

- การพัฒนาวิธีการแยกสารแบบออนไลน์ ร่วมกับวิธีเคมีดูมิเนสเซนซ์ฟลูออโรสเปกโตรสโกปี
อะนาลิซิส สำหรับวิเคราะห์ซัลไฟต์ในอาหารหมักดอง

พรรณา พงษ์คง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
สำนักงานบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2551

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

สำนักงานบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีประยุกต์

ชื่อเรื่อง

การพัฒนาวิธีการแยกสารแบบออนไลน์ ร่วมกับวิธีเคมีฐานไมโครฟลูอิดิกส์

อะนาไลซิส สำหรับวิเคราะห์ซัลไฟด์ในอาหารหมักดอง

โดย

พรธนา พงษ์คง

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล)

วันที่ 15 เดือน ๕ พ.ศ. 2551

กรรมการที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.ภูสิต ปุณณ)

วันที่ 15 เดือน ๕ พ.ศ. 2551

กรรมการที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.สุภาพร แสงศรีจันทร์)

วันที่ 15 เดือน ๕ พ.ศ. 2551

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร

(อาจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล)

วันที่ 15 เดือน ๕ พ.ศ. 2551

สำนักงานบัณฑิตศึกษารับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.เทพ พงษ์พานิช)

ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

วันที่ 15 เดือน ๕ พ.ศ. 2551

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาวิธีการแยกสารแบบออนไลน์ ร่วมกับวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน อะนาไลซิส สำหรับวิเคราะห์ซัลไฟต์ในอาหารหมักดอง
ชื่อผู้เขียน	นางสาวพรธนา พงษ์คง
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาระบบการแยกแบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอเรชัน โฟลอินเจกชัน (พีเอฟไอ-ซีแอล) และก๊าซดิลฟิวชัน โฟลอินเจกชัน (จีดีเอฟไอ-ซีแอล) ร่วมกับการโดยตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง ซึ่งมีพื้นฐานจากการวัดการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์จากปฏิกิริยาคายแสงจากเปอร์แมงกาเนต เมื่อนี้ดสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างซัลไฟต์เข้าไปยังกระแสตัวให้กรดซัลฟิวริกแล้วเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ส่งไปยังหน่วยเพอร์วาพอเรชัน (พีเอฟไอ) หรือก๊าซดิลฟิวชัน (จีดีเอฟไอ) เมื่อก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านไปยังสารละลายกระแสตัวรับโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตในกรดฟอสฟอริก และโรดามีน บี สารละลายผสมจะไหลผ่านไปยังพบกระแสรีเอเจนต์สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสตัวรับ ที่ข้อต่อตัว ที่ และตรวจวัดการเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่คายออกมาด้วยหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ที่ตั้งค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 1.0 กิโลโวลต์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบการแยกแบบออนไลน์ ได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วง 0.5-6.0 และ 0.5-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับวิธีเพอร์วาพอเรชัน โฟลอินเจกชัน และก๊าซดิลฟิวชัน โฟลอินเจกชัน ตามลำดับ โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 2.77% และ 1.81% สำหรับสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (12 ครั้ง) มีขีดจำกัดของการวิเคราะห์เท่ากับ 0.2 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 91.1-104.8 และ 91.3-105.6 ตามลำดับ ขณะที่อัตราเร็วในการวิเคราะห์ตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 40 และ 60 ต่อชั่วโมง ได้นำวิธีการแยกแบบออนไลน์มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในอาหารประเภทหมักดอง และทำการตรวจสอบเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ดิฟเฟอเรนเชียล พลัส โพลารोगราฟิ

Title	Development of On-Line Separation Techniques Coupled with Chemiluminescence Flow Injection Analysis for Sulphite Analysis in Pickled Foods
Author	Miss Pornthana Phongdong
Degree of	Master of Science in Applied Chemistry
Advisory Committee Chairperson	Dr. Sakchai Satienperakul

ABSTRACT

In this research study, the novel pervaporation flow injection with chemiluminescence detection (PFI-CL) and gas diffusion flow injection with chemiluminescence detection (GDFI-CL) procedures were proposed as on-line separation techniques for the analysis of contaminated sulphite in pickled food samples. Both methods involve the injection of standard and/or sulphite samples solution into a sulfuric acid donor stream, which was then transported to the pervaporation module or the gas diffusion unit furnished with semi-permeable PTFE membrane. Resulting sulfur dioxide gas diffused across the semi permeable membrane into an acceptor solution containing a sodium hexametaphosphate, phosphoric acid and rhodamine B. The solution mixture then merged at a T-piece with a reagent stream consisting of potassium permanganate in sodium hexametaphosphate in phosphoric medium. The elicited chemiluminescence intensity of the resulting reaction mixture was measured at a red sensitive photomultiplier tube operated at an applied voltage of 1.0 kV. Under optimal experimental conditions where results showed that the determination of sulphite for both on-line separation techniques were investigated, linear calibration curves were observed over the concentration ranges within 0.5-6 mg L⁻¹ and 0.5-10 mg L⁻¹ of sulphite for PFI and GDFI, respectively, with relative standard deviation for 12 replicate injection at 2.77% and 1.81% for 2 mg L⁻¹ of sulfite standard solution and detection limit of 0.2 mg L⁻¹ and 0.1 mg L⁻¹. The percentage recoveries were found to be in the range of 91.1-104.8 and 91.3-105.6, respectively, while samples throughout were found to be 40 and 60 h⁻¹, respectively. The PFI procedures were proposed for application to determine the amount of sulphite in pickled foods samples and to compare with standard differential pulse polarographic method.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย เสงี่ยมพิระกุล ซึ่งเป็นประธานกรรมการที่ปรึกษา ได้ให้คำแนะนำในการวางแผนการดำเนินงานทดลอง ตลอดจนช่วยสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์ สำหรับใช้ในการดำเนินงาน จนกระทั่งงานทดลองสำเร็จ และได้กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบ แก้ไข จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ภูสิต ปุณณิ อาจารย์ ดร.สุภาพร แสงศรีจันทร์ กรรมการที่ปรึกษา และรองศาสตราจารย์ ดร.สายสุนีย์ เหลี้ยวเรืองรัตน์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ได้ให้คำแนะนำตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไขจนกระทั่งสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์อย่างสมบูรณ์

นอกจากนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนที่ได้สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการวิจัย โดยผ่านโครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี-มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สัญญาเลขที่ MRG-WII505S056

ขอขอบคุณบิดามารดาและทุก ๆ คนในครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจให้ตลอดระยะเวลาในการศึกษา

พรธนา พงษ์คง

ธันวาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
ABSTRACT	(2)
กิตติกรรมประกาศ	(3)
สารบัญ	(4)
สารบัญตาราง	(7)
สารบัญภาพ	(9)
สัญลักษณ์	(12)
บทที่ 1 บทนำ	1
การวิเคราะห์แบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส	1
ประวัติความเป็นมา	2
การพัฒนาจนถึงปัจจุบัน	2
หลักการพื้นฐานของเทคนิค FIA	3
การแพร่กระจาย (Dispersion)	5
การกระจายที่ถูกควบคุม (Dispersion controlled)	6
เทคนิคการแยกสารแบบออนไลน์	7
ก๊าซดิฟฟิวชัน (Gas diffusion)	8
เพอร์วาพอเรชัน (Pervaporation)	10
ตัวตรวจวัดที่ใช้ในระบบโฟลอะนาไลซิส	12
การตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์	13
หลักการวิเคราะห์ของเคมีลูมิเนสเซนซ์	14
ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์	19
FIA-chemiluminescence ในอนาคต	19
ข้อดี	20
ข้อมูลทั่วไปของข้อดี	21
คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (Physical and chemical properties)	21
ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา (Stability and reaction)	21
อันตรายต่อสุขภาพ	22

บทบาบทสารซัลไฟด์ในอาหาร	22
ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารซัลไฟด์ในอาหาร	23
ชนิดของอาหารที่ใช้สารซัลไฟด์	24
ปริมาณของสารซัลไฟด์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร	25
ความเป็นพิษของสารซัลไฟด์	26
วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟด์	26
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	29
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	29
ขอบเขตของการศึกษา	29
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	31
สรุปสาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง	31
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	35
สถานที่ดำเนินการวิจัย	35
ขั้นตอนการทดลอง	35
วิธีการทดลอง	38
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	59
การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ โดยเทคนิค CL-FI	59
การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน	66
การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ โดยเทคนิคก๊าซคิฟิวชัน โฟลอินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนซ์	82
การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ในอาหารหมักดองโดยวิธีคิฟิเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี (DPP)	95
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	97
วิจารณ์ผลการวิจัย	97
สรุปผลการวิจัย	100
ข้อเสนอแนะ	101
บรรณานุกรม	102

ภาคผนวก		108
ภาคผนวก ก	การคำนวณ	109
ภาคผนวก ข	ประวัติผู้วิจัย	116



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ตัวตรวจวัดที่ใช้ระบบ FIA	13
2 สภาวะการทำงานของเครื่องมือและคิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารोगาฟี	27
3 ตัวอย่างการศึกษาหาปริมาณของสารซัลไฟด์ โดยเทคนิคทาง โพลอินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนซ์	32
4 ตัวอย่างการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (on-line)	34
5 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ CL-FI	61
6 การเปรียบเทียบชนิดของกรดที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์	61
7 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ CL-FI	65
8 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบเพอร์วาพอเรนซ์ เคมีลูมิเนสเซนซ์ (PFI-CL)	68
9 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ PFI-CL	75
10 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ ด้วยระบบ PFI-CL	76
11 ผลการศึกษาไอออนรบกวน	79
12 ผลการหาปริมาณซัลไฟด์จากวิธีกราฟมาตรฐานและ การเติมสารมาตรฐาน	80
13 ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟด์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง	81
14 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ GDFI	86
15 ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานที่ได้จากวิธี GDFI-CL และ วิธี PFI-CL	87
16 ผลการศึกษาหาความถูกต้องของเครื่องมือ GDFI-CL และ วิธี PFI-CL	88
17 ผลการศึกษาหาความแม่นยำของกระบวนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GDFI-CL และ วิธี PFI-CL	90
18 ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือ GDFI-CL และ วิธี PFI-CL	92
19 การหาปริมาณซัลไฟด์ด้วยวิธีกราฟมาตรฐาน และ วิธีการเติมสารมาตรฐาน	93
20 ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟด์ในตัวอย่าง	94
21 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธีคิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगาฟี (DPP)	95

22	ผลการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในอาหารด้วยวิธีดีฟเพอเรนเซียล พัลส์ โพลารोगราฟี (DPP)	96
23	ผลการเปรียบเทียบปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักคองโดยวิธี PFI-CL และ DPP	96
24	การเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ที่ทำการพัฒนาขึ้นในระบบก๊าซดีฟฟิวชัน โพลินเจกชัน และเพอร์วพอเรชันโพลินเจกชัน	98
25	ผลการศึกษาปริมาณของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์	111
26	ผลการศึกษาปริมาณของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	112
27	ผลการศึกษาปริมาณของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	113
28	ผลการหาความเข้มข้นของซัลไฟต์ในน้ำหน่อไม้คองโดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน	114

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 แผนภาพอย่างง่ายของระบบ โฟลอินเจคชันอะนาลิซิส	3
2 รูปแบบต่าง ๆ ของการกระจายที่เกิดขึ้นของสารตัวอย่างในท่อ	4
3 การแพร่กระจายในสารตัวอย่างในระบบ FIA	5
4 กระแสการถ่ายมวลของสารตัวอย่างในก๊าซดิลฟิวชัน	8
5 หน่วยก๊าซดิลฟิวชันแบบแบนราบ (flat plate)	9
6 หน่วยก๊าซดิลฟิวชันชนิดท่อที่มีเปลือกหุ้ม (tube in a shell)	10
7 หน่วยเพอร์วาพอเรชัน (Pervaporation unit)	11
8 การคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ในสารละลายที่คงตัว	15
9 ค่าความเข้มแสงของเคมีลูมิเนสเซนซ์เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลง	15
10 ตำแหน่งของจุดสังเกตมีความสัมพันธ์กับเส้นโค้งของระยะเวลา ที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสง (emission-time curve)	16
11 ส่วนประกอบของ CL-FI	17
12 โครงสร้างของโซเดียมซัลไฟด์	20
13 ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารोगราม	28
14 ผังการจัดวางเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยวิธี CL-FIA	43
15 การต่อ spiral coil ต่อเข้ากับพีเอ็มที ภายในกล่องลูมิโนมิเตอร์	44
16 ผังการจัดวางเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยวิธี PFI-CL	47
17 ระบบการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนซ์	48
18 หน่วยแยกสารเพอร์วาพอเรชัน	48
19 การจัดเรียงเม็ด glass beads ใน donor chamber	49
20 ผังการจัดวางเครื่องมือ PFI-CL ในการศึกษาการหยุดการไหลชั่วคราว	53
21 ผังการจัดวางเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยวิธี GDFI-CL	54
22 ระบบการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยวิธีก๊าซดิลฟิวชัน โฟลอินเจคชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์	54
23 การจัดชุดอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี	57
24 ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชัน	59

ภาพ		หน้า
25	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก	62
26	ผลการศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอด PMT	63
27	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	64
28	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสดั้วพา	65
29	ระบบเพอร์วาพอเรชัน โพลินเอคชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์ (PFI-CL)	67
30	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก	69
31	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	70
32	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	71
33	ผลการศึกษาอัตราการไหลของกระแสดั้วรับและกระแสรีเอเจนต์	72
34	ผลการศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไปในระบบ	72
35	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริก	73
36	ตัวอย่าง PFI-CL gram ของสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมฟลูออโรฟอร์บางชนิด	74
37	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Rhodamine B	74
38	การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ ด้วยระบบ PFI-CL	76
39	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ PFI-CL	77
40	ตัวอย่าง PFI-CL gram ของซัลไฟด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	78
41	ระบบก๊าซคิฟิวชัน โพลินเอคชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ (GDFI-CL)	83
42	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสดั้วพา	84
43	ผลการศึกษาอัตราการไหลของกระแสดั้วให้	85
44	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ซัลไฟด์ระหว่าง GDFI-CL และ PFI-CL	87
45	ตัวอย่าง GDFI-CL gram และ PFI-CL gram ในการศึกษาหาความแม่นยำ	89
46	ตัวอย่าง GDFI-CL gram และ PFI gram ในการศึกษาหาความแม่นยำของเครื่องมือ	91
47	ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือของการวิเคราะห์ระหว่าง GDFI-CL และ PFI-CL	92

ภาพ		หน้า
48	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์ พัลส์ โพลาริกราฟี	95
49	กราฟการหาปริมาณซัลไฟต์ในน้ำหน่อไม้คอง โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน	115



สัญลักษณ์

C	ความเข้มข้นของสารตัวตรวจวัด
C ₀	ความเข้มข้นของสารตัวอย่างขณะฉีด
CFA	Continuous Flow Analysis
CL	เคมีลูมิเนสเซนซ์
CL-FI	Chemiluminescence Flow Injection
D	Diffusion coefficient
DPP	Differential Pulse Polarography
FI, FIA	Flow Injection Analysis
GDFI	Gas Diffusion Flow Injection
h ⁻¹	ต่อชั่วโมง
M	โมลาร์
mg	มิลลิกรัม
mg l ⁻¹	มิลลิกรัมต่อลิตร
ml/min	มิลลิลิตรต่อนาที
m/v	น้ำหนักต่อปริมาตร
mV	มิลลิโวลต์
nA	นาโนแอมแปร์
nm	นาโนเมตร
pH	ความเป็นกรด-ด่าง
PMT	Photomultiplier Tube
PFI	Pervaporation Flow Injection
PTFE	Poly (tetrafluoroethylene)
ppm	หนึ่งในล้านส่วน
%RSD	เปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
SD	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
v/v	ปริมาตรต่อปริมาตร
$\bar{x}$	ค่าเฉลี่ย
μl	ไมโครลิตร

บทที่ 1

บทนำ

เนื่องจากในปัจจุบัน เกิดความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอย่างไม่หยุดยั้ง ทำให้นักเคมีสนใจพัฒนาการวิเคราะห์ต่าง ๆ ขึ้น เพื่อใช้ในการติดตามตรวจสอบสารพิษ สารปนเปื้อนต่าง ๆ ทั้งในธรรมชาติ สิ่งแวดล้อมและอาหาร ตลอดจนมีการพัฒนางานวิจัยเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งงานวิจัยทางเคมีบริสุทธิ์และเคมีประยุกต์ ซึ่งรวมไปถึงการพัฒนาเทคนิคและเครื่องมือต่าง ๆ ขึ้นมามากมายเพื่อรองรับงานวิจัยใหม่ ๆ โดยเฉพาะระบบอัตโนมัติสำหรับป้อนสารตัวอย่างเข้าสู่เครื่องมือ ซึ่งมีความจำเป็นอย่างมากสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีจำนวนมาก จากร้อยถึงพันตัวอย่างหรือมากกว่า เพื่อจะได้ตรวจวิเคราะห์ด้วยความรวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่ายและได้ข้อมูลเป็นที่น่าเชื่อถือได้ ซึ่งนอกจากจะนำมาใช้ในการแก้ปัญหาทางการวิเคราะห์ที่กำลังเผชิญอยู่ในปัจจุบันแล้ว ยังเป็นเป็นพื้นฐานหรือนวัตกรรมในการวิจัยพัฒนาสิ่งใหม่ ๆ ให้เกิดขึ้น

ผลจากการพัฒนาการวิเคราะห์แบบระบบอัตโนมัตินี้สามารถใช้ในห้องปฏิบัติการที่มีงานวิเคราะห์เป็นประจำ เช่น โรงพยาบาล โรงงานอุตสาหกรรมและองค์กรต่าง ๆ ที่มีการวิเคราะห์สารตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมแล้ววิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติระบบหนึ่งที่ปัจจุบันได้รับความนิยมอย่างมากคือ Flow Injection Analysis หรือเรียกย่อ ๆ ว่า FI หรือ FIA

การวิเคราะห์แบบฟลาวินเจกชันอะนาไลซิส (วิรัช เรื่องศรีตระกูล, 2548)

ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา นักเคมีได้พยายามคิดค้นวิธีการวิเคราะห์แบบอัตโนมัติที่สะดวก รวดเร็ว ที่จะช่วยลดขั้นตอนในการทดสอบ หรือทำให้ประหยัดเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมีและสารตัวอย่างของการวิเคราะห์ลง แต่ยังคงให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และสามารถกระทำได้ทันเวลาที่ต้องการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโรงงานการผลิตเชิงอุตสาหกรรมที่ต้องมีการทดสอบคุณภาพสินค้าหรือวัตถุดิบ หรือแม้กระทั่งของเสียก่อนจะปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม จึงมีการนำระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลาวินเจกชันอะนาไลซิส (Flow injection analysis) หรือ FIA ที่พัฒนาขึ้นโดย J. Ruzicka และ E. H. Hansen (Ruzicka and Hansen, 1988) ในปี ค.ศ. 1975 มาประยุกต์ใช้ในการแก้ปัญหาดังกล่าวเนื่องจากวิธีวิเคราะห์ชนิดใหม่ที่มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีจำนวนมากได้ดี และสามารถวิเคราะห์ได้อย่างทันทั่วทั้งที่ และมีบทบาทอย่างมากในสาขาเคมีวิเคราะห์และเคมีประยุกต์ โดยยืนยันได้จากงานวิจัยมากกว่า 16,500 ฉบับในช่วง 30 กว่าปีที่ผ่านมา (Hansen, 2007: 4)

ประวัติความเป็นมา (เกตุ กรุดพันธ์, 2539: 9)

ประวัติความเป็นมาของเทคนิคโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส หรือ เอฟไอเอ (FIA) นั้น ได้มีผู้ตีพิมพ์ผลงานแสดงความคิดเห็นตามแนวคิดของตนเองซึ่งแตกต่างกันออกไปในแต่ละบุคคล

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

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

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

การพัฒนาจนถึงปัจจุบัน (เกตุ กรุดพันธ์, 2539: 9)

จากการค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค FIA พบว่า การพัฒนาเทคนิค FIA ถึงปัจจุบันอาจแบ่งได้เป็น 3 ช่วงใหญ่ ๆ ด้วยกันคือ

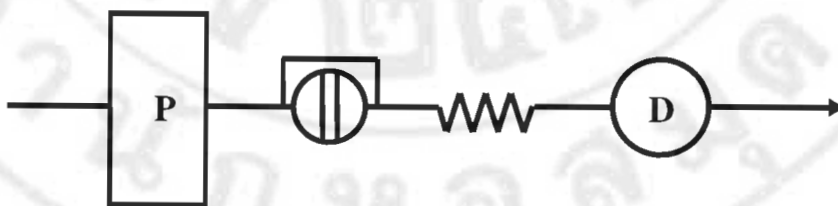
ในช่วงแรก (ระหว่างปี ค.ศ. 1975-1981) เป็นช่วงที่เกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิค FIA เพื่อให้เป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อน ที่มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ โดยอัตโนมัติของเทคนิคต่าง ๆ ที่มีความคล้ายคลึงกับที่ใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่เป็นของเหลว

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

ในช่วงที่สาม ซึ่งเริ่มจากปัจจุบัน เป็นช่วงที่เอฟไอเอนั้นได้รับการพัฒนาให้เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่สำคัญและมีประสิทธิภาพสำหรับสารเคมีที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคและทำให้เกิดความเป็นไปได้สำหรับการออกแบบระบบอัตโนมัติสำหรับการควบคุมในการวิเคราะห์และควบคุมกระบวนการในทางอุตสาหกรรม และเพื่อศึกษาจลนศาสตร์และกลไกของปฏิกิริยาทางเคมี ตลอดจนถึงกระบวนการต่าง ๆ ทางกายภาพ เคมี ในสารละลาย

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

หลักการพื้นฐานของเทคนิค FIA (Flowinstrument, no date.)



ภาพ 1 แผนภาพอย่างง่ายของระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส

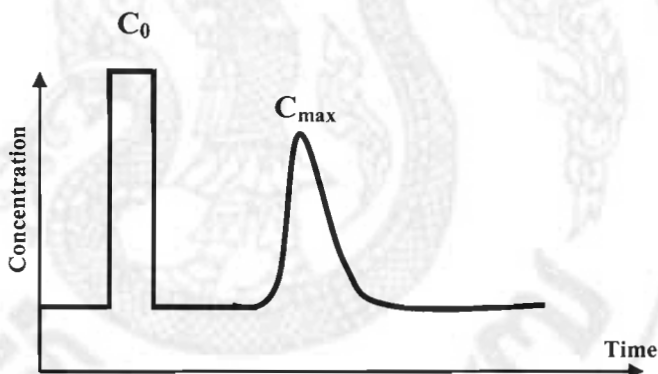
โฟลอินเจกชันอะนาไลซิส (FIA) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีอย่างอัตโนมัติชนิดใหม่ (Continuous Flow Analysis; CFA) ซึ่งอาศัยหลักการไหลอย่างต่อเนื่องดังภาพ 1 แสดงแผนภาพอย่างง่ายของระบบ FIA ซึ่งทำโดยฉีดสารตัวอย่างปริมาณน้อย ๆ เข้าไปในกระแสตัวพาที่ไหลด้วยอัตราการไหลคงที่อย่างต่อเนื่องภายในท่อซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กสารตัวอย่างจะเข้าผสมกับกระแสตัวพาแล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหรือทางเคมีขึ้นและสามารถวัดการเปลี่ยนแปลงของตัวอย่างได้ เช่น การดูดกลืนแสง การเปลี่ยนค่าของกระแสไฟฟ้า ความเป็นกรด

การแพร่กระจาย (Dispersion) (Informavorld, no date.)

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

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

เมื่อ C_o และ C แทนความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ในสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปในระบบ FIA และความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ที่จุดตรวจตามลำดับ D สามารถหาได้โดยการฉีดสารละลายตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้น C_o เข้าไปในระบบ FIA วัดค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างในขณะที่ถูกตรวจวัด (C) ในระบบ FIA โดยแสดงการแพร่กระจายดังภาพ 3



ภาพ 3 การแพร่กระจายในสารตัวอย่างในระบบ FIA

การแพร่ (D) เป็นสัดส่วนโดยตรงกับ อัตราการไหล ความยาวของท่อ และขนาดหรือ ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ฉีด เมื่อฉีดสารตัวอย่างปริมาณมาก การแพร่จะมีค่าเป็น 1 ภายใต้สถานะเช่นนี้จะไม่มีการผสมของสารตัวอย่างกับการในกระแสตัวพาเกิดขึ้น จึงไม่มีการแพร่ของสารตัวอย่างเกิดขึ้นด้วย ในการวิเคราะห์โดยวิธี FIA ส่วนมากต้องการให้มีปฏิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับกระแสตัวพาเกิดขึ้น ซึ่งในกรณีนี้การกระจาย หรือ D จะมีค่ามากกว่า 1 เสมอ

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

การกระจายที่ถูกควบคุม (Dispersion controlled)

เมื่อศึกษาเกี่ยวกับการกระจายตัวของสารตัวอย่างในกระแสตัวพาซึ่งอาจเป็นรีเอเจนต์หรือตัวทำละลาย เข้าสู่เครื่องตรวจวัดชนิดใด ๆ สารตัวอย่างจะมีการกระจายตัว 3 ลักษณะคือ

1. การกระจายตัวแบบจำกัด (limited dispersion) มีการกระจายตัวของ sample zone น้อยมาก (D มีค่าอยู่ระหว่าง 1-3) พบมากในการวิเคราะห์ห่อหุ้มประกอบเดิมโดยป้องกันให้เกิดการแพร่ น้อยที่สุด เช่นต้องการหาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) การนำไฟฟ้า หรือ ionic strength ของสารตัวอย่าง สารละลายที่ใช้เป็นกระแสตัวพานี้จะไม่มีผลกระทบต่อวิเคราะห์สารตัวอย่างแต่อย่างใด เพียงแต่ทำหน้าที่เป็นตัวพาสารตัวอย่างเข้าสู่เครื่องตรวจวัดตามต้องการเท่านั้น การกระจายตัวของ sample zone แบบนี้เหมาะสำหรับใช้วิธีวิเคราะห์สาร โดยใช้ส่วนตรวจวัดชนิดอะตอมิก แอ็บซอร์พชันสเปกโทรสโคปี อินดักทีฟส์คัลลิเบรพลาสมา หรือใช้กับระบบ FIA ที่ใช้เครื่องตรวจวัดชนิดไฟฟ้าเคมี

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

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

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ไม่จำเป็นต้องเกิดอย่างสมบูรณ์เสมอไป สิ่งที่สำคัญคือสถานะ

ที่ใช้ในการทดลองทั้งของสารละลายมาตรฐาน และสารตัวอย่างต้องเหมือนกันทุกประการ คือ residence time อุณหภูมิ และการแพร่ของสารจะต้องคงที่

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

อย่างไรก็ตามในบางการทดลองในขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างพบว่า ในการใช้สารเคมีเพื่อเป็นรีเอเจนต์ในการสกัดแยกสารตัวอย่างเพื่อติดตามตรวจสอบสารปนเปื้อนหรือสารมลพิษต่างๆ เหล่านั้น ในบางครั้งกลับมีการใช้งานสารเคมีที่มีพิษมากกว่าสารที่ต้องการทดสอบเสียอีก บางครั้งมีขั้นตอนต่าง ๆ ซับซ้อนในการเตรียมตัวอย่างเพื่อให้เหมาะสมกับเครื่องมือวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ดังนั้นจึงได้มีผู้พยายามคิดค้นวิธีใหม่ ๆ มาเพื่อลดขั้นตอนการวิเคราะห์และลดการใช้งานสารเคมีเหล่านั้นให้น้อยลง โดยเฉพาะในขั้นตอนการสกัดแยกสารตัวอย่างที่สนใจออกจากเมทริกซ์หรือสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่าง ซึ่งเป็นที่มาของเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) แบบต่าง ๆ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ที่พัฒนามาจากวิธีฟิสิกส์เจเนอรัล-ซิส โดยมีหลักการที่อาศัยการผสมสารละลายรีเอเจนต์ที่เหมาะสม กับตัวอย่างเพื่อให้สารตัวอย่างเปลี่ยนสถานะไปเป็นสารเคมี ที่สามารถถูกสกัดด้วยตัวทำละลายหรือแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านบางชนิด หรือ กระบวนการทางกายภาพอื่น ๆ ก่อนถูกส่งไปยังตัวตรวจวัดที่เหมาะสมต่อไป ซึ่งตัวตรวจวัดที่นิยมใช้เช่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ หรือเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมี เป็นต้น

เทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) จะช่วยลดขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างที่ยุ่งยากและสามารถลดสารเคมีและสารตัวอย่างลงได้มาก ซึ่งย่อมช่วยทำให้มีของเสียจากการทดสอบน้อยลงเช่นเดียวกัน

นอกจากนี้เทคนิคการแยกแบบออนไลน์ มีโอกาสพัฒนาต่อยอดเป็นเครื่องมือภาคสนาม ขนาดกระทัดรัด ที่มีราคาไม่สูงมาก ที่หน่วยงานหรือสถานประกอบการขนาดเล็กสามารถสร้างขึ้นหรือซื้อหามาใช้ในงานประจำของตนเองได้ โดยยังคงประสิทธิภาพของเครื่องมือที่สร้างขึ้นเอง เหล่านี้ให้มีความสามารถในการติดตามสารปนเปื้อนที่มีอยู่ในปริมาณน้อยๆ (trace analysis) ได้

เทคนิคการแยกสารแบบออนไลน์ (Online separation) (Informaworld, no date.)

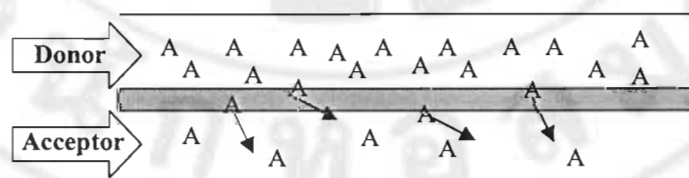
การแยกสารแบบออนไลน์ เป็นระบบการแยกสารหรือการเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างในระบบที่มีการไหลอย่างต่อเนื่องโดยในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการต่าง ๆ ในการแยกสาร

แบบออนไลน์ ขึ้นมากมาย อาทิเช่นการใช้คอลัมน์ชนิดแลกเปลี่ยนไอออนขนาดเล็ก (Ion-exchange microcolumn) การสกัดด้วยสารละลาย (solvent extraction) ไดอะไลซิส (dialysis) ก๊าซดิฟฟิวชัน (gas diffusion) และเพอร์วาพอเรชัน (pervaporation) เป็นต้น ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะช่วยให้การวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนสูง เช่นตัวอย่างที่มีสาร โมเลกุลใหญ่ สารแขวนลอย สารที่มีฤทธิ์กัดกร่อนสูง สามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยระบบ FIA ได้โดยตรงโดยไม่จำเป็นต้องผ่านการเตรียมตัวอย่างขั้นตอนก่อนแต่อย่างใด ทำให้การวิเคราะห์สามารถทำได้ง่ายสะดวกมากยิ่งขึ้น

ก๊าซดิฟฟิวชัน (Gas diffusion) (Globalfia, no date.)

วิธีก๊าซดิฟฟิวชันเป็นเทคนิคการแยกสารตัวอย่างแบบหนึ่งที่ต้องอาศัยการละลายและการแพร่ของตัวอย่างที่อยู่ในสถานะก๊าซหรือสามารถเปลี่ยนให้อยู่ในภาพของก๊าซโดยปฏิกิริยาทางเคมีได้ โดยใช้เยื่อเลือกผ่าน (gas membrane permeable) ในการแยก ซึ่งเทคนิคก๊าซดิฟฟิวชันจะอาศัยการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านของสารตัวอย่างบางชนิดที่ระเหยได้ง่าย วิธีการนี้ไม่เพียงแต่ใช้สำหรับแยกก๊าซที่ละลายได้เท่านั้นแต่ยังใช้สำหรับคัดแยกสารปนเปื้อนอื่น ๆ ออกจากระบบได้อีกด้วย วิธีก๊าซดิฟฟิวชัน โพลินเจกชันมีรายงานครั้งแรกโดย Banden Huijsen และ Deuren-Jacobs เพื่อใช้ในการแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในพลาสติกและเลือด (Baadenhuijsen and Seuren-Jacobs, 1979: 443) และตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

โดยวิธีก๊าซดิฟฟิวชันถูกออกแบบมาเพื่อใช้กับการส่งถ่ายมวล (mass transfer) ด้วยกระแสการไหล 2 กระแส ที่ถูกแยกออกจากกัน โดยใช้เยื่อเลือกผ่านแผ่นบาง ๆ ที่มีการแพร่ผ่านของสารตัวอย่างผ่านรูพรุนของเยื่อเลือกผ่านซึ่งสามารถอธิบายได้ดังภาพ 4



ภาพ 4 กระแสการถ่ายมวลของสารตัวอย่างในก๊าซดิฟฟิวชัน (Globalfia, no date.)

จากในภาพ 4 จะมีกระแสการไหลหนึ่งเรียกว่ากระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งสามารถเป็นได้ทั้งของเหลวหรือก๊าซก็ได้ ส่วนอีกกระแสเรียกว่ากระแสตัวรับ (receptor stream หรือ acceptor stream) ซึ่งภายในกระแสตัวให้ จะประกอบด้วยสารตัวอย่างหรือรีเอเจนต์ที่ไหลอยู่ภายใน ซึ่งเมื่อฉีดสารเคมีบางอย่างเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ภายในกระแสตัวให้สารตัวอย่างหรือผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในสถานะก๊าซที่ละลายอยู่จะเกิดการเลือกผ่าน (semi-permeable) แพร่ผ่านเยื่อเลือก

ผ่านเข้าสู่กระแสตัวรับได้โดยมีสารบางตัวเท่านั้นที่จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน โดยวิธีการถ่ายมวล ไปยังสารละลายที่อยู่ในกระแสตัวรับได้

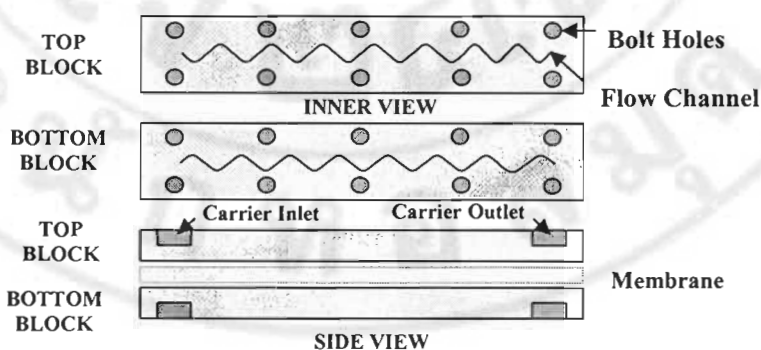
เนื่องจากโดยทั่วไปมีเพียงก๊าซส่วนน้อยเท่านั้นที่จะแพร่ผ่านได้ แต่เมื่อผ่านเยื่อเลือกผ่านไปแล้วก๊าซดังกล่าวจะถูกดักจับด้วยสภาวะทางกายภาพหรือทางเคมีด้วยอัตราคงที่ จึงสามารถนำมาใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณได้อย่างถูกต้อง

ชนิดความแตกต่างของเยื่อเลือกผ่านที่ใช้ศึกษาการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านสำหรับระบบ FIA มีอยู่หลายชนิด แต่ส่วนใหญ่ที่พบว่ามีการใช้งานมีอยู่ 3 ชนิด ดังนี้คือ

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

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

ชนิดของระบบเยื่อเลือกผ่านที่ใช้ในหน่วยก๊าซดิฟฟิวชันและการออกแบบหน่วยก๊าซดิฟฟิวชัน ได้ถูกตีพิมพ์เผยแพร่ในงานวิจัยหลายฉบับ แต่ส่วนใหญ่ที่นิยมใช้จะเป็นชนิดแบบราบ (flat plate) หรือชนิดท่อที่มีเปลือกห่อหุ้ม (tube in a shell) โดยตัวอย่างการออกแบบหน่วยก๊าซดิฟฟิวชันชนิดแบนราบ แสดงดังภาพ 5

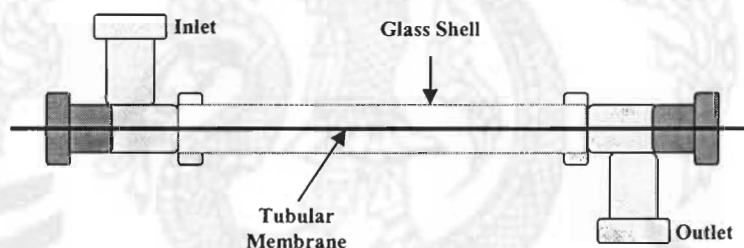


ภาพ 5 หน่วยก๊าซดิฟฟิวชันแบบแบนราบ (flat plate) (Globalfia, no date.)

