



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : การพัฒนาวิธีเพอร์วาพอเรชันโพลีเมอไรเซชันร่วมกับการตรวจวัดการเรืองแสง
ด้วยปฏิกิริยาเคมีสำหรับการวิเคราะห์สารปนเปื้อนทางการเกษตร

โดย

ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพืระกุล และคณะ

กรกฎาคม พ.ศ. 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : การพัฒนาวิธีเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจคชันร่วมกับการตรวจวัดการเรืองแสง
ด้วยปฏิกิริยาเคมีสำหรับการวิเคราะห์สารปนเปื้อนทางการเกษตร

คณะผู้วิจัย สังกัด

ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
รศ.ดร. สารสุนีย์ เหลี้ยวเรืองรัตน์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG4880216

ชื่อโครงการ : การพัฒนาวิธีเพอร์วาพอเรชันโพลินเจคชันร่วมกับการตรวจวัดการเรืองแสงด้วยปฏิกิริยาเคมีสำหรับการวิเคราะห์สารปนเปื้อนทางการเกษตร

ชื่อนักวิจัย : ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (หัวหน้าโครงการ)
รศ.ดร. สายสุรีย์ เหลี้ยวเรืองรัตน์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (นักวิจัยที่ปรึกษา)

E-mail Address : sakchais@mju.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 มิถุนายน 2548 ถึง 31 พฤษภาคม 2550

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาระบบการแยกแบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอเรชันโพลินเจคชันร่วมกับการโดยตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนส์ สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟด์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง ซึ่งมีพื้นฐานจากการวัดการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์จากปฏิกิริยาคายแสงจากเปอร์แมงกาเนต เมื่อนี้ดสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างซัลไฟด์เข้าไปยังกระแสตัวให้กรดซัลฟิวริกแล้วเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ส่งไปยังหน่วยเพอร์วาพอเรชัน (พีเอฟไอ) หรือเมื่อก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านไปยังสารละลายกระแสตัวรับโซเดียมเฮกซะเมเตฟอสเฟตในกรดฟอสฟอริก และโรดามีน บี สารละลายผสมจะไหลผ่านไปยังพบกระแสรีเอเจนต์สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสตัวรับ ที่ข้อต่อตัว ที่ และตรวจวัดการเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่คายออกมาด้วยหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ที่ตั้งค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 1.0 กิโลโวลต์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบการแยกแบบออนไลน์ชนิดเพอร์วาพอเรชันโพลินเจคชันพบว่าได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วง 0.5-6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 2.77% สำหรับสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (12 ครั้ง) มีขีดจำกัดของการวิเคราะห์เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 91.1-104.8 ในขณะที่อัตราเร็วในการวิเคราะห์ตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ได้นำวิธีการแยกแบบออนไลน์มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟด์ในอาหารประเภทหมักดอง และทำการตรวจสอบเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี

คำหลัก : เพอร์วาพอเรชัน; โพลินเจคชัน; เคมีลูมิเนสเซนซ์; ซัลไฟด์

ABSTRACT

Project Code : MRG4880216

Project Title : Development of pervaporation flow injection procedures with chemiluminescence detection for the determination of agricultural contaminants

**Investigator : Dr. Sakchai Satienperakul, Maejo University (Project leader)
Assoc. Prof. Dr. Saisunee Liawruangrath (Mentor)**

E-mail Address : sakchais@mju.ac.th

Project Period : 1 June 2005 31 May 2007

In this research study, the novel pervaporation flow injection with chemiluminescence detection (PFI-CL) was proposed as an on-line separation technique for the analysis of contaminated sulphite in pickled food samples. The PFI-CL method involve the injection of standard and/or sulphite samples solution into a sulfuric acid donor stream, which was then transported to the pervaporation module 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. Solution mixture was then merges 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. Optimal experimental conditions for determination of sulphite for an on-line separation technique were investigated. Linear calibration curve was observed over the concentration ranges 0.5-6 mg l⁻¹ of sulphite. The relative standard deviation for 12 replicate injections was found to be 2.77% of sulfite standard solution with the detection limit of 0.2 mg l⁻¹. The percentage recoveries were found to be in the range 91.1-104.8, while the sample throughput was found to be 30 h⁻¹. The proposed PFI-CL procedures were applied to the determination of sulphite in pickled foods samples and validated versus standard differential pulse polarographic method.

