเร็จตามเป้าหมาย เนื่องจากฟิล์มที่เกาะที่ผิวหน้าแท่งคาร์บอนติดได้ไม่นาน เมื่อผ่านสารละลายไปนานๆทำให้ฟิล์มหลุดและไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ตามจุดประสงค์ที่ตั้งไว้ ซึ่งต้องทำการพัฒนาเสถียรภาพการยึดติดของคอปเปอร์แทลเลียมอิเล็กโทรดต่อไป

นอกจากนั้นในการวิจัยต่อเนื่องที่อยู่ระหว่างการศึกษาค้นคว้าได้พยายามเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการอิเล็กทรอนิกส์โทรมินีสเซนส์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าตัดแปรร่วมกับสารควอนตัมดอทชนิดแคดเมียมเทลลูไรด์ (CdTe) (Liu : 2007) ในการเหนี่ยวนำให้เกิดแสงเคมิลูมิเนสเซนส์ให้มีความเข้มแสงที่มากยิ่งขึ้น ซึ่งอยู่ระหว่างการทดลองเพื่อหาสถานะที่เหมาะสมสามารถใช้งานร่วมกับขั้วไฟฟ้าตัดแปรคอปเปอร์-ทาลเลียมที่สร้างขึ้นได้

สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการวิเคราะห์สารปนเปื้อนในอาหารกลุ่มไนไตรท์-ไนเตรทในตัวอย่างอาหารแฮม กุนเชียง และแฮมมโคโดยใช้วิธี $\mu\text{FI-CL}$ เพราะวิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและสภาพไวสูง สามารถตรวจวัดปริมาณสารได้ในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ใช้สารตัวอย่างและสารที่เข้าทำปฏิกิริยาน้อย และให้ผลน่าเชื่อถือวิธี $\mu\text{FI-CL}$ ใช้วิเคราะห์ทางเคมี เช่น ทางด้านอาหารและการควบคุมการผลิตในอุตสาหกรรม หรืองานวิจัยในวิทยาศาสตร์สาขาต่างๆ สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการวิเคราะห์ คือ ความถูกต้อง ความแม่นยำ และความน่าเชื่อถือของข้อมูล

ปัจจุบันสามารถพัฒนาระบบ $\mu\text{FI-CL}$ ให้ดีขึ้นโดยใช้เทคนิคไมโครฟลูอิดิก หรือ แล็บ-ออน-ชิป ที่ช่วยย่อส่วนการทดลองให้มีขนาดที่เล็กลงแต่ยังคงมีประสิทธิภาพ และคุณสมบัติการวิเคราะห์ที่ดีเช่นเดิม ซึ่งเทคนิคดังกล่าวอาศัยหลักการในการเปล่งแสงของสารเคมีเมื่อมีการทำปฏิกิริยากันขึ้นแล้วทำการตรวจวัดปริมาณแสงที่เปล่งออกมาแล้วรายงานผลออกมาในรูปของศักย์ไฟฟ้า โดยปริมาณศักย์ไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับปริมาณสารที่เราต้องการตรวจวัด

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกรดเปอร์ออกซีไนตริก (ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากไนไตรท์เกิดปฏิกิริยากับกรดในตัวอย่างที่เป็นน้ำ) กับลูมินอล ในสภาวะด่างโดยมีโพแทสเซียมเพอร์โรไซด์ยาโนด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดเป็นสารประกอบ 3-อะมิโนฟทาเลต พร้อมกับเปล่งแสงเคมีลูมินเนสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร จากนั้นได้มีการทำการควบคุมตัวแปรหลายๆตัวแปร ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญที่จะทำให้การวิเคราะห์มีประสิทธิภาพสูงสุด เช่น ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT ความเข้มข้นของสารเคมี อัตราการไหล และปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปในระบบ เป็นต้น ซึ่งสรุปคุณลักษณะเฉพาะในการวิเคราะห์ทดสอบด้วยระบบ $\mu\text{FI-CL}$ ด้วยสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ แสดงดังในตาราง 13