การใช้เยื่อเลือกผ่านกั้นระหว่างกระแสตัวให้ซึ่งอยู่ข้างหนึ่งของหน่วยก๊าซดิฟฟิวชัน และอีกข้างหนึ่งเป็นกระแสตัวรับโดยสารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในกระแสของกระแสตัวให้ซึ่งมีรีเอเจนต์บางชนิดละลายอยู่ และเมื่อเกิดปฏิกิริยาขึ้นสารตัวอย่างจะแพร่ผ่านรูพรุนบนเยื่อเลือกผ่านไป

ยังกระแสดำรับและทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ในกระแสดำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งสามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงนี้ได้โดยใช้เครื่องตรวจวัดที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพต่าง ๆ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยคิเทคเตอร์หลากหลายตามความเหมาะสม ปัจจัยการละลายและการแพร่ของสารตัวอย่างของระบบก๊าซคิฟิวชันแบบราบนี้ขึ้นอยู่กับปริมาตรของสารตัวอย่างที่ถูกฉีด ความหนาของเยื่อเลือกผ่านพื้นที่หน้าตัดของเยื่อเลือกผ่าน ขนาดของช่องในเยื่อเลือกผ่าน และอัตราการไหลของกระแสดำพาในกระแสดำให้กับกระแสดำรับ

ส่วนหน่วยก๊าซคิฟิวชันชนิดท่อที่มีเปลือกหุ้ม (tube in a shell) แสดงดังภาพ 6 หน่วยก๊าซคิฟิวชันชนิดนี้จะใช้ fiber membrane ชนิดที่เป็นท่อกลวงที่มีเปลือก (shell) ล้อมรอบซึ่งโดยทั่วไปกระแสดำรับจะถูกปั๊มผ่านท่อภายใน (hollow fiber) และกระแสดำให้จะถูกปั๊มผ่านเปลือกหุ้ม (shell) ซึ่งล้อมรอบอยู่ภายนอก



ภาพ 6 หน่วยก๊าซคิฟิวชันชนิดท่อที่มีเปลือกหุ้ม (tube in a shell) (Globalfia, no date.)

เพอร์วaporation (Pervaporation) (สุเมธ บุญเกิด, ม.ป.ป.)

วิธีเพอร์วaporation ถูกค้นพบโดย Kober ในปี ค.ศ. 1917 และได้มีการศึกษาพัฒนาต่อเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน คำว่า pervaporation นั้นมาจากคำว่า permeation และ evaporation (การซึมผ่านและการระเหยเป็นไอ) วิธีเพอร์วaporationนี้ เป็นกระบวนการที่อาศัยเยื่อเลือกผ่านในการแยกสาร โดยใช้เยื่อเลือกผ่านที่มีรูพรุน คล้ายคลึงกับวิธีก๊าซคิฟิวชัน

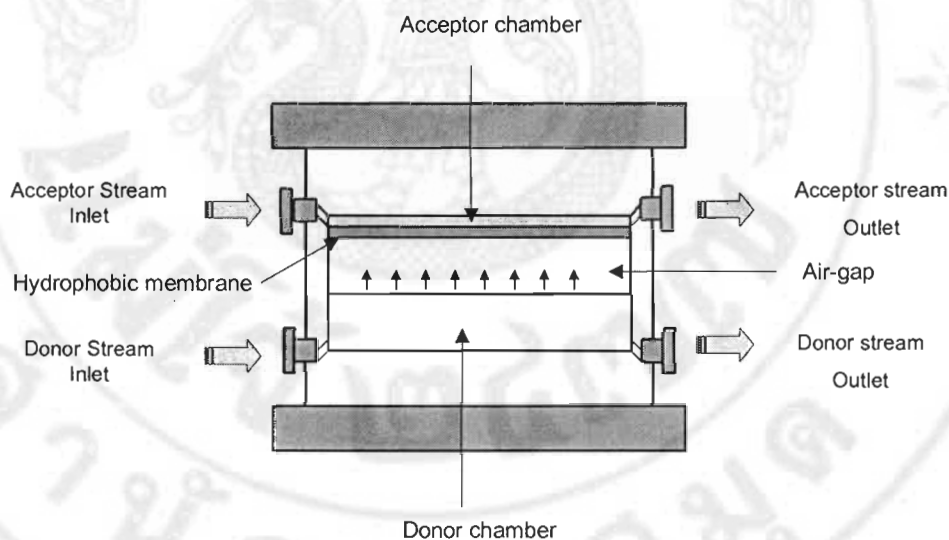
แต่ในการแยกโดยใช้วิธีเพอร์วaporationนั้น จะมีขั้นตอนการแยกบริเวณเยื่อเลือกผ่านที่แตกต่างจากวิธีก๊าซคิฟิวชัน อยู่ 3 ขั้นตอนคือ

1. กระบวนการดูดซับของสารตัวอย่างสู่เยื่อเลือกผ่าน
2. กระบวนการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน
3. กระบวนการคายหรือระเหยสารตัวอย่างออกจากเยื่อเลือกผ่านสู่ภายนอก

โดยสารที่ผ่านเยื่อเลือกผ่านออกมาจะอยู่ในสภาพไอ เนื่องจากความดันขาออกมีค่าต่ำกว่าความดันไออิ่มตัวขาเข้า การทำให้ความดันต่ำลงนั้น สิ่งสำคัญในวิธีนี้คือเยื่อเลือกผ่านจึงต้องเลือก

เยื่อเลือกผ่านที่เหมาะสมโดยชนิดของเยื่อเลือกผ่านแบ่งเป็น hydrophilic membrane ซึ่งใช้แยกน้ำออกจากสารละลายอินทรีย์ และ hydrophobic membrane ซึ่งใช้แยกสารอินทรีย์ออกจากน้ำ

การแยกสารที่สนใจออกจากตัวอย่างแบบออนไลน์โดยอาศัยวิธีที่เรียกว่าเพอร์วาพอเรชัน นั้นเป็นวิธีการแยกด้วยเยื่อเลือกผ่านที่ถูกพัฒนาขึ้นจากวิธีก๊าซดิสพิวชัน โดยกลุ่มนักเคมีชาวสเปน เพื่อใช้แยกสารที่ระเหยได้หรือระเหยได้บางส่วน (volatile and semi-volatile) ออกจากตัวอย่างที่สกปรกหรือมีการปนเปื้อนสูง เช่นตัวอย่างที่มีสารลดแรงตึงผิว สารกักร่อนรุนแรง สารโมเลกุลใหญ่ หรืออนุภาคขนาดใหญ่ที่แขวนลอยอยู่ในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งไม่อาจวิเคราะห์ได้ด้วยวิธีก๊าซดิสพิวชันแบบธรรมดา เนื่องจากสารปนเปื้อนเหล่านี้มีผลทำให้เกิดการเสียดสีสภาพของเยื่อเลือกผ่าน หรือทำให้เกิดการอุดตันของรูพรุนในเยื่อเลือกผ่าน ทำให้ประสิทธิภาพในการแยกด้อยลง โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันนี้จะช่วยป้องกันการเสียดสีสภาพของเยื่อเลือกผ่าน เนื่องจากมีช่องอากาศ (air-gap) ระหว่างผิวหน้าของกระแสน้ำของตัวอย่างและเยื่อเลือกผ่านดังภาพ 7



ภาพ 7 หน่วยเพอร์วาพอเรชัน (pervaporation unit)

จากข้อดีที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สารตัวอย่างบางชนิดที่มีการปนเปื้อนสูงไม่สัมผัสกับเยื่อเลือกผ่านโดยตรง ทำให้สามารถฉีดสารตัวอย่างที่สกปรกลงในการเสกตัวพาได้โดยตรง เมื่อสารที่สนใจในสารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่เหมาะสมในกระแสน้ำพา ก็จะทำให้สารที่สนใจเปลี่ยนไปอยู่ในสภาพก๊าซ แพร่ผ่านช่องอากาศ (air gap) ที่ผิวหน้าของสารตัวอย่างแล้วค่อยซึมผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสน้ำพาอีกกระแสน้ำ ทำหน้าที่นำสารที่สนใจเข้าสู่เครื่องตรวจวัดที่เหมาะสมต่อไป

การนำวิธีเพอร์วาพอเรชันไปใช้งานนี้ จะสามารถประยุกต์ใช้งานในด้านต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. การแยกน้ำ (dehydration) เป็นการแยกน้ำจากของเหลวอินทรีย์ เช่น การแยกน้ำออกจากแอลกอฮอล์ (ethanol, isopropanol)
 2. การแยกสารอินทรีย์ออกจากสารละลายของสารอินทรีย์-น้ำ เช่น การแยกฟีนอลออกจากน้ำทิ้ง การแยกสารให้กลิ่นรส
 3. การแยกสารอินทรีย์จากสารผสมอินทรีย์ เช่น *o*-xylene, *p*-xylene เป็นต้น
- โดยสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ใน 2 ข้อหลังต้องมีคุณสมบัติระเหยกลายเป็นไอหรือสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นและในผลิตภัณฑ์ที่กลายเป็นไอได้ดี
- จากคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้น จึงทำให้กระบวนการแยกสารแบบเพอร์วาพอเรชันสามารถแก้ปัญหาในการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สกปรก เช่น ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม หรือตัวอย่างอาหารที่มีเมทริกซ์ปนเปื้อนมากได้เป็นอย่างดี

ตัวตรวจวัดที่ใช้ในระบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส (เกตุ กรุดพันธ์, 2539)

สิ่งสำคัญอีกประการหนึ่งที่จะทำให้การวิเคราะห์แบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สนใจได้อย่างจำเพาะเจาะจงและมีสภาพไวสูง คือการเลือกใช้ตัวตรวจวัดที่เหมาะสมกับสารตัวอย่างที่สนใจศึกษา ระบบในการตรวจวัดโดยเทคนิค FIA จะทำการตรวจวัดปริมาณของสารตัวอย่างโดยอาศัยสมบัติใดสมบัติหนึ่งของสารตัวอย่าง สมบัติของเครื่องตรวจวัดสัญญาณของระบบ FIA จะต้องมีสมบัติดังนี้

1. มีการตอบสนองที่รวดเร็ว
2. มีความจำเพาะ
3. มีสัญญาณรบกวนต่ำ และมีความไวสูง
4. สัญญาณที่ได้จากเครื่องตรวจวัดจะต้องไม่ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ อัตราเร็วของการไหล และอื่น ๆ
5. มีความแม่นยำ และให้สัญญาณที่เสถียร
6. ให้สัญญาณที่เป็นสัดส่วนเชิงเส้นกับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง
7. มีขนาดกะทัดรัด
8. มีภาพแบบที่ไม่ซับซ้อน

โดยตัวตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสามารถอาศัยทั้งทางการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงทางเคมี โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่เหมาะสม ซึ่งในปัจจุบันมีเครื่องตรวจวัดหลายชนิดที่นำมาใช้งานได้กับระบบ FIA ได้ดังตาราง 1 สามารถทำให้

วิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลากหลายชนิดแล้วยังสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างในปริมาณที่มีอยู่น้อย ๆ ได้อีกด้วย

ตาราง 1 ตัวตรวจวัดที่ใช้ระบบ FIA (เกตุ กรุดพันธ์, 2539)

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

โดยตัวตรวจวัดส่วนใหญ่ที่ใช้ทางสเปกโทรสโกปี และการตรวจวัดคุณสมบัติทางไฟฟ้า มักจะมีความจำเพาะที่ต่ำ และมีความไวต่ำ และมีสัญญาณรบกวนสูง และมีขนาดที่ใหญ่ ดังนั้น ปัจจุบันจึงมีการพัฒนาใช้เทคนิคการตรวจวัดที่มีความจำเพาะสูง แม่นยำ และมีการตอบสนองที่รวดเร็วและมีภาพแบบที่ไม่ซับซ้อนขึ้น โดยตัวตรวจวัดที่กำลังเป็นที่นิยมในปัจจุบัน คือเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์ ซึ่งสามารถวัดได้ถึงระบบไมโครกรัมหรือนาโนกรัมได้ดี

การตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์

เคมีลูมิเนสเซนซ์ (Harvey, 1957) หมายถึง คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีโดยอาจเป็นรังสีอัลตราไวโอเลต วิสิเบิล หรือ รังสีอินฟราเรดก็ได้ การเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์นั้น จะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานจากสถานะกระตุ้นไปยังสถานะพื้นของโมเลกุลหรือไอออน ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยปฏิกิริยาทางเคมีแล้วมีการปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งก็คล้ายกันกับกระบวนการทำงานของโฟโตลูมิเนสเซนซ์ (photoluminescence)

ความน่าสนใจในการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ ก็คือความสามารถในการสร้างโมเลกุลที่จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาได้โดยไม่ต้องมีการกระตุ้นด้วยการฉายรังสีก่อน ซึ่งจะช่วยให้หลีกเลี่ยงปัญหาเกี่ยวกับการเบี่ยงเบนจากแสงรบกวน รวมไปถึงปัญหาทางด้านการกระตุ้นให้เกิดแสง และความไม่เสถียรของแหล่งกำเนิดแสงอีกด้วย

โดยทั่วไปการวิเคราะห์และการนำไปใช้ประโยชน์ของเคมีลูมิเนสเซนซ์ในตัวกลางที่เป็นของเหลว จะสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ ประเภทแรกเป็นกระบวนการเกิดปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์แบบทั่วไป โดยจะเป็นการใช้ประโยชน์จากการเกิดปฏิกิริยาของสารฟลูออโรฟอร์บางชนิดเช่น luminol, acridinium esters, peroxyoxalates, dioxetanes และ tris(2,2'-bipyridyl) ruthenium(II) ส่วนประเภทที่สองเป็นประเภทที่มีความเกี่ยวข้องกันกับปฏิกิริยาชนิด oxidant-analyte ซึ่งจะเป็นสารตั้งต้นโดยตรงที่ใช้ในกระบวนการปลดปล่อยแสง เคมีลูมิเนสซ์ ดังที่เรียกว่า “direct CL determination” เคมีลูมิเนสเซนซ์แบบนี้ที่สำคัญ คือการเกิดออกซิเดชันของเปอร์แมงกาเนต (MnO_4^-) เป็น Mn (II)

หลักการวิเคราะห์ของเคมีลูมิเนสเซนซ์ (Zamora, et al. 2001: 4301)

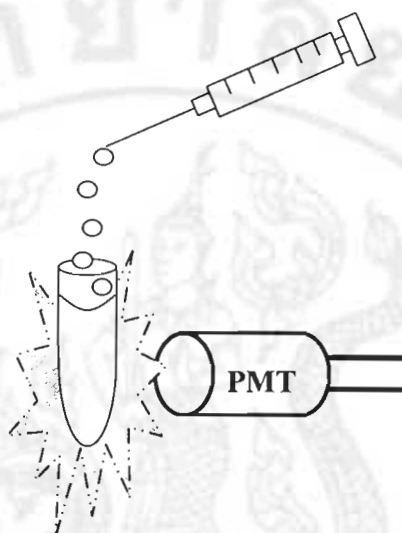
หลักการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยทั่วไปแล้วจะอาศัยการก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่สามารถปลดปล่อยพลังงานแสงที่มีความเข้มข้นสูงออกมาอย่างต่อเนื่องในระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งจากปฏิกิริยานี้จะทำให้สามารถศึกษาหรือวัดค่าความเข้มของแสงที่ปลดปล่อยออกมาได้โดยอาศัยเครื่องมือหรือวิธีการง่าย ๆ ไม่ซับซ้อน โดยจะสามารถวัดค่าความเข้มของแสงได้ด้วยหลอดวัดแสง (photomultiplier tube; PMT) เพราะว่าแหล่งกำเนิดแสงจะอยู่ในสารเคมีที่ในการทำปฏิกิริยาอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นที่จะต้องใช้เครื่องแยกแสงความยาวคลื่นเดียว เพื่มาแยกความแตกต่างของช่วงความยาวคลื่น เหมือนดังเช่นในกระบวนการตรวจวัดขั้นสูงที่อยู่ในเครื่องมือหลายชนิด โดยระบบการตรวจวัดจะมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อลดขั้นตอนลงให้น้อยที่สุด ไม่ว่าจะเป็นกระบวนการแบบใช้แรงงานคนหรือกระบวนการแบบอัตโนมัติ เช่น การเติมรีเอเจนต์ การรวบรวมและประมวลผลข้อมูล เป็นต้น

วิธีวัดค่าของแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ มีอยู่ 2 แบบ คือ

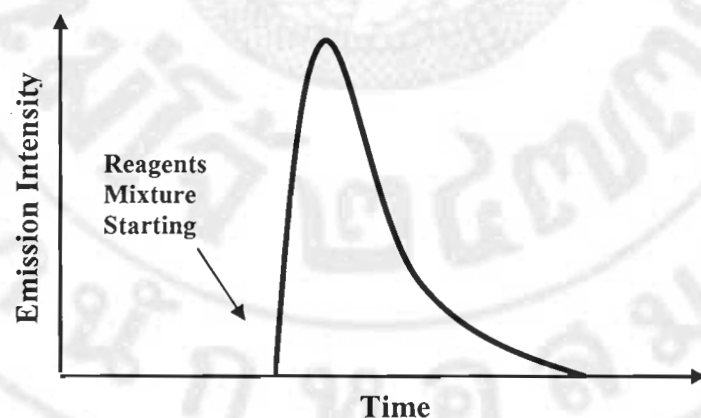
1. ทำการวัดค่าในสารละลายที่คงตัว (static solution)

จะมีการผสมแค่ส่วนของรีเอเจนต์ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่คายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์และตัวอย่างเท่านั้น จากนั้นจึงนำเอาตัวอย่างที่ได้ใส่ในคิวเวตต์ แล้วนำเข้าช่องตรวจวัดของลูมิโนมิเตอร์ (luminometer chamber) ที่มีส่วนของหลอด เป็นส่วนประกอบ โดยใช้หลอดชนิดเป็นตัวฉีดยาสารเคมีที่ทำให้เกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์หรือไบโอลูมิเนสเซนซ์ลงไปผสมในคิวเวตต์โดยในภาพ 8 และในภาพ

9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ในช่วงเวลาที่มีการทำปฏิกิริยา ความสูงของเส้นโค้งหรือพื้นที่ใต้เส้นโค้งเป็นผลมาจากความเข้มข้นของตัวอย่างในทางกลับกันส่วนของความกว้างหรือส่วนของเส้นโค้งก็จะสามารถให้เป็นตัวแปรของการวิเคราะห์ได้



ภาพ 8 การคายเคมีลูมิเนสเซนซ์ในสารละลายที่คงตัว

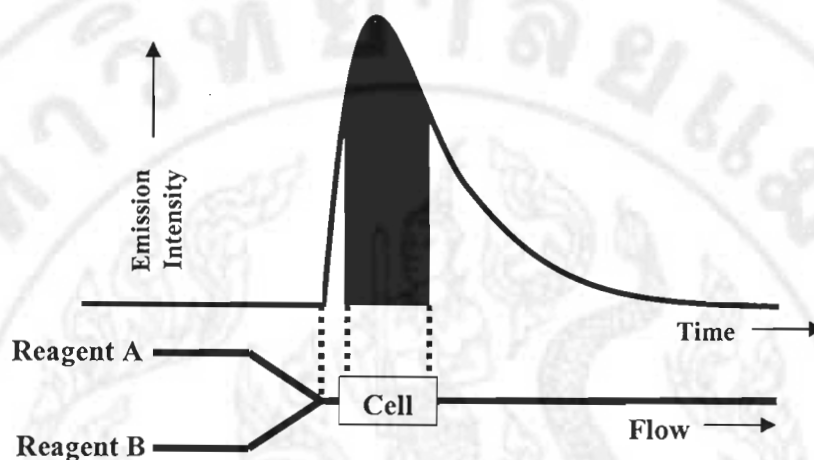


ภาพ 9 ค่าความเข้มแสงของเคมีลูมิเนสเซนซ์เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลง Alwarthan et al. (1986: 635.)

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

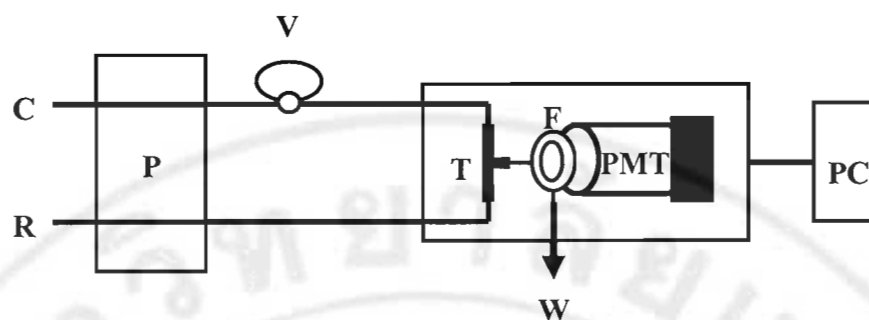
รีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์และสารตัวอย่างนั้น จะถูกส่งผ่านช่องทางที่แยกกันอยู่ และจะไปผสมกันก่อนที่จะถึงส่วนของตัวตรวจวัด โดยจะมีการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่อง ดังภาพ 10 และต้องการศึกษาตรงช่วงก่อนหน้าที่มีการผสม และหลังมีการผสมกัน เพื่อให้การทำปฏิกิริยากัน

ของสารทั้งสองเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ โดยจะมีการนำเอาค่าความแตกต่างระหว่างก่อนทำปฏิกิริยา และหลังการเข้าทำปฏิกิริยารวมไปถึงอัตราการไหลมาใช้ในการคำนวณค่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาและรวมไปถึงค่าการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของแสงในช่วงเวลาทำปฏิกิริยาอีกด้วย



ภาพ 10 ตำแหน่งของจุดสังเกตมีความสัมพันธ์กับเส้นโค้งของระยะเวลาที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสง (emission-time curve) ในกระบวนการวัดค่าของเคมีลูมิเนสเซนซ์ แบบ Flow-through โดยพื้นที่ส่วนแรเงาใต้เส้นโค้งหมายถึงส่วนที่ตรวจจับของการปล่อยพลังงาน Alwarthan et al. (1986: 635)

ส่วนประกอบที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ในระบบที่มีการไหลแบบต่อเนื่องของเคมีลูมิเนสเซนซ์ คือ ส่วนผสม (reagent mixing chamber) เซลล์ (flow cell) เครื่องตรวจวัดสัญญาณ (photodetector หรือ photomultiplier tube และส่วนรวบรวมและจัดการข้อมูล (electronic data acquisition and processing device) โดยอุปกรณ์อื่นๆ อาจออกแบบให้มีหน้าที่ต่าง ๆ กัน รวมถึงอุปกรณ์สำคัญข้างต้นจะสามารถนำมาใช้สำหรับวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ หรือไบโอลูมิเนสเซนซ์ได้ ซึ่งตามความเป็นจริงแล้วในการวิเคราะห์แบบ FIA นั้นมักจะมีการปรับปรุงพัฒนาเครื่องมือให้มีความเหมาะสมกับงานอยู่แล้ว



ภาพ 11 ส่วนประกอบของ CL-FI : P= peristaltic pump: S= sample: T= T-shaped connector:

F= flat coil cell: PMT= photomultiplier tube: W= waste Alwarthan et al. (1986: 635)

ในภาพ 11 แสดงให้เห็นถึงการติดตั้งระบบ FIA พื้นฐานสำหรับการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยตัวอย่างจะถูกนำเข้าไปยังกระแสตัวพาโดยมีการปรับค่า pH ให้เหมาะสม จากนั้นจะให้รีเอเจนต์ผ่าน ไปผสมกับตัวอย่างที่ข้อต่อตัว T ซึ่งจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์อย่างรวดเร็ว ระหว่างรีเอเจนต์และตัวอย่าง โดยที่รีเอเจนต์และตัวอย่างจะต้องมาผสมกันให้ใกล้เคียงบริเวณตรวจวัดค่า (flow through cell) ให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ในสถานะที่มีระดับพลังงานจลน์อยู่ระดับพื้น จากนั้นจะทำการวัดค่าพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาโดยอาศัยหลอด PMT ที่เชื่อมต่อกับอุปกรณ์ในการรวบรวมข้อมูล ซึ่งจะสามารถวัดค่าของเคมีลูมิเนสเซนซ์ได้ภายในเวลาแค่เสี้ยววินาทีที่หลังจากมีการผสมกันของตัวอย่างกับรีเอเจนต์ ซึ่งตรงจุดนี้จะเป็นประโยชน์มากในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของพลังงานจลน์ในการเกิดปฏิกิริยาและการปลดปล่อยพลังงานแสงที่ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว

ในส่วนของการ stop-flow mode นั้น เมื่อทำการผสมรีเอเจนต์และตัวอย่างแล้ว จะมีการกักสารทั้งสองที่กำลังทำปฏิกิริยากันอยู่ไว้ที่ส่วนเซลล์ ทำการวัดค่าเพื่อจะนำไปใช้ในการสร้างกราฟเส้นโค้งของค่าความเข้มแสงกับเวลา ข้อมูลทางจลนศาสตร์จะได้มาจากการวิเคราะห์ผลจากเส้นโค้งคือดูจากอัตราส่วนของความสูงของเส้นโค้งและช่วงลาดลงของเส้นโค้ง ค่าที่ได้มีความจำเพาะและละเอียดมากกว่าการดูความสูงของเส้นโค้งหรือพื้นที่ใต้เส้นโค้งเพียงอย่างเดียว

ถ้าหากการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์และวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส มาให้ร่วมกันก็จะเกิดผลดีเป็นอย่างมาก เนื่องมาจากความไวของการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีอยู่สูง รวมไปถึงความจำเพาะของวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส หรือแม้กระทั่งการใช้งานเคมีลูมิเนสเซนซ์กับวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวที่ใช้ซิลิกาเป็นตัวกลาง

การออกแบบเซลล์ก็มีความหลากหลายมากและมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ แม้ว่าตามความเป็นจริงแล้วการวางตำแหน่งของเซลล์และระยะห่างกับตัว

ตรวจวัดค่าจะไม่แตกต่างกันนัก แต่ลักษณะการออกแบบที่ใช้กันมากในการวิเคราะห์แบบ FIA จะเป็นแบบเกลียวในแนวราบ (flat spiral) ซึ่งจะมีการจัดวางให้อยู่ใกล้ส่วนของหลอด PMT ให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้

สิ่งที่จำเป็นมากสำหรับการออกแบบเซลล์ก็คือ จะต้องให้ปฏิกิริยานั้นปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาให้มีค่าความเข้มข้นสูงสุดในขณะที่สารตัวอย่างนั้นอยู่หน้าตัวตรวจวัดค่า เพราะว่าการเกิดปฏิกิริยานั้นจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการใช้เซลล์ควรเลือกใช้ชนิดที่มีปริมาตรที่เหมาะสม จึงจะส่งผลให้ปฏิกิริยาขึ้นสู่จุดสูงสุดจนสามารถวัดค่าได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ซึ่งจะสามารถเพิ่มค่าสัญญาณของตัวอย่าง โดยการเพิ่มความยาวของเกลียวเซลล์ โดยทั่วไปแล้วค่าความยาวค่าสุดของเกลียวจะดูจากอัตราการเกิดปฏิกิริยา และถ้าเพิ่มความยาวมากเกินไปก็ไม่ได้ส่งผลใด ๆ เลย อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการจำกัดการแพร่กระจายของตัวอย่างให้น้อยที่สุด จึงจะต้องพา ซึ่งในกรณีนี้จะมีการเกิดปฏิกิริยาที่สม่ำเสมอจนสามารถยอมรับผลของประสิทธิภาพของปฏิกิริยาและการแพร่กระจายได้ และเมื่อทำการเปรียบเทียบเซลล์ในวิธีการวิเคราะห์แบบสเปกโตรเมตรีอื่น ๆ พบว่าเซลล์สำหรับเคมีลูมิเนสเซนซ์จะมีปริมาตรมากกว่ามาก เนื่องจากมีความจำเป็นที่จะต้องเก็บกักพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจากปฏิกิริยาได้มากกว่านั่นเอง

ตัวตรวจวัด (detectors) ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์คือ หลอดวัดแสงชนิด photomultiplier tubes ที่จะเป็นบริเวณตกกระทบของโฟตอนทำให้เกิดเป็นซึ่งจะปลดปล่อยอิเล็กตรอนออกมาเป็น cascade-amplified และแม้ว่า PMTs จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่า liquid scintillation counters (LSCs) แต่มีข้อดีตรงที่สามารถนำไปใช้ได้หลากหลายกว่าเพราะว่า ลักษณะการตอบสนองต่อสเปกตรัมไม่ได้มีภาพแบบเดียว PMT จะมีการตอบสนองอย่างจำเพาะกับช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ หรือช่วงความยาวคลื่นที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาและในกรณีที่ความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์อยู่ในระดับต่ำ ค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์จะขึ้นอยู่กับ การเลือกใช้ PMT ที่เหมาะสมเพราะว่าการเลือก PMT ที่เหมาะสมจะช่วยให้มีค่า signal-to-noise ratio สูง ซึ่งในกรณีนี้จะขึ้นอยู่กับความสามารถในการประยุกต์ใช้และสภาวะที่เหมาะสมและในกรณีที่มีการปลดปล่อยเคมีลูมิเนสเซนซ์ออกมาในปริมาณมากนั้นสามารถใช้ตัวตรวจวัดที่เชื่อมต่อกับระบบบันทึกสัญญาณที่เป็น multimeter หรือ recorder หรือคอมพิวเตอร์ได้

ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ (Alwarthan et al. 1986: 635)

ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ นอกจากจะมีความจำเพาะสูงแล้วยังพบว่าข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์น้อยมาก ซึ่งสามารถทำการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ได้โดยอาศัยเครื่องมือง่าย ๆ เท่านั้น ซึ่งความสามารถเกี่ยวกับทางด้านข้อจำกัดในการวิเคราะห์ดำนั้นเป็นผลมาจากการที่ไม่ต้องอาศัยแหล่งกำเนิดแสง จากเหตุผลข้อนี้จะช่วยลดหรือยับยั้งการกระจายของ Raman และ Rayleigh และยังช่วยกรองสิ่งรบกวนจากแหล่งที่มาของแสงได้ ซึ่งจากผลเหล่านี้ทำให้สามารถใช้ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอด (photomultiplier voltage) ได้ในระดับสูงและยังมีส่วนทำให้เพิ่มอัตราส่วนความสัมพันธ์ระหว่าง signal-to-noise มากกว่ากระบวนการตรวจวัดแบบฟลูออโรเมตริกแบบทั่ว ๆ ไปอีกด้วย การวิเคราะห์ในลักษณะนี้จะวิเคราะห์ได้ในช่วง femtomole และในบางกรณีอาจจะวิเคราะห์ได้ถึงส่วนของ attomole region ดังนั้น จึงถือได้ว่าการวิเคราะห์โดยทั่วไปมาก ซึ่งตามความเป็นจริงแล้วจะสามารถวิเคราะห์ได้ที่ขนาดโมเลกุลประมาณ โมเลกุลซึ่งเล็กพอ ๆ กับเอนไซม์เลยทีเดียวและมีช่วงของความเป็นเส้นตรงที่กว้าง

FIA-chemiluminescence ในอนาคต (Garcia-Campana and Baeyens, 2001)

การวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์มีความน่าสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถใช้เครื่องมือแบบง่าย ๆ ในการวิเคราะห์ และยังมีข้อจำกัดต่าง ๆ ในการวิเคราะห์น้อยมาก จากเหตุผลเหล่านี้จึงเริ่มมีความนิยมทำการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ทั้งแบบพื้นฐานและแบบขั้นสูงมากขึ้น จากการพัฒนาคิดค้นเทคนิคการวิเคราะห์นี้ร่วมกันของกลุ่มธุรกิจกลุ่มหนึ่ง ซึ่งหนึ่งในนั้นได้ค้นพบปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์ชนิดใหม่ ๆ เสมอ โดยเฉพาะชนิด “direct” เทคนิคนี้จะช่วยเพิ่มขีดความสามารถด้านจำนวนของตัวอย่าง ทำให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้มากขึ้น และเพื่อที่จะบรรลุเป้าหมายนี้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องแสวงหาความรู้เกี่ยวกับกลไกของการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น เพื่อใช้ในการคาดเดาลักษณะพฤติกรรมของเคมีลูมิเนสเซนซ์

ในปัจจุบันนี้การวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ก็สามารถพิสูจน์ให้เห็นแล้วว่ามีความจำเพาะสูงต่อตัวอย่างหลายชนิด และไม่จำเป็นต้องทำการแยกตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์อีกด้วย ซึ่งตรงจุดนี้พบว่าการวิเคราะห์มีขีดจำกัดของการตรวจวัดต่ำและจะมีความจำเพาะสูง และเมื่อนำประสิทธิภาพของการตรวจวัดที่ให้ขีดจำกัดต่ำนั้นสามารถนำมาารวมกันกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว หรือการแยกแบบคาปิลลารีอิเล็กโทรโฟเรซิส ก่อให้เกิดเป็นตัวตรวจวัดในอุดมคติได้

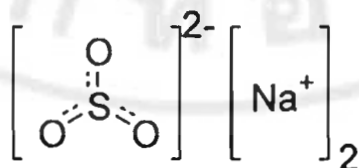
ปัจจุบันการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับเคมีลูมิเนสเซนซ์นั้นมักจะใช้อุปกรณ์ที่ทำขึ้นเองเป็นส่วนใหญ่มิฉะนั้นก็จะทำการเปรียบเทียบค่าหรือวิธีการวิเคราะห์ เพราะว่ามีการใช้อุปกรณ์ที่หลากหลาย

และยิ่งไปกว่านั้น ยังไม่มีเคมีลูมิเนสเซนซ์รีเอเจนต์ที่จะใช้เป็นตัวมาตรฐานสากล ดังนั้นควรมีการศึกษาและเผยแพร่เครื่องมือและวิธีการในการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพ และราคาไม่แพง เพื่อนำไปใช้ในการอ้างอิงให้เป็นสากล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาด้านการแพทย์ รวมไปถึงด้านสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ในวงการของเคมีวิเคราะห์และในการทดลองบางชนิดที่มีความซับซ้อนนั้น ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเทคนิคการวิเคราะห์แบบ FIA-direct CL emission เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ เพื่อศึกษาคุณลักษณะพฤติกรรมของเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีต่อสารตั้งต้นหลาย ๆ อย่าง ทั้งทางด้านประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ ข้อจำกัดในการวิเคราะห์ ความกว้างของช่วงความเป็นเส้นตรงซึ่งไม่คงที่ ความเร็วของการตอบสนอง และการหมุนวนกลับมาใช้ใหม่ของตัวอย่างบริเวณหน้าตัวตรวจวัด เมื่อไม่นานมานี้ ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุล (molecule connectivity) เพื่อช่วยให้สามารถทำนายและคาดเดาพฤติกรรมของเคมีลูมิเนสเซนซ์ได้ง่ายขึ้น

ซัลไฟต์ (เวนิกา เบ็ญจพงษ์, ม.ป.ป.)

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



ภาพ 12 โครงสร้างของโซเดียมซัลไฟต์

ข้อมูลทั่วไปของซัลไฟต์ (เวนิกา เบญจพงษ์, ม.ป.ป.)

ชื่อเคมี IUPAC	: Sodium sulfite
ชื่อเคมีทั่วไป	: Disodium sulfite ; Exsiccated sodium sulfate; Anhydrous ; Sulftech sulfurous acid sodium salt
ชื่อพ้องอื่นๆ	: Disodium sulfite; Sulfurous acid disodium salt; Sulftech; Sulfurous acid sodium salt (1:2); Sodium sulfite (Na_2SO_3);
สูตร โมเลกุล	: Na_2SO_3
การใช้ประโยชน์	: ใช้เป็นสารฟอกขาว และยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (U.S. Food and Drug Administration, no date.)

สถานะ	: ผง/ของแข็ง
สี	: ขาว
กลิ่น	: ไม่มีกลิ่น
น้ำหนักโมเลกุล	: 126.04
จุดเดือด	: 900 องศาเซลเซียส
จุดหลอมเหลว	: >500 องศาเซลเซียส
ความถ่วงจำเพาะ(น้ำ=1)	: 2.63
ความสามารถในการละลายน้ำที่ (กรัม/100 มล.)	: 17 ที่ 10 องศาเซลเซียส
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	: 9.8 ที่ 10 องศาเซลเซียส
โครงสร้างผลึก	: เฮกซะ โกนอล (hexagonal (anhydrous)) มอนอคลินิก (monoclinic (heptahydrate))
ความหนาแน่น	: 2.633 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (anhydrous) 1.561 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (heptahydrate)

ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา (Stability and reaction) (ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์, ม.ป.ป.)