Keywords : Pervaporation; Flow injection; Chemiluminescence; Sulphite

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาระบบการแยกแบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอเรชันโพลินเจคชัน ร่วมกับการโดยตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนส์ สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง ซึ่งมีพื้นฐานจากการวัดการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์จากปฏิกิริยาการคายแสงจากเปอร์แมงกาเนต เมื่อฉีดสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างซัลไฟต์เข้าไปยังกระแสตัวให้กรดซัลฟิวริกแล้วเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ส่งไปยังหน่วยเพอร์วาพอเรชัน (พีเอฟไอ) หรือเมื่อก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านไปยังสารละลายกระแสตัวรับไซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตในกรดฟอสฟอริก และโรดามีน บี สารละลายผสมจะไหลผ่านไปยังกระแสรีเอเจนต์ สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสตัวรับ ที่ข้อต่อตัว ที่ และตรวจวัดการเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่คายออกมาด้วยหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ที่ตั้งค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 1.0 กิโลโวลต์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบการแยกแบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอเรชันโพลินเจคชันพบว่าได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วง 0.5-6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 2.77% สำหรับสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (12 ครั้ง) มีขีดจำกัดของการวิเคราะห์เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 91.1-104.8 ในขณะที่อัตราเร็วในการวิเคราะห์ตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ได้นำวิธีการแยกแบบออนไลน์มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในอาหารประเภทหมักดอง และทำการตรวจสอบเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลาริกราฟี

ABSTRACT

In this research study, the novel pervaporation flow injection with chemiluminescence detection (PFI-CL) was proposed as an on-line separation technique for the analysis of contaminated sulphite in pickled food samples. The PFI-CL method involve the injection of standard and/or sulphite samples solution into a sulfuric acid donor stream, which was then transported to the pervaporation module 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. Solution mixture was then merges 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. Optimal experimental conditions for determination of sulphite for an on-line separation technique were investigated. Linear calibration curve was observed over the concentration ranges 0.5-6 mg l^{-1} of sulphite. The relative standard deviation for 12 replicate injections was found to be 2.77% of sulfite standard solution with the detection limit of 0.2 mg l^{-1} . The percentage recoveries were found to be in the range 91.1-104.8, while the sample throughput was found to be 30 h^{-1} . The proposed PFI-CL procedures were applied to the determination of sulphite in pickled foods samples and validated versus standard differential pulse polarographic method.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
ABSTRACT	(2)
สารบัญ	(3)
สารบัญตาราง	(5)
สารบัญภาพ	(6)
สัญลักษณ์	(8)
บทที่ 1 บทนำ	
1. การวิเคราะห์แบบโพลินเจคชันอะนาลิซิส	1
1.1 ประวัติความเป็นมา	2
1.2 การพัฒนาจนถึงปัจจุบัน	3
1.3 หลักการพื้นฐานของเทคนิคโพลินเจคชันอะนาลิซิส	3
1.4 การแพร่กระจาย	5
1.5 การกระจายที่ถูกควบคุม	6
2. เทคนิคการแยกสารแบบออนไลน์	7
2.1 ก๊าซดีฟฟิวชัน	8
2.2 เพอร์วาพอเรชัน	10
3. ตัวตรวจวัดที่ใช้ในระบบโพลอะนาลิซิส	12
3.1 การตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์	14
3.2 หลักการวิเคราะห์ของเคมีลูมิเนสเซนซ์	14
3.3 ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์	19
3.4 โพลินเจคชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ในอนาคต	19
4. ชัลไฟต์	20
4.1 ข้อมูลทั่วไปของชัลไฟต์	21
4.2 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี	21
4.3 ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา	21
4.4 อันตรายต่อสุขภาพ	22
4.5 บทบาทสารชัลไฟต์ในอาหาร	22

4.6	ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารซัลไฟต์ในอาหาร	23
4.7	ชนิดของอาหารที่ใช้สารซัลไฟต์	24
4.8	ปริมาณของสารซัลไฟต์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร	25
4.9	ความเป็นพิษของสารซัลไฟต์	26
5.	วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์	26
6.	สรุปสาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง	29
7.	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	33
บทที่ 2 วิธีการทดลอง		
3.1	สารเคมี	34
3.2	เครื่องมือและอุปกรณ์	37
3.3	วิธีการทดลอง	38
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง		
3.1	การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ โดยเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน	58
3.2	การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ โดยเทคนิคเพอร์วาพอร์ชันเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน	62
3.3	การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักดองโดยวิธีดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลาริกราฟี	79
บทที่ 4 สรุปผลทดลองและข้อเสนอแนะ		
4.1	สรุปผลการวิจัย	81
4.2	ข้อเสนอแนะ	84
เอกสารอ้างอิง		85
ภาคผนวก	ผลงานตีพิมพ์ที่เป็นผลเกี่ยวข้องที่เกิดจากโครงการวิจัย	91

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1.1 ตัวตรวจวัดที่ใช้ระบบ FIA	13
1.2 สภาวะการทำงานของเครื่องมือและดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลาริกราฟี	27
1.3 ตัวอย่างการศึกษาหาปริมาณของสารซัลไฟต์ โดยเทคนิคทาง โพลินิเจชันเคมีลูมิเนสเซนซ์	30
1.4 ตัวอย่างการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (on-line)	32
2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	34
2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	37
3.1 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ CL-FI	57
3.2 การเปรียบเทียบชนิดของกรดที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์	57
3.3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ CL-FI	61
3.4 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบเพอร์วาพอเรชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์ (PFI-CL)	64
3.5 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL	71
3.6 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ด้วยระบบ PFI-CL	72
3.7 ผลการศึกษาไอออนรบกวนที่สามัญบางชนิด	75
3.8 ผลการหาปริมาณซัลไฟต์จากวิธีกราฟมาตรฐานและการเติมสารมาตรฐาน	76
3.9 ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง	76
3.10 ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือของกระบวนการวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI-CL	78
3.11 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธีดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ โพลาริกราฟี	79
3.12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในอาหารด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ โพลาริกราฟี	80
3.13 ผลการเปรียบเทียบปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักดองโดยวิธี PFI-CL และ DPP	80
4.1 คุณลักษณะเฉพาะของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโพลินิเจชัน	86