ส่วนในการศึกษาผลจากไอออนรบกวนที่สำคัญซึ่งมีผลต่อการวิเคราะห์ไนไตรท์ ได้แก่ Br^- และ SO_4^{2-} ไอออนเหล่านี้จะไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ ส่วนไอออน Cl^- , Fe^{2+} และ Fe^{3+} จะมีผลต่อการวิเคราะห์แม้ว่ามีการเจือปนในระดับความเข้มข้นต่ำๆ (negative error) ส่วน Mn^{2+} , HPO_4^{2-} และ HCO_3^- ไอออนเหล่านี้จะมีผลต่อการวิเคราะห์ในระดับความเข้มข้นที่ทำให้ได้พีคสูงขึ้น (positive

error) ส่วน Ca^{2+} และ Mg^{2+} จะมีผลต่อการวิเคราะห์ในระดับความเข้มข้นที่ทำให้ได้พีคลดลง (negative error)

ตาราง 13 คุณลักษณะเฉพาะของการวิเคราะห์

คุณลักษณะ	ผลที่ได้
ช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์	0.07-0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร
ขีดจำกัดของเครื่องมือที่วัดได้ต่ำสุด	0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร
ความเที่ยงของเครื่องมือ	3.79
ความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์	5.17
อัตราการวิเคราะห์	30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง
ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้	100 ไมโครลิตร

จากการทดลองหาปริมาณไนโตรที่โดยวิธีการสร้างกราฟมาตรฐานด้วยวิธี $\mu\text{FI-CL}$ ได้ปริมาณไนโตรที่ในตัวอย่างอาหาร แสมเท่ากับ 0.178 มิลลิกรัมต่อลิตร คุณเชิงเท่ากับ 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร และแหนม 0.160 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรที่ด้วยวิธีคัลเลอรีเมตรี เป็นวิธีมาตรฐานที่กำหนดโดย AOAC และนำมาหาความเข้มข้นโดยวิธีการพามาตรฐานได้ปริมาณไนโตรที่ในตัวอย่างอาหาร แสมเท่ากับ 0.194 มิลลิกรัมต่อลิตร คุณเชิงเท่ากับ 0.108 มิลลิกรัมต่อลิตร และแหนม 0.145 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกับพบว่ามีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย อาจเกิดความผิดพลาดจากเวลาที่ใช้ในขั้นตอนตั้งแต่การเตรียมสารตัวอย่างจนเป็นสารละลายที่พร้อมฉีดสารเข้าสู่ระบบ $\mu\text{FI-CL}$ ไม่สม่ำเสมอ

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาหาความแตกต่างของข้อมูลที่ได้ทั้ง 2 วิธี ด้วยค่า t (t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95.0% และ ที่ระดับความเสรีเท่ากับ 4 ซึ่งทำการทดสอบโดยคำนวณค่า t จากผลของการทดลองทั้งสอง แล้วนำมาเปรียบเทียบกับค่า t ในตารางแจกแจงแบบที่ โดยค่า t จากตารางแจกแจงแบบที่เท่ากับ ± 2.776 จากการคำนวณค่า t ของทั้งสามตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างแสม คุณเชิง และแหนม มีค่า t เท่ากับ ± 2.227 , ± 2.133 และ ± 2.590 ตามลำดับ ซึ่งค่า t ที่คำนวณได้มีค่า

น้อยกว่า กับค่า t – critical (2.776) ดังนั้นค่าความเข้มข้นของไนโตรที่ที่ตรวจพบจึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีมาตรฐานที่ระดับความเชื่อมั่น 95.0%

จากการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์หาไนเตรทและไนไตรท์โดยวิธี μ FI-CL การทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าระบบที่ถูกพัฒนาขึ้นมานี้มีความว่องไว และมีความถูกต้องแม่นยำสูง การวิเคราะห์สามารถทำได้ง่ายและรวดเร็ว อุปกรณ์และเครื่องมือมีราคาถูก มีความประหยัดในการใช้สารรีเอเจนต์ที่มีราคาแพง เนื่องจากใช้ในปริมาณน้อย และยิ่งไปกว่านั้นยังสามารถทำการศึกษาและวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างแต่ละชนิดได้ตามวัตถุประสงค์ที่ได้วางแผนไว้ก่อนที่จะมีการทำการทดลอง และสามารถวิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับในทางสากล (Association of Official Analytical Chemists : 1990) และยังสามารถพัฒนาให้สามารถวิเคราะห์สารเคมีอื่นได้ตามความเหมาะสมของปฏิกิริยาเคมีของสารที่ต้องการวิเคราะห์