สิ่งที่ควรหลีกเลี่ยง คือ สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง และสารที่ควรหลีกเลี่ยง คือ สารที่ออกซิไดซ์อย่างแรง จะทำให้เกิดปฏิกิริยาคายความร้อนอย่างรุนแรง โดยกรดจะทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และสลายตัวของซัลไฟต์ คือ ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เป็นก๊าซพิษและมีฤทธิ์กัดกร่อน

โซเดียมซัลไฟด์ที่เหลือ สามารถติดไฟได้ มีความเสี่ยงต่อการเกิดอันตรายเนื่องจากไฟไหม้ ทำให้ผิวหนัง และเนื้อเยื่อเกิดการระคายเคืองอย่างรุนแรง

อันตรายต่อสุขภาพ (ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์, ม.ป.ป.)

สารซัลไฟด์ที่มีต่อทางการหายใจ โดยเมื่อหายใจเอาฝุ่นเข้าไป อาจทำให้ระบบทางเดินหายใจเกิดการระคายเคือง และอาจเสียชีวิตได้ จากก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และหากสัมผัสทางผิวหนังจะทำให้ผิวหนังระคายเคืองถ้าสัมผัสเป็นเวลานาน ส่วนการกินหรือกลืนเข้าไป ทำให้ระบบการย่อยเกิดการ ระคายเคือง ถ้าผู้ป่วยเป็นโรคหอบหืดจะเกิดการอักเสบอย่าง รุนแรงถ้ากลืนหรือกินเข้าไปปริมาณมาก ๆ อาจจะทำให้เกิด การเสียดท้องและท้องร่วงอย่างรุนแรง เมื่อสัมผัสถูกตา ทำให้เกิดการระคายเคืองและแผลไหม้ สารซัลไฟด์ผลกระทบต่อพันธุกรรม และมีความเป็นพิษระดับปานกลาง

บทบาทสารซัลไฟต์ในอาหาร (ศูนย์ข้อมูลวิทยา, ม.ป.ป.)

สารซัลไฟต์มีคุณสมบัติสำคัญหลายประการในการถนอมอาหาร คือ

1. ป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีผลต่อจุลินทรีย์ตามลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ gram negative bacteria, gram positive bacteria ราและยีสต์ ประสิทธิภาพจะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย ยิ่งค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ ประสิทธิภาพยิ่งสูงและค่าที่เป็นค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ รา และต้องใช้ปริมาณมากถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จึงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ ส่วนไบซัลไฟด์จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่ากรดซัลฟิวรัส

2. ยับยั้งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ปฏิกิริยานี้ส่วนใหญ่เกิดขึ้นกับผักและผลไม้สด ซึ่งเมื่อถูกหั่นหรือตัดและพื้นผิวสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยน phenolic compound ซึ่งไม่มีสีไปเป็นสาร o-quinone ที่มีสีซึ่งเป็นผลมาจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ phenolase เอนไซม์นี้มีอยู่ในผักและผลไม้สด ส่วนเอนไซม์อื่น ๆ เช่น tyrosinase, catecholase, phenoloxidase และ ascorbinase ก็ให้ปฏิกิริยาเช่นเดียวกัน สารที่มีสีที่เกิดขึ้นนี้สามารถ polymerize และถูกออกซิไดซ์ต่อจนมีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อเติมสารซัลไฟต์ลงไปจะเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์เป็นผลยับยั้งให้เอนไซม์หมดสภาพไป

3. ยับยั้งปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ อาหารที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตที่ต้องใช้ความร้อนจะเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีระหว่างน้ำตาลกับโปรตีนหรือกรดอะมิโน ได้สารที่มีสีเกิดขึ้น หรือเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลเนื่องจากความร้อนทำให้โมเลกุล

ของน้ำตาลสูญเสียแล้ว polymerise ได้สาร hydroxymethyl furfural ซึ่งมีน้ำตาล รวมทั้งปฏิกิริยาการสลายตัวของวิตามินซี (ascorbic acid) สารซัลไฟต์ที่เติมลงไปจะทำปฏิกิริยากับโปรตีนหรือน้ำตาล หรือวิตามินซี ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสี

4. เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเป็นตัวรีดิวส์ ด้วยคุณสมบัติการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระ และ ตัวรีดิวส์ จึงมีบทบาทดังนี้

ป้องกันการสูญเสียวิตามินซีในระหว่างการแปรรูปและการเก็บผลิตภัณฑ์ของผักและผลไม้

ป้องกันการเหม็นหืนหืนของไขมัน น้ำมันระเหยและคาโรทีนอยด์ ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่น รส ที่ผิดไป และใช้เป็นสารฟอกสี พวกน้ำตาลและแป้ง

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารซัลไฟต์ในอาหาร (หมอขาวบ้าน, ม.ป.ป.)

1. ชนิดของอาหารและปริมาณของสารซัลไฟต์ที่เติมลงไปในอาหารที่มีองค์ประกอบที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารที่เติมลงไป ในปริมาณที่มาก เช่น โปรตีน น้ำตาล และวิตามิน จะมีผลทำให้สารซัลไฟต์ส่วนใหญ่อยู่ในภาพซัลไฟต์รวม ปฏิกิริยากับสารอาหารบางชนิดได้ sulfonates ที่คงตัว เช่น 3-deoxy-4-sulphopenxosulose และ 3-deoxy-4-sulphohexosulose อาหารที่มีก๊าซออกซิเจนแทรกอยู่หรือบรรจุในภาชนะที่อากาศสามารถผ่านเข้าออกได้จะมีผลทำให้ซัลไฟต์ในอาหารถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟต (SO_4^{2-}) ซึ่งมีความคงตัวรวมทั้งปริมาณซัลไฟต์ที่เติมลงไป ในอาหาร ถ้าเติมลงไป ในปริมาณที่มากทำให้ซัลไฟต์เหลือตกค้างอยู่ในอาหารในภาพซัลไฟต์อิสระจำนวนมากซึ่งส่วนนี้จะเป็นกำหนดปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดที่มีในอาหาร นอกจากนี้อาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำกว่า 4 จะทำให้ซัลไฟต์บางส่วนระเหยไปในภาพของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์

2. กรรมวิธีการผลิต อาหารที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตที่ต้องใช้ความร้อนจะทำให้ซัลไฟต์บางส่วนสลายตัวเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ระเหยไป หรือถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟตและบางส่วนทำปฏิกิริยากับสารอาหาร ยิ่งขั้นตอนการผลิตมีมากหรือมีอุณหภูมิสูงปริมาณตกค้างในอาหารก็จะยิ่งลดน้อยลง

3. ระยะเวลาและอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษา อาหารที่เติมสารซัลไฟต์ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานและเก็บไว้ในสถานะที่ไม่เหมาะสมเช่น อุณหภูมิหรืออาหารสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ จะทำให้สารซัลไฟต์สลายไปในภาพของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟต ดังนั้น ยิ่งเก็บไว้นานปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ตกค้างอยู่ในอาหารยิ่งลดลง

ชนิดของอาหารที่ใช้สารซัลไฟต์ (หมอชาวบ้าน, ม.ป.ป.)

สารซัลไฟต์ใช้ในการถนอมอาหารหลายชนิดดังนี้

1. ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้

ผักและผลไม้แห้ง การใช้สารซัลไฟต์ในผักและผลไม้แห้งเพื่อช่วยถนอมสี กลิ่น วิตามินซี และคาโรทีนอยด์ นอกจากนี้ยังป้องกันการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ในผลไม้ใช้วิธีรมควันด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือพ่นเป็นละอองฝอยของสารละลายซึ่งในภาพของสารละลายจะให้ผลไม่ดีนัก เนื่องจากแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อของผลไม้ได้น้อยและถูกล้างออกด้วยน้ำตาล ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะหายไปในช่วงการเก็บรักษา ขึ้นอยู่กับเวลาในการรมควันและอุณหภูมิ อุณหภูมิที่พอเหมาะคือ 110-120 องศาฟาเรนไฮต์

ผักและผลไม้สด เพื่อควบคุมการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ถนอมวิตามินซี และป้องกันการเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์

ผลไม้ถนอม เช่น ผลไม้ดอง แยมและแชม จะป้องกันการเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้วิตามินซีคงอยู่ได้เป็นเวลาหลายเดือน โดยปริมาณของซัลไฟต์ลดลงเรื่อยๆ

2. เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ สารซัลไฟต์มีความสำคัญในการทำไวน์หลายขั้นตอน ตั้งแต่การใช้สารซัลไฟต์ในภาพของสารละลายทำความสะอาดเครื่องมืออุปกรณ์ การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในผลไม้ก่อนการหมักเพื่อให้ได้ยีสต์ที่บริสุทธิ์เหมาะในการทำไวน์ในช่วงการหมัก สารซัลไฟต์จะเป็นตัวป้องกันการเปลี่ยนแปลงหลังการหมักเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ ในช่วงการหมักปริมาณซัลไฟต์ที่เหมาะสมคือ 50-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับคุณภาพขององุ่นอุณหภูมิ ความเข้มข้นของน้ำตาลและระดับของการปนเปื้อน ในช่วงการเก็บไวน์หลังการหมัก ระดับของสารซัลไฟต์ควรจะมีอยู่ระหว่าง 50-75 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. น้ำผลไม้และเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ ใช้สารซัลไฟต์เพื่อป้องกันการเปลี่ยนสีที่ไม่ได้เกิดจากเอนไซม์ ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และเป็นวัตถุกันหืน ปริมาณของสารซัลไฟต์ที่ใช้ขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ชนิดของสารซัลไฟต์องค์ประกอบของน้ำผลไม้ ใบซัลไฟต์และเมตาซัลไฟต์ที่ใช้ประสิทธิผลในการรักษาน้ำผลไม้ตระกูลส้มได้ดีกว่ากรดซัลฟิวรัส โดยปกติปริมาณสารซัลไฟต์ที่ใช้ประมาณ 350-600 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือมากกว่าทั้งนี้เพราะว่าสารซัลไฟต์ที่เดิมจะให้ซัลไฟต์อิสระเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

4. ผลิตภัณฑ์เนื้อ สารซัลไฟต์สามารถหยุดการเจริญของแบคทีเรียเนื้อสด และผลิตภัณฑ์เนื้อได้ ขณะเดียวกันยังทำให้สีของเนื้อคงตัวระยะหนึ่งด้วย แต่ในประเทศสหรัฐอเมริกาห้ามใช้สารซัลไฟต์ในเนื้อสด และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์และเนื้อปลา เนื่องจากเป็นแหล่งของวิตามินบี 1 แต่มีการใช้สารซัลไฟต์ในกึ่งเพื่อป้องกันการเกิดจุดดำ ในบางประเทศอนุญาตให้ใช้สารซัลไฟต์ได้

ในบางผลิตภัณฑ์ ส่วนประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศกลุ่มสหภาพยุโรประบุว่าต้องแสดงปริมาณของซัลไฟต์ในฉลากผลิตภัณฑ์อาหารที่มีปริมาณซัลไฟต์เกินกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารหมักดองและเครื่องดื่ม

ปริมาณของสารซัลไฟต์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร (หมอบ้าน, ม.ป.ป.)

ปริมาณของซัลไฟต์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของอาหารและแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ เช่น

ประเทศญี่ปุ่น อนุญาตให้ใส่สารซัลไฟต์ในอาหาร ดังนี้

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

ออสเตรีย อนุญาตให้ใส่สารโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์ ในอาหารได้ด้วย

ประเทศนอร์เวย์ สวีเดน อนุญาตให้ใส่สารซัลไฟต์ในอาหาร ดังนี้

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

ประเทศไทย อนุญาตให้ใส่สารซัลไฟต์เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ดังนี้

น้ำตาลทราย	40	มิลลิกรัมต่อลิตร SO ₂
น้ำตาลมะพร้าว	40	มิลลิกรัมต่อลิตร SO ₂
วุ้นเส้น เส้นหมี่ เส้นก๋วยเตี๋ยว	500	มิลลิกรัมต่อลิตร SO ₂
ลูกเกด	1,500	มิลลิกรัมต่อลิตร SO ₂
กุ้งแช่แข็ง	100	มิลลิกรัมต่อลิตร SO ₂

ส่วนอาหารประเภทหมักดอง เช่น หน่อไม้ดอง กระเทียมหมัก ขิงแห้ง ฝอย ไม้ อนุญาตให้

ความเป็นพิษของสารซัลไฟต์ (หมอชาวบ้าน, ม.ป.ป.)

ความเป็นพิษในคน เกิดอาการหายใจติดขัด เจ็บหน้าอก ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วง เป็นลมพิษ ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย ความดันโลหิตต่ำ การได้ยินเสื่อม โลหิตจาง ในผู้ที่เกิดอาการอย่างรุนแรงจะปรากฏอาการช็อก หมคตติและเสียชีวิต โดยเฉพาะผู้ป่วยที่เป็นโรคหืด ถ้าได้รับสารซัลไฟต์ 45 มิลลิกรัม จะเกิดอาการระคายเคืองหลอดอาหาร ปวดท้อง ปวดศีรษะ ถ้าได้รับสารซัลไฟต์ในภาพสารละลาย (80-100 มิลลิกรัม) หรือในภาพของแคปซูลของโซเดียมซัลไฟต์ (115-760 มิลลิกรัม) จะเกิดอาการปวดศีรษะ การได้ยินเสื่อม อ่อนเพลีย การทำงานของไตลดลงและโลหิตจาง ถ้าได้รับโซเดียมซัลไฟต์ 4-5.8 กรัมต่อวัน (70-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) จะเกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง

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

วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์

ปัจจุบันมีวิธีมาตรฐาน (AOAC Method) (Association of Official Analytical Chemists, 1990) ในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ และได้รับความนิยมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ในอาหาร และผลิตภัณฑ์อาหาร ดังเช่น

1. Iodometric method

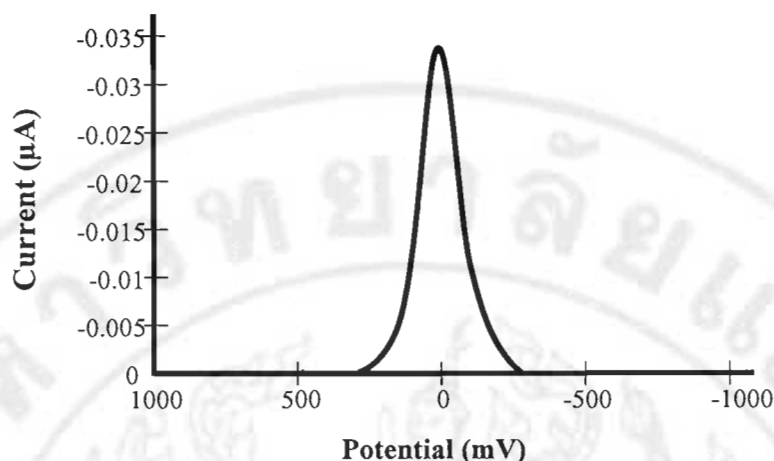
การวิเคราะห์ด้วยวิธีการไทเทรตโดยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ในตัวอย่างเป็นของเหลวสามารถวิเคราะห์ปริมาณได้โดยการไทเทรตกับสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน โดยบีบเปิดน้ำตัวอย่างมาในปริมาตรที่พอประมาณแล้วเติม กรดซัลฟิวริก 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5 นาที เมื่อครบแล้วให้เติมสารละลายอินดิเคเตอร์น้ำแป้งลงใน จากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานไอโอดีน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

2. Differential Pulse Polarographic method

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์แบบโพลาโรกราฟี ได้เริ่มทำการศึกษาเมื่อ ค.ศ. 1987 เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่วัดปริมาณก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยทำการกลั่นด้วยกรด (acid distillation) ในการแยกซัลไฟด์ออกจากอาหาร โดยเติมกรดซัลฟิวริก 35% (v/v) ลงไปในตัวอย่าง แล้วทำการผ่านก๊าซในโตรเจนผ่านยังตัวอย่าง เพื่อไล่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ลงในสารละลายอเล็กโทรไลต์ (ammonium acetate ใน ethanol) แล้วนำไปวัดปริมาณกระแสจากการแพร่ของสารละลายโดยวิธีดิฟเฟอร์เรนเชียล พัลส์โพลาโรกราฟี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานปรอทหยดเพื่อนำค่าของกระแสที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น เพื่อหาความเข้มข้นของซัลไฟด์ในอาหารตัวอย่างได้ โดยกระบวนการวิเคราะห์นี้จะสามารถประยุกต์ใช้ที่ความเข้มข้นที่มากกว่า 10 ไมโครกรัมของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดต่อจำนวนตัวอย่าง (กรัม) สภาพะการทำงานของเครื่องโพลาโรกราฟี และตัวอย่างโพลาโรแกรมที่เกิดขึ้น แสดงดังตาราง 2 และภาพ 13

ตาราง 2 สภาพะการทำงานของเครื่องมือและดิฟเฟอร์เรนเชียล พัลส์โพลาโรกราฟี

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



ภาพ 13 คิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลาริแกรม

3. Optimized Monier-Williams method

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ โดย Monier - Williams ได้เริ่มทำการศึกษาเมื่อ ค.ศ. - 1989 มีหลักการคือสารตัวอย่างที่มีปริมาณซัลไฟต์นำไปให้ความร้อนด้วยการรีฟลักซ์กับกรด ซึ่งจะทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยทำการพ่นก๊าซในโตรเจนผ่านไปยังตัวอย่างที่มีซัลไฟต์อยู่ พร้อมกับการรีฟลักซ์ โดยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะเกิดการกลั่นออกมาผ่านไปยังภาชนะที่มีสารละลายเปอร์ออกไซด์อยู่ ซึ่งก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะถูกออกซิไดซ์ให้เป็นซัลฟิวริก แล้วทำการไทเทรตกับสารมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ วิธีการดังกล่าวสามารถวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. Flow Injection analysis method

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ได้เริ่มทำการศึกษาเมื่อ ค.ศ. 1990 มีหลักการคือนำตัวอย่างที่มีปริมาณซัลไฟต์ทำปฏิกิริยากับคาร์มาไคด์กรีน โดยขั้นตอนระบบโฟลอินเจคชันนั้น ขั้นตอนแรกสารละลายตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วทำปฏิกิริยากับกรด ทำให้เกิดการออกซิไดซ์เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะแพร่ผ่านหน่วย gas diffusion cell ซึ่งจะทำให้การผสมกับสารละลาย คาร์มาไคด์กรีนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีของสารละลาย คาร์มาไคด์กรีนขึ้น ซึ่งสามารถหาปริมาณความแตกต่างของสีซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของปริมาณซัลไฟต์ แล้วตรวจวัดด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ได้ วิธีการวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

5. Ion Exclusion Chromatographic method

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

สำหรับวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้วิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารกราฟี ซึ่งสามารถวิเคราะห์หาปริมาณของสารตัวอย่างได้ในปริมาณที่น้อยกว่า มีความไวและความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่อยู่ในภาพโมเลกุลที่สามารถละลายในตัวทำละลายได้ด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อออกแบบและสร้างเครื่องมือราคาถูกแต่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารฟอกขาวบางชนิดในกลุ่มซัลไฟต์ ด้วยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) ร่วมกับวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส ที่มีส่วนตรวจวัดที่มีสภาพไวสูงชนิดเคมีลูมิเนสเซนส์
2. เพื่อนำเอาเครื่องมือและเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์สารปนเปื้อนในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม โดยเน้นในการวิเคราะห์สารฟอกขาวในกลุ่มซัลไฟต์
3. เพื่อศึกษาและสร้างองค์ความรู้ใหม่ โดยเน้นในด้านเคมีวิเคราะห์สมัยใหม่ ที่ใช้เครื่องมือราคาถูกและสารเคมีน้อยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถวิเคราะห์สารปนเปื้อนทางอาหารและสิ่งแวดล้อม ที่อาจปนเปื้อนขึ้นในกระบวนการผลิต สินค้าและการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตร
2. สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพการแยกแบบออนไลน์ทั้ง 2 ชนิด คือ เพอร์วาพอร์ชัน และ ก๊าซดีฟฟิวชัน
3. สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมี

4. สามารถพัฒนาประดิษฐ์เครื่องมือราคาถูกลง จากวัสดุ อุปกรณ์ที่มีอยู่ เป็นการทดแทนการนำเข้า เครื่องมือราคาสูงจากต่างประเทศ และพัฒนาศักยภาพของคนไทย โดยใช้เครื่องมือ วิทยาศาสตร์และองค์ความรู้ที่มีอยู่ ในการพัฒนาประเทศแบบยั่งยืน

ขอบเขตของการศึกษา

ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบวิธีการแยกแบบออนไลน์ 2 ชนิด คือ เพอร์วาพอเรชัน และ แก๊สดีฟฟิวชัน ร่วมกับการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ สำหรับวิเคราะห์ซัลไฟต์ในอาหารหมักดอง โดยศึกษาตัวแปรทางกายภาพเช่น อัตราเร็วของกระแสตัวพา ขนาดและความยาว และ อุณหภูมิ และตัวแปรทางเคมีอื่น ๆ เช่นความเข้มข้นของกระแสรีเอเจนต์ กระแสตัวให้ และ องค์ประกอบของกระแสตัวพา เป็นต้น และทำการศึกษาผลของ interferences ที่อาจกระทบต่อการวิเคราะห์ จากนั้นทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการแยกแบบออนไลน์ทั้ง 2 ชนิด และทำการเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานโดยเทคนิคคิฟเฟอเรนเชียล ฟลัสส์ โพลารोगราฟี

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

สรุปสาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากการติดตามตรวจสอบปริมาณของซัลไฟด์ทั้งในผลิตภัณฑ์อาหารหรือแม้แต่ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมต่างๆ จะพบว่าได้มีรายงานเกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ต่าง ๆ ให้เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารฟอกขาวประเภทซัลไฟด์ ในสารตัวอย่างทางอาหารและจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีเมทริกซ์ต่าง ๆ กัน ซึ่งกระบวนการวิเคราะห์นั้นพบว่ามีความหลากหลายเทคนิคในการศึกษาสารฟอกขาวประเภทซัลไฟด์ เช่น เทคนิคไอโอโดเมตริกไทเทรชัน สเปกโตรโฟโตเมตริก (Zhao et al, 2006: 195) แอมเปอร์โรเมตริก (Casella et al, 1995: 199 and Redinha et al, 1997: 115) โพลารोगราฟิ (Giuriati et al, 2004: 105) ไอออนโครมาโทกราฟี (Jankovskiene et al, 2001: 67) แคปิลลารีอิเล็กโทรโฟริซิส (Isaac et al, 2006: 589 and Safavi et al, 2004: 51) จลน์ศาสตร์ (Fatibello – Filho et al, 1997: 51) และโพลีเมอร์อะนาไลซิส (Hassan. et al 2001: 773 and Meng et al, 1999: 571)

โดยเทคนิคทางโพลีเมอร์อะนาไลซิสในการวิเคราะห์ซัลไฟด์สามารถเลือกใช้ตัวตรวจวัดต่าง ๆ เช่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คอนดักโทมิเตอร์ และแอมเปอร์โรมิเตอร์ ฯลฯ ตามความเหมาะสม แต่การใช้เครื่องมือตรวจวัดที่กล่าวมาข้างต้น มีสภาพไวค่อนข้างต่ำจึงมีผู้ประยุกต์ใช้เครื่องมือตรวจวัดชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์มาใช้ในการวิเคราะห์ซัลไฟด์ร่วมกับเทคนิคโพลีเมอร์อะนาไลซิส

จากการสืบค้นรายงานในการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยเทคนิคทางโพลีเมอร์อะนาไลซิส โดยมีเครื่องตรวจวัดชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์พบว่าสามารถหาปริมาณได้ในระดับต่ำและมีค่าสัมประสิทธิ์การเบี่ยงเบนที่มีประสิทธิภาพสูง โดยสรุประบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ชนิดต่าง ๆ ที่มีรายงานมาแล้วมีดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ตัวอย่างการศึกษาหาปริมาณของสารมลพิษได้ โดยเทคนิคทางฟลูออโรสเปกโตรสโกปี

ตัวอย่างที่ศึกษา	สารที่ใช้ทำปฏิกิริยา	ระดับความเข้มข้นที่วัดได้ (โมลาร์)	ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (โมลาร์)	ค่าสัมประสิทธิ์การเบี่ยงเบน	อ้างอิง
น้ำตาล	$\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - (bipy 2,2'-bipyridyl)- SO_3^{2-} - KMnO_4	5.0×10^{-8} - 1.25×10^{-4}	2.5×10^{-8}	4.9% (n = 6)	Meng et al, 1999
น้ำตาล	$\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - KBrO_3	2.5×10^{-8} - 9.5×10^{-5}	3.8×10^{-9}	4.6% (n = 9)	Wu et al, 1998
น้ำตาล	$\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	1.5×10^{-7} - 1.0×10^{-4}	4.1×10^{-8}	4.3% (n = 9)	He et al, 1998
เบียร์ และ ไวน์	Riboflavin phosphate กับ KMnO_4	0.1 - 100 mg l ⁻¹	0.06 mg l ⁻¹	3.7% (n = 11)	Qin et al, 1998
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในอากาศ	Tris(1,10-Phenanthroline) Ruthenium- KIO_4	1.0×10^{-7} - 1.5×10^{-4}	7×10^{-10}	2.3% (n = 9)	He et al, 1999
เบียร์ และ ไวน์	Auto-oxidation sensitized by rhodamine 6G	0.05 - 10 mg l ⁻¹	0.03 mg l ⁻¹	5.0% (n = 11)	Huang et al, 1999

นอกจากนี้ปัจจุบันยังได้มีรายงานเกี่ยวกับการพัฒนาบางชนิดเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online-separation) เกิดขึ้นเนื่องจากสารตัวอย่างที่มีสารปนเปื้อนภายในตัวอย่างมากทำให้รบกวนการวิเคราะห์ จึงมีความพยายามในการพัฒนาการแยกแบบออนไลน์ขึ้น เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่มีอิทธิพลต่อการทดลอง และรบกวนการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สนใจเพื่อให้ถูกกำจัดแยกออกไป หรือทำปฏิกิริยากับสารละลายทำให้สารตัวอย่างเปลี่ยนโครงสร้าง โดยเทคนิคที่สนใจพัฒนาขึ้นคือ เทคนิคก๊าซดัดฟิวชันโฟลอะนาไลซิส (GDFI) และเพอร์วาพอร์ชันโฟลอะนาไลซิส (PFI) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่นำมาใช้เพื่อแยกสารที่สนใจจากสารละลายตัวอย่างที่เกิดการปนเปื้อน โดยในเทคนิคทางเพอร์วาพอร์ชันจะอาศัยการทำปฏิกิริยาของซัลไฟด์กับกรดให้ได้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ขึ้น ภายด้านบนของสารละลายที่ระเหยสู่ช่องอากาศเหนือสารละลายก่อนที่จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสตัวพาต่อไป ส่วนเทคนิคทางก๊าซดัดฟิวชันจะอาศัยการแยกสิ่งปนเปื้อนผ่านเยื่อเลือกผ่าน โดยสารปนเปื้อนไม่สามารถที่จะเข้าสู่ระบบได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีเฉพาะสารตัวอย่างที่สนใจสามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสตัวพาได้ โดยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์นั้นจะมีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ที่พัฒนาเพิ่มเติมขึ้นจากวิธีโพลินเจกชันอะนาไลซิส ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์ สารปนเปื้อนในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม ดังแสดงในตาราง 4

ในงานวิจัยนี้จะนำข้อดีของเคมีลูมินเนสเซนซ์ ซึ่งมีสภาพไวสูงและมีความจำเพาะที่ดีมาใช้เป็นตัวตรวจวัดในเทคนิคเพอร์วาพอร์ชันโฟลอะนาไลซิส เพื่อให้เกิดวิธีการวิเคราะห์ซัลไฟด์แบบใหม่ขึ้น ซึ่งจะมีประสิทธิภาพสูง โดยไม่ต้องต้องมีการเตรียมตัวอย่างและใช้สารเคมีที่มีราคาต่ำ และความเป็นพิษต่ำ สำหรับการเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ตาราง 4 ตัวอย่างการวิเคราะห์สเปกโตรโฟแตสโกปีด้วยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (on-line)

ตัวอย่างที่ศึกษา	สารที่ใช้ทำปฏิกิริยา	ระดับความเข้มข้นที่วัดได้	ขีดความเข้มข้นต่ำสุด	ค่าสัมประสิทธิ์การเบี่ยงเบน	จำนวนตัวอย่าง/ชั่วโมง	ระบบการแยกแบบออนไลน์	อ้างอิง
ไวน์	Iodine reagent	0.5-2.0 mg l ⁻¹	0.05 mg l ⁻¹	1.6% (n = 11)	60	GDFI-spectrometry	Thanh et al, 1994
ไวน์ และ น้ำผลไม้	N,Ndimethylphenylene diamine (DMPD) และ Fe ³⁺	1-25 mg l ⁻¹	0.25 mg l ⁻¹	3.3% (n = 10)	40	GDFI-spectrometry	Carinhanha et al, 2006
ไวน์	bromocresol green เป็น อินดิเคเตอร์	1-20 mg l ⁻¹	0.1 mg l ⁻¹	1.5% (n = 8)	120	GDFI-spectrometry	Decnop-Weever et al, 1997
ไวน์ และ น้ำผลไม้	Acid medium	1.0-50 mg l ⁻¹	0.03 mg l ⁻¹	0.2% (n = 10)	120	GDFI-spectrometry	Tavares Araujo et al, 2005
น้ำตาล, ไวน์, น้ำผลไม้, น้ำฝน	Ni(II)/tetraglycine complex of luminol	5.0×10 ⁻⁸ - 5×10 ⁻⁶ M	2.8×10 ⁻⁸ M	4.6% (n=10)	60	GDFI-spectrometry	Bonifácio jo et al, 2004
น้ำตาล, ไวน์, น้ำผลไม้, น้ำฝน	Na ₂ CO ₃ -NaHCO ₃ -Cu ²⁺	1.0×10 ⁻⁶ - 5×10 ⁻⁴ M	5 ×10 ⁻⁷ M	4.6% (n = 9)	120	GDFI-amperometry	Lin jo et al, 1996
ไวน์ และ น้ำผลไม้	H ₂ O ₂ -H ₂ SO ₄	0.01-1 ×10 ⁻³ M	5×10 ⁻⁶ M	1.23% (n=6)	78	GDFI-spectrometry	Su et al, 1998

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

สถานที่ดำเนินการวิจัย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ขั้นตอนการทดลอง

เครื่องมือ-อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิตและรุ่น	ประเทศ
1. Flow rated tygon pump tube	TACS	Australia
2. High Voltage Power supply	Electron Tubes Ltd. รุ่น Thorn-EMI model PM20	UK
3. Digital multimeter	UNI-T รุ่น UT60D	Hongkong
4. Two channel peristaltic pump	Gilson Minipuls 3	France
5. pH meter	Metrohm รุ่น 827 pH lab	UK
6. Photomultiplier tube	Electron Tubes Ltd. รุ่น Thorn-EMI 9878SB	UK
7. PTFE membrane	Pro-tech group	Australia
8. Personal computer	Pentium IV	UK
9. Ultra pure water purification system	Millipore	France
10. Ultrasonic bath	NDI	Germany
11. Voltammograph	Metrohm รุ่น 746 VA	Switzerland
12. Glassy carbon electrode	Metrohm รุ่น 791 VA	Switzerland
13. Ag/AgCl reference electrode	Metrohm รุ่น 6.0728.020	Switzerland
14. 3M KCl Electrolyte solution	Metrohm รุ่น 6.2308.020	Switzerland
15. Hg (DME) electrode	Metrohm รุ่น 6.1226.030	Switzerland
16. Pt rod counter electrode	Metrohm รุ่น 6.1204.120	Switzerland

สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	เกรด	ประเทศ
1. Acetic acid ($C_2H_4O_2$)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
2. Ammonium acetate (CH_3COONH_3)	Merck	Analytical Reagent	Germany
3. Ascorbic acid ($C_6H_8O_6$)	Carlo erba	Analytical Reagent	Italy
4. Cobalt sulfate ($CoSO_4 \cdot 7H_2O$)	Carlo erba	Analytical Reagent	Italy
5. Calcium chloride ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
6. Calcium sulphate ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
7. Ethanol (C_2H_5OH)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
8. Fluorescein ($C_{20}H_{14}O_5$)	Merck	Analytical Reagent	Germany
9. Glucose ($C_6H_{12}O_6$)	May & Baker	Analytical Reagent	UK
10. Hydrochloric acid (HCl)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
11. Iron (II) sulphate ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
12. Iron (III) nitrate ($Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
13. Magnesium sulphate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
14. Manganese (II) sulphate ($MnSO_4 \cdot H_2O$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
15. Nickel sulphate ($NiSO_4 \cdot 6H_2O$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
16. Nitric acid (HNO_3)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
17. Phosphoric acid (H_3PO_4)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
18. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	Ajax	Analytical Reagent	Australia

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	เกรด	ประเทศ
19. Potassium iodide (KI)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
20. Potassium permanganate (KMnO ₄)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
21. Potassium sulphate (K ₂ SO ₄)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
22. Rhodamine B (C ₂₈ H ₃₁ ClN ₂ O ₃)	Fluka	Analytical Reagent	UK
23. Sodium acetate (CH ₃ COONa .3H ₂ O)	Carlo erba	Analytical Reagent	Italy
24. Sodium chloride (NaCl)	LAB-SCAN	Analytical Reagent	Ireland
25. Sodium hexameta phosphate (NaPO ₄) ₆	Sigma	Analytical Reagent	Germany
26. Sodium sulfite (NaSO ₃)	J.T. Baker	Analytical Reagent	USA
27. Sodium sulphate (Na ₂ O ₄ S)	Fisher scientific	Analytical Reagent	UK
28. Sucrose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	May & Baker	Analytical Reagent	UK
29. Sulfuric acid (H ₂ SO ₄)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
30. Zinc sulphate (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	Ajax	Analytical Reagent	Australia

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสารละลาย

1.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีเพอร์วาพอร์ชัน โพลินเจกชันและก๊าซคิฟิวชัน โพลินเจกชัน

1.1.1 การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์

ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 97 % มา 109.9 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.1.2 การเตรียมสารละลายกรดตัวพาซัลฟิวริก (donor stream solution)

การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นสารละลายในกระแสตัวให้ในวิธีเพอร์วาพอร์ชัน โพลินเจกชัน โดยใช้ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ทำได้โดยเปิดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 100.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นสารละลายในกระแสตัวให้ในวิธีก๊าซคิฟิวชัน โพลินเจกชันจะใช้ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยเปิดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 50.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.1.3 การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 1.0×10^{-2} โมลาร์

ชั่งโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.1587 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร หุ้มด้วยกระดาษฟอลซ์ (เก็บไว้ใช้ได้ประมาณ 2 สัปดาห์)

1.1.4 การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2 โมลาร์

ตวงกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 85 % มา 197.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.1.5 การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 0.02 โมลาร์

เปิดกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 10.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.1.6 การเตรียมสารละลายโรดามีน บี เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโรดามีน บี 0.01 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร หุ้มด้วยกระดาษฟอลซ์ เก็บไว้ในที่มืด

1.1.7 การเตรียมสารละลาย 0.75% โดยน้ำหนัก โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตในสารละลายกรดฟอสฟอริกที่มีโรดามีน บี 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (carrier stream solution)

ชั่งโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 7.50 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2 โมลาร์ลงไป 10 มิลลิลิตร และสารละลายโรดามีน บี เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรลงไป 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.1.8 การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 8.0×10^{-5} โมลาร์ ที่อยู่ในสภาพกรดสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (reagent stream solution)

ปีเปตสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 1.0×10^{-2} โมลาร์ มา 0.8 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.75 % โดยน้ำหนัก ของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่อยู่ในสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 0.02 โมลาร์ จนถึงขีดวัดปริมาตร

1.1.9 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งไดโซเดียมซัลไฟด์ 0.1589 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.1.10 การเตรียมสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปีเปตสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 1 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.1.11 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปีเปตสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 2.5, 3.75, 5, 6.25, 7.5, 8.75 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวนที่มีผลต่อการวัดปริมาณซัลไฟด์โดยวิธี เพอร์วาพอร์ชัน โพลินิเจนชัน