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
1.1	แผนภาพอย่างง่ายของระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส
1.2	รูปแบบต่าง ๆ ของการกระจายที่เกิดขึ้นของสารตัวอย่างในท่อ
1.3	การแพร่กระจายในสารตัวอย่างในระบบ FIA
1.4	กระแสการถ่ายมวลของสารตัวอย่างในก๊าซดิฟฟิวชัน
1.5	หน่วยก๊าซดิฟฟิวชันแบบแบนราบ
1.6	หน่วยก๊าซดิฟฟิวชันชนิดท่อที่มีเปลือกหุ้ม
1.7	หน่วยเพอร์วาพอเรชัน
1.8	การคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ในสารละลายที่คงตัว
1.9	ค่าความเข้มแสงของเคมีลูมิเนสเซนซ์เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลง
1.10	ตำแหน่งของจุดสังเกตมีความสัมพันธ์กับเส้นโค้งของระยะเวลาที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสง
1.11	ส่วนประกอบของเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชัน
1.12	โครงสร้างของโซเดียมซิลไฟต์
1.13	ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โฟลาโรแกรม
2.1	ผังการจัดวางเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซิลไฟต์ด้วยวิธี CL-FIA
2.2	การจัดวางอุปกรณ์วัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ภายในกล่องลูมิโนมิเตอร์
2.3	ผังการจัดวางเครื่องมือวิเคราะห์ซิลไฟต์ด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนซ์
2.4	ระบบการวิเคราะห์ซิลไฟต์ด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนซ์
2.5	หน่วยแยกสารเพอร์วาพอเรชัน
2.6	การจัดเรียงเม็ด glass beads ใน donor chamber
3.7	ผังการจัดวางเครื่องมือเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ในการศึกษาวิธีหยุดการไหลชั่วคราว
2.8	การจัดชุดอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ โฟลาโรกราฟี
3.1	ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชัน
3.2	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก
3.3	ผลการศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอด PMT

3.4	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	60
3.5	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสดัวพา	61
3.6	ระบบเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน เคมิลูมิเนสเซนซ์	63
3.7	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก	65
3.8	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	66
3.9	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	67
3.10	ผลการศึกษาอัตราการไหลของกระแสดัวรับและกระแสรีเอเจนต์	68
3.11	ผลการศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไปในระบบ	68
3.12	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสดัวให้	69
3.13	ตัวอย่าง PFI-CL gram ของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมฟลูออโรฟอร์บางชนิด	70
3.14	ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Rhodamine B	70
3.15	การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ด้วยระบบ PFI-CL	72
3.16	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL	73
3.17	ตัวอย่าง PFI-CL gram ของซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ	74
3.18	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ โพลาริกราฟี	79

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

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

1. การวิเคราะห์แบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส^[1]

ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา นักเคมีได้พยายามคิดค้นวิธีการวิเคราะห์แบบอัตโนมัติที่ สะดวก รวดเร็ว ที่จะช่วยลดขั้นตอนในการทดสอบ หรือทำให้ประหยัดเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมีและสารตัวอย่างของการวิเคราะห์ลง แต่ยังคงให้ผลการวิเคราะห์ ที่ถูกต้อง แม่นยำ และสามารถกระทำได้ทันเวลาที่ต้องการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโรงงานการผลิตเชิงอุตสาหกรรมที่ต้องมีการทดสอบคุณภาพสินค้าหรือวัตถุดิบ หรือแม้กระทั่งของเสียก่อนจะปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม จึงมีการนำระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส (Flow injection analysis) หรือ FIA ที่พัฒนาขึ้นโดย J. Ruzicka และ E. H. Hansen ^[2] ในปี ค.ศ. 1975 มาประยุกต์ใช้ในการแก้ปัญหาดังกล่าวเนื่องจากวิธีวิเคราะห์ชนิดใหม่ที่มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีจำนวนมากได้ดี และสามารถวิเคราะห์ได้อย่างทันที่ และมีบทบาทอย่างมากในสาขาเคมีวิเคราะห์และเคมีประยุกต์ โดยยืนยันได้จากรายงานวิจัยมากกว่า 16,500 ฉบับในช่วง 30 กว่าปีที่ผ่านมา ^[3]

1.1 ประวัติความเป็นมา^[4-5]

ประวัติความเป็นมาของเทคนิคโพลินเจกชันอะนาลิซิส หรือ เอฟไอเอ (FIA) นั้นได้มีผู้ตีพิมพ์ผลงานแสดงความคิดเห็นตามแนวคิดของตนเองซึ่งแตกต่างกันออกไปในแต่ละบุคคล