1.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน K^+ 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังโพแทสเซียมซัลเฟตมา 22.5099 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Na^+ 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังโซเดียมซัลเฟตมา 15.5949 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังแคลเซียมคลอไรด์มา 18.7525 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Co^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังแคลเซียมซัลเฟตมา 24.0627 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Fe^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังเหล็กซัลเฟตมา 25.1417 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Mg^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังแมกนีเซียมซัลเฟตมา 51.7176 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Mn^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังแมงกานีสซัลเฟตมา 15.6895 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.8 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังนิกเกิลซัลเฟตมา 23.3255 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.9 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Fe^{3+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซังเหล็กไนเตรดมา 36.9130 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.10 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Cl^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโซเดียมคลอไรด์มา 8.3141 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.11 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน I^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์มา 6.6010 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.12 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน CH_3COO^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโซเดียมอะซิเตตมา 11.5901 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.13 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน SO_4^{2-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโซเดียมซัลเฟตมา 7.4726 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.14 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน S^{2-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโซเดียมซัลไฟด์มา 22.4179 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.15 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน PO_4^{3-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตมา 7.2323 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.16 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งกลูโคสมา 5.0000 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.17 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซูโครส 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งซูโครสมา 5.0000 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.18 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตเอทานอลมา 6.33 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.2.19 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
ซึ่งแอสคอร์บิกมา 5.0050 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัด
ปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.3 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์
โพลาโรกราฟี (AOAC Method) (Association of Official Analytical Chemists, 1990)

1.3.1 การเตรียมสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดยปริมาตร

ตวงสารละลายเอทานอล มา 50 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับ
ปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.3.2 การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 9.19 โมลาร์

ตวงสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 18.39 โมลาร์มา 125 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร
ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีน้ำปราศจากไอออนอยู่เล็กน้อย เติมน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.3.3 การเตรียมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์

ซึ่งแอมโมเนียมอะซิเตต 79.50 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงใน
ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 57 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร
ด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

1.3.4 การเตรียมสารละลายอิเล็กโตรไลต์ แตะปิง (electrolyte trapping)

เจือจางสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์ จากข้อ 1.3.3 โดยตรง
สารละลายมา 125 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน
จนถึงขีดวัดปริมาตร

1.3.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งไดโซเดียมซัลไฟด์ 0.3972 กรัม ละลายด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดยปริมาตร
ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดย
ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร

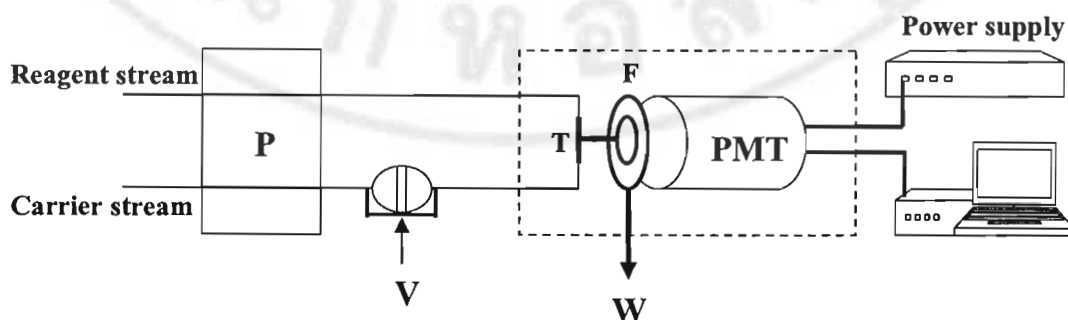
1.3.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปีเปตสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลง
ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดย
ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร

1.3.7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 5.0, 15.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
 นำสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.25, 0.75
 และ 1.25 มิลลิตร ลงในกระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอล
 เข้มข้น 5% โดยปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร

2. การศึกษาความเป็นไปได้ของระบบการตรวจแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน

ในการศึกษาความเป็นไปได้ของการวิเคราะห์ด้วยระบบการตรวจแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์
 โฟลอินเจกชัน ได้อาศัยพื้นฐานจากบทความวิจัยของ J. L. Adcock. (Adcock et al., 2007: 36) พบว่า
 สารละลายในกลุ่มซัลไฟต์ ซัลไฟต์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ มักจะสามารถเกิดปรากฏการณ์เคมีลูมิเนส
 เซนซ์ได้ดีกับสารประกอบโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสถานะที่เป็นกรดโดยมีสารลดแรงตึงผิว
 ประเภทสารประกอบโพลีฟอสเฟต (เช่น โซเดียมพอร์ฟอสเฟต โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต กรด
 ไพโรฟอสเฟต กรดเตตระฟอสเฟต และกรดพอลิฟอสฟอริก รวมถึงการใช้สารประกอบฟลูออเรส
 เซนซ์ เช่น ไรโบฟลาวิน (riboflavin) และกรดไพเพอิดิก (pipemidic acid) มาช่วยในการเพิ่ม
 ความสามารถในการคายแสงขึ้นเมื่อสารประกอบในกลุ่มซัลเฟอร์ทำปฏิกิริยากับสารประกอบ
 โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสถานะที่เป็นกรด เพื่อพัฒนาให้การวิเคราะห์ซัลไฟต์มี
 ประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น จึงได้ทดลองใช้ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตใน
 สถานะกรดเป็นระบบตรวจวัดชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์ขึ้นร่วมกับวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน
 ดังแสดงในภาพ 14 และภาพ 15 โดยปฏิกิริยาคายแสงที่เกิดขึ้น ณ บริเวณข้อต่อภาพตัว T จะ
 ไหลเข้าสู่ spiral coil flow cell ที่วางไว้อยู่หน้าหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (PMT) ภายในกล่องลูมิ
 โนมิเตอร์ (luminometer) ที่สร้างขึ้นอย่างรวดเร็ว เพื่อวัดการเรืองแสงของ Mn(II) ที่เกิดจากการเกิด
 รีดักชันของเปอร์แมงกาเนตไอออนในสถานะที่เป็นกรด

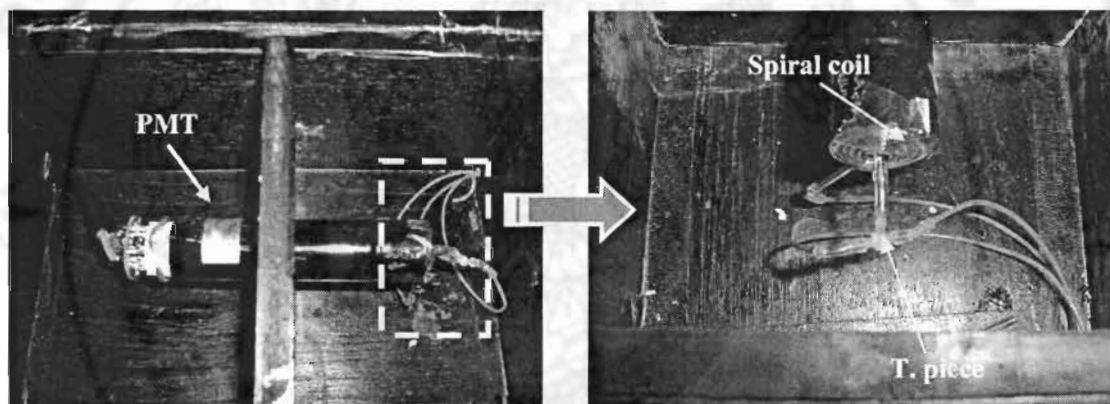


ภาพ 14 ผังการจัดวางเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน;

P, peristaltic pump; Reagent stream (8×10^{-5} M KMnO_4 ใน sodium hexametaphosphate
 ใน 0.02 M phosphoric acid); Carrier stream (0.75% (m/v) sodium hexametaphosphate

ใน 0.02 M phosphoric acid); V, valve (300 μ l sample loop); T, T-shaped connector; F, flat spiral coil flow cell; PMT, photomultiplier tube; W, waste

โดยกล่องลูมิโนมิเตอร์ที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดแสงด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ ถูกสร้างขึ้นโดยใช้กล่องไม้ที่มีการปิดผนึกกล่องอย่างมิดชิด โดยภายในทาสีดำทั้งหมด และตัว spiral coil flow cell ที่ใช้ในการวัดการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์มีขนาดรัศมี 2.5 เซนติเมตร โดยจะติดชิดกับหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ที่ไวต่อแสงสีแดง ที่มีพื้นที่ขนาดหน้าตัดของหลอด 2.5 เซนติเมตร โดยการจัดวางอุปกรณ์ภายในกล่องได้แสดงดังภาพ 16



ภาพ 15 การจัดวางอุปกรณ์วัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ ภายในกล่องลูมิโนมิเตอร์

ซึ่งการตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์โดยหลอดวัดแสงโฟโตมัลติพลายเออร์จะมีการส่งสัญญาณไปยังเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยผ่านเครื่องแปลงสัญญาณอะนาล็อกเป็นดิจิทัลผ่านช่องสัญญาณ RS-232 ของเครื่องดิจิทัลมัลติมิเตอร์เข้าสู่โปรแกรมบันทึกสัญญาณ UT60D เพื่อวัดความสูงของพีคสัญญาณ

ในเบื้องต้นของการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรชนิดต่าง ๆ ทั้งตัวแปรทางกายภาพและทางเคมีของระบบ CL-FI เพื่อเป็นแนวทางในการใช้เป็นเครื่องมือตรวจวัดสำหรับระบบโฟลอินเจกชัน ที่มีระบบการแยกระบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอร์ชันโฟลอินเจกชัน และก๊าซดิลิวชันโฟลอินเจกชัน ต่อไป

2.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยวิธี CL-FI

2.1.1. การศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสม

การศึกษานี้ใช้กรดที่ใช้เป็นตัวกลางในการเตรียมสารละลายของกระแสตัวพาที่มีสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และกระแสอิเล็กโทรไลต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 5×10^{-5} โมลาร์ โดยศึกษานี้ใช้กรดต่างๆ เพื่อใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสอิเล็กโทรไลต์โดยเลือก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก กรดฟอสฟอริก และกรดซัลฟิวริก ที่กำหนดความเข้มข้นที่ 0.08 โมลาร์ แล้วทำการฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดขึ้นภายในระบบ CL-FI ที่เกิดขึ้นโดยทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้งแล้วนำค่าความสูงของพีคที่ได้ ไปเปรียบเทียบกับระหว่างกรดแต่ละชนิดที่ใช้เพื่อหาชนิดของกรดที่เหมาะสมที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสอิเล็กโทรไลต์

2.1.2 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

หลังจากเลือกชนิดของกรดที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวกลางในระบบ CL-FI ได้จากข้อ 2.1.1 แล้วได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสอิเล็กโทรไลต์ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.12 โมลาร์ สำหรับการเตรียมสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก และสารละลายอิเล็กโทรไลต์สำหรับระบบ CL-FI จากนั้นทำการฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของระบบ CL-FI ที่ได้ เพื่อนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริกที่จะนำไปใช้ในการเตรียมสารละลายตัวพา และสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่อไป

2.1.3 การศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์

ปรับสภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 2.1.2 โดยศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ในช่วง 800-1100 โวลต์ ในการทดลองจะทำการปรับศักย์ไฟฟ้าไปที่ค่าเริ่มต้น 800 จากนั้นทำการฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของระบบ CL-FI โดยทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้ง ทำเช่นเดิมโดยปรับศักย์ไฟฟ้าเพิ่มขึ้นครั้งละ 50 โวลต์ นำค่าที่ได้ไปพล็อตกราฟระหว่าง สัญญาณต่อพื้นหลัง (signal-to noise ratio) กับ ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ เพื่อหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่ให้ค่าสัญญาณต่อพื้นหลังสูงสุดต่อไป

2.1.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ในสารละลายรีเอเจนต์

ในการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสรีเอเจนต์ที่ประกอบด้วยสารละลายตัวกลางโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตและกรดฟอสฟอริก 0.02 โมลาร์ ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-5} - 1×10^{-3} โมลาร์ ได้เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ไปใช้ศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเข้าไปในระบบ CL-FI ที่มีปริมาณโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้นต่าง ๆ โดยจะนำค่าการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ในกระแสรีเอเจนต์ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสรีเอเจนต์ต่อไป

2.1.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

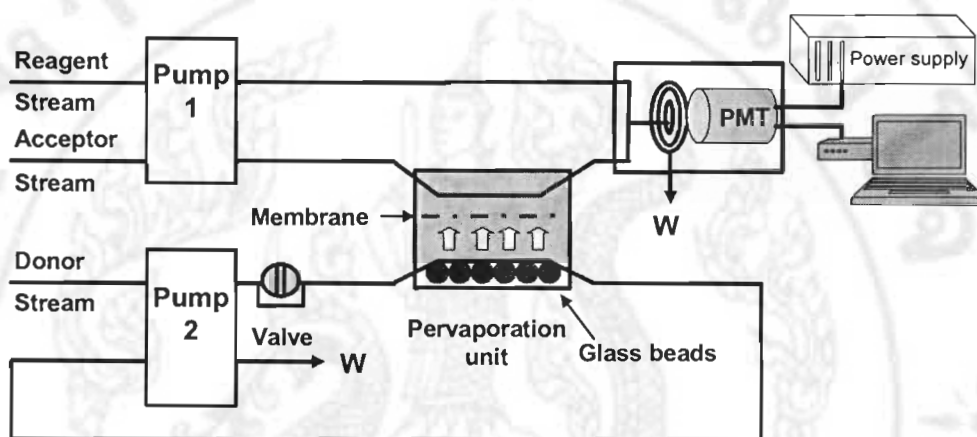
หลังจากปรับสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้เดิมในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์ในช่วงความเข้มข้น 0.25-1.25 % โดยน้ำหนัก โดยนำสารละลายกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์เพื่อใช้เป็นตัวกลางที่มีสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ละลายอยู่ ไปใช้ศึกษาถึงการเพิ่มของความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ CL-FI นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้ในกระแสตัวพาที่ให้ค่าสัญญาณการคายแสงสูงสุด

3. การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ที่มีระบบการแยกแบบออนไลน์ (on-line) ชนิดเพอร์วาพอเรชัน

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโพลินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ (PFI-CL) นั้นจะมีการฉีดสารตัวอย่างลงไปในการแยกของสารละลายกรดซัลฟิวริกซึ่งทำหน้าที่เป็นกระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์ ระหว่างที่ถูกส่งผ่านไปยัง pervaporation unit ซึ่งภายในจะประกอบด้วยเม็ด glass beads เรียงกันอย่างมีระเบียบในแนวระนาบ ซัลไฟด์เมื่อทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยทิ้งสิ่งปนเปื้อนอื่น ๆ ที่ปะปนอยู่ในสารละลายค้างอยู่ในกระแสตัวให้ เนื่องจากไม่สามารถผ่านเยื่อเลือกผ่านได้ เนื่องจากสารละลายถูกคั้นไว้ด้วยช่องอากาศ จึงไม่สัมผัสกับเยื่อเลือกผ่านโดยตรงจึงทำให้มีเฉพาะก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เท่านั้นที่สามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารตัวรับได้แล้วเคลื่อนที่ไปเข้าทำปฏิกิริยากับกระแสรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ใน

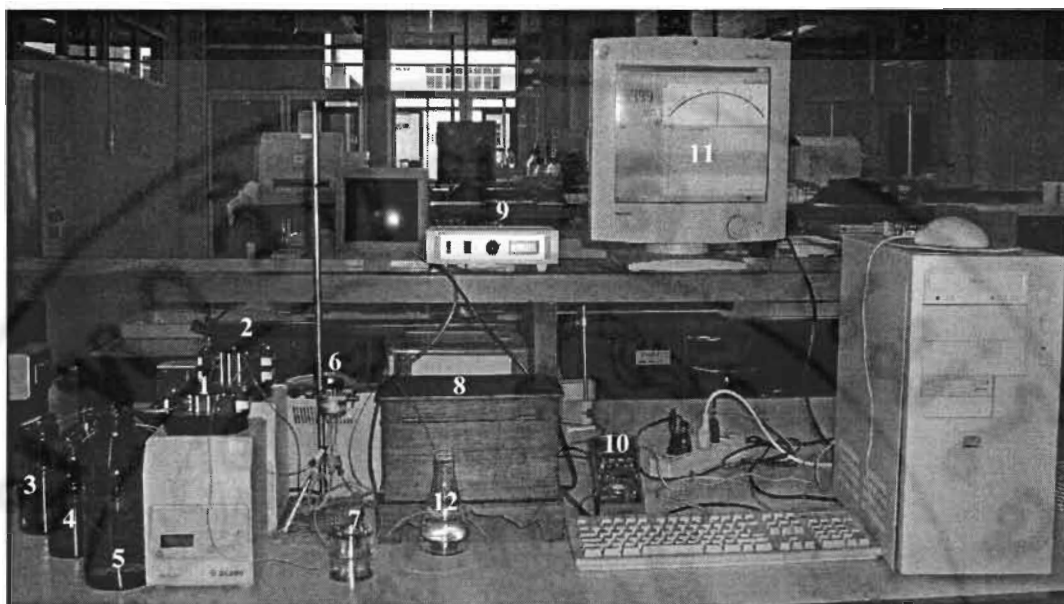
สภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่บริเวณ Flat spiral coil cell แล้วจะเกิดการเรืองแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่สามารถถูกตรวจวัดด้วยหลอดวัดแสง

ในการทดลองจะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรชนิดต่าง ๆ ทั้งตัวแปรทางกายภาพและทางเคมีของระบบ PFI-CL เพื่อให้ได้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมก่อนเพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงเพื่อให้ค่าถูกต้อง

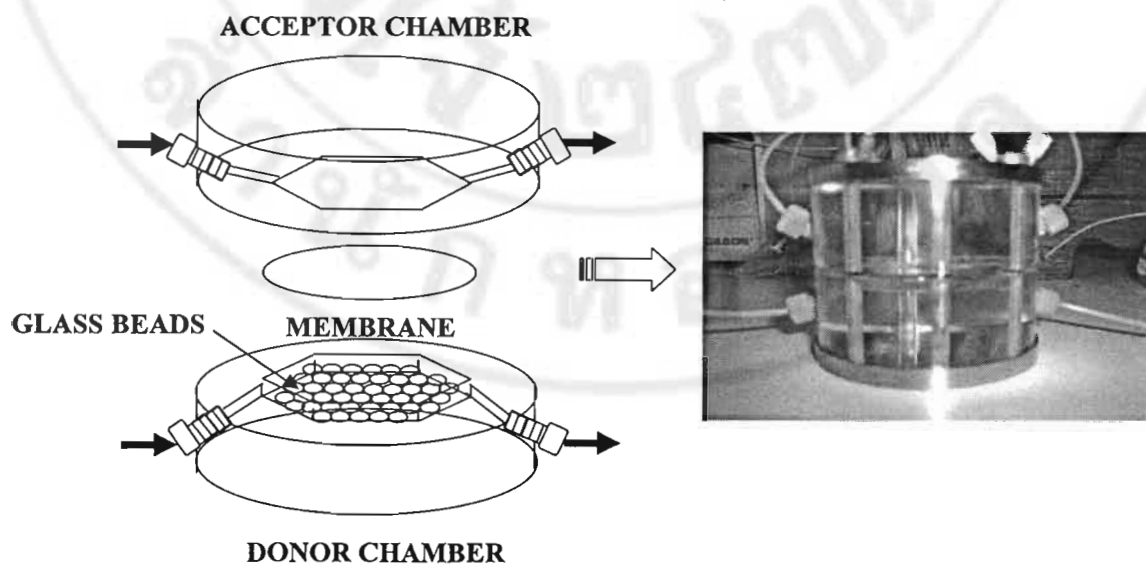


ภาพ 16 ผังการจัดวางเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยวิธี PFI-CL : Pump1, Pump2, peristaltic pump; Reagent stream (8.0×10^{-5} M KMnO_4 ใน sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Acceptor stream (1 mg l^{-1} Rhodamine B ใน 0.75 % sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Donor stream (0.2 M H_2SO_4); Valve ($500 \mu\text{l}$ sample loop); PMT, photomultiplier tube; W, waste

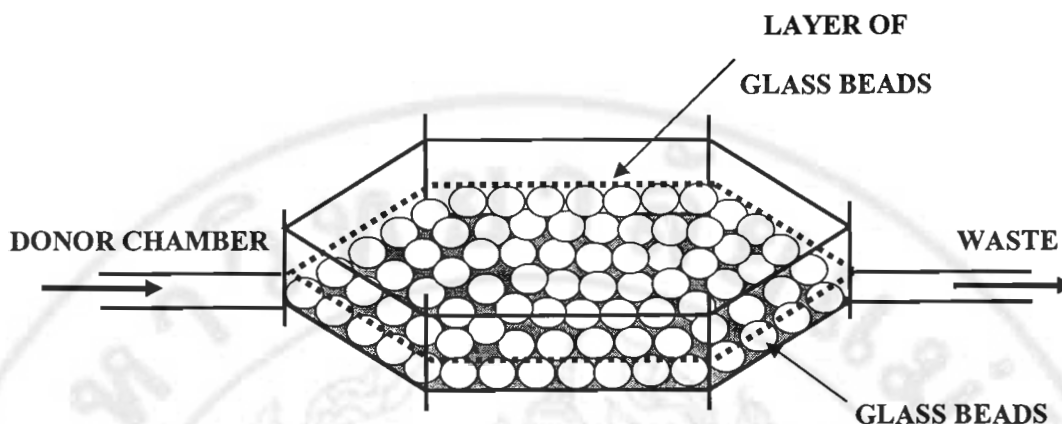
ภาพ 16 ระบบโพลินเจกชันที่พัฒนาในการวิเคราะห์ซัลไฟต์โดยระบบเพอร์วaporation เคมีลูมิเนสเซนซ์ ที่ทำการสร้างขึ้นเองจากวัสดุและอุปกรณ์ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นดังภาพ 3.4 ในขณะที่หน่วยแยกเพอร์วaporation ที่ได้สร้างขึ้นได้เลียนแบบจากงานวิจัยของ Hermin (Sulistiyarti et al., 1999: 133) ที่ได้ทำการศึกษาหาปริมาณไซยาไนด์ มีลักษณะดังภาพ 17 และลักษณะการจัดวางเม็ด glass beads ที่บรรจุอยู่ในหน่วยเพอร์วaporation เป็นแนวระนาบ แสดงดังในภาพ 18



ภาพ 17 ระบบการวิเคราะห์ชุด ไฟต์ด้วยวิธีเพอร์วaporation เคมีลูมิเนสเซนซ์ : (1,2) peristaltic pump, (3) reagent stream solution, (4) acceptor stream solution, (5) donor stream solution, (6) injection valve, (7) pervaporation unit, (8) chemiluminescence detector, (9) high voltage power supply, (10) digital multimeter, (11) personal computer, (12) waste



ภาพ 18 หน่วยแยกสารเพอร์วaporation



ภาพ 19 การจัดเรียงเม็ด glass beads ใน donor chamber

3.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยวิธี PFI-CL

การศึกษาทดลองเพื่อปรับสภาวะของระบบเพอร์วาพอร์ชัน โพลินเจกชัน สามารถทำได้โดยวิธี univariation เพื่อศึกษาตัวแปรทางกายภาพและทางเคมี โดยจะปรับเปลี่ยนตัวแปรใดตัวแปรหนึ่งในการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในขณะที่ตัวแปรอื่น ๆ จะถูกควบคุมให้คงที่ตลอดเวลาที่ทำการศึกษาผลของตัวแปรนั้น ๆ โดยทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมได้เริ่มต้นทำการควบคุมสภาวะการทดลองในส่วนของการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิโนมิเตอร์ให้เหมือนกับสภาวะของ CL-FI ที่ได้ทดลองไว้ตามข้อ 2.1 และได้เพิ่มการศึกษาสภาวะต่าง ๆ ดังนี้

3.1.1 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของส่วนตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ (กระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์)

ในการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ จะควบคุมให้อัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์มีค่าที่เท่ากัน ซึ่งจะศึกษาอัตราการไหลในช่วง 0.5-3.5 มิลลิลิตรต่อนาที เพื่อนำไปใช้ศึกษาผลที่มีต่อความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปในระบบ PFI-CL โดยจะนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับอัตราการไหลรวม (total flow rate) เพื่อหาอัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ที่เหมาะสม

3.1.2 การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไประบบ

หลังจากปรับอัตราการไหลที่เหมาะสมตามข้อ 3.1.1 ทำการศึกษาหาปริมาตรสารตัวอย่างสำหรับฉีดลงไปในกระแสตัวให้ในช่วงปริมาตร 50-500 ไมโครลิตร เพื่อนำไปใช้สำหรับศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปใน

ระบบ PFI-CL โดยจะนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของฟิคกับปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดลงไประบบเพื่อหาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ฟิคสูงสุด

3.1.3 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสตัวให้

เมื่อปรับสภาวะของระบบ PFI-CL ที่เหมาะสมตามข้อ 3.1.2 จะศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ละลายอยู่ในกระแสตัวให้ (donor stream) ในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.3 โมลาร์ โดยนำสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นต่างๆ ไปใช้ศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ PFI-CL เพื่อนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของฟิค กับความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสตัวให้

3.1.4 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวให้

ในการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งจะศึกษาอัตราการไหลในช่วง 0.5-3.5 มิลลิลิตรต่อนาที เพื่อศึกษาผลของความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ PFI-CL โดยนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของฟิค กับอัตราการไหล เพื่อหาอัตราการไหลที่เหมาะสมที่ทำให้ฟิคสูงสุด

3.1.5 การศึกษาผลของฟลูออโรฟอร์บางชนิดต่อการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์

หลังจากปรับสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำการศึกษาผลของฟลูออโรฟอร์ ที่ใช้ในการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ โดยศึกษาผลของฟลูออโรฟอร์บางชนิด (โรดามิน บี และฟลูออเรสซีน) โดยทำการเติมลงฟลูออโรฟอร์ในกระแสตัวรับโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต โดยกำหนดความเข้มข้นที่ไว้ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดขึ้น ภายในระบบ PFI-CL ที่เกิดขึ้น แล้วนำค่า ความสูงของฟิคที่ได้ไปเปรียบเทียบกับระบบที่ไม่มีการเติมสารฟลูออโรฟอร์

3.1.6 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของฟลูออโรฟอร์

หลังจากเลือกชนิดของฟลูออโรฟอร์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ในระบบ PFI-CL ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของโรดามิน บี ในช่วงความเข้มข้น 0.5-3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเตรียมโรดามิน บี ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในกระแสตัวรับสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่อยู่ในสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าไปวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของระบบ PFI-CL แล้วนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของฟิคกับความเข้มข้นของสารละลายโรดามิน บี ที่ใช้เพิ่มสภาพไวในการวิเคราะห์

3.2 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

3.2.1 ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าระบบ PFI-CL ที่มีสภาวะที่เหมาะสมจากการศึกษาได้จากข้อ 3.1 แล้ววัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์เพื่อหาความสูงของพีคแต่ละความเข้มข้นเพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐานและหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

3.2.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ จะพิจารณาจากปริมาณของซัลไฟด์ที่ทำการฉายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์อยู่ในช่วงที่มีความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

3.3 การศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวนที่สามัญ

3.3.1 เตรียมสารละลายซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าระบบ PFI-CL เพื่อใช้เป็นพีคเปรียบเทียบ

3.3.2 เตรียมสารละลายซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและเตรียมสารละลายมาตรฐาน K^+ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรลงไปในช่วงปริมาตร 100 มิลลิตรในช่วงเดียวกัน (อัตราส่วน 1:1) แล้วมาฉีดเข้าระบบ PFI-CL เปรียบเทียบพีคที่ได้กับพีคข้อ 3.3.1 (หากว่าพีคที่ได้มีความสูงหรือต่ำกว่าเกิน 50 % จะถือว่าเกิดการรบกวนขึ้น)

3.3.3 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.2 โดยเปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 1:10 1:100 1:1,000 1:10,000 ตามลำดับ

3.3.4 ทำการทดลองซ้ำข้อ 3.3.1-3.3.3 โดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานของไอออนสามัญต่าง ๆ ที่ต้องการทดสอบ โดยจะศึกษาไอออนลบ ได้แก่ Cl^- I^- CH_3COO^- SO_4^{2-} S^{2-} PO_4^{3-} และไอออนบวกที่พบบ่อย ได้แก่ K^+ Na^+ Ca^{2+} CO^{2+} Fe^{2+} Mg^{2+} Mn^{2+} Ni^{2+} Fe^{3+} รวมถึงโมเลกุลของสารประกอบบางชนิดที่พบได้บ่อย ๆ ในอาหารหมักดอง เช่น กลูโคส ซูโครส กรดแอสคอร์บิก และเอทานอล เป็นต้น

3.4 การวิเคราะห์สารตัวอย่างอาหารหมักดอง

3.4.1 เก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองมาทำการวิเคราะห์ โดยจะเก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองที่คาดว่าจะมีสารซัลไฟด์ปนเปื้อนอยู่เพื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI-CL ในการทดลองได้เก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองมาจากตลาดสดแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย คือ น้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และซิงหั่นฝอย

3.4.2 ทำการวิเคราะห์หาซัลไฟด์โดยวิธี PFI-CL โดยนำน้ำตัวอย่างมาทำการฉีดสู่ระบบ PFI-CL ซึ่งอาจต้องมีการเจือจางให้เหมาะสมเพื่อให้มีความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วงความ

เป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ ในกรณีที่ตัวอย่างมีสารซัลไฟด์ฟอสฟอรัสก็จะเกิดขึ้น ซึ่งความสูงของฟอสฟอรัสจะนำมาใช้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น

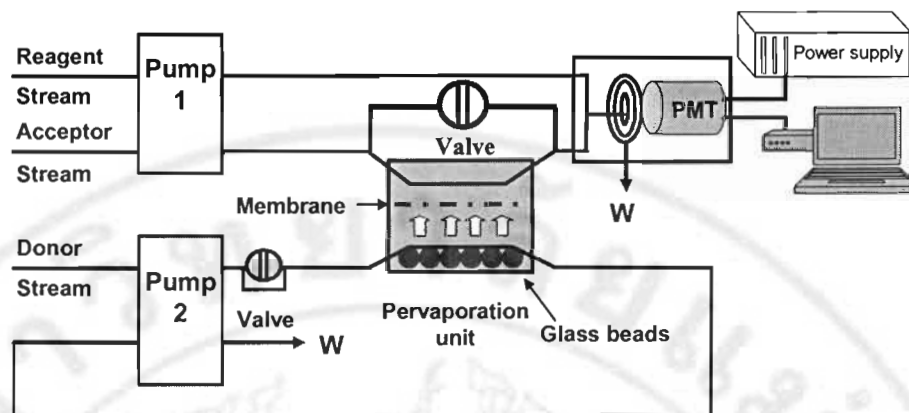
3.5 การหาลักษณะการกลับคืนของการวิเคราะห์

3.5.1 เจือจางสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรง มาทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยวิธีเติมสารมาตรฐาน (standard addition) โดยปีเตอร์สารละลายตัวอย่างในปริมาตรที่เท่ากันลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวด จากนั้นปีเตอร์สารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวดในปริมาตรที่แตกต่างกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI เพื่อวัดค่าความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ มาสร้างกราฟมาตรฐานแบบเติมสารมาตรฐานจากปริมาณของซัลไฟด์ที่เติมลงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.5.2 คำนวณหาลักษณะการกลับคืน

3.6 การทดลองเพิ่มสภาพไหลของการวิเคราะห์ โดยวิธีหยุดการไหลชั่วคราว (Stop flow mode)

โดยทำการฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้าไปกระแสตัวพา เพื่อให้ไปเกิดปฏิกิริยากับสารละลายกรดในกระแสตัวพา เพื่อเปลี่ยนสารละลายซัลไฟด์เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ภายใน pervaporation unit นั้น เมื่อก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน และเข้าไปสะสมในสารตัวพาเฮกซะเมตอะฟอสเฟต โดยการกักเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในระยะเวลาที่เหมาะสม ทำได้โดยหยุดสารละลายใน acceptor chamber เป็นการชั่วคราวในระยะเวลาต่าง ๆ ตั้งแต่ 2-15 นาที โดยอาศัยวาล์วตัวที่ 2 มาต่อเข้ากับ acceptor chamber ดังภาพ 20 โดยในขณะที่วาล์วตัวที่ 2 อยู่ในตำแหน่ง “ Load” กระแสตัวรับบางส่วนจะถูกกักอยู่ใน acceptor chamber โดยที่กระแสตัวรับที่ถูกปั๊มจาก pump1 จะผ่านวาล์ว 2 โดยไม่ผ่านเข้าไปใน acceptor chamber แต่เมื่อครบเวลาที่ต้องการให้หยุดการไหลชั่วคราว จะสับวาล์วไปยังตำแหน่ง “Inject” เพื่อไล่สารตัวรับที่ถูกกักอยู่ใน acceptor chamber ให้ไหลผ่านไปเจอกับสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ซึ่งเป็นตัวทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์ที่บริเวณ Flat coil cell เพื่อตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ต่อไป



ภาพ 20 ผังการจัดวางเครื่องมือ PFI-CL ในการศึกษาการหยุดการไหลชั่วคราว

ขั้นตอนการทำระบบ flow stop

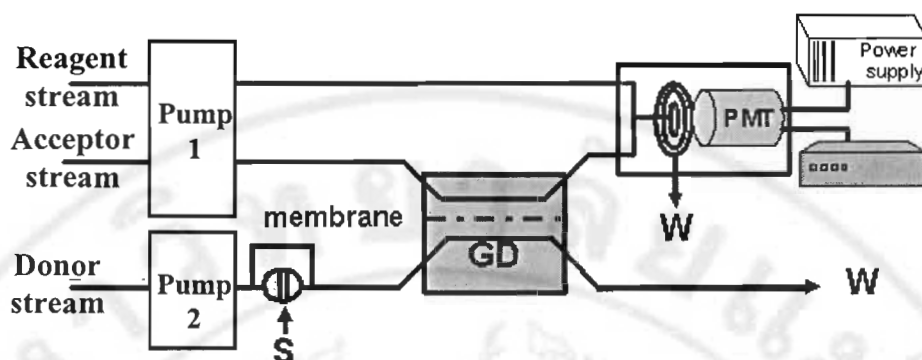
3.6.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าเครื่อง PFI-CL โดยต่อระบบวาล์วขึ้นดังภาพ 20 เพื่อใช้ในการศึกษาหยุดการไหลของสารละลายตัวรับ

3.6.2 จับเวลาในการกักหยุดสารละลายตัวรับ เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาในช่วง 2-15 นาที

3.6.3 ตรวจวัดสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ตามระยะเวลาที่กำหนด

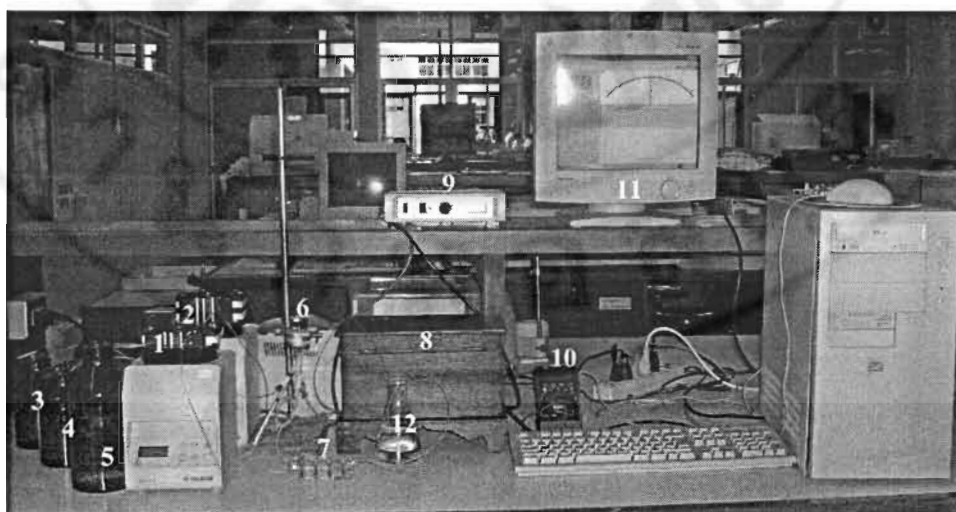
4. การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ด้วยระบบการแยกออนไลน์ (on-line) ด้วยวิธีก๊าซดิฟฟิวชัน

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิคก๊าซดิฟฟิวชันโฟลอินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ (GDFI-CL) นั้นมีการฉีดสารตัวอย่างลงไปในระบบตัวพาสารละลายกรดซัลฟิวริก (donor stream) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับซัลไฟต์ จะถูกส่งผ่านไปยัง gas diffusion unit ซึ่งภายในจะประกอบด้วยเยื่อเลือกผ่านที่สัมผัสโดยตรงกับสารละลายกระแสตัวให้และสารละลายกระแสตัวรับ โดยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ละลายในสารละลายตัวให้จะแพร่เข้าไปทำปฏิกิริยากับสารตัวรับโดยตรงแล้วเคลื่อนที่เข้าทำปฏิกิริยากับกระแสรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่บริเวณ Flat spiral coil cell แล้วเกิดการเรืองแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่สามารถถูกตรวจวัดด้วยหลอดวัดแสง ในการทดลองจะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรชนิดต่าง ๆ ทั้งตัวแปรทางกายภาพและทางเคมีของระบบ GDFI-CL จะคล้ายคลึงกันกับระบบ PFI-CL เพื่อเปรียบเทียบถึงสภาพไวของแต่ละเทคนิคที่แตกต่างกัน



ภาพ 21 แผนผังเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยวิธี GDFI-CL : Pump1. Pump2; Peristaltic pump; Reagent stream (8.0×10^{-5} M KMnO_4 ใน sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Acceptor stream (1 mg l^{-1} Rhodamine B ใน 0.75 % sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Donor stream (0.1 M H_2SO_4); Valve ($500 \mu\text{l}$ sample loop); PMT, photomultiplier tube; W, waste

ภาพ 21 ระบบโฟลอินเจกชันที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ซัลไฟต์โดยวิธีก๊าศดฟฟิว-ชัน โฟลอินเจกชันเคมีลูมินเนสเซนซ์ ที่ทำการสร้างขึ้นเองจากวัสดุและอุปกรณ์ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ แสดงให้เห็นในภาพ 22



ภาพ 22 ระบบการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยวิธีก๊าศดฟฟิวชัน โฟลอินเจกชันเคมีลูมินเนสเซนซ์ : (1,2) peristaltic pump, (3) potassiumpermanganate ใน sodium hexametaphosphate, (4) Rhodamine B ใน sodium hexametaphosphate ใน phosphoric acid, (5) sulfuric acid, (6)

injection valve, (7) gas diffusion unit, (8) detector, (9) high voltage power supply, (10) multimeter, (11) recorder, (12) waste

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธี GDFI-CL

การศึกษาทดลองปรับสภาวะของระบบก๊าซคลิฟิวชันโฟลอินเจกชัน คล้ายคลึงกับวิธีเพอร์-วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน โดยสภาวะที่เหมาะสมได้เริ่มต้นทำการควบคุมสภาวะการทดลองในส่วนของการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิโนมิเตอร์ให้เหมือนกับ สภาวะของ PFI-CL ที่ได้ ทดลองไว้แล้วในตอนต้น และทำการศึกษาสภาวะที่มีผลต่อการเพิ่มสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนส์บางอย่าง ในระบบ GDFI-CL เช่น การศึกษาสภาวะค่าความเข้มข้นของสารละลายกระแสตัวพากรดซัลฟิวริก (donor stream) และอัตราการไหลของ donor stream เป็นต้น

5. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการแยกสารด้วยระบบออนไลน์

โดยการศึกษาการเปรียบเทียบระบบออนไลน์ด้วยระบบ PFI-CL และ GDFI-CL ซึ่งมีสภาพไวที่ต่างกัน ซึ่งสามารถนำมาเปรียบเทียบโดยการตรวจสอบระบบการวิเคราะห์ อาทิเช่น ค่าความชัน ของกราฟมาตรฐาน ค่าความถูกต้องและความแม่นยำ และขีดจำกัดของการตรวจวัด

5.1 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

ทำให้โดยการเตรียมสารละลายซัลไฟต์ที่ช่วงความเข้มข้น 0.5- 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.5-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ มาฉีดเข้าระบบ PFI-CL และ GDFI-CL ที่มีสภาวะที่เหมาะสมจากการศึกษาได้จาก 3.1 และ 4.1 แล้ววัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนส์เพื่อหาความสูงของพีคแต่ละความเข้มข้นเพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน และหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ เพื่อเปรียบเทียบสภาพไวจากความชันของกราฟมาตรฐานที่ได้จากทั้งสองวิธี

5.2 การศึกษาหาความแม่นยำของเครื่องมือและการวิเคราะห์

จากกราฟความเป็นเส้นตรงจะเลือกสารมาตรฐานความเข้มข้นตรงกลางของช่วงที่เป็นเส้นตรงหนึ่งความเข้มข้น เพื่อฉีดเข้าไปในระบบ PFI-CL และ GDFI-CL ตามลำดับ ทั้งหมด 12 ครั้ง เพื่อหาความแม่นยำของเครื่องมือ

ส่วนการทดลองหาความแม่นยำของการวิเคราะห์ ทำได้โดยการทดลองโดยใช้ความเข้มข้นที่ใช้ในการหาความถูกต้องของเครื่องมือมาเตรียมใหม่โดยเตรียม 12 ขวด ทำการฉีดขวดละ 3 ครั้ง เพื่อหาความแม่นยำของการวิเคราะห์

5.3 การศึกษาหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์

5.3.1 เตรียมสารละลายซัลไฟด์ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ระหว่าง 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าเครื่อง PFI-CL และ GDFI-CL ตามลำดับ เพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ โดยพิจารณาจากค่าสัญญาณพื้นหลัง (signal-to-noise ratio) ที่มีค่ามากกว่า 2 หรือ 3 เท่าเปรียบเทียบกับสัญญาณพื้นหลัง

6. การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

6.1 เก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักคอง โดยเก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักคองที่คาดว่าจะมีสารซัลไฟด์ปนเปื้อนอยู่เพื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี GDFI-CL ในการทดลองได้เก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักคองมาจากตลาดสดแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย คือ น้ำหน่อไม้คอง น้ำผักกาดคอง และขิงหนัฝอย

6.2 ทำการวิเคราะห์หาซัลไฟด์โดยวิธี GDFI-CL โดยทำการฉีดน้ำตัวอย่างเข้าสู่ระบบ GDFI-CL ซึ่งอาจต้องมีการเจือจางให้เหมาะสมก่อนเพื่อให้มีความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรง ถ้าตัวอย่างมีสารซัลไฟด์ที่ผลิตสัญญาณก็จะเกิดขึ้น ซึ่งความสูงของพีคสัญญาณจะนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น

7. การหาล้อยละการกลับคืน

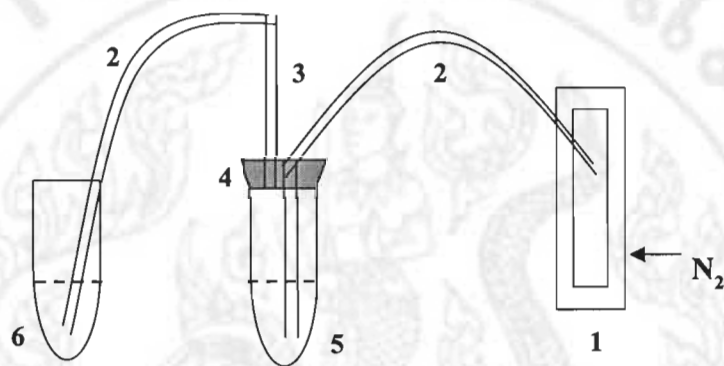
7.1 ทำการเจือจางสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรง มาทำการวิเคราะห์หาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างในปริมาตรที่เท่ากันลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวด จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมซัลไฟด์ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวดในปริมาตรที่แตกต่างกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี GDFI-CL เพื่อวัดค่าความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานแบบเติมสารมาตรฐาน แล้วนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน

7.2 คำนวณร้อยละการกลับคืน

8. การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยวิธีดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์แบบดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี เป็นวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานของ AOAC ที่วัดปริมาณก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยทำการกลั่นด้วยกรดซัลฟิวริก (acid distillation) ในการแยกซัลไฟด์ออกจากอาหาร โดยเติมกรดซัลฟิวริก 35% โดย

ปริมาตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วทำการผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในตัวอย่าง เพื่อไล่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ถ่ายลงในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (ammonium acetate ใน ethanol) จากนั้นนำไปวัดปริมาณกระแสจากการแพร่ของสารละลายโดยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารอกราฟี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานปรอทหยดโดยวัดกระแสและความต่างศักย์ที่แตกต่างกันเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน



ภาพ 23 การจัดชุดอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารอกราฟี

- | | | |
|---|---|-------------------------------|
| 1 | = | Nitrogen gas |
| 2 | = | Teflon tubing |
| 3 | = | Glass tubing |
| 4 | = | Rubber stopper |
| 5 | = | Sample test tube |
| 6 | = | Electrolyte-trapping solution |

ขั้นตอนการทำวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารอกราฟี

8.1 นำสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 10 มิลลิลิตร เทลงในหลอดทดลอง (ขนาด 25× 200 mm) เติมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 9.19 โมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

8.2 ปิเปิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์แทปปิง(electrolyte-trapping solution) มาปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง (ขนาด 25 × 200 mm) อีกหลอดหนึ่ง

8.3 จัดตั้งอุปกรณ์ดังภาพ 23 จากนั้นผ่านก๊าซไนโตรเจนลงใน 10 นาที เมื่อครบ 10 นาที หยุดปล่อยก๊าซไนโตรเจนแล้วเติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 9.19 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

ลงในหลอดที่มีสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ แล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างให้ความร้อน (อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส) ผ่านก๊าซไนโตรเจนลงไปอีก 10 นาที หยุดปล่อยก๊าซไนโตรเจน

8.4 นำสารละลายอิเล็กโทรไลต์แทปปิง (electrolyte-trapping solution) จากหลอดทดลองถ่ายลงในโพลารोगราฟิเคสเซลล์จากนั้นผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในโพลารोगราฟิเคสเซลล์ พร้อมกับคนสารละลายเป็นเวลา 240 วินาทีเพื่อทำการไล่ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลายเพื่อลดคลื่นออกซิเจน (oxygen wave)

8.5 วัดกระแสที่เกิดขึ้นและบันทึกค่ากระแสจากการแพร่ที่วัดได้ ($-nA$) โดยใช้ mode คิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ โพลารोगราฟิ ในช่วงค่าศักย์ไฟฟ้า -400 ถึง -800 โวลต์

8.6 ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ ความเข้มข้น 15.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ทำการฉีดล้างหัวไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่น และซับด้วยกระดาษทิชชูทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนสารละลายใหม่)

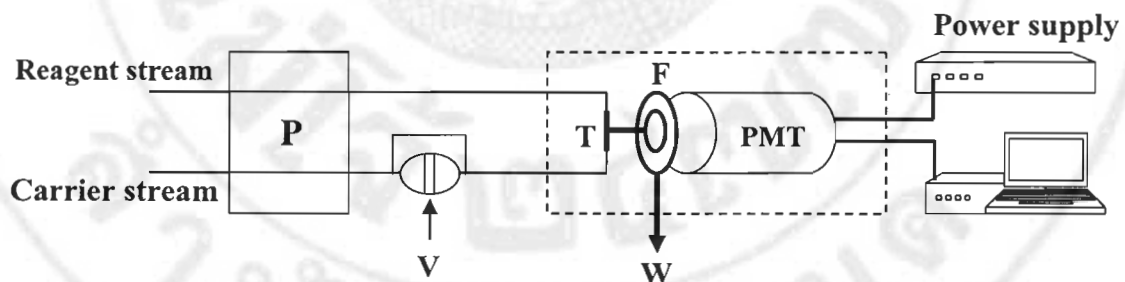
8.7 วิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างโดยวิธีเดียวกัน เพื่อนำค่าที่กระแสนมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น ระหว่างกระแสจากการแพร่และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ในการวิจัยฉบับนี้ได้ทำการสร้างและทดสอบเทคนิค เคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชันอะนาไลซิส (CL-FI) ร่วมกับวิธีการแยกสารด้วยระบบออนไลน์ ซึ่งประกอบด้วยเทคนิค เพอร์วาพอร์ชันโฟลอินเจกชัน (PFI) และเทคนิค แก๊สคิฟิวชันโฟลอินเจกชัน (GDFI) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในอาหารประเภทหมักดอง โดยนำเครื่องที่มีในห้องปฏิบัติการมาประยุกต์ใช้เนื่องจากเทคนิคนี้มีข้อดีคือวิเคราะห์ได้รวดเร็ว ใช้ปริมาณสารตัวอย่างและสารทำปฏิกิริยาน้อยมาก ทำให้เกิดของเสียที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมน้อย นอกจากนั้นระบบที่ใช้วิเคราะห์เป็นระบบปิดผลดีให้ผู้ปฏิบัติการทดลองไม่ต้องสัมผัสกับสารเคมีโดยตรง และการแยกสารแบบออนไลน์ ยังช่วยลดขั้นตอน การเตรียมสารตัวอย่างให้น้อยลง ทำให้การวิเคราะห์ทำได้อย่างรวดเร็วมากยิ่งขึ้น

1. การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน (CL-FI)



ภาพ 24 ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน (CL-FI) : Reagent stream (8×10^{-5} M KMnO_4 ใน sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Carrier stream (0.75% (m/v) sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); V, valve (300 μl sample loop); T, T-shaped connector; F, flat spiral coil flow cell; PMT, photomultiplier tube; W, waste

โดยในการทดลองขั้นต้นได้ทำการศึกษาและออกแบบการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชันโดยใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นรีเอเจนต์

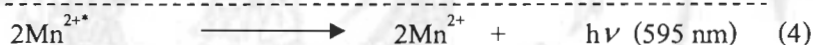
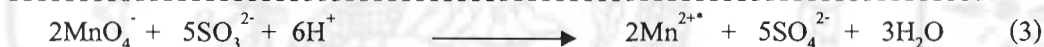
วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิค CL-FI ที่ได้ทำศึกษานี้มีการใช้สารตัวพาคือสารละลาย 1% โดยน้ำหนัก โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่อยู่ในสภาวะกรดและมีรีเอเจนต์

โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นตัวออกซิไดส์ในการทำปฏิกิริยากับซัลไฟต์

ทฤษฎีของการวิเคราะห์คือเมื่อฉีดสารตัวอย่างซัลไฟต์เข้าไปในกระแสตัวพา สารละลายตัวพาจะถูกปั๊มบีบน้ำเอาสารละลายผสมของตัวพาและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ CL-FI โดยซัลไฟต์ในสารผสมจะเข้าเกิดปฏิกิริยากับรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตทันทีบริเวณ ที่ตัวต่อภาพตัวที่ โดยปฏิกิริยารีดักชันของซัลไฟต์กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในตัวกลางสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 1% โดยน้ำหนัก ที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางช่วยทำให้กระบวนการการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของไอออน Mn^{2+} ที่สภาวะกระตุ้นสามารถตรวจวัดได้ในเวลาที่เหมาะสมดังสมการ



ปฏิกิริยารวม



เมื่อ * คือ สภาวะกระตุ้น

แสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของไอออน Mn^{2+} ที่คายออกมามีความยาวคลื่นประมาณ 595 นาโนเมตร (Barnett et al., 2002: 181) ซึ่งมีความเข้มแสงในช่วงความยาวคลื่น ดังกล่าวตรงกับช่วงคลื่นของแสงสีแดงโดยแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ถูกผลิตขึ้นจะถูกตรวจวัดโดยหลอดวัดแสงโฟโตมัลติพลายเออร์ (PMT) และส่งสัญญาณไปยังเครื่องบันทึกผลเพื่อบันทึกผลที่ได้ออกมาในภาพของฟลักสัญญาณ

1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลโอินเจกชัน

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ CL-FI จาก แผนภาพในภาพ 24 มีสภาวะเริ่มต้นก่อนที่จะทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมแสดงดังตาราง 5 ซึ่งใช้สภาวะเริ่มต้นนี้ได้เลียนแบบขึ้นจากงานวิจัยการหาสารหนู (Satieperakul et al., 2005: 25) ในระบบโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่มีการรายงานไว้

ตาราง 5 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ CL-FI

พารามิเตอร์	สภาวะเริ่มต้น
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT	950 โวลต์
กระแสดั้วพา	
ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก	0.02 โมลาร์
ความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	1% (m/v)
กระแสรีเอเจนต์	
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต	5.0×10^{-5} โมลาร์
อัตราการไหลของกระแสรีเอเจนต์และกระแสดั้วพา	2.0 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรสารตัวอย่าง	300 ไมโครลิตร

1.1.1 การศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสม

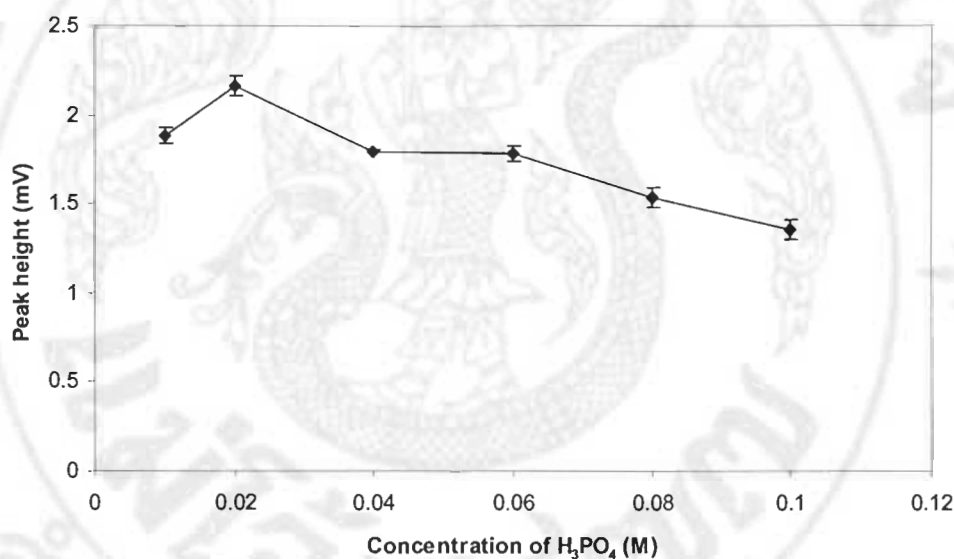
การศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวกลางในกระแสดั้วพาและกระแสรีเอเจนต์ ได้ใช้กรด 4 ชนิด คือกรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก กรดฟอสฟอริก และกรดซัลฟิวริก ที่มีความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ มาทดสอบการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับระบบ CL-FI ที่สร้างขึ้น พบว่าได้ผลดังตาราง 6 โดยพบว่ากรดที่เหมาะสมที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสดั้วพาและกระแสรีเอเจนต์คือกรดฟอสฟอริก ซึ่งให้ค่าสัญญาณ CL intensity สูงกว่ากรดชนิดอื่น ซึ่งกรดไฮโดรคลอริก และกรดไนตริก ให้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ต่ำ เนื่องจากกรดไนตริก และกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวออกซิไดส์ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตแทนสารตัวอย่างซึ่งจะทำให้สัญญาณการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ลดลง (Anastos et al., 2004: 130 and Barnett et al., 1998: 131)

ตาราง 6 การเปรียบเทียบชนิดของกรดที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสดั้วพาและกระแสรีเอเจนต์

ชนิดของกรด	ความสูงของพีค (mV)
HCl	0.116 ± 0.02
HNO ₃	0.183 ± 0.02
H₃PO₄	2.017 ± 0.02
H ₂ SO ₄	1.717 ± 0.02

1.1.2 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากตาราง 6 โดยศึกษาความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่มีผลต่อการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.01-0.10 โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 25 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริกที่ใช้จะมีค่าเท่ากับ 0.02 โมลาร์ ($\text{pH}=2.72$) ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกและการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์จะพบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเพิ่มมากกว่า 0.02 โมลาร์ กลับจะทำให้ค่าสัญญาณการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ยิ่งมีค่าลดลง

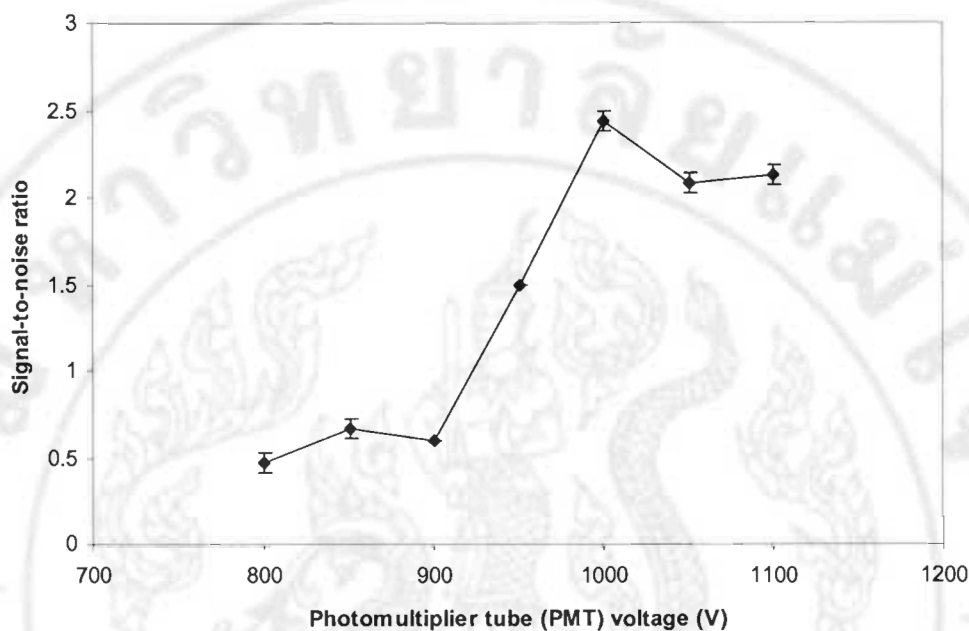


ภาพ 25 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

1.1.3 การศึกษาหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอดวัดแสงโฟโตมัลติพลายเออร์ (PMT)

เมื่อทำการทดลองหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT ในช่วงความต่างศักย์ 800-1100 โวลต์ โดยใช้สภาวะที่ใช้ในการทดลองดังตาราง 5 พบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 26 โดยค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการจ่ายให้แก่หลอด PMT เท่ากับ 1000 โวลต์ ซึ่งที่ค่าศักย์ไฟฟ้านี้พบว่ามีความสัญญาณการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อสัญญาณพื้นหลัง (signal-to-noise ratio) มีค่าสูงสุด โดยที่ค่าศักย์ไฟฟ้าที่สูงกว่านี้พบว่า จะทำให้ค่าสัญญาณพื้นหลังมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก ทำให้การวัดสัญญาณที่ได้ไม่แม่นยำ และนอกจากนั้นแล้วค่าศักย์ไฟฟ้าที่

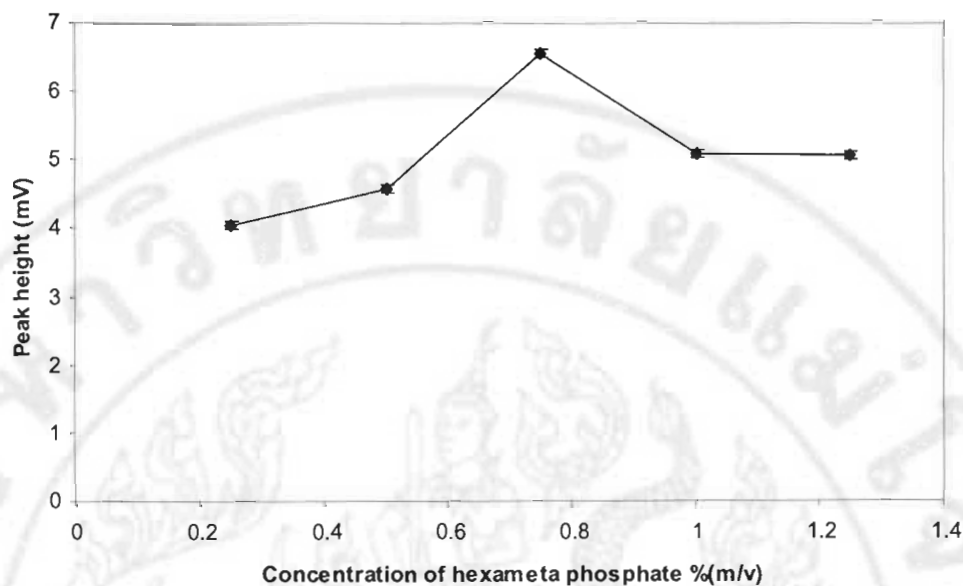
สูงเกินไปก็ไม่ใช่ที่แนะนำจากบริษัทผู้ผลิต เนื่องจากจะทำให้ หลอด PMT เสื่อมสภาพได้เร็วกว่าที่ควร



ภาพ 26 ผลการศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอด PMT

1.1.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

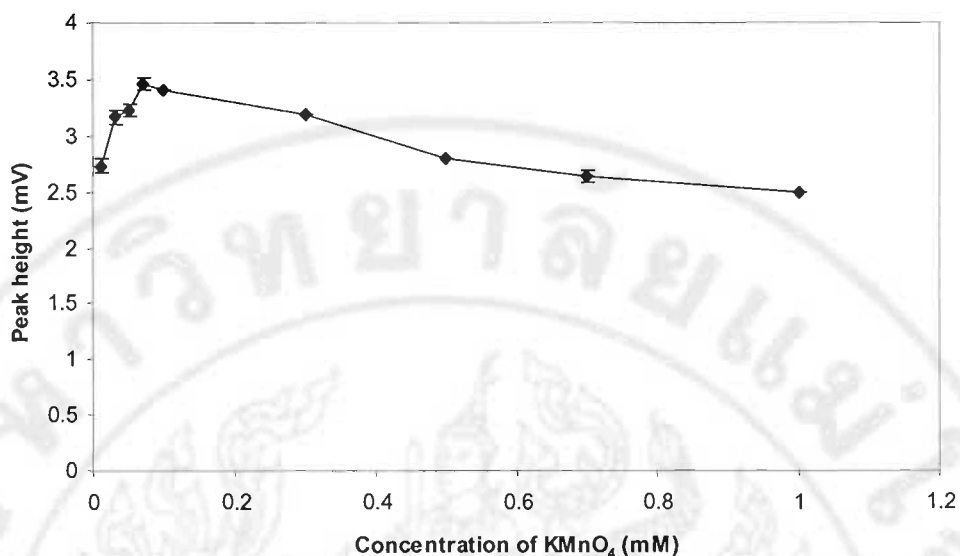
การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้เป็นสารตัวกลางที่เติมลงในกระแสดั้วพา จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.1.1-1.1.3 โดยได้ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตในช่วงความเข้มข้น 0.25-1.25 % โดยน้ำหนัก ซึ่งพบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 27 โดยที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่หาได้จากกราฟมีค่าเท่ากับ 0.75% โดยน้ำหนัก ซึ่งจะเห็นได้ว่าแม้จะทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตให้มากขึ้นมากกว่า 0.75% ก็ไม่ทำให้สัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้นแต่ประการใด โดยในการเติมสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเนื่องจากการต้องการให้เกิดปฏิกิริยาการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของสารตัวอย่างเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายรีเอเจนต์ มีระยะเวลาในการคายแสงที่นานขึ้น เนื่องจากโครงสร้างของโมเลกุลภาพทรงแบบมงกุฎของเฮกซะเมตาฟอสเฟต จะช่วยจับไอออน Mn^{2+} ที่อยู่ในสถานะกระตุ้น มีช่วงชีวิตที่ยาวนานยิ่งขึ้น (Barnett et al., 2001: 1636)



ภาพ 27 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

1.1.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสอิเล็กโตร

โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 1.1.1-1.1.4 มาใช้ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสอิเล็กโตรที่มีสภาพเป็นกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ในช่วงความเข้มข้น 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-3} โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 28 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 7.0×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งถ้าเพิ่มความเข้มข้นมากกว่า 7.0×10^{-5} โมลาร์ ไม่ทำให้สัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้นแต่กลับทำให้สัญญาณลดต่ำลง ซึ่งอาจเกิดจากการที่สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่มีความเข้มข้นมากเกินไปทำให้เกิดการดูดกลืนแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ที่คายออกมาในบางส่วน (self absorption) ทำให้โฟตอนที่ถูกผลิตขึ้นมีจำนวนลดน้อยลงเนื่องจากผลของ inner filter effect



ภาพ 28 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสตัวพา

1.1.6 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์เซลล์ไฟต์ด้วยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเบื้องต้นในการวิเคราะห์ด้วยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน สามารถสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมเบื้องต้นสามารถทำให้ระบบ CL-FI มีประสิทธิภาพสูงสุดจากปัจจัยต่าง ๆ ทั้งทางกายภาพและทางเคมีได้ดังแสดงในตาราง 7

ตาราง 7 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณเซลล์ไฟต์ด้วยระบบ CL-FI

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายหลอด PMT	1000 โวลต์
ชนิดของกรด	H_3PO_4
ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก	0.02 โมลาร์
ความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	0.75% โดยน้ำหนัก
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต	7.0×10^{-5} โมลาร์

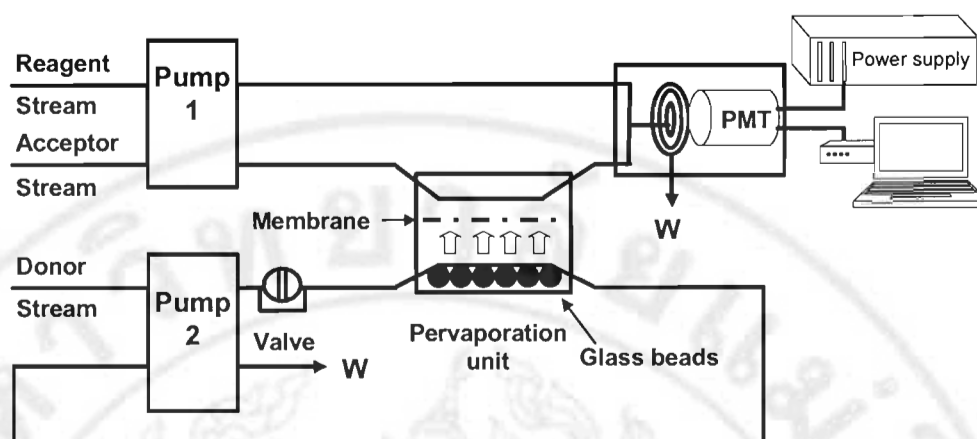
2. การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโพลินเจกชัน

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในอาหาร ที่แนะนำโดย AOAC ที่อาศัยการกลั่นด้วยกรด (acid distillation) ของสารประกอบซัลไฟต์ที่มีอยู่ให้ออกมาในภาพก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพื่อเป็นการแยกสารประกอบซัลไฟต์ออกมาจากอาหารและสิ่งปนเจือปนอื่น ดังสมการ (5)



จากความรู้พื้นฐานดังกล่าว จึงนำไปสู่การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธีการโพลินเจกชันแบบใหม่ ที่มีการแยกสารแบบออนไลน์ โดยใช้เทคนิคเพอร์วาพอเรชันมาช่วยแยกซัลไฟต์ออกจากเมทริกซ์อื่น ๆ โดยการฉีดสารละลายซัลไฟต์ลงไปผสมกับสารละลายกรดซัลฟิวริกในกระแสดัวพา ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับซัลไฟต์ที่ฉีดลงไป ได้เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งเมื่อนำมาใช้กับระบบการแยกสารแบบออนไลน์ที่มีการใช้เยื่อเลือกผ่าน (semipermeable membrane) เพื่อแยกก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ออกจากสารผสม ก็จะสามารถประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการแยกสารตัวอย่างออกจากสารตัวอย่างที่สกปรกและการปนเปื้อนสูงได้เป็นอย่างดี

โดยขั้นแรกของงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้หน่วยเพอร์วาพอเรชัน (pervaporation unit) มาช่วยในการแยกโดยอาศัยการระเหยของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์บริเวณด้านบนของกระแสดัวพาเหนือ glass beads ของหน่วยแยกสารเพอร์วาพอเรชันก่อนที่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านแล้วเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารเคมีบางอย่างในดัวพา (โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต) แล้วผ่านเข้าสู่ตัวผสมภาพตัวที่เพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์โพเทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสรีเอเจนต์ โดยมีสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตในสถานะที่เป็นกรดเป็นตัวกลางช่วยทำให้การคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของไอออน Mn^{2+} ที่สถานะกระตุ้น ให้สามารถเกิดได้ในระยะเวลาที่เหมาะสมและสามารถตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ได้ การวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์เมื่อไอออน Mn^{2+} กลับมายังสถานะพื้น จะถูกตรวจวัดโดยหลอดวัดแสง PMT และส่งสัญญาณไปยังเครื่องบันทึกผลเพื่อบันทึกผลที่ได้ออกมาในภาพของฟลักสัญญาณ



ภาพ 29 ระบบเพอร์วาพอเรชัน โฟลอินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ (PFI-CL) : Reagent stream (8.0×10^{-5} M KMnO_4 in 0.75% sodium hexametaphosphate in 0.02 phosphoric acid); Acceptor stream (0.75 % sodium hexametaphosphate in 0.02 M H_3PO_4 , pH = 2.70); Donor stream (0.20 M H_2SO_4); Injection valve (500 μl sample loop); PMT, photomultiplier tube; W, waste

2.1 การหาสถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL จากแผนภาพเครื่องมือในภาพ 29 ได้มีการกำหนดให้มีสถานะเริ่มต้นก่อนที่จะทำการหาสถานะที่เหมาะสมดังตาราง 8 โดยในการพัฒนาระบบ PFI-CL ภายในหน่วยเพอร์วาพอเรชันจะมี glass beads ทำหน้าที่ผสมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐานซัลไฟต์กับสารตัวพา ทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ขึ้นภายในช่องกระแสตัวของหน่วยเพอร์วาพอเรชัน จากนั้น ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะระเหยขึ้นสู่ช่องอากาศที่อยู่เหนือผิวหน้าของสารละลายกระแสตัวพา ก่อนที่จะแพร่สู่เยื่อเลือกผ่านไปยังกระแสของสารตัวรับ

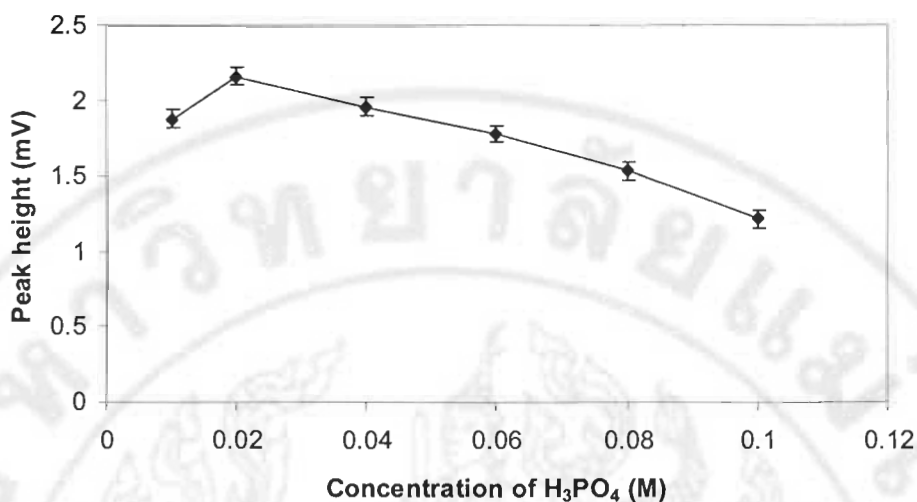
โดยในการนำสารตัวพา ไปยังหน่วยเพอร์วาพอเรชัน และการนำเอาสารตัวพาออกจากหน่วยเพอร์วาพอเรชันจะอาศัยปั๊ม ในการควบคุมให้สารละลายอยู่เหนือระดับผิวหน้าของ glass beads พอดี โดยต้องควบคุมอัตราการไหลของสารละลายก่อนเข้าสู่และหลังออกจากหน่วยเพอร์วาพอเรชันให้มีอัตราการไหลที่เท่ากัน เพื่อต้องการให้สารละลายอยู่ในระดับผิวหน้าของ glass beads พอดีและเหลือพื้นที่ว่างของช่องอากาศ (air gap) ระหว่าง glass beads และเยื่อเลือกผ่านให้มีปริมาตรคงที่ ซึ่งจะมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการวิเคราะห์ที่จะทำให้ผลการทดลองมีความถูกต้องและแม่นยำสม่ำเสมอตลอดการทดลอง (Nacapricha et al., 2007: 626)

ตาราง 8 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบเพอร์วาพอร์ชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ (PFI-CL)

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT	1000 โวลต์
<i>Acceptor stream</i>	
ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก	0.02 โมลาร์
ความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	0.75% โดยน้ำหนัก
อัตราการไหลกระแสรีเอเจนต์และกระแสตัวรับ	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรสารตัวอย่าง	300 ไมโครลิตร
<i>Reagent stream</i>	
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสรีเอเจนต์	7.0×10^{-5} โมลาร์
<i>Donor stream</i>	
ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	0.1 โมลาร์
อัตราการไหล	2.0 มิลลิลิตรต่อนาที