ในปี 1957 Skeggs แห่งมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย เป็นผู้ริเริ่มใช้ระบบอัตโนมัติแบบการไหลต่อเนื่องที่เรียกว่า Continuous Flow Analysis (CFA) ซึ่งประกอบด้วย flow system ร่วมกับเครื่องมือวัดต่าง ๆ เช่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โพเทนชิโอมิเตอร์ เป็นต้น หลักการก็คือให้รีเอเจนต์ สารตัวพา และอากาศไหลผ่านท่อเล็ก ๆ ด้วยอัตราเร็วที่เหมาะสมและคงที่ภายใต้การควบคุมของปั๊ม แล้วมาพบกันก่อนเข้าที่ส่วนผสม หรือ mixing coil ซึ่งมีความยาวที่เหมาะสม จากนั้นเข้าสู่เครื่องตรวจวัด การไหลแบบต่อเนื่องนี้ภายในท่อจะมีฟองอากาศคั่นเป็นช่วง 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 เป็นจุดเริ่มต้นของเทคนิคการวิเคราะห์แบบการไหลโดยมีฟองอากาศคั่น (segmented flow analysis: SFA) นอกจากนี้เขายังได้กล่าวถึงผลงานการค้นคว้าต่าง ๆ ที่เชื่อว่าเป็นผลงานที่แสดงถึงพัฒนาการสู่เทคนิคโพลินเจกชันอะนาลิซิส Stewart ได้สรุปในตอนท้ายของบทความว่าเทคนิค FIA นั้น เป็นแนวความคิดที่แฝงอยู่ในเทคนิคทางโครมาโทกราฟี แต่จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1974-1975 เทคนิคนี้จึงเริ่มได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับกัน

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

1.2 การพัฒนาจนถึงปัจจุบัน^[4-5]

จากการค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค FIA พบว่าการพัฒนาเทคนิค FIA ถึงปัจจุบันอาจแบ่งได้เป็น 3 ช่วงใหญ่ ๆ ด้วยกันคือ

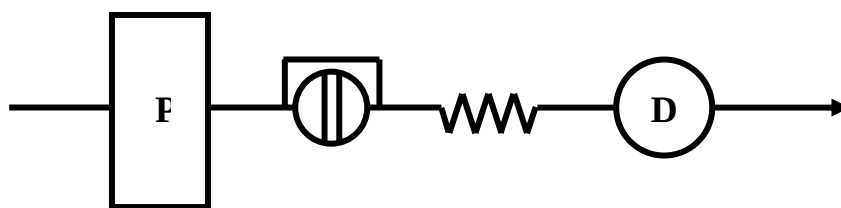
ในช่วงแรก (ระหว่างปี ค.ศ. 1975-1981) เป็นช่วงที่เกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิค FIA เพื่อให้เป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อน ที่มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ โดยอัตโนมัติของเทคนิคต่าง ๆ ที่มีความคล้ายคลึงกับที่ใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่เป็นของเหลว

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

ในช่วงที่สาม ซึ่งเริ่มจากปัจจุบัน เป็นช่วงที่เอฟไอเอนั้นได้รับการพัฒนาให้เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่สำคัญและมีประสิทธิภาพสำหรับสารเคมีที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคและทำให้เกิดความเป็นไปได้สำหรับการออกแบบระบบอัตโนมัติสำหรับการควบคุมในการวิเคราะห์และควบคุมกระบวนการในทางอุตสาหกรรม และเพื่อศึกษาจุลศาสตร์และกลไกของปฏิกิริยาทางเคมี ตลอดถึงกระบวนการต่าง ๆ ทางกายภาพ เคมี ในสารละลาย

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

1.3 หลักการพื้นฐานของเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส ^[4-5]



รูป 1.1 แผนภาพอย่างง่ายของระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส

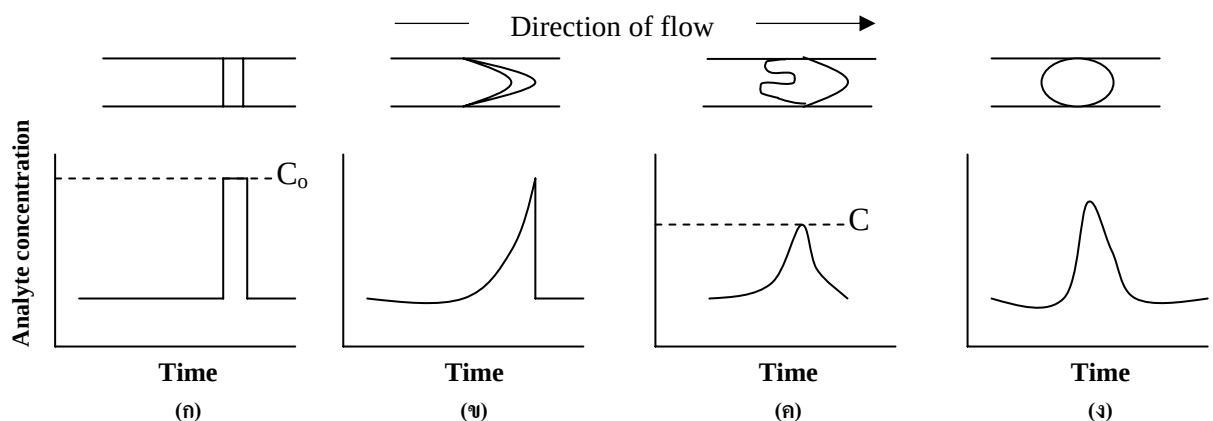
โฟลอินเจคชันอะนาลิซิส (FIA) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีอย่างอัตโนมัติชนิดใหม่ (Continuous Flow Analysis; CFA) ซึ่งอาศัยหลักการไหลอย่างต่อเนื่อง รูป 1.1 แสดงแผนภาพอย่างง่ายของระบบ FIA ซึ่งทำโดยฉีดสารตัวอย่างปริมาณน้อย ๆ เข้าไปในกระแสตัวพาที่ไหลด้วยอัตราการไหลคงที่อย่างต่อเนื่องภายในท่อซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กสารตัวอย่างจะเข้าผสมกับกระแสตัวพาแล้วทำให้เกิด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

เปลี่ยนแปลงของตัวอย่างได้ เช่น การดูดกลืนแสง การเปลี่ยนค่าของกระแสไฟฟ้า ความเป็นกรดต่าง เป็นต้น สัญญาณที่ได้จะเป็นลักษณะพีกหัวตัดซึ่งจะถูกบันทึกและสามารถหาปริมาณของสารตัวอย่างได้ โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน ดังนั้นเพื่อให้ผลการทดลองเป็นที่น่าเชื่อถือจึงต้องมีการควบคุมสภาวะของการทดลองของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างให้เหมือนกัน ซึ่งในระบบ FIA จะอาศัยหลักการพื้นฐาน 3 ประการ คือ

1. การฉีดสารตัวอย่าง (sample injection) เป็นการนำสารตัวอย่างเข้าไปในกระแสของตัวพาที่ไหลอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ปริมาณหรือปริมาตรของสารตัวอย่างที่ถูกต้องและแม่นยำทุกครั้ง

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

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



รูป 1.2 รูปแบบต่าง ๆ ของการกระจายที่เกิดขึ้นของสารตัวอย่างในท่อ^[4]

ก) ไม่เกิดการแพร่กระจาย

ข) การแพร่กระจายเนื่องจากการพา

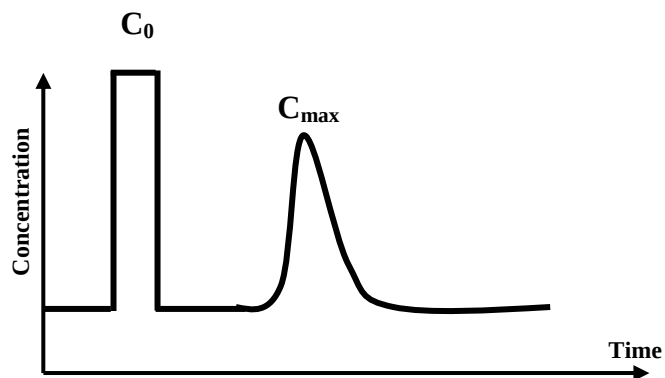
ค) การแพร่กระจายโดยการพาและการแพร่ตั้งฉากกับการไหล ง) การแพร่กระจายเนื่องจากการแพร่

1.4 การแพร่กระจาย (Dispersion)^[5]

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

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

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



รูป 1.3 การแพร่กระจายในสารตัวอย่างในระบบ FIA

การแพร่ (D) เป็นสัดส่วนโดยตรงกับ อัตราการไหล ความยาวของท่อ และขนาดหรือปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ฉีด เมื่อฉีดสารตัวอย่างปริมาณมาก การแพร่จะมีค่าเป็น 1 ภายใต้อาณัติเช่นนี้จะไม่มีการผสมของสารตัวอย่างกับการในกระแสตัวพาเกิดขึ้น จึงไม่มีการแพร่ของสารตัวอย่างเกิดขึ้นด้วย ในการวิเคราะห์โดยวิธี FIA ส่วนมากต้องการให้มีปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับกระแสตัวพาเกิดขึ้น 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

1.5 การกระจายที่ถูกควบคุม (Dispersion controlled)^[5]

เมื่อศึกษาเกี่ยวกับการกระจายตัวของสารตัวอย่างในกระแสตัวพาซึ่งอาจเป็นรีเอเจนต์หรือตัวทำละลาย เข้าสู่เครื่องตรวจวัดชนิดใด ๆ สารตัวอย่างจะมีการกระจายตัว 3 ลักษณะคือ

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

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

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

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ไม่จำเป็นต้องเกิดอย่างสมบูรณ์เสมอไป สิ่งที่สำคัญคือสภาวะ