2.1.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

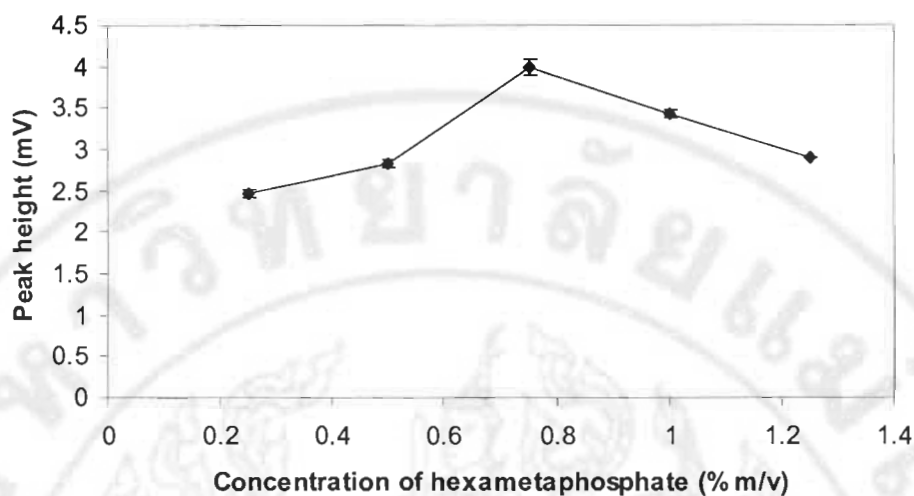
การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริกที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ จะใช้สภาวะเริ่มต้นของระบบ PFI-CL จากตาราง 8 โดยทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.01-0.10 โมลาร์ ที่ทำให้เกิดสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ของสารละลายซัลไฟด์ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่มีค่าสูงสุด ซึ่งจากการทดลองได้ผลดังแสดงในภาพ 30 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก ที่หาได้มีค่าเท่ากับ 0.02 โมลาร์ (pH=2.72) โดยได้ผลคล้ายคลึงกับระบบ CL-FI จากข้อ 1.1.6 โดยความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ (0.01-0.02 โมลาร์) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้น จะให้สัญญาณของแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่สูงขึ้น แต่ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่สูงกว่า 0.02 โมลาร์ กลับจะพบว่าทำให้ค่าสัญญาณการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าลดลง ดังนั้นจึงจะใช้ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ 0.2 โมลาร์ในการทดลองที่เหลือต่อไป



ภาพ 30 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

2.1.2 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

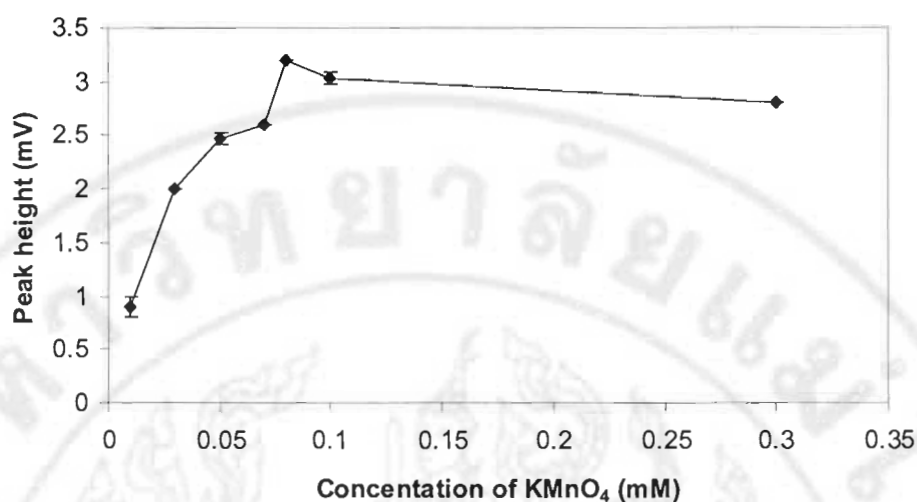
ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่เติมลงไปในการเสกตัวรับและกระแตรีเอเจนต์ จะทำการศึกษาในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.25-1.25 % โดยน้ำหนัก ซึ่งพบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 31 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่จะทำให้สัญญาณแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของสารมาตรฐานซัลไฟด์ เข้มขึ้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าสูงสุด มีค่าเท่ากับ 0.75% โดยน้ำหนัก โดยจะสังเกตได้ว่าในช่วงความเข้มข้นต่ำ ๆ จะพบว่าสัญญาณการคายแสงที่ตรวจวัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุด เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตมีค่าเท่ากับ 0.75 % และหลังจากจุดนี้ แม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นขึ้นไปอีก สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์จะไม่เพิ่มขึ้นแต่กลับมีแนวโน้มที่ค่อย ๆ ลดลง ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่ใช้เติมในการเสกตัวรับและกระแตรีเอเจนต์ในการศึกษาขั้นต่อไปจะกำหนดไว้ที่ 0.75 % โดยน้ำหนัก



ภาพ 31 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

2.1.3 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสรีเอเจนต์

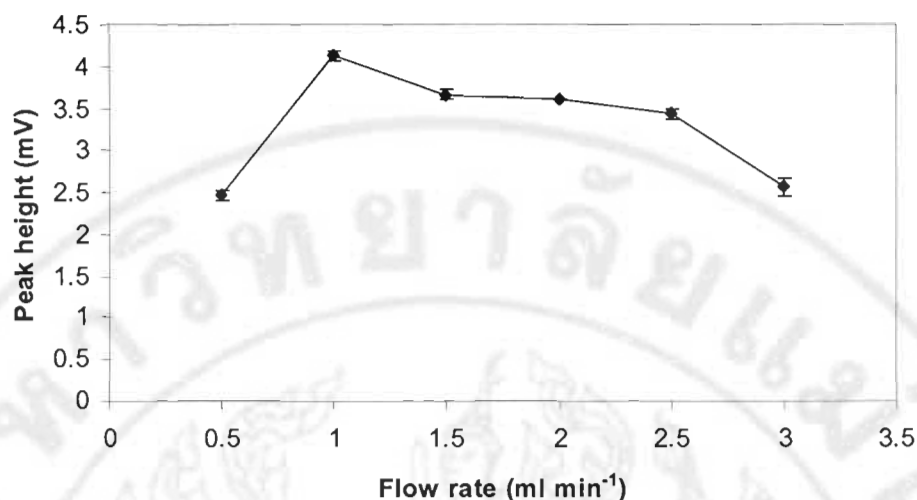
การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสรีเอเจนต์ที่มีสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ในช่วงความเข้มข้น 1.0×10^{-5} - 3.0×10^{-4} โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 32 โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในช่วงความเข้มข้นต่ำๆ จะพบว่าสัญญาณการคายแสงที่ตรวจวัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้น 8.0×10^{-5} โมลาร์ และหลังจากจุดนี้แม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นขึ้นไปอีก สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์กลับมีค่าคงที่โดยมีแนวโน้มที่จะค่อยๆ ลดลงอันเป็นผลมาจากการเกิด self absorption ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ในกระแสรีเอเจนต์ ในการศึกษาต่อไปจะกำหนดไว้ที่ 8.0×10^{-5} โมลาร์



ภาพ 32 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสรีเอเจนต์

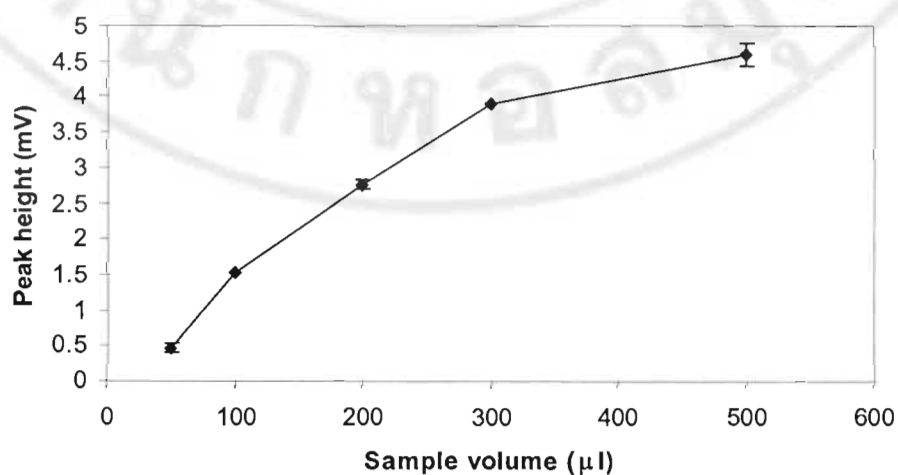
2.1.5 การศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ที่มีต่อการตรวจวัด

อัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ที่ไหลเข้าสู่เครื่องตรวจวัดแสงเคมีลูมิโนมิเตอร์ จะทำการศึกษาโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 2.1.1- 2.1.4 โดยจะควบคุมให้อัตราการไหลของแต่ละกระแสมีค่าเท่ากันโดยทำการศึกษ้อัตราการไหลในช่วง 0.5-3.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งจะพบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 33 ซึ่งจะเห็นว่าที่อัตราการไหลของแต่ละกระแสที่สูงกว่า 1.0 มิลลิลิตรต่อนาทีทั้งของกระแสตัวรับ และกระแสรีเอเจนต์ (อัตราการไหลรวม 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที) ไม่พบว่าสัญญาณแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ตรวจวัดได้เพิ่มสูงขึ้นแต่ประการใด ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป จึงจะเลือกอัตราการไหลรวมที่มีค่าเท่ากับ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งนอกจากนี้เป็นการประหยัดสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารตัวพาและรีเอเจนต์แล้วยังจะช่วยป้องกันให้เชื้อเลือกผ่านที่กั้นอยู่ระหว่าง กระแสตัวรับและช่องอากาศในหน่วยเพอร์วาพอเรชันไม่ได้รับแรงดันจากอัตราการไหลที่มากเกินไป ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการโป่งพองของเชื้อเลือกผ่าน และทำให้ปริมาตรของสารตัวรับที่อยู่ในช่องรับสารในหน่วยเพอร์วาพอเรชัน มีค่าที่ผิดเพี้ยนไปจากเดิม



ภาพ 33 ผลการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสเอนจินต์

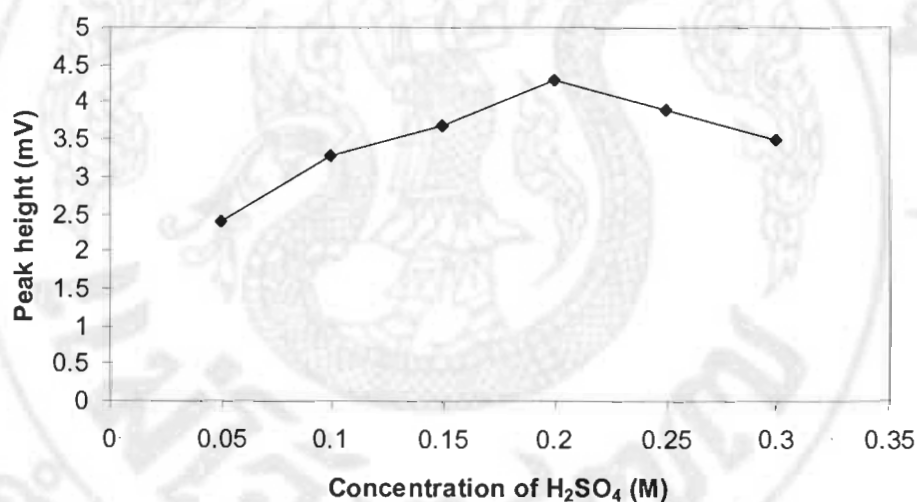
2.1.6 การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดลงไปในระบบเพอร์วาพอร์ชัน โพลินเจกชัน การศึกษาผลของปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดลงไปในระบบเพื่อให้สารประกอบซัลไฟด์ทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟิวริกที่อยู่ในกระแสตัวพา เพื่อทำให้เกิดเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่มีปริมาณเหมาะสมเพียงพอที่จะทำให้สามารถตรวจวัดได้ด้วยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่สร้างนั้น ได้ทำการศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างซัลไฟด์ที่ฉีดลงไปในระบบในช่วง 50-500 ไมโครลิตร พบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 34 ปริมาตรของสารมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ฉีดเพิ่มขึ้นทำให้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มที่จะให้สัญญาณคงที่เมื่อปริมาตรที่ใช้เพิ่มขึ้นมากกว่า 500 ไมโครลิตร ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรสารตัวอย่างที่จะฉีดเข้าไปในระบบเท่ากับ 500 ไมโครลิตร ในการศึกษาสำหรับการทดลองขั้นต่อไป



ภาพ 34 ผลการศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไปในระบบ

2.1.7 การศึกษาผลจากความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสดั่วให้

การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสดั่วให้ จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1.1- 2.1.6 โดยศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในช่วง 0.05-0.3 โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 35 ซึ่งจะเห็นว่าที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ จะพบว่าสัญญาณการคายแสงที่ตรวจวัดได้จะมีค่าค่อย ๆ เพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และหลังจากจุดนี้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ค่อย ๆ ลดลง ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายซัลฟิวริก ที่ใช้เป็นกระแสดั่วพา ในการศึกษาต่อไปจะกำหนดไว้ที่ 0.2 โมลาร์ โดยอัตราการไหลของกรดซัลฟิวริกที่เป็นกระแสดั่วพาจะกำหนดให้เท่ากับ 2.0 มิลลิตรต่อนาที ซึ่งเท่ากับอัตราการไหลรวมของส่วนตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่อยู่ด้านบน (acceptor chamber) ที่ศึกษาไปก่อนหน้านี้



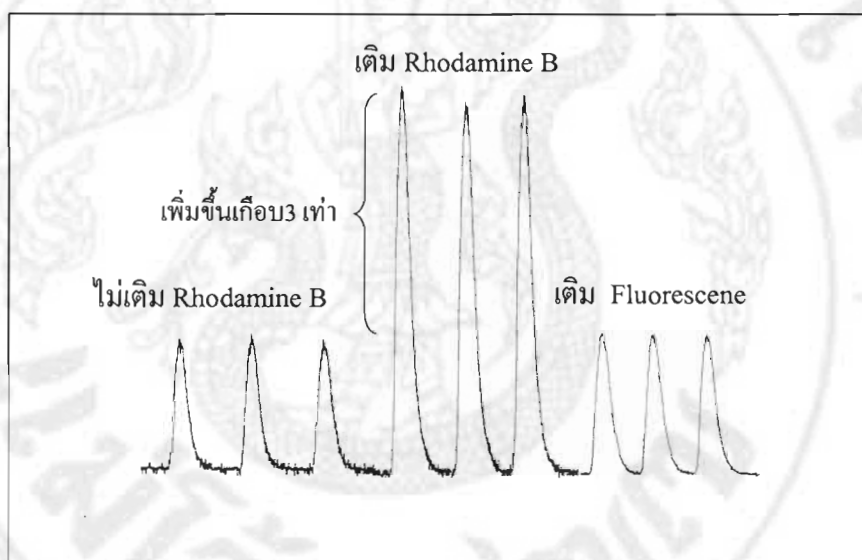
ภาพ 35 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสดั่วให้

2.1.8 ผลของฟลูออโรฟอร์ต่อการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์

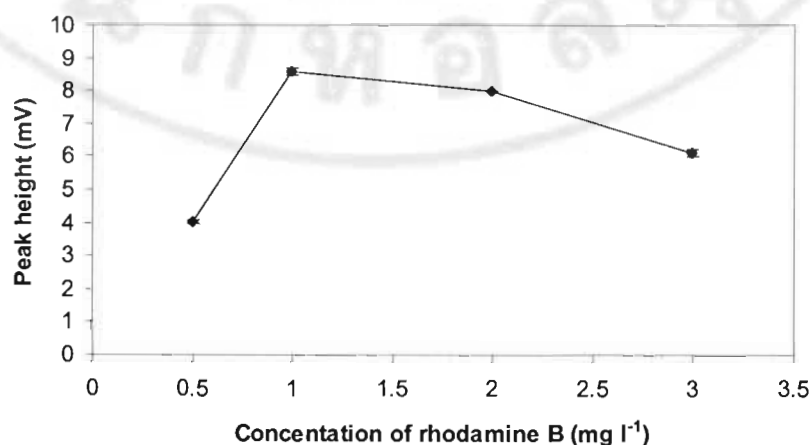
ในรายงานการวิจัยหลาย ๆ ฉบับ ที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นรีเอเจนต์ เช่น งานวิจัยในการศึกษาหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก ในยาวิตามินซี และดีเอ็นเอ มีการใช้โรดามีน บี (rhodamine B) ทำปฏิกิริยากับซีเรียม (cerium (IV)) ในกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นตัวกลาง (Ma et al., 2002: 289 and Chen et al., 2003: 3) พบว่าสารประกอบฟลูออโรฟอร์บางชนิด เช่น โรดามีน บี ควินิน และฟลูออเรสซิน สามารถช่วยเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ได้ 2 ถึง 10 เท่า ดังนั้น ในการวิจัยนี้ จึงได้ทำการเติมสารฟลูออโรฟอร์ 2 ชนิด (ฟลูออเรสซิน และโรดามีน บี) เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรลงไปในกระแสดั่วรับ โพแทสเซียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต เพื่อศึกษาผลการเพิ่มสภาพไวของการตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบ PFI-CL ที่

สร้างขึ้น โดยพบว่ามีเพียง โรดามีน บี เท่านั้นที่ช่วยเพิ่มสัญญาณ การตรวจวัดเคมีลูมิเนสเซนซ์ขึ้น ประมาณ 3 เท่า (ภาพ 36) ซึ่งสันนิษฐานได้ว่าเกิดจากช่วยขยายสัญญาณการเรืองแสงที่เกิดขึ้นจาก Mn^{2+} ดังนั้นในการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโรดามีน บี ที่เติมลงไปเพื่อเพิ่มสัญญาณการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ให้สูงขึ้น และเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ให้สูงขึ้น

จึงได้ทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.1.1- 2.1.7 โดยศึกษาความเข้มข้นของ โรดามีน บี ในช่วง 0.5-3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นของโรดามีน บี ในกระแสตัวรับ ที่มีค่าเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์เพิ่มขึ้นได้สูงที่สุด ดังแสดงในภาพ 37



ภาพ 36 ตัวอย่าง PFI-CL gram ของสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม ฟลูออโรฟอร์บางชนิด



ภาพ 37 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Rhodamine B

2.1.9 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยระบบเพอร์วาพอเรชัน โพลินเจกชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์

จากการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยระบบ PFI-CL สามารถสรุปสภาวะการทดลองที่สามารถทำให้ระบบ PFI มีประสิทธิภาพสูงสุดจากปัจจัยต่าง ๆ ดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ PFI-CL

พารามิเตอร์	ช่วงที่ศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT	800-1,100 โวลต์	1,000 โวลต์
Acceptor stream		
ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก	0.01-0.1 โมลาร์	0.02 โมลาร์
ความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตา-ฟอสเฟต	0.25-1.25% โดยน้ำหนัก	0.75% โดยน้ำหนัก
อัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์	0.5-3.0 มิลลิลิตรต่อนาที	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรสารตัวอย่าง	50-500 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร
ความเข้มข้นของ Rhodamine B	0.5-3 มิลลิกรัมต่อลิตร	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
Reagent stream		
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกานेटในกระแสรีเอเจนต์	1.0×10^{-5} - 3.0×10^{-4} โมลาร์	8.0×10^{-5} โมลาร์
Donor stream		
ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	0.05-0.3 โมลาร์	0.2 โมลาร์
อัตราการไหล	-	2.0 มิลลิลิตรต่อนาที

2.2 คุณสมบัติเฉพาะของระบบเพอร์วาพอเรชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์ โพลินเจกชัน

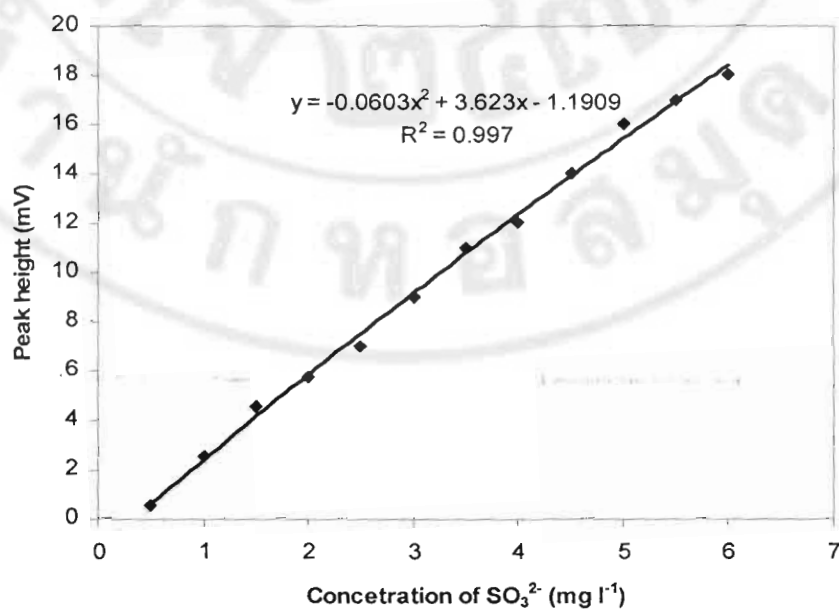
2.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง

ในการหาช่วงความเป็นเส้นตรงที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยระบบ PFI-CL ได้ทำการศึกษาโดยการนำสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ระหว่าง 0.5 - 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ PFI-CL ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมตามตาราง 9 พบว่าได้ผลดังตาราง 10 และเมื่อพล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคสัญญาณกับความเข้มข้นของซัลไฟด์ พบว่าได้กราฟความสัมพันธ์ดังภาพ 38

ตาราง 10 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL

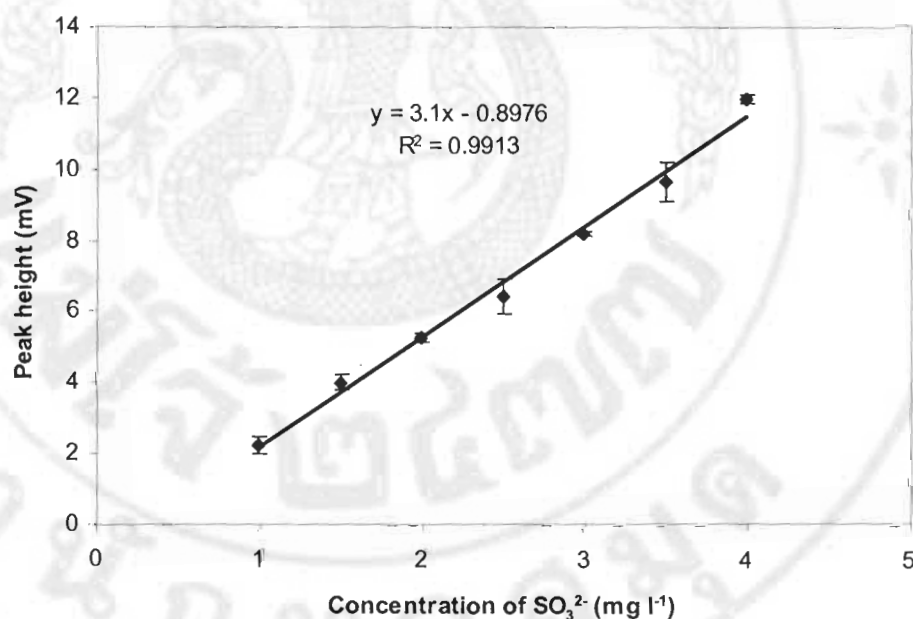
ความเข้มข้นซัลไฟต์ (mg l^{-1})	ความสูงของพีค (mV)*
0.5	0.60 ± 0.0
1.0	2.26 ± 0.2
1.5	4.03 ± 0.2
2.0	5.30 ± 0.1
2.5	6.46 ± 0.4
3.0	8.23 ± 0.0
3.5	9.66 ± 0.5
4.0	12.00 ± 0.1
4.5	15.36 ± 0.4
5.0	16.40 ± 0.0
5.5	17.76 ± 0.2
6.0	18.96 ± 0.1

*n = 3

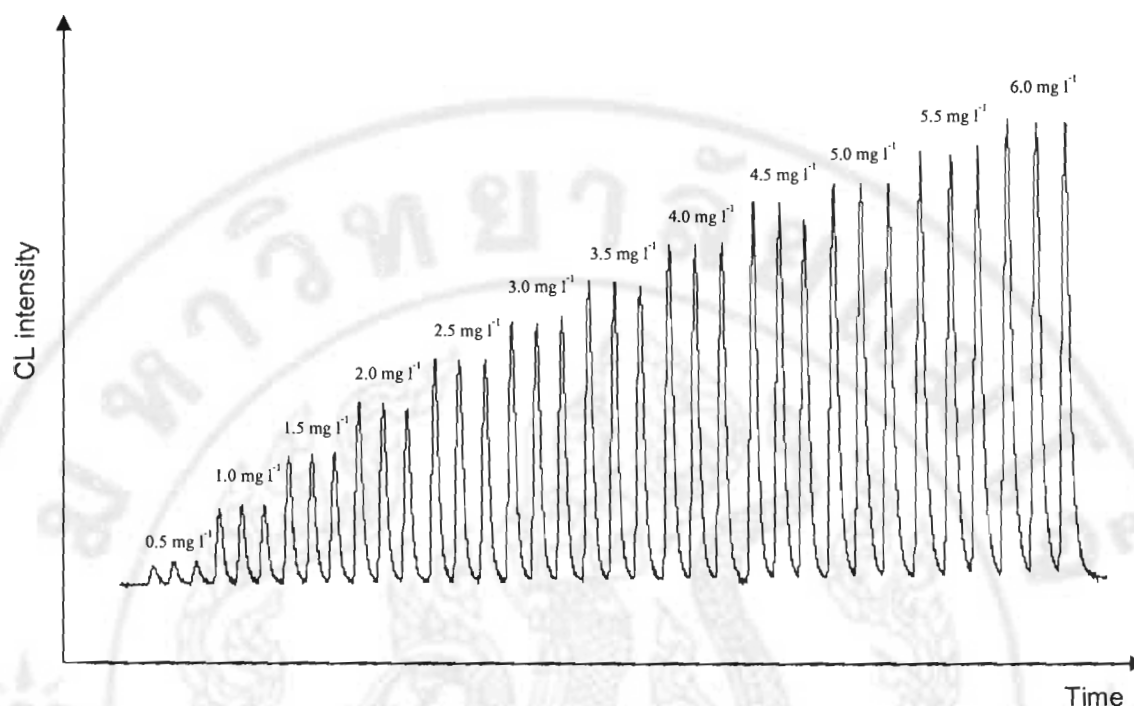


ภาพ 38 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยเทคนิค PFI-CL

จะสังเกตได้ว่ากราฟความสัมพันธ์ของความสูงของพีคสัญญาณที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์ไม่เป็นเส้นตรง แต่มีแนวโน้มเป็นเส้นโค้งที่มีความสัมพันธ์ตามสมการพหุนามอันดับ 2 (polynomial second order) โดยมีสมการความสัมพันธ์คือ $y = -0.0603x^2 + 3.623x - 1.1909$ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัย (Mervartova et al., 2007: 114) ที่กล่าวว่ากราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์มักจะเป็นเส้นโค้ง แต่อย่างไรก็ตามจากภาพ 38 อาจพอกล่าวได้ว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ด้วยเทคนิค PFI-CL อยู่ในช่วงความเข้มข้น 1.0-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อสร้างกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ระหว่างสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ (mV) กับความเข้มข้นของซัลไฟต์ในหน่วยมิลลิโมลาร์ พบว่ากราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์ดังสมการ $y = 3.10x - 0.897$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์เท่ากับ 0.9913 ดังแสดงในภาพ 39 โดยลักษณะตัวอย่าง PFI-CL gram ที่ได้แสดงดังภาพ 40



ภาพ 39 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL



ภาพ 40 ตัวอย่าง PFI-CL แกรมของซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

2.2.2 การศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวน

การหาอิทธิพลจากไอออนรบกวนที่สำคัญและพบได้ในตัวอย่างอาหารหมักดอง อาทิเช่น ไอออนรวมของเกลือ โลหะหนัก สารอินทรีย์บางชนิด ที่ใช้ในกระบวนการหมักดอง สามารถทำได้ โดยการนำสารละลายซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าเครื่อง PFI-CL เพื่อให้เป็นพีคมาตรฐานเปรียบเทียบ จากนั้นนำสารละลายอีก 1 ขวดที่ประกอบไปด้วยสารละลายซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรผสมกับสารละลายมาตรฐานของไอออนรบกวนที่จะศึกษา 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (อัตราส่วน 1:1) มาฉีดเข้าไปในระบบ PFI-CL เพื่อเปรียบเทียบพีคสัญญาณที่ได้กับพีคมาตรฐานเปรียบเทียบ หากพบว่าพีคสัญญาณจากสารละลายผสมมีความสูงหรือต่ำกว่า 50 % จะถือว่าเกิดการรบกวน โดยจะเพิ่มความเข้มข้นของไอออนรบกวนขึ้น โดยจะทำการทดลอง เช่นเดิมแต่เปลี่ยนอัตราส่วนไอออนรบกวนเป็น 1:10 1:100 1:1,000 1:10,000 ตามลำดับ ซึ่งผลของไอออนรบกวนที่มีอัตราส่วนที่ทำให้เกิดการรบกวนต่อพีคสัญญาณของการวิเคราะห์แสดงดังตาราง

ตาราง 11 ผลการศึกษาไอออนรบกวน

Tolerance (mg l ⁻¹)	Coexistent substance
20,000	Cl ⁻ , Glucose, Sucrose, Ethanol, Ascorbic acid
2,000	CH ₃ COO ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , Na ⁺ , Mg ²⁺ , K ⁺
200	Ni ²⁺
20	SO ₄ ²⁻ , Fe ²⁺ , Co ²⁺ , PO ₄ ³⁻ , Ca ²⁺
2	I ⁻ , S ²⁻ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺

จากผลการศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวนที่สามัญซึ่งมีผลต่อความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ในการวิเคราะห์ซัลไฟด์ ด้วยเทคนิค PFI-CL เช่น I⁻, S²⁻, Mn²⁺, Fe³⁺ จะมีผลทำให้ความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ลดลง เนื่องจากไอออนเหล่านี้เป็นตัวออกซิไดส์หรือตัวรีดิวซ์ที่แรง จึงมีสมบัติในการเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง โดยเข้าไปแย่งทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างหรือเปอร์แมงกาเนตไอออน ทำให้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ลดลง ส่วนไอออน Cl⁻, กลูโคส ซูโครส เอทานอล และกรดแอสคอร์บิก แม้ว่าจะมีอยู่ปะปนที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ ก็ไม่มีผลต่อการวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของซัลไฟด์ด้วยเทคนิค PFI-CL ที่ได้พัฒนาขึ้น

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง

2.3.1 วิธีการหาปริมาณซัลไฟด์ในตัวอย่าง

ในการหาปริมาณซัลไฟด์ในตัวอย่าง ได้ทำการศึกษาโดย วิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition) และวิธีกราฟมาตรฐาน (calibration curve)

โดยขั้นตอนการเก็บตัวอย่างอาหารประเภทหมักดอง เช่น หน่อไม้ดอง หัวผักกาดดอง และชิงหั่นฝอย ซึ่งคาดว่าจะพบปริมาณซัลไฟด์ที่เป็นสารปนเปื้อนในอาหาร จะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยระบบเพอร์วาพอร์ชันโฟลอินเจกชัน (PFI-CL) โดยในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างอาหารหมักดองจากตลาดแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

วิธีการเก็บรักษา โดยนำอาหารประเภทหมักดองเก็บไปไว้ในที่อุณหภูมิที่ประมาณ 4 องศา โดยตัวอย่างต้องทำการวิเคราะห์ทันทีเพื่อป้องกันการสูญเสียซัลไฟด์หรือทดลองอย่างรวดเร็วที่สุด โดยทำการวิเคราะห์เฉพาะส่วนที่เป็นน้ำเท่านั้น

2.3.2 การหาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่าง

การทดลองโดยหาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารประเภทหมักดอง ในส่วนที่เป็นน้ำหน่อไม้ดอง ผักกาดดองและชิงหั่นฝอย โดยใช้ปริมาตรน้ำตัวอย่าง 0.025 0.125 และ 2.5 มิลลิลิตรตามลำดับ เติมลงในขวดปริมาตร 25 มิลลิลิตร และปรับด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบเพอร์วาพอร์ชัน โฟลอินเจกชัน (PFI-CL) ที่พัฒนาขึ้น ซึ่งได้ผลการศึกษาคือผลดังตาราง 12

ตาราง 12 ผลการหาปริมาณซัลไฟต์จากวิธีกราฟมาตรฐานและ การเติมสารมาตรฐาน

ตัวอย่าง	Dilution factor	ความเข้มข้นของซัลไฟต์ (mg l^{-1})	
		วิธีกราฟมาตรฐาน	วิธีการเติมสารมาตรฐาน
น้ำหน่อไม้ดอง	1000	1317.6 $\pm$ 5.8	1300.0 $\pm$ 0.1
ผักกาดดอง	200	466.5 $\pm$ 1.8	406.0 $\pm$ 0.4
ชิงหั่นฝอย	10	22.7 $\pm$ 0.3	20.7 $\pm$ 0.2

2.3.3 การหาค่าร้อยละการกลับคืน

การหาค่าร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์สามารถหาได้จากการเปรียบเทียบผลที่จากวิธีการเติมสารมาตรฐานกับวิธีกราฟมาตรฐาน(ภาคผนวก ข) พบว่าในตัวอย่างน้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และ ชิงหั่นฝอย มีค่าร้อยละการกลับคืน ดังตาราง 13

ตาราง 13 ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ที่เติมลงในตัวอย่าง (mg l ⁻¹)		ความเข้มข้นที่ วิเคราะห์ได้	ความเข้มข้นที่ กลับคืน	ร้อยละการกลับคืน
น้ำหน่อไม้ดอง	0	1.54	-	-
	1	2.45	0.91	91.4
	1.5	2.98	1.45	96.7
	2	3.36	1.82	91.3
	2.5	3.82	2.29	91.6
	3	4.44	2.9	96.7
	3.5	4.92	3.38	96.7
	4	5.62	4.08	102.1
น้ำผักกาดดอง	0	2.03	-	-
	1	2.95	0.92	92.4
	1.5	3.49	1.46	97.5
	2	3.97	1.94	97.3
	2.5	4.47	2.44	97.6
	3	4.77	2.74	91.3
	3.5	5.46	3.43	98.0
	4	5.91	3.88	97.0
จิงหั่นฝอย	0	2.07	-	-
	1	2.98	0.91	91.3
	1.5	3.64	1.56	104.6
	2	4.17	2.09	104.8
	2.5	4.52	2.45	98.1
	3	4.93	2.86	95.3
	3.5	5.21	3.13	89.7
	4	5.71	3.64	91.1

โดยร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยของ น้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง จิงหั่นฝอย มีค่าเท่ากับ 95.2, 95.8 และ 96.4 ตามลำดับ

2.4 การทดลองเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์โดยวิธีหยุดการไหลชั่วคราว (Stop flow mode)

การศึกษาวิธี stop flow เป็นการศึกษาทางจลศาสตร์ที่ต้องการศึกษาอัตราการเก็บกักสารตัวอย่างที่สนใจดังมีรายงานการวิจัย ที่ศึกษาปริมาณสารหนู (Rupasinghe et al., 2004: 225) ฟลูออไรด์ (Papaefstathiou et al., 1995: 246) ฟีนอล (Sheilheldin et al., 2000: 9 and Satienperakul et al., 2003: 37) โดยทำเพื่อจะนำไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ โดยคาดหวังว่าจะลดขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ได้ โดยการนำมาใช้กับการศึกษาประเภทระบบเพอร์วาพอร์เรชัน จะต้องมีการเก็บกักสารที่ระเหยไวให้ทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวรับ โดยให้ทำปฏิกิริยากันอยู่ไว้บริเวณ acceptor chamber ดังนั้นจึงมีความสนใจที่ต้องการทดลองกักเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไว้เพื่อเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์

แต่จากผลการทำ stop flow นั้นพบว่าไม่สามารถทำการกักเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ได้ โดยพบว่าเมื่อให้ระยะเวลาผ่านไป พบว่าสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์มีค่าลดลง เนื่องจากสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เกิดการสลายตัวไปเมื่อปล่อยไว้ระยะเวลาต่างๆ โดยเกิดจากการที่ซัลไฟต์เป็นตัวออกซิไดส์ทำให้เกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนทำให้เปลี่ยนเป็นซัลเฟตแทน ดังนั้นต้องทำการฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ทันทีเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นในการทดลองการเก็บกักสารซัลไฟต์จึงไม่สามารถที่จะเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตามที่คาดหวังไว้ได้

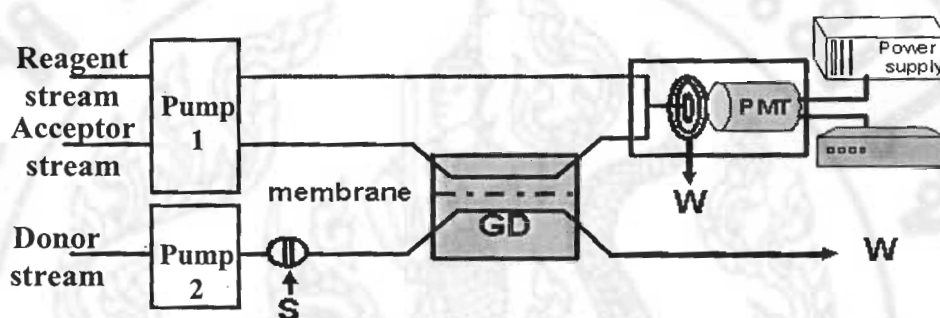
3. การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิคก๊าซดิฟฟิวชันโฟลวอินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนซ์

ในการศึกษาการแยกสารแบบออนไลน์แบบเพอร์วาพอร์เรชัน มักจะพบว่าการถ่ายเทมวล มีประสิทธิภาพต่ำ เนื่องจากกระบวนการแยกสารต้องผ่านถึงสองขั้นตอน คือ การระเหยกลายเป็นไอสู่ช่องอากาศ และการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน ทำให้การวิเคราะห์ด้วยกระบวนการดังกล่าว มีขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ที่สูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีก๊าซดิฟฟิวชัน

เนื่องจากก๊าซดิฟฟิวชันเป็นกระบวนการแยกสารด้วยการถ่ายเทมวลของสาร ที่มีเยื่อเลือกผ่านเป็นตัวกั้นกระแสน้ำไหล 2 กระแส ที่ถูกแยกออกจากกัน ดังนั้นเมื่อทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์จะเกิดการผสมกับสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสตัวพา ทำให้เกิดเป็นซัลเฟอร์ไดออกไซด์ขึ้น และเคลื่อนผ่านเยื่อเลือกผ่านที่อยู่ภายในก๊าซดิฟฟิวชันเซลล์ ได้โดยตรงลักษณะของเยื่อเลือกผ่านจะสัมผัสโดยตรงกับกระแสตัวพาที่เป็นสารละลายกรดซัลฟิวริก และกระแสตัวรับที่เป็นสารละลายผสมโซเดียมเฮกซะเมตเตฟอสเฟต และ โรคาบิน บี ในสารละลายกรดฟอสฟอริก ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยวิธีการถ่ายเทมวลซึ่งจะให้ประสิทธิภาพในการ

แยกสารที่สูงกว่า และเมื่อก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์แพร่ผ่านเข้าสู่ตัวผสมภาพตัวที่เพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยากับกระแสไอออนด์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสไอออนด์เคมีลูมินีสเซนส์ดีเทคเตอร์ จะตรวจวัดไอออน Mn^{2+} ที่อยู่ในสถานะกระตุ้นด้วยหลอดวัดแสง (PMT) แล้วส่งสัญญาณไปยังเครื่องบันทึกผล โดยได้ผลในภาพของฟลักสัญญาณต่อไป

โดยลักษณะของฟลักสัญญาณจะขึ้นอยู่กับความหนาของเยื่อเลือกผ่าน ปริมาตรของตัวอย่างที่ฉีด และอัตราการไหลของกระแสตัวพา และกระแสตัวรับ



ภาพ 41 ระบบก๊าซดิฟฟิวชัน โพลินเจกชันเคมีลูมินีสเซนส์ (GDFI-CL), Peristaltic pump, Reagent stream (8.0×10^{-5} M $KMnO_4$ in 0.75% sodium hexametaphosphate), Acceptor stream (1 mg l^{-1} Rhodamine B in 0.75 % sodium hexametaphosphate in 0.02 M H_3PO_4 , pH = 2.70), Donor stream (0.10 M H_2SO_4), Injection valve, (GD) Gas diffusion unit and (PMT) Photomultiplier tube.