ที่ใช้ในการทดลองทั้งของสารละลายมาตรฐาน และสารตัวอย่างต้องเหมือนกันทุกประการ คือ residence time อุณหภูมิ และการแพร่ของสารจะต้องคงที่

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

อย่างไรก็ตามในบางการทดลองในขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างพบว่า ในการใช้สารเคมีเพื่อเป็นรีเอเจนต์ในการสกัดแยกสารตัวอย่างเพื่อติดตามตรวจสอบสารปนเปื้อนหรือสารมลพิษต่างๆ เหล่านั้น ในบางครั้งกลับมีการใช้งานสารเคมีที่มีพิษมากกว่าสารที่ต้องการทดสอบเสียอีก บางครั้งมีขั้นตอนต่าง ๆ ซับซ้อนในการเตรียมตัวอย่างเพื่อให้เหมาะสมกับเครื่องมือวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ดังนั้นจึงได้มีผู้พยายามคิดค้นวิธีใหม่ ๆ มาเพื่อลดขั้นตอนการวิเคราะห์และลดการใช้งานสารเคมีเหล่านั้นให้น้อยลง โดยเฉพาะในขั้นตอนการสกัดแยกสารตัวอย่างที่สนใจออกจากเมทริกซ์ หรือสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่าง ซึ่งเป็นที่มาของเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) แบบต่าง ๆ ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ที่พัฒนามาจากวิธีโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส โดยมีหลักการที่อาศัยการผสมสารละลายรีเอเจนต์ที่เหมาะสม กับตัวอย่างเพื่อให้สารตัวอย่างเปลี่ยนสถานะไปเป็นสารเคมี ที่สามารถถูกสกัดด้วยตัวทำละลายหรือแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านบางชนิด หรือ กระบวนการทางกายภาพอื่น ๆ ก่อนถูกส่งไปยังตัวตรวจวัดที่เหมาะสมต่อไป ซึ่งตัวตรวจวัดที่นิยมใช้เช่น สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ หรือเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมี เป็นต้น

เทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) จะช่วยลดขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างที่ยุ่งยากและสามารถลดสารเคมีและสารตัวอย่างลงได้มาก ซึ่งย่อมช่วยทำให้มีข้อเสียจากการทดสอบน้อยลงเช่นเดียวกัน

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

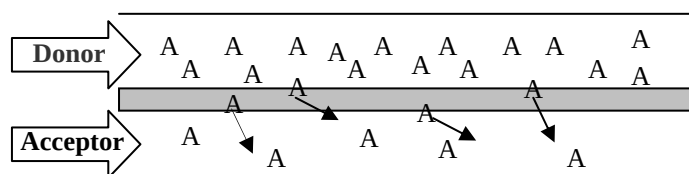
2. เทคนิคการแยกสารแบบออนไลน์ (Online separation)^[6]

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

2.1 ก๊าซดิฟฟิวชัน (Gas diffusion)^[7]

วิธีก๊าซดิฟฟิวชันเป็นเทคนิคการแยกสารตัวอย่างแบบหนึ่งที่สามารถละลายและการแพร่ของตัวอย่างที่อยู่ในสถานะก๊าซหรือสามารถเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของก๊าซโดยปฏิกิริยาทางเคมีได้ โดยใช้เยื่อเลือกผ่าน (gas membrane permeable) ในการแยก ซึ่งเทคนิคก๊าซดิฟฟิวชันจะอาศัยการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านของสารตัวอย่างบางชนิดที่ระเหยได้ง่าย วิธีการนี้ไม่เพียงแต่ใช้สำหรับแยกก๊าซที่ละลายได้เท่านั้นแต่ยังใช้สำหรับคัดแยกสารปนเปื้อนอื่น ๆ ออกจากระบบได้อีกด้วย วิธีก๊าซดิฟฟิวชันโพลินเจคชันมีรายงานครั้งแรกโดย Banden Huijsen และ Deuren-Jacobs เพื่อใช้ในการแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในพลาสติกและเลือด^[8] และตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

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



รูป 1.4 กระแสการถ่ายมวลของสารตัวอย่างในก๊าซดิฟฟิวชัน^[7]

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

เนื่องจากโดยทั่วไปมีเพียงก๊าซส่วนน้อยเท่านั้นที่จะแพร่ผ่านได้ แต่เมื่อผ่านเยื่อเลือกผ่านไปแล้วก๊าซดังกล่าวจะถูกดักจับด้วยสภาวะทางกายภาพหรือทางเคมีด้วยอัตราคงที่ จึงสามารถนำมาใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณได้อย่างถูกต้อง

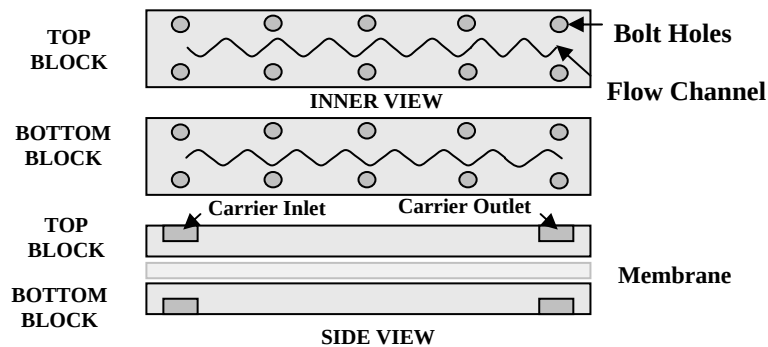
ชนิดความแตกต่างของเยื่อเลือกผ่านที่ใช้ศึกษาการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านสำหรับระบบ FIA มีอยู่หลายชนิด แต่ส่วนใหญ่ที่พบว่ามีการใช้งานมีอยู่ 3 ชนิด ดังนี้คือ

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 แต่ส่วนใหญ่ที่นิยมใช้จะเป็นชนิดแบนราบ (flat plate) หรือชนิดท่อที่มีเปลือกห่อหุ้ม (tube in a shell) โดยตัวอย่างการออกแบบหน่วยก๊าซดิฟฟิวชันชนิดแบนราบ แสดงดังรูป 1.5

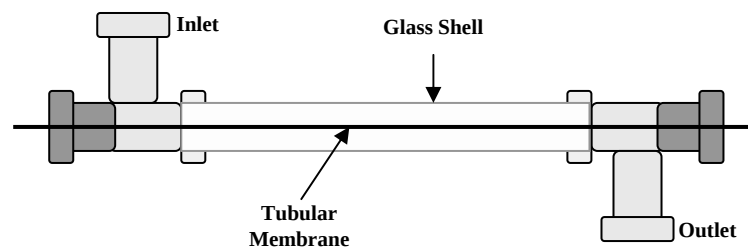
การใช้เยื่อเลือกผ่านกั้นระหว่างกระแสตัวให้ซึ่งอยู่ข้างหนึ่งของหน่วยก๊าซดิฟฟิวชัน และอีกข้างหนึ่งเป็นกระแสตัวรับโดยสารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในกระแสของกระแสตัวให้ซึ่งมีรีเอเจนต์บางชนิดละลายอยู่ และเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างจะแพร่ผ่านรูพรุนบนเยื่อเลือกผ่านไปยังกระแสตัวรับและทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ในกระแสตัวให้ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งสามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงนี้ได้โดยใช้เครื่องตรวจวัดที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพต่าง ๆ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยดีเทคเตอร์หลากหลายตามความเหมาะสม



รูป 1.5 หน่วยก๊าซดัดฟิวชันแบบแบนราบ (flat plate)^[7]

ปัจจัยการละลายและการแพร่ของสารตัวอย่างของระบบก๊าซดัดฟิวชันแบบราบนี้ขึ้นอยู่กับปริมาตรของสารตัวอย่างที่ถูกฉีด ความหนาของเยื่อเลือกผ่านพื้นที่หน้าตัดของเยื่อเลือกผ่าน ขนาดของช่องในเยื่อเลือกผ่าน และอัตราการไหลของกระแสตัวพาในกระแสตัวให้กับกระแสตัวรับ

ส่วนหน่วยก๊าซดัดฟิวชันชนิดท่อที่มีเปลือกหุ้ม (tube in a shell) แสดงดังรูป 1.6 หน่วยก๊าซดัดฟิวชันชนิดนี้จะใช้ fiber membrane ชนิดที่เป็นท่อกลวงที่มีเปลือก (shell) ล้อมรอบซึ่งโดยทั่วไปกระแสตัวรับจะถูกบีบผ่านท่อภายใน (hollow fiber) และกระแสตัวให้จะถูกบีบผ่านเปลือกหุ้ม (shell) ซึ่งล้อมรอบอยู่ภายนอก



รูป 1.6 หน่วยก๊าซดัดฟิวชันชนิดท่อที่มีเปลือกหุ้ม (tube in a shell)^[7]

2.2 เพอร์วาพอเรชัน (Pervaporation)^[9]