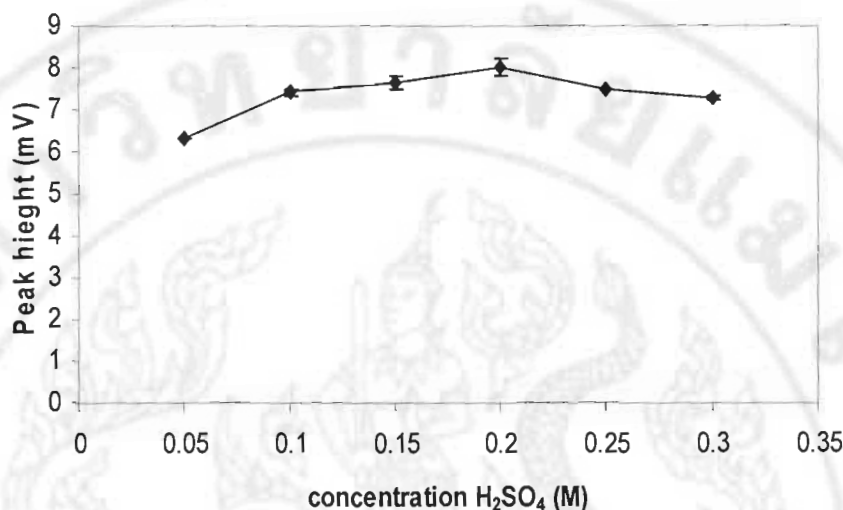
3.1 การหาสถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยระบบก๊าซดิฟฟิวชัน โพลินเจกชัน เคมีลูมินีสเซนส์ (GDFI-CL)

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ GDFI-CL ได้ทำการวิเคราะห์หาค่าคลึงกับการวิเคราะห์ด้วยระบบ PFI-CL แต่จะศึกษาเพิ่มเติมเฉพาะ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกในกระแสตัวให้ และอัตราการไหลเท่านั้น

3.1.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสตัวให้

การศึกษาคความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสตัวให้ในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.3 โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 42 ซึ่งจะเห็นว่าที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ จะพบว่าสัญญาณการคายแสงที่ตรวจวัดได้จะมีค่าค่อย ๆ เพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และหลังจากจุดนี้ สัญญาณเคมีลูมินีสเซนส์ถึงแม้จะสูงขึ้นแต่ลักษณะสัญญาณเคมีลูมินีสเซนส์ที่ตรวจวัดได้เพิ่มสูงขึ้นแต่ประการใด ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายซัลฟิวริก ที่ใช้เป็นกระแสตัวให้ในการศึกษานี้ต่อไปจะกำหนดไว้ที่ 0.1 โมลาร์ นอกจากนี้เป็นการประหยัคสารเคมีที่ใช้ในการ

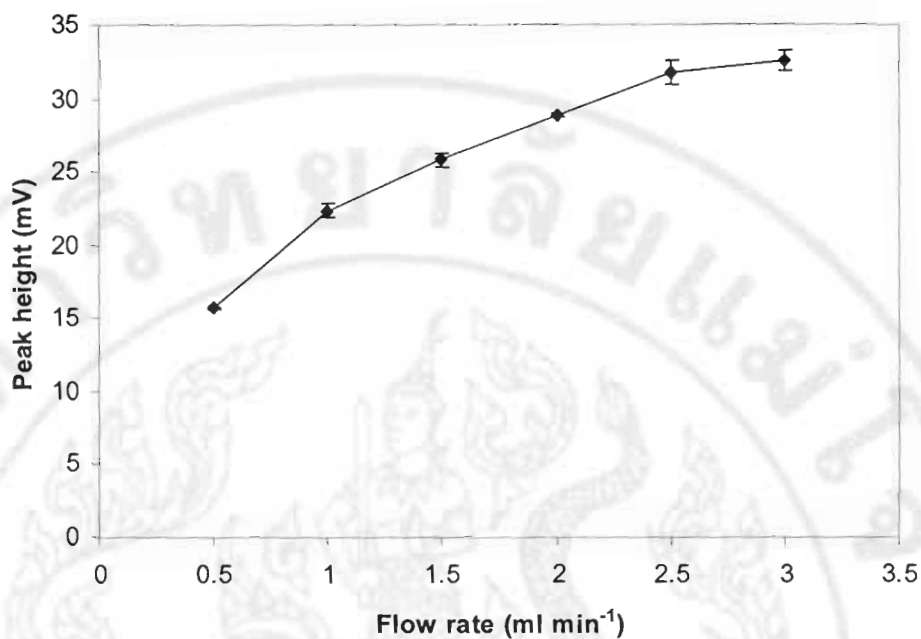
เตรียมสารตัวให้แล้วจะช่วยยืดอายุของเชื้อเลือกผ่านที่กั้นอยู่ระหว่าง กระแสตัวให้และกระแสตัวรับได้



ภาพ 42 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสตัวพา

3.1.2 การศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวให้ที่มีต่อการตรวจวัด

อัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวให้ที่ไหลเข้าสู่หน่วยเพอร์วาพอร์เรนซ์ จะทำการศึกษาโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.1.1 โดยทำการศึกษาอัตราการไหลในช่วง 0.5-3.0 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าได้ผลดังแสดงในภาพ 43 โดยอัตราการไหลของกระแสตัวให้ที่เหมาะสมเท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่ามีค่าสัญญาณการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์มีค่าสูง เมื่อเพิ่มอัตราการไหลมากกว่า 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าค่าสัญญาณมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ และสัญญาณพื้นหลังเพิ่มสูงขึ้น และสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ได้จะมีพื้นที่แคบและแหลมขึ้น ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกอัตราการไหลที่มีค่าเท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที เนื่องจากเป็นอัตราการไหลที่ไม่สูงมากเกินไป ซึ่งหากเลือกใช้อัตราการไหลที่สูงกว่านี้ จะทำให้อายุการใช้งานของแผ่นเชื้อเลือกผ่านแตกได้ง่ายมาก



ภาพ 43 ผลการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวให้

3.1.3 สรุปลักษณะที่เหมาะสมด้วยระบบก๊าซดิฟฟิวชัน โพลีอินเจกชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์ (GDFI-CL)

สภาวะที่เหมาะสมที่แนะนำในการวิเคราะห์ด้วยระบบ GDFI-CL สามารถสรุปลักษณะการทดลองที่สามารถทำให้ระบบ GDFI-CL มีประสิทธิภาพสูงสุดมีผลจากปัจจัยต่าง ๆ ดังแสดงในตาราง 14

ตาราง 14 สรุปสถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ GDFI-CL

พารามิเตอร์	สถานะที่เหมาะสม
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT	1000 โวลต์
Acceptor stream	
ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก	0.02 โมลาร์
ความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตา-ฟอสเฟต	0.75% โดยน้ำหนัก
ความเข้มข้นของ Rhodamine B	1 มิลลิกรัมต่อลิตร
อัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรสารตัวอย่าง	500 ไมโครลิตร
Reagent stream	
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสรีเอเจนต์	8.0×10^{-5} โมลาร์
Donor stream	
ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	0.1 โมลาร์
อัตราการไหล	1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

3.2 การเปรียบเทียบวิธีการแยกสารแบบออนไลน์ชนิดเพอร์วาพอเรชันและก๊าซดิฟฟิวชันทั้ง 2 วิธี

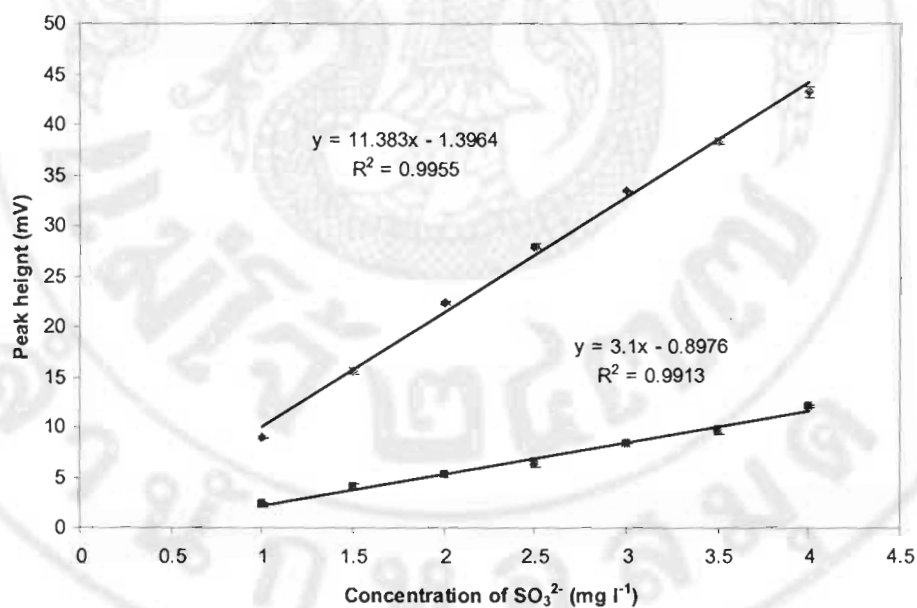
3.2.1 การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน

วิธีการแยกสารแบบออนไลน์ ทั้ง 2 วิธี ทั้ง วิธี GDFI-CL และวิธี PFI-CL นั้นจะเห็นได้ว่า แนวโน้มของค่า ความสูงของพีค วิธีของ GDFI-CL จะให้ค่าที่สูงกว่าวิธี PFI-CL เนื่องจากจะอาศัยการแพร่ผ่านโดยตรงกับเยื่อเลือกผ่านเท่านั้นทำให้ได้ความสูงของพีคที่สูงกว่า ส่วนวิธี PFI-CL จะอาศัยการแพร่ผ่านของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์บนผิวหน้าของ glass bead ผ่านไปยังเยื่อเลือกผ่านซึ่งส่งผลทำให้มีก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ส่วนน้อยเท่านั้นที่แพร่ผ่านไปได้ ทำให้ได้ค่าความสูงของพีคต่ำกว่าวิธี GDFI-CL ซึ่งได้ผลการวิเคราะห์ดังตาราง 15 และดังภาพ 44

ตาราง 15 ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานที่ได้จากวิธี GDFI-CL และวิธี PFI-CL

ความเข้มข้นของซัลไฟต์ (mg l ⁻¹)	ค่าความสูงของพีค (mV)	
	วิธี GDFI-CL*	วิธี PFI-CL*
1	8.90±0.1	2.26±0.2
1.5	15.53±0.3	4.03±0.2
2	22.30±0.1	5.30±0.1
2.5	27.90±0.2	6.46±0.4
3	33.33±0.1	8.23±0.0
3.5	38.30±0.3	9.66±0.5
4	43.16±0.5	12.00±0.1

*n = 3



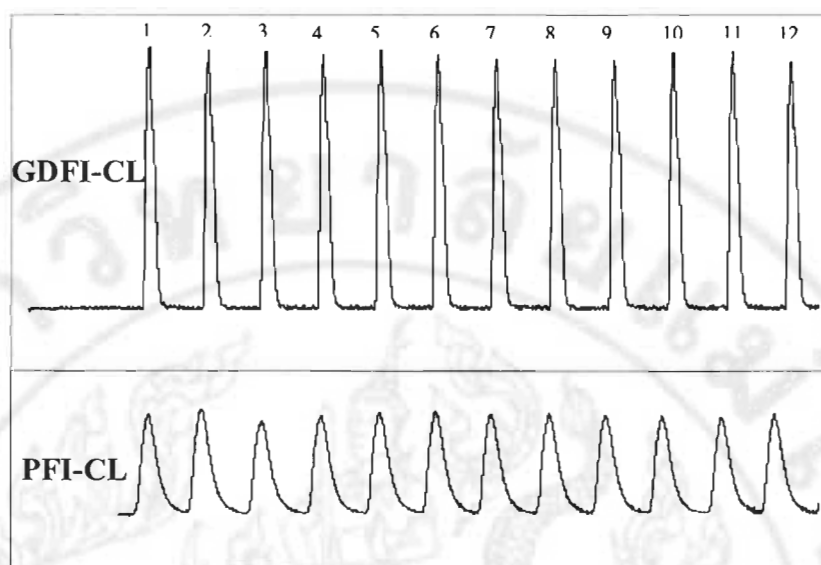
ภาพ 44 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ซัลไฟต์ระหว่าง GDFI-CL และ PFI-CL
(GDFI-CL, ◆ PFI-CL ■)

3.2.2 การศึกษาความแม่นยำของเครื่องมือ

ในการวิเคราะห์หาความแม่นยำของเครื่องมือในการวิเคราะห์แบบวิธี GDFI-CL และวิธี PFI-CL ได้ทำการทดสอบโดยการนำสารมาตรฐานซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ GDFI-CL และ PFI-CL ที่มีสภาวะดังตาราง 9 และ 14 จำนวน 12 ครั้ง พบว่าได้ผลดังตาราง 16 และดังภาพ 45

ตาราง 16 ผลการศึกษาหาความแม่นยำของเครื่องมือ GDFI-CL และ PFI-CL

ครั้งที่	ค่า ความสูงของพีค (mV)	
	วิธี GDFI-CL	วิธี PFI-CL
1	24.8	6.4
2	24.6	6.7
3	24.4	6.0
4	24.2	6.3
5	24.6	6.5
6	24.1	6.6
7	23.7	6.4
8	23.7	6.5
9	23.6	6.3
10	24.3	6.3
11	24.4	6.2
12	23.5	6.4
ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$)	24.16	6.38
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	0.437	0.177
เปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	1.81	2.77

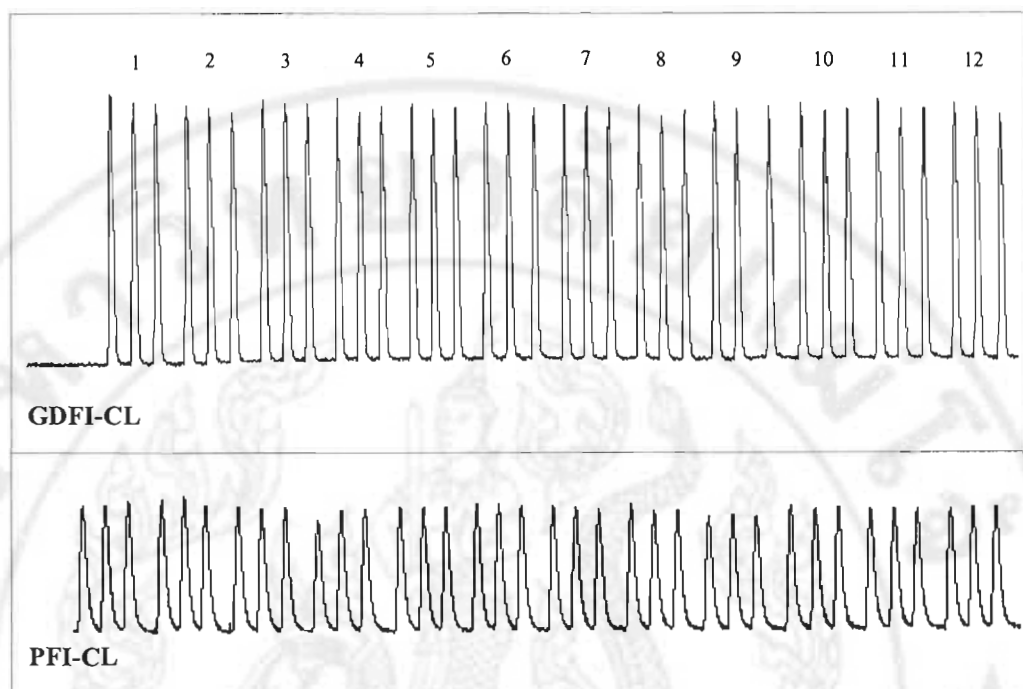


ภาพ 45 ตัวอย่าง GDFI-CL gram และ PFI-CL gram ในการศึกษาหาความแม่นยำของเครื่องมือ

ในการวิเคราะห์หาความแม่นยำของกระบวนการวิเคราะห์ ได้ทำการทดสอบโดยการเตรียมสารมาตรฐานซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นจำนวน 12 ขวด มาฉีดเข้าไปในระบบ GDFI-CL และระบบ PFI-CL ที่มีสถานะดังตาราง 9 และ 14 ขวดละ 3 ครั้ง (นำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นค่าเดียว) พบว่าได้ผลดังตาราง 17 และดังภาพ 46

ตาราง 17 ผลการศึกษาหาความแม่นยำของกระบวนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GDFI-CL และ วิธี PFI-CL

ขวดที่	ค่า ความสูงของพีค (mV)	
	วิธี GDFI-CL	วิธี PFI-CL
1	24.2	6.66
2	23.5	6.86
3	24.1	6.46
4	23.7	6.16
5	23.6	6.50
6	23.8	6.66
7	23.7	6.50
8	23.3	6.43
9	23.7	6.3
10	23.5	6.5
11	23.7	6.4
12	23.5	6.46
ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$)	23.7	6.49
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	0.259	0.179
เปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	1.09	2.76



ภาพ 46 ตัวอย่าง GDFI-CL gram และ PFI-CL gram ในการศึกษาหาความแม่นยำกระบวนการวิเคราะห์

ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลเปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ทั้งการศึกษาความแม่นยำของเครื่องมือและกระบวนการวิเคราะห์ ที่ได้ด้วยวิธีของ GDFI-CL จะให้ค่าที่ต่ำกว่าวิธี PFI-CL เนื่องจากวิธีของ GDFI-CL จะอาศัยการแพร่ผ่านโดยตรงกับเยื่อเลือกผ่าน ส่วนวิธี PFI-CL จะอาศัยการแพร่ผ่านของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์บนผิวหน้าของ glass bead ผ่านไปยังเยื่อเลือกผ่านซึ่งส่งผลทำให้เฉพาะก๊าซเท่านั้นที่แพร่ผ่านไป ทำให้ได้ค่า %RSD สูงกว่าวิธี GDFI-CL อยู่เล็กน้อยแต่ก็ยังอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ทั้งสองวิธี

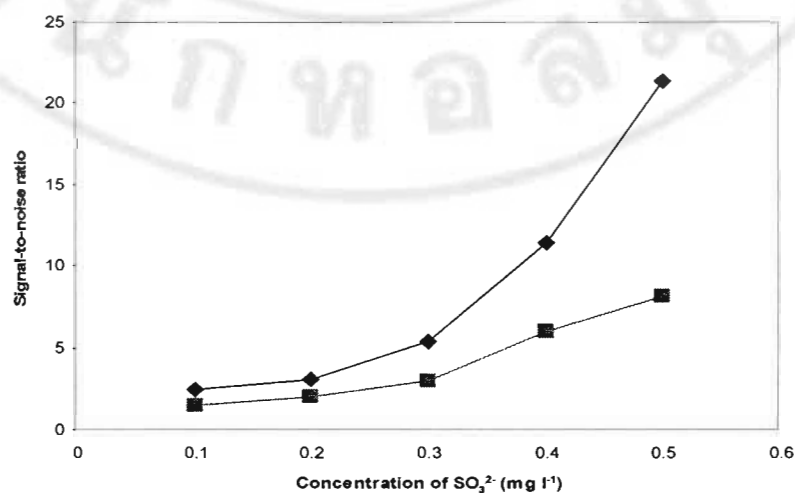
3.2.3 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือ GDFI-CL และวิธี PFI-CL

การหาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือ เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ทำได้โดยการนำสารมาตรฐานซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ ในช่วง 0.1- 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ GDFI-CL และ PFI-CL เพื่อสังเกตความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจพบพิกัดสัญญาณได้โดยเทคนิค GDFI-CL และ PFI-CL ที่พัฒนาขึ้น โดยพิจารณาจากความสูงของพิกัดสัญญาณ เทียบกับพื้นหลังพบว่าได้ผลดังตาราง 18

ตาราง 18 ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือของกระบวนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GDFI-CL และ วิธี PFI-CL

ความเข้มข้นของซัลไฟต์ (mg l ⁻¹)	Signal-to-noise ratio	
	วิธี GDFI-CL	วิธี PFI-CL
0.1	2.44	1.50
0.2	3.11	2.00
0.3	5.44	3.00
0.4	11.44	6.00
0.5	21.33	8.20

ซึ่งแม่น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม (แม่น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม, 2534) ได้กล่าวว่า ขีดจำกัดของการตรวจหา หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ทำการวิเคราะห์ซึ่งสามารถให้สัญญาณเป็น 2 หรือ 3 เท่าของพื้นหลังหรือสัญญาณรบกวน ซึ่งจากตาราง 18 ผลของขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือในระบบออนไลน์ พบว่าในวิธี GDFI-CL และวิธี PFI-CL ให้ความเข้มข้นของซัลไฟต์ที่ 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งให้สัญญาณที่สูงกว่าพื้นหลัง (back ground) เท่ากับ 2 เท่า ซึ่งอาจอนุมานได้จากกราฟระหว่าง signal-to-noise ratio กับความเข้มข้นของซัลไฟต์ ในภาพ 47 ดังนั้นความเข้มข้นที่ 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงเป็นขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ และทำให้สามารถกล่าวได้ว่า ระบบ GDFI-CL และ PFI-CL ที่พัฒนาขึ้นไม่สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของซัลไฟต์ที่ต่ำกว่า 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรได้



ภาพ 47 ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือของการวิเคราะห์ระหว่าง GDFI-CL และ PFI-CL

(—◆— GDFI-CL, —■— PFI-CL)

ซึ่งจะเห็นได้ว่าวิธีของ GDFI-CL จะให้ค่า signal-to-noise ที่ต่ำกว่าวิธี PFI-CL เนื่องจากเกิดการอาศัยการแพร่ผ่านโดยตรงกับเชื้อเลือกผ่านเท่านั้นทำให้ได้ความสูงของพีคที่สูงกว่า

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักดองโดยวิธี GDFI-CL

3.3.1 วิธีการหาปริมาณซัลไฟต์ในน้ำตัวอย่างอาหารหมักดอง

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างด้วยวิธี GDFI-CL สามารถทำได้ 2 วิธี คือ วิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition) และวิธีกราฟมาตรฐาน (calibration curve) เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบ GDFI-CL ที่พัฒนาขึ้น ได้ผลการวิเคราะห์ดังตาราง 19

ตาราง 19 การหาปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธีกราฟมาตรฐาน และ วิธีการเติมสารมาตรฐาน

ตัวอย่าง	Dilution factor	ความเข้มข้นของซัลไฟต์ (mg l ⁻¹)	
		วิธีกราฟมาตรฐาน	วิธีการเติมสารมาตรฐาน
น้ำหน่อไม้ดอง	500	860.8±2.7	875.0±0.2
ผักกาดดอง	200	296.2±2.1	290.0±0.4
ชิงหั่นฝอย	10	16.2±0.6	17.0±0.2

3.3.3 การหาค่าร้อยละการกลับคืน

การหาค่าร้อยละการกลับคืนสามารถหาได้จากการเปรียบเทียบผลที่ได้จากวิธีการเติมสารมาตรฐานกับวิธีกราฟมาตรฐาน(ภาคผนวก ข) พบว่าในตัวอย่างน้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และ ชิงหั่นฝอย มีค่าร้อยละการกลับคืน ดังตาราง 20

ตาราง 20 ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟต์ในตัวอย่าง

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ที่เติมลงในตัวอย่าง (mg l ⁻¹)	ความเข้มข้นที่อ่าน ได้	ความเข้มข้นที่ กลับคืน	ร้อยละการกลับคืน
น้ำหน่อไม้ดอง	0	1.58	-
	1	2.57	0.98
	1.5	3.11	1.52
	2	3.48	1.89
	2.5	3.99	2.40
	3	4.43	2.84
	3.5	4.98	3.39
	4	5.41	3.82
น้ำผักกาดดอง	0	1.56	-
	1	2.47	0.91
	1.5	3.09	1.52
	2	3.51	1.95
	2.5	3.99	2.43
	3	4.48	2.91
	3.5	5.05	3.48
	4	5.49	3.93
จิงหั่นฝอย	0	1.76	-
	1	2.76	0.99
	1.5	3.35	1.58
	2	3.67	1.90
	2.5	4.18	2.41
	3	4.62	2.85
	3.5	5.17	3.40
	4	5.70	3.93

โดยร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยของ น้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง จิงหั่นฝอย มีค่าเท่ากับ 96.9, 95.6 และ 98.2 ตามลำดับ

4. การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักดองโดยวิธีดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี (DPP)

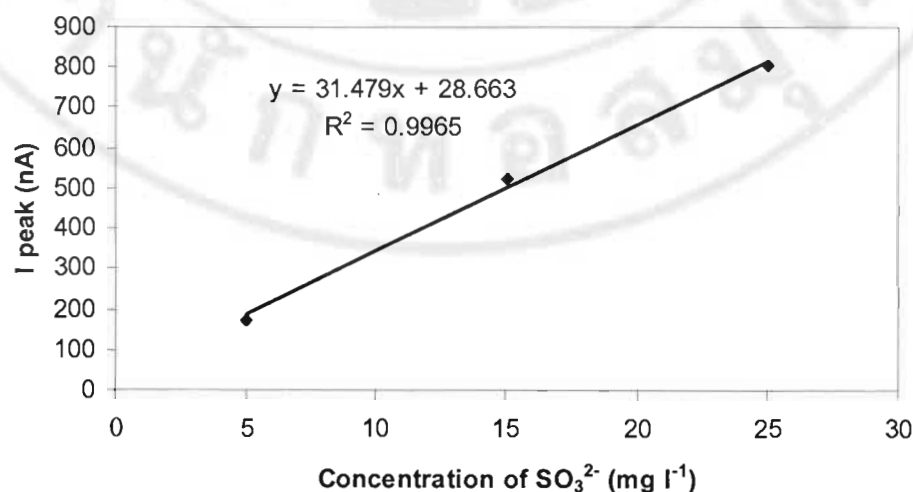
การทดลองเพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์แบบออนไลน์ ชนิดเพอร์ราพอร์ชัน โพลอินเจกชันที่ได้พัฒนาขึ้นทำได้โดยใช้วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ซัลไฟต์ในอาหารของ AOAC โดยเทคนิคดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับผลการทดลองจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI-CL โดยในการทดลองได้ใช้สภาวะที่กล่าวไว้ในบทที่ 3

4.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของวิธีดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี (DPP)

เมื่อนำสารละลายซัลไฟต์ ความเข้มข้น 5.0, 15.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาวัดค่ากระแสจากการแพร่ด้วยเครื่องดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี ได้กระแสดังตาราง 21 และสามารถนำมาสร้าง กราฟมาตรฐานได้ ดังภาพ 48 โดยมีสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง คือ $y = 31.479x - 28.663$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9965

ตาราง 21 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธีดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี (DPP)

ความเข้มข้นของซัลไฟต์ (mg l^{-1})	กระแส (-nA)
5	175.31
15	522.33
25	807.88



ภาพ 48 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยวิธีเทคนิคดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักดอง

นำตัวอย่างน้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และจิงหั่นฝอยที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการกลั่นด้วยกรด (acid distillation) มาเจือจางด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ มาวัดค่ากระแสการแพร่ของสารละลายตัวอย่างทั้งสาม จากนั้นนำค่ากระแสของสารตัวอย่างที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่าได้ผลดังตาราง 22

ตาราง 22 ผลการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในอาหารด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พลัส โพลารोगราฟี (DPP)

ตัวอย่าง	I peak (nA)	ปริมาณซัลไฟต์ (mg l ⁻¹)	Dilution factor	ความเข้มข้นซัลไฟต์ (mg l ⁻¹)
หน่อไม้ดอง	442.83	13.156	100	1315.6±2.1
หัวผักกาดดอง	175.70	4.671	100	467.1±2.0
จิงหั่นฝอย	109.41	2.565	10	25.65±2.5

ซึ่งเมื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับ ผลที่ได้จากวิธี PFI-CL ที่ได้พัฒนาขึ้น พบว่าได้ผลดังตาราง 23 แสดงผลการทดลองที่ได้จากสองวิธี โดยจากวิธีเพอร์วอร์เรนชัน (PFI-CL) และวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พลัส โพลารोगราฟี (DPP) ผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเทคนิคนี้มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อพิจารณาจากค่า t-value (n = 3, 2,...)

ตาราง 23 ผลการเปรียบเทียบปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักดองโดยวิธี PFI-CL และ DPP

ตัวอย่าง	วิธี PFI-CL ความเข้มข้นซัลไฟต์ (mg l ⁻¹)	วิธี DPP ความเข้มข้นซัลไฟต์ (mg l ⁻¹)	t-value (95%)
หน่อไม้ดอง	1317.6±5.8	1315.6±2.1	0.572
หัวผักกาดดอง	466.5±1.8	467.1±2.0	0.364
จิงหั่นฝอย	22.7±0.3	25.6±2.6	1.921

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการวิจัยนี้ได้เสนอผลการศึกษากการพัฒนาวิธีการแยกแบบออนไลน์ (on-line) 2 ชนิด ซึ่งประกอบไปด้วยเทคนิคเพอร์วาพอร์ชันโพลินเจกชัน (PFI) และก๊าซคิฟิวชันโพลินเจกชัน (GDFI) ที่มีระบบการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ ซึ่งเป็นอีกหนึ่งวิธีที่จะสามารถพัฒนาเทคนิคโพลินเจกชันอะนาไลซิสให้มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์เพิ่มสูงขึ้น เพื่อให้สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งการศึกษาทางโพลินเจกชันอะนาไลซิสจะต้องมีการควบคุมการแพร่ ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญในการวิเคราะห์ตัวอย่าง โดยต้องการให้ได้การตรวจวัดเกิดขึ้นในสถานะที่ควบคุมได้และในการเกิดปฏิกิริยาขึ้นในระหว่างการผสมโดยการแพร่นั้นจะทำให้ความสูงของพีคสูงขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อปฏิกิริยาได้ดำเนินจนถึงจุด ๆ หนึ่ง จะได้ค่าการตอบสนองที่สูงที่สุดของปฏิกิริยานั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการนำเอาระบบการแยกสารแบบออนไลน์มาใช้ร่วมกันเนื่องจากมีผลของการถ่วงมวลมาเกี่ยวข้องอีกขั้นตอนหนึ่งของการตรวจวิเคราะห์

ในการวิเคราะห์ระบบโพลินเจกชันนั้นตัวแปรที่สำคัญที่มีผลต่อการแพร่ของสารตัวอย่างทางกายภาพ เช่น อัตราการไหล ความเข้มข้นของสารที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ในการฉีด เป็นต้น ตัวอย่างเช่นปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ในการฉีด ถ้าเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่าง ในการวิเคราะห์โดยวิธีโพลินเจกชันอะนาไลซิส พบว่าไม่มีการเปลี่ยนตำแหน่งที่พบสัญญาณในการวิเคราะห์แต่เวลาที่ทำการวิเคราะห์ในแต่ละตัวอย่างจะมีการเปลี่ยนแปลงไป หากปริมาตรสารตัวอย่างเพิ่มขึ้นก็จะพบว่าความกว้างของสัญญาณจะเพิ่มขึ้นด้วย แต่ถ้าในการศึกษานั้น ๆ มีการใช้ปริมาตรสารตัวอย่างในปริมาตรที่สูงมากจะพบว่าสัญญาณของโพลินเจกชันจะไม่มีลักษณะเป็นพื้นราบแทน ซึ่งผลจากการเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่างนี้ยังพบว่าค่าการกระจายตัวของสารละลายจะมีค่าลดลงแต่ความกว้างของสัญญาณจะเพิ่มขึ้น ซึ่งภายหลังจากการทำการทดลองหาสถานะที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ด้วยระบบออนไลน์ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาปริมาณซัลไฟด์ในตัวอย่างอาหารประเภทหมักดอง เพื่อศึกษาศักยภาพของระบบออนไลน์ได้

การศึกษาหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับระบบการแยกแบบออนไลน์ของทั้งสองระบบแสดงดังในตาราง 9 และ ตาราง 14 และภายใต้สภาวะดังกล่าว สามารถทำการศึกษาปริมาณซัลไฟด์ในตัวอย่างอาหารประเภทหมักดอง เช่น หน่อไม้ดอง หัวผักกาดดอง และชิงหั่นผอยได้

การศึกษาการวิเคราะห์ด้วยระบบออนไลน์ (on-line) คือวิธี PFI-CL และ GDFI-CL พบว่า การเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธีพบว่าวิธี GDFI-CL ให้ประสิทธิภาพในการแยกที่ดีกว่า จำเพาะกว่าเนื่องจากในการวิเคราะห์ในระบบ GDFI-CL จะสามารถวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างได้โดยตรง ซึ่งสารตัวอย่างจะสัมผัสกับเยื่อเลือกผ่านโดยตรงกับเยื่อเลือกผ่าน ทำให้ประสิทธิภาพในการถ่ายเทมวลมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า PFI-CL ซึ่งจะอาศัยก๊าซเท่านั้นที่สัมผัสกับเยื่อเลือกผ่าน แต่วิธี GDFI-CL มีข้อเสียเนื่องจากตัวอย่างสัมผัสกับเยื่อเลือกผ่านโดยตรงทำให้ระยะเวลาอายุการใช้งานของเยื่อเลือกผ่านใช้ได้เป็นเวลาน้อยกว่า ทำให้ต้องเปลี่ยนเยื่อเลือกผ่านบ่อยกว่า ดังจะสามารถเปรียบเทียบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีการวิเคราะห์ทั้งสองเทคนิคได้ดังตาราง 24

ตาราง 24 การเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ที่ทำการพัฒนาขึ้นในระบบก๊าซคิฟิวชัน โพลินเจกชัน และเพอร์วาพอร์ชัน โพลินเจกชัน

คุณลักษณะ	ผลที่ได้	
	วิธี GDFI-CL	วิธี PFI-CL
ช่วงความเป็นเส้นตรง ความ	0.5-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	0.5-6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
แม่นยำในการวิเคราะห์	%RSD เท่ากับ 1.09	%RSD เท่ากับ 2.76
ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร
ความเร็วในการวิเคราะห์	60 ตัวอย่างต่อชั่วโมง	40 ตัวอย่างต่อชั่วโมง
ความคงทนของเยื่อเลือกผ่าน	ระยะเวลาดสั้น (ประมาณ 3 วัน)	ระยะเวลานาน (ประมาณ 14 วัน)

ส่วนในการศึกษาผลจากไอออนรบกวนที่สำคัญซึ่งมีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟด์ ได้แก่ Cl^- glucose sucrose ethanol ascorbic acid ไอออนเหล่านี้จะไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ ส่วนไอออน $\text{I}^- \text{S}^{2-} \text{Mn}^{2+} \text{Fe}^{3+}$ ในอัตราส่วน 1:1 จะมีผลต่อการวิเคราะห์แม้จะมีการเจือปนในระดับความเข้มข้นที่ต่ำ (Negative error) ซึ่งเกิดจากไอออนเหล่านี้เป็นตัวออกซิไดส์หรือตัวรีดิวซ์ที่แรง จึงมีสมบัติในการเข้าแย่งทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และเปอร์แมงกาเนตได้ทำให้รบกวนผลการวิเคราะห์

การศึกษาร้อยละการกลับคืนของซัลไฟด์ด้วยวิธี PFI-CL ในตัวอย่างอาหารหมักคอง เช่น หน่อไม้คอง ผักกาดคอง และชิงหั่นฝอย อยู่ในช่วง 91-104 และด้วยวิธี GDFI-CL อยู่ในช่วง 94-105 ซึ่งสาเหตุที่ร้อยละการกลับคืนมีค่าไม่ใกล้เคียงกับ 100 อาจเป็นผลจากการเจือจางตัวอย่างก่อน

การทดลอง และเวลาที่ไม่แน่นอนในการฉีดสารตัวอย่าง ซึ่งต้องเตรียมขึ้นทันทีทันใด ในการวิเคราะห์ แต่ละครั้ง ซึ่งทำให้ซัลไฟต์เกิดการสลายตัวได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาที่ไม่เท่ากันได้

จากการทดลองปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition) ได้ปริมาณของซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารหมักคอง เช่น หน่อไม้คอง ผักกาดคอง และชิงหั่นฝอย เท่ากับ $1,300.0 \pm 0.1$ 406.0 ± 0.4 และ 20.7 ± 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเทคนิคแก๊สคิฟิวชัน โฟลอินเจกชัน เท่ากับ 875.0 ± 0.2 290.0 ± 0.4 และ 17.0 ± 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่าวิธีเติมสารมาตรฐานและวิธีกราฟมาตรฐานให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกันมาก แต่การวิจัยโดยการเติมสารมาตรฐานจะมีความถูกต้องแม่นยำมากกว่า เพราะเป็นค่าที่ได้จากสารละลายที่มีเมทริกซ์คล้ายกัน ส่วนวิธีกราฟมาตรฐานอาจมีความคลาดเคลื่อนบ้างเล็กน้อยเนื่องจากการได้จากการเปรียบเทียบ แต่มีผลดีสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีปริมาณมาก ๆ

จากการทดลองหาปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีกราฟมาตรฐานด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชัน ได้ปริมาณของซัลไฟต์ในตัวอย่างน้ำหน่อไม้คอง เท่ากับ $1,317.6 \pm 5.8$ มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ปริมาณของซัลไฟต์ในตัวอย่างน้ำผักกาดคอง เท่ากับ 466.5 ± 1.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และชิงหั่นฝอย เท่ากับ 22.7 ± 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับวิธีการหาปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธีคิฟิวเฟอเรนเชียล พัลส์ โฟลาโรกราฟี โดยนำมาวัดค่ากระแสจากการแพร่ด้วยเครื่องคิฟิวเฟอเรนเชียล พัลส์ โฟลาโรกราฟี และนำมาหาความเข้มข้นโดยวิธีกราฟมาตรฐาน ได้ปริมาณของซัลไฟต์ในตัวอย่างน้ำหน่อไม้คองเท่ากับ $1,315.6 \pm 2.11$ มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำผักกาดคองเท่ากับ 467.1 ± 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และชิงหั่นฝอยเท่ากับ 25.6 ± 2.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ด้วยระบบออนไลน์ คือ PFI-CL พบว่ามีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย อาจเกิดความผิดพลาดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ เวลาที่ใช้ในขั้นตอนตั้งแต่การเตรียมสารตัวอย่างจนเป็นสารละลายที่พร้อมฉีดสารเข้าสู่ระบบ PFI-CL ไม่สม่ำเสมอทัน ในขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างก่อนฉีดเข้าสู่ระบบ PFI-CL ต้องทำอย่างรวดเร็วเพราะจะทำให้สารตัวอย่างระเหยหายไปบางส่วน

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาหาความแตกต่างของข้อมูลที่ได้ทั้ง 2 วิธี ด้วยค่าที (t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และที่ระดับความเสรีเท่ากับ 4 ซึ่งทำการทดสอบโดยคำนวณหาค่า t จากผลของการทดลองทั้งสอง คือ วิธีเพอร์วาพอเรชัน และวิธีคิฟิวเฟอเรนเชียล พัลส์ โฟลาโรกราฟี แล้วนำมาเปรียบเทียบกับค่า t ในตารางแจกแจงแบบที โดยค่า t จากตารางแจกแจงแบบทีเท่ากับ 2.776 จากการคำนวณค่า t ของทั้งสามตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างน้ำหน่อไม้คอง น้ำผักกาดคอง และชิงหั่นฝอย มีค่า t เท่ากับ 0.5726, 0.3640 และ 1.9216 ตามลำดับ ซึ่งค่า t ที่คำนวณได้มีค่าไม่มากกว่าค่า t จากตาราง ดังนั้นค่าความเข้มข้นของซัลไฟต์ที่ตรวจพบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเทคนิค PFI-CL ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ออกไป

ในขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างก่อนการวัดค่ากระแสจากการแพร่ด้วยเครื่องคิฟเฟอร์เนเชิล พัลส์ โพลารोगราฟี่ ต้องทำการกำจัดก๊าซออกซิเจนให้หมดก่อนทำการทดลอง และรีเอเจนต์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลองควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการวิเคราะห์จึงอาจทำให้เกิดความแตกต่างกันได้เล็กน้อย ส่วนการวิเคราะห์การหาปริมาณซัลไฟด์ด้วยวิธีก๊าซคิฟฟิ่วชัน ได้ได้ปริมาณของซัลไฟด์ในตัวอย่างน้ำหน่อไม้ดองเท่ากับ 860.83 ± 2.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ปริมาณของซัลไฟด์ในตัวอย่างน้ำผักกาดดองเท่ากับ 286.26 ± 2.08 มิลลิกรัมต่อลิตร และชิงหั่นฝอยเท่ากับ 16.18 ± 0.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งได้ปริมาณที่ลดลงเนื่องจากตัวอย่างที่มีการสลายตัวซึ่งเกิดจากทั้งตัวอย่างที่ศึกษาไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์

ปริมาณที่อนุญาตให้ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้สารซัลไฟด์ โดยใช้ได้สูงสุดไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และอาหารที่ไม่ให้ใช้สารซัลไฟด์ คือ หน่อไม้ดอง และชิงหั่นฝอย จากการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารทั้งสาม พบว่าค่าที่ได้มีปริมาณสูงเกินกว่าที่กำหนดไว้ อันเป็นผลเนื่องมาจากทางผู้ผลิต ได้มีการใช้สารซัลไฟด์ในปริมาณที่มากในการผลิต เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณลักษณะดีเชิญชวนให้น่าบริโภคและเก็บรักษาไว้ได้นาน อย่างไรก็ตาม หากใช้สารกลุ่มนี้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นในฐานะผู้บริโภค ควรพิจารณาเลือกซื้ออาหารจากแหล่งที่ปลอดภัยและมีสภาพภายนอกที่ไม่มีสีสังจี้จ้านหรือขาวมากเกินไป หรือเมื่อซื้อมาบริโภคควรทำการล้างและแช่อาหารไว้เป็นเวลานาน ๆ เพื่อลดปริมาณซัลไฟด์ลง

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟด์ด้วยวิธีการแยกแบบออนไลน์ เช่น เพอร์วาพอเรชัน โฟลิดินเจกชัน และก๊าซคิฟฟิ่วชัน โฟลิดินเจกชันร่วมกับการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ พบว่าเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้มีความไว ความถูกต้องและแม่นยำสูง สามารถวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็ว เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาถูก และที่สำคัญคือ สามารถวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ได้ตามที่ตั้งจุดมุ่งหมายไว้ก่อนทำการทดลอง นอกจากนี้ระบบแยกแบบออนไลน์ ยังสามารถประหยัดการใช้รีเอเจนต์ที่มีราคาแพงได้อีกด้วย โดยระบบการแยกแบบออนไลน์ที่พัฒนาขึ้นยังสามารถดัดแปลงใหม่เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์สารที่สนใจตัวอื่น ๆ ได้ตามความเหมาะสมของปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้น

ข้อเสนอแนะ

ในระบบการแยกแบบออนไลน์ 2 ชนิด ประกอบด้วยวิธีเพอร์วอร์ชันโพลีเมอร์ (PFI) และก๊าซดีฟิวชันโพลีเมอร์ (GDFI) ร่วมด้วยการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์นั้นเป็นระบบที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว มีสภาพไวสูง และมีคุณลักษณะในการวิเคราะห์พื้นฐานอยู่ในเกณฑ์ที่ดี แต่ในการวิเคราะห์ยังมีข้อเสียจากการทดลองมากอยู่ ดังนั้นอาจใช้ระบบไมโครฟลูอิดิกส์ (μ TAS) หรือ แล็บออนชิป (lab-on-chip) เพื่อลดการใช้งานสารเคมีให้น้อยลง ซึ่งย่อมทำให้มีข้อเสียจากการทดลองน้อยลง และขนาดของเครื่องมือหรือชิ้นส่วนที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมียังสามารถลดขนาดลงเหลือเพียงไม่กี่ตารางเซนติเมตร

จึงไม่เป็นที่แปลกใจที่พบว่าบทความวิจัยและความสนใจในการวิเคราะห์แบบโพลีเมอร์อะนาไลซิส มีเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นที่คาดว่า การวิเคราะห์แบบโพลีเมอร์อะนาไลซิสจะมีบทบาทสำคัญต่อการวิเคราะห์สารตัวอย่างประเภทต่าง ๆ ต่อไป ในสภาพปัจจุบันและในอนาคตอันใกล้

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. ม.ป.ป. ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์ (MSDS). [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://msds.pcd.go.th>. (20 พฤศจิกายน 2550).
- เกตุ กรุดพันธ์. 2539. เอกสารประกอบการประชุมปฏิบัติการเคมีเชิงวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ. เชียงใหม่: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 20 น.
- เกตุ กรุดพันธ์. 2539. เทคนิคการวิเคราะห์ Flow Injection Analysis. วารสารการไฟฟ้าแห่งประเทศไทย. 5: 29-40.
- แม่น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. 2534. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. กรุงเทพฯ: ชวนพิมพ์. 365 น.
- วิรัช เรืองศรีตระกูล. 2548. โพลีอินเจกชันที่ใช้การตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์สำหรับการวิเคราะห์เภสัชภัณฑ์. ขอนแก่น: ภาควิชาเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 8 น.
- เวณิกา เบ็ญงพงษ์. ม.ป.ป. สารฟอกขาวในอาหาร. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://wave.prohosting.com> (20 พฤศจิกายน 2550).
- ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์. ม.ป.ป. **Disodium sulfite**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://chemtrack.trf.or.th>. (20 พฤศจิกายน 2550).
- ศูนย์ข้อมูลวิทยา. ม.ป.ป. สารฟอกสีอันตราย. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.webdb.msds.pcd.go.th>. (20 พฤศจิกายน 2550).
- สุเมธ บุญเกิด. ม.ป.ป. การแยกสารโดยวิธี **Pervaporation**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.gpo.or.th>. (20 พฤศจิกายน 2550).
- หมอชาวบ้าน. ม.ป.ป. สารฟอกขาวในอาหาร. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.doctor.or.th>. (20 พฤศจิกายน 2550).
- Adcock, J. L., P. S. Francis and N. W. Barnett. 2007. Acidic potassium permanganate as a chemiluminescence reagent—A review. **Anal. Chim. Acta** 601(1): 36.
- Alwarthan, A. A., and A. Townshend. 1986. Chemiluminescence determination of bufrenorphine hydrochloride by flow injection analysis. **Anal. Chim. Acta**. 185(2-3): 635.

Anastos, N., N. W. Barnett, B. J. Hindson¹, C. E. Lenehan and S. W. Lewis. 2004.

Comparison of soluble manganese (IV) and acidic potassium permanganate chemiluminescence detection using flow injection and sequential injection analysis for the determination of ascorbic acid in vitamin C tablets. **Talanta** 64(1): 130.

Association of Official Analytical Chemists. 1990. **Official Methods of Analysis: Food**

Composition. Virginia: AOAC Inc. 895 p.

Baadenhuijsen, H. and H.E.H. Seuren- Jacobs. 1979. Determination of total CO₂ in plasma by automated flow-injection analysis. **Clin. Chem.** 25(3): 443.

Barnett, N. W., B. J. Hindson and S. W. Lewis. 1998. Determination of 5-hydroxytryptamine (serotonin) and related indoles by flow injection analysis with acidic potassium permanganate chemiluminescence detection. **Anal. Chim. Acta** 362(2-3): 131.

Barnett, N. W., B. J. Hindson, S. W. Lewis, P. Jones and P. J. Worsfold.. 2001. Soluble manganese(IV); a new chemiluminescence reagent. **Analyst** 126(1): 1636.

Barnett, N. W., B. J. Hindson, P. Jones and T.A. Smith. 2002. Chemically induced phosphorescence from manganese(II) during the oxidation of various compounds by manganese (III), (IV) and (VII) in acidic aqueous solutions. **Anal. Chim. Acta** 451(2): 181.

Bonifácio, R. L. and N. Coichev. 2004. Chemiluminescent determination of sulfite traces based on the induced oxidation of Ni(II)/tetraglycine complex by oxygen in the presence of luminol: mechanistic considerations. **Anal. Chim. Acta** 517(1-2): 125.

Campana, A. M. G. and W.R.G. Baeyens. 2001. **Chemiluminescence in Analytical Chemistry.** New York. Marcel Dekker. 450 p.

Carinhanha, J., C. Santos and M. Korn. 2006. Exploiting sulphide generation and gas diffusion separation in a flow System for indirect sulphite determination in wines and fruit juices. **Microchim. Acta** 153(1): 87.

Casella, I. G. and R. Marchese. 1995. Sulfite oxidation at a platinum glassy carbon electrode determination of sulfite by ion exclusion chromatography with amperometric Detection. **Anal. Chim. Acta** 311(2): 199.

- Chen, H., M. Zhou, X. Jin, Y. Song, Z. Zhang and Y. Ma. 2003. Chemiluminescence determination of ultramicro DNA with a flow-injection method. **Anal. Chim. Acta** 478(1): 31.
- Decnop-Weever, L.G. and J.C. Kraak. 1997. Determination of sulphite in wines by gas diffusion flow injection analysis utilizing spectrophotometric pH-detection. **Anal. Chim. Acta** 337(2): 125.
- Fatibello – Filho, O. and I. da Cruz Vieira. 1997. Flow injection spectrometric determination of sulfite using a crude extract of sweet potato root (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) as a source of polyphenol oxidase. **Anal. Chim. Acta** 354(1-3): 51.
- Flowinstrument. no date. **Flow injection analysis**. [Online]. Available <http://www.flowinstrument.com>. (20 November 2007).
- Giuriati, C., S. Cavalli , A. Gorni , D. Badocco and P. Pastore. 2004. Ion chromatographic determination of sulfide and cyanide in real matrices by using pulsed amperometric detection on a silver electrode. **J. Chromatogr. A** 1023(1): 105.13.
- Globalfia, no date. **Gas diffusion**. [online]. Available <http://www.globalfia.com> (20 November 2007).
- Hansen, E. H. 2007. 30 years of flow injection analysis-And passing the torch. **Anal. Chim. Acta**. 600(1-2): 4.
- Harvey E. N.. 1957. **A History of Luminescence from the Earliest Time until 1900**, Philadelphia: The American Philosophical Society. 95 p.
- Hassan, S., S. A. Hamza and A. H. K. Mohamed. 2006. A novel spectrophotometric method for batch and flow injection determination of sulfite in beverages. **Anal. Chim. Acta** 570(2): 232.
- Hassan, S., S. A. Marei , I. H. Badr and H. A. Arida. 2001. Flow injection analysis of sulfite ion with apotentiometric titanium phosphate–epoxy based membrane sensor. **Talanta** 54(4): 773.
- He, Z., F. Wu, H. Meng, L. Yuan, G. Song and Y. Zeng. 1998. Chemiluminescence determination of sulfite in sugar and sulfur dioxide in air using $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ system. **Anal. Sci.** 14(1): 737.

- He, Z., F. Wu, H. Meng, L. Yuan, Q. Luo and Y. Zeng. 1999. Chemiluminescence determination of sulfur dioxide in air using tris(1,10-Phenanthroline) ruthenium-KIO₄ system. **Anal. Lett.** 32(2): 401.
- Huang, Y., C. Zhang, X. Zhang and Z. Zhang. 1999. Chemiluminescence of sulfite based on auto-oxidation sensitized by rhodamine 6G. **Anal. Chim. Acta** 391(1): 95.
- Informaworld. no date. **On-line separation.** (online). Available <http://www.informaworld.com> (20 November 2007).
- Isaac, A., C. Livingstone, A. J. Wain, R.G. Compton and J. Davis. 2006. Electroanalytical methods for the determination of sulfite in food and beverages. **Anal. Chem.** 25(16): 589.
- Jankovskiene, G., Z. Daunoravicius and A. Padarauskas. 2001. Capillary electrophoretic determination of sulfite using the zone-passing technique of in-capillary derivatization. **J. Chromatogr. A** 934(1-2): 67.
- Lin, J. M. and T. Hobo. 1996. Flow-injection analysis with chemiluminescent detection of sulphite using Na₂CO₃-NaHCO₃-Cu²⁺ system. **Anal. Chim. Acta** 323(1-3): 69.
- Nacapricha, D., P. Sangkarn, C. Karuwan, T. Mantim, W. Waiyawat, P. Wilairat, T. Cardwell, I.D. McKelvie and N. Ratanawimarnwong. 2007. Pervaporation-flow injection with chemiluminescence detection for determination of iodide in multivitamin tablets. **Talanta** 72(2): 626.
- Ma, Y., M. Zhou, X. Jin, B. Zhang, H. Chen and N. Guo. 2002. Flow-injection chemiluminescence determination of ascorbic acid by use of the cerium (IV)-Rhodamine B system. **Anal. Chim. Acta** 464(2): 289.
- Meng, H., F. Wu, Z. He and Y. Zeng. 1999. Chemiluminescence determination of sulfite in sugar and sulfur dioxide in air using Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-permanganate system. **Talanta** 48(3): 571.
- Mervartova, K., M. Polasek and J. M. Calatayud. 2007. Sequential injection analysis (SIA)-chemiluminescence determination of indomethacin using tris (2,2'-bipyridyl) ruthenium(III) as reagent and its application to semisolid pharmaceutical dosage forms. **Anal. Chim. Acta** 600(1-2): 114.

- Qin, W., Z. Zhangb, and C. Zhang. 1998. Chemiluminescence flow system for the determination of sulfite. **Fresenius J. Anal. Chem.** 361(2): 824.
- Papaefstathiou, I., M.T. Tena and M.D.L. Castro. 1995. On-line pervaporation separation process for the potentiometric determination of fluoride in "dirty" samples. **Anal. Chim. Acta** 308(1-3): 246.
- Redinha, J. S., C. Paliteiro and J. L. C. Pereira, 1997 Determination of sulfide by square-wave polarography. **Anal. Chim. Acta** 351(1): 115.
- Rupasinghe, T., T. J. Cardwell, R. W. Catrall, I.D. Potter and S. D.Kolev. 2004. Determination of arsenic by pervaporation-flow injection hydride generation and permanganate spectrophotometric detection. **Anal. Chim. Acta** 510(2): 225.
- Ruzicka, J. and E. H. Hansen. 1988. **Flow Injection Analysis**. 2nd ed. New York: Wiley. 690 p.
- Safavi, A., O. Moradlou and S. Maesum. 2004. Flow injection analysis of sulphite by gas-phase molecular absorption UV/VIS spectrophotometry. **Talanta** 62(1): 51.
- Satienperakul, S., S. Y. Sheikheldin, T. J. Cardwell, R.W. Catrall, M. D. Luque de Castro, I. D. McKelvie and S. D.Kolev. 2003. Pervaporation-flow injection analysis of phenol after on-line derivatisation to phenyl acetate. **Anal. Chim. Acta** 485(1): 37.
- Satienperakul, S., T. J. Cardwell, S. D. Kolev, C. E. Lenehan and N. W. Barnett. 2005. A sensitive procedure for the rapid determination of arsenic(III) by flow injection analysis and chemiluminescence detection. **Anal. Chim. Acta** 554(1-2): 25.
- Sheikheldin, S., Y. T. J. Cardwell, R. W. Catrall, M. D. Luque de Castro and S. D. Kolev. 2000. Determination of phenol in water by pervaporation-flow injection analysis. **Anal. Chim. Acta** 419(1): 9.
- Su, X., W. Wei, L. Nie and S. Yao. 1998. Flow injection determination of sulfite in wines and fruit juices by using a bulk acoustic wave impedance sensor coupled to a membrane separation technique. **Analyst** 123(2): 221.
- Sulistiyarti, H., T. J. Cardwell, M.D. L. Castro and S. D. Kolev. 1999. On-line determination of cyanide in the presence of sulfide by flow injection with pervaporation. **Anal. Chim. Acta** 390(1-3): 133.

- Tavares Araujo C.S., J. Lira de Carvalho, D. Ribeiro Mota, C.L. de Araujo and N.M.M. Coelho. 2005. Determination of sulphite and acetic acid in foods by gas permeation flow injection analysis. **Food Chem.** 92(4): 765.
- Thanh, N.T.K., L.G. Decnop-Weever and W.T. Kok. 1994. Determination of sulphite in wine by flow injection analysis with indirect electrochemical detection. **Fresenius J. Anal. Chem.** 349(6): 469.
- U.S. Food and Drug Administration. no date. **Prescription drugs containing sulfite.** [Online]. Available <http://accessdata.fda.gov>. (1 April 2008).
- Wu, F., Z. He, H. Meng and Yun'e Zeng. 1998. Determination of sulfite in sugar and sulfur dioxide in air by chemiluminescence using the $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - KBrO_3 system. **Analyst** 123(2): 2109.
- Zamora, L. L., Y. F. Mestre, M. J. D. Duarte, G. M. A. Fos, R. G. Domenech, J. G. Alvarez and J. M. Calatayud. 2001. Prediction of the chemiluminescent behavior of pharmaceuticals and pesticides. **Anal. Chem.** 73(17): 4301.
- Zhao, M. D., B. Hibbert and J. J. Gooding. 2006. Determination of sulfite in beer samples using an amperometric fill and flow channel biosensor employing sulfite oxidase. **Anal. Chim. Acta** 556(1): 195.



ภาคผนวก



1. การคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ความเข้มข้น 1000

มิลลิกรัมต่อลิตรโดยวิธี Iodometric titration

1.1 วิธีการทดลอง

1.1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน KIO_3

ชั่งสาร KIO_3 ที่ผ่านการอบแห้งแล้วในขวดชั่ง ด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียดให้ได้น้ำหนักอยู่ในช่วง 0.40xx-0.45xx กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนไว้ ละลายสาร KIO_3 ด้วยน้ำกลั่นและเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรถึงระดับขีดที่ขวด เขย่าขวดให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

1.1.2 การทำมาตรฐานสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน KIO_3 10.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดภาพกรวยขนาด 250.00 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เติม KI หนัก 2 กรัม เขย่าขวดให้ KI ละลายหมดจากนั้นเติม 6 โมลาร์ กรด HCl ลงไป 2 มิลลิลิตร แล้วรีบนำไปไทเทรตทันทีด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่อยู่ใน บิวเรต (เพื่อป้องกันการสูญเสีย I_2 ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา) จนสารละลายเป็นสีจาง ๆ แล้วเติมน้ำแปป 2 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตต่อจนสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นไม่มีสี บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ที่ใช้ไปรวมทั้งหมด ทำการไทเทรตใหม่อีก 4 ครั้ง

1.1.3 การทำมาตรฐานสารละลายไอโอดีน

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 10.00 มิลลิลิตร ลงในขวดภาพกรวยขนาด 250.00 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร แล้วน้ำแปป 2 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายในขวดให้เข้ากัน แล้วทำการไทเทรตด้วยสารละลายไอโอดีน ที่ใช้ไปรวมทั้งหมด ทำการไทเทรตใหม่อีก 4 ครั้ง

1.1.4 การคำนวณความเข้มข้นของสารมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 mg I^-

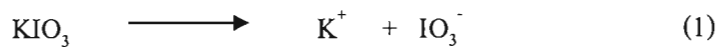
ปิเปตสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10.00 มิลลิลิตร ลงในขวดภาพกรวยขนาด 250.00 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร แล้วน้ำแปป 2 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายในขวดให้เข้ากัน แล้วทำการไทเทรตด้วยสารละลายไอโอดีน ที่ใช้ไปรวมทั้งหมด ทำการไทเทรตใหม่อีก 4 ครั้ง

1.2 ผลการทดลอง

1.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน KIO_3

ทำการชั่งสาร KIO_3 0.4198 กรัม

คำนวณความเข้มข้น KIO_3



จาก

$$\begin{aligned} \text{Mol} &= \frac{\text{g}}{\text{MW}} \\ &= \frac{0.4198}{214} \\ &= 1.9617 \times 10^{-3} \text{ mol} \end{aligned}$$

สารละลาย KIO_3 100 ml มี KIO_3 อยู่ $1.9617 \times 10^{-3} \text{ mol}$

$$\begin{aligned} \text{ถ้าสารละลาย } \text{KIO}_3 \text{ 1000 ml มี } \text{KIO}_3 \text{ อยู่} &= \frac{1.9617 \times 10^{-3} \times 1000}{100} \\ &= 0.01962 \text{ M} \end{aligned}$$

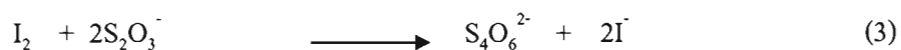
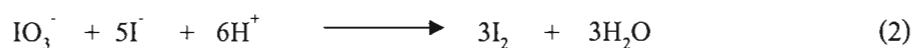
1.2.2 การทำมาตรฐานสารละลายโซเดียมไโอสัลเฟต

ตาราง 25 ผลการศึกษาปริมาตรของสารละลายโซเดียมไโอสัลเฟต

ครั้งที่	ปริมาตร $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml)
1	29.40
2	29.45
3	29.45
4	29.40
5	29.40
$\bar{X}$	29.42

คำนวณความเข้มข้น $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

ครึ่งปฏิกิริยา



จากสมการที่ 2 และ 3 พบว่า KIO_3 ทำปฏิกิริยากับ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ในอัตราส่วน 1: 6

ดังนั้น

$$\begin{aligned}
 6M(\text{KIO}_3)V(\text{KIO}_3) &= M(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \\
 6(0.01962)(10.00) &= M(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)(29.42) \\
 M(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) &= \frac{6(0.01962)(10.00)}{(29.42)} \\
 &= 0.0400 \text{ M}
 \end{aligned}$$

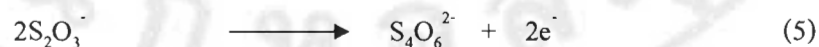
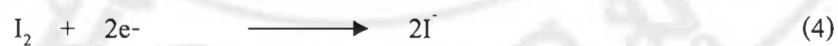
1.2.3 การทำมาตรฐานสารละลายไอโอดีน

ตาราง 26 ผลการศึกษาปริมาตรของสารละลายไอโอดีน

ครั้งที่	ปริมาตร I_2 (ml)
1	19.70
2	19.70
3	19.70
4	19.70
5	19.70
$\bar{X}$	19.70

คำนวณความเข้มข้น I_2

ครึ่งปฏิกิริยา



ปฏิกิริยารวม



จากสมการที่ 6 พบว่า I_2 ทำปฏิกิริยากับ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ในอัตราส่วน 1 : 2

ดังนั้น

$$\begin{aligned}
 2M(\text{I}_2)V(\text{I}_2) &= M(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \\
 2M(\text{I}_2)(19.70) &= (0.0400)(10.00) \\
 M(\text{I}_2) &= \frac{(0.0400)(10.00)}{2(19.70)}
 \end{aligned}$$

$$= 0.01015 \text{ M}$$

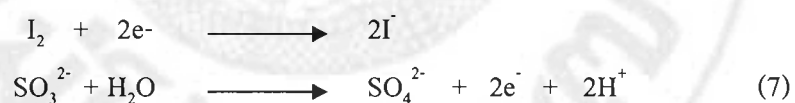
1.1.4 การคำนวณความเข้มข้นของสารมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 mg l^{-1}

ตาราง 27 ผลการศึกษาปริมาตรของสารละลายไอโอดีน

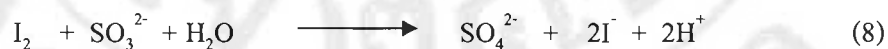
ครั้งที่	ปริมาตร I_2 (ml)
1	12.25
2	12.20
3	12.20
4	12.30
5	12.25
$\bar{X}$	12.24

คำนวณความเข้มข้น SO_3^{2-}

ครึ่งปฏิกิริยา



ปฏิกิริยารวม



จากสมการที่ 8 พบว่า I_2 ทำปฏิกิริยากับ SO_3^{2-} ในอัตราส่วน 1 : 1

ดังนั้น

$$\begin{aligned} \text{M}(\text{I}_2)\text{V}(\text{I}_2) &= \text{M}(\text{SO}_3^{2-})\text{V}(\text{SO}_3^{2-}) \\ (0.01015)(12.30) &= \text{M}(\text{SO}_3^{2-})(10.00) \\ \text{M}(\text{SO}_3^{2-}) &= \frac{(0.01015)(12.24)}{(10.00)} \\ &= 0.01242 \text{ M} \\ &= (0.01242)(80) \\ &= 0.9941 \text{ g/l} \\ &= 994.1 \text{ mg/l} \end{aligned}$$

ดังนั้นความเข้มข้นของสารมาตรฐานซัลไฟต์มีความเข้มข้น 994.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

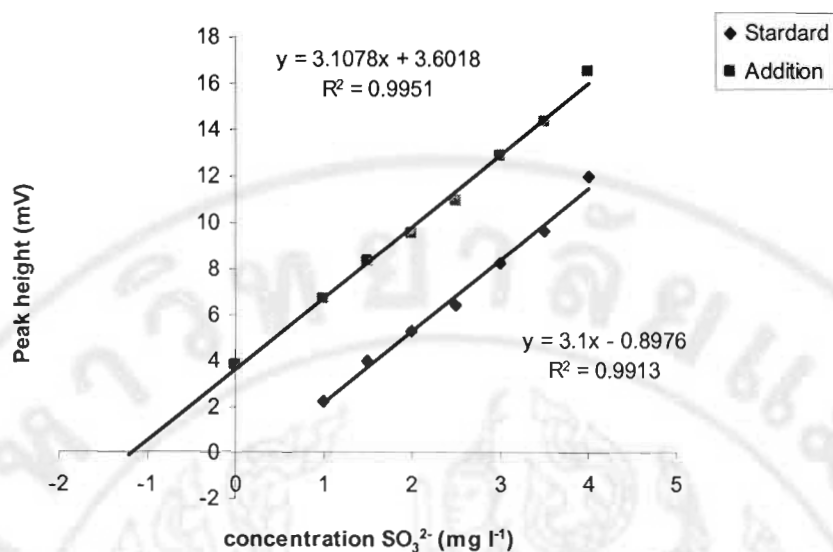
2. การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างโดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition)

2.1 การหาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างโดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน

ทำการทดลองโดยนำน้ำหน่อไม้ดองปริมาตร 0.025 มิลลิลิตรเติมลงในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตรทั้งหมด 7 ขวด จากนั้นเติมสารมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 0, 2.5, 3.75, 5, 6.25, 7.5, 8.75 และ 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้ความเข้มข้นของซัลไฟต์ที่เติมลงไปในแต่ละขวดเท่ากับ 0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบ PFI-CL ที่พัฒนาขึ้นในทันทีที่ได้ผลการวิเคราะห์ดังตาราง 28 และภาพ 49

ตาราง 28 ผลการหาความเข้มข้นของซัลไฟต์ในน้ำหน่อไม้ดองโดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน

ความเข้มข้นซัลไฟต์ที่เติมลงไป (mg l ⁻¹)	ความสูงของพีค (mV)
0	3.86
1	6.70
1.5	8.36
2	9.53
2.5	10.96
3	12.86
3.5	14.36
4	16.53



ภาพ 49 กราฟการหาปริมาณซัลไฟต์ในน้ำหน่อไม้คอง โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน

จากภาพ 49 ความเข้มข้นของซัลไฟต์ในน้ำหน่อไม้คองที่ถูกเจือจางมีค่าเท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อนำไปคูณกับ dilution factor จากการเจือจางสารละลาย 1000 เท่า

$$\begin{aligned} \text{พบว่ามีความเข้มข้น} &= 1.30 \times 1000 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร} \\ &= 1300 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

สรุปได้ว่า ความเข้มข้นของซัลไฟต์ในน้ำหน่อไม้คองเท่ากับ 1300 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาควิชา
ประวัติศาสตร์

ประวัติผู้วิจัย

- ชื่อ-สกุล : นางสาวพรธนา พงษ์คง
- เกิดเมื่อ : 12 กุมภาพันธ์ 2527
- ประวัติการศึกษา : พ.ศ. 2545 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนคอยสะเก็ดวิทยา
จังหวัดเชียงใหม่
พ.ศ. 2549 ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
จังหวัดเชียงใหม่
- การนำเสนอผลงานวิจัย : การประชุมวิชาการ International Symposium on Flow Based Analysis VII (ISBA-2007) ชื่อหัวข้อ Preliminary investigation for the determination of sulphite in pickled foods based on gas diffusion flow injection with chemiluminescence detection ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วันที่ 16-18 ธันวาคม 2550
- : การประชุมวิชาการ The 15th International Conference on Flow Injection Analysis Including Related Techniques (ICFIA 2008) ชื่อหัวข้อ Pervaporation flow injection chemiluminescence procedure for the determination of sulphite in pickled food using a sensitive potassium permanganate-rhodamine B detection system ณ เมือง Nagoya ประเทศญี่ปุ่น วันที่ 28 กันยายน – 3 ตุลาคม 2551
- : การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วทท.) ครั้งที่ 34 ชื่อหัวข้อ Comparison between gas diffusion and pervaporation procedures as on-line separation tools for the determination of sulphite in food by chemiluminescence flow injection analysis ณ ศูนย์ประชุมสโรภิต์ กรุงเทพฯ วันที่ 31 ตุลาคม – 2 พฤศจิกายน 2551