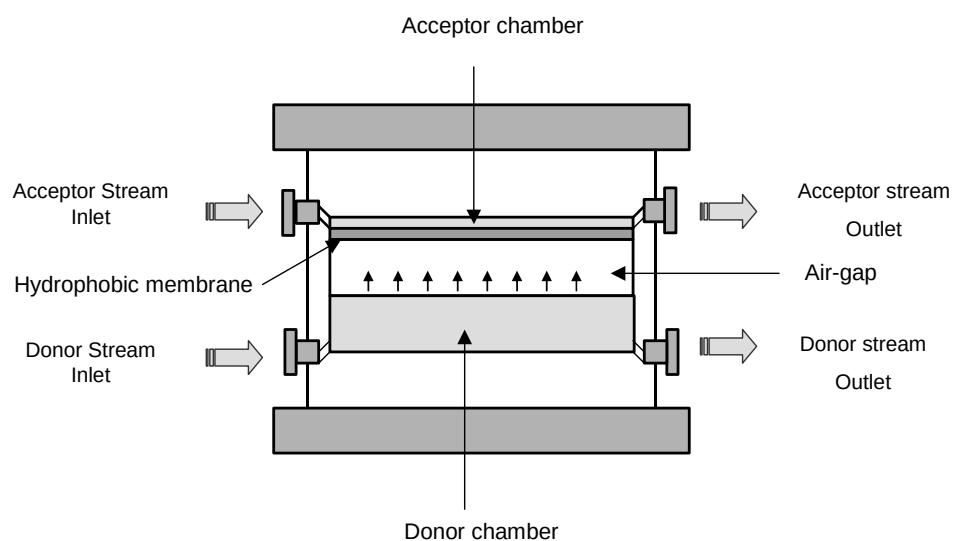
วิธีเพอร์วาพอเรชัน ถูกค้นพบโดย Kober ในปี ค.ศ. 1917 และได้มีการศึกษาพัฒนาต่อเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน คำว่า pervaporation นั้นมาจากคำว่า permeation และ evaporation (การซึมผ่านและการระเหยเป็นไอ) วิธีเพอร์วาพอเรชันนี้ เป็นกระบวนการที่อาศัยเยื่อเลือกผ่านในการแยกสาร โดยใช้ เยื่อเลือกผ่านที่มีรูพรุน คล้ายคลึงกับวิธีก๊าซดัดฟิวชัน

แต่ในการแยกโดยใช้ วิธีเพอร์วาพอเรชันนั้น จะมีขั้นตอนการแยกบริเวณเยื่อเลือกผ่านที่แตกต่างจากวิธีก๊าซดิสพิวชัน อยู่ 3 ขั้นตอนคือ

1. กระบวนการดูดซับของสารตัวอย่างสู่เยื่อเลือกผ่าน
2. กระบวนการแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน
3. กระบวนการคายหรือระเหยสารตัวอย่างออกจากเยื่อเลือกผ่านสู่ภายนอก

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

การแยกสารที่สนใจออกจากตัวอย่างแบบอนไลน์โดยอาศัยวิธีที่เรียกว่าเพอร์วาพอเรชันนั้นเป็นวิธีการแยกด้วยเยื่อเลือกผ่านที่ถูกพัฒนาขึ้นจากวิธีก๊าซดิสพิวชัน โดยกลุ่มนักเคมีชาวสเปน เพื่อใช้แยกสารที่ระเหยได้หรือระเหยได้บางส่วน (volatile and semi-volatile) ออกจากตัวอย่างที่สกปรกหรือมีการปนเปื้อนสูง เช่นตัวอย่างที่มีสารลดแรงตึงผิว สารกัดกร่อนรุนแรง สารโมเลกุลใหญ่ หรืออนุภาคขนาดใหญ่ที่แขวนลอยอยู่ในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งไม่อาจวิเคราะห์ได้ด้วยวิธีก๊าซดิสพิวชันแบบธรรมดา เนื่องจากสารปนเปื้อนเหล่านี้มีผลทำให้เกิดการเสียสภาพของเยื่อเลือกผ่าน หรือทำให้เกิดการอุดตันของรูพรุนในเยื่อเลือกผ่าน ทำให้ประสิทธิภาพในการแยกด้อยลง โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันนี้จะช่วยป้องกันการเสียสภาพของเยื่อเลือกผ่าน เนื่องจากมีช่องอากาศ (air-gap) ระหว่างผิวหน้าของกระแสน้ำของตัวอย่างและเยื่อเลือกผ่านดังรูป 1.7



รูป 1.7 หน่วยเพอร์วาพอเรชัน (pervaporation unit)^[9]

จากข้อดีที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สารตัวอย่างบางชนิดที่มีการปนเปื้อนสูงไม่สัมผัสกับเยื่อเลือกผ่านโดยตรง ทำให้สามารถฉีดสารตัวอย่างที่สกรปรกลงในการเสดตัวพาได้โดยตรง เมื่อสารที่สนใจในสารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่เหมาะสมในกระแสตัวพา ก็จะทำให้สารที่สนใจเปลี่ยนไปอยู่ในรูปก๊าซ แพร่ผ่านช่องอากาศ (air gap) ที่ผิวหน้าของสารตัวอย่างแล้วค่อยซึมผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสตัวพาอีกกระแส ที่ทำหน้าที่นำสารที่สนใจเข้าสู่เครื่องตรวจวัดที่เหมาะสมต่อไป

การนำวิธีเพอร์วาพอเรชันไปใช้งานนี้ จะสามารถประยุกต์ใช้งานในด้านต่าง ๆ ได้ดังนี้

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

โดยสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ใน 2 ข้อหลังต้องมีคุณสมบัติระเหยกลายเป็นไอหรือสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นและในผลิตภัณฑ์ที่กลายเป็นไอได้ดี

จากคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้น จึงทำให้กระบวนการแยกสารแบบเพอร์วาพอเรชันสามารถแก้ปัญหาในการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สกรปรก เช่น ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม หรือตัวอย่างอาหารที่มีเมทริกซ์ปนเปื้อนมากได้เป็นอย่างดี

3. ตัวตรวจวัดที่ใช้ในระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส^[10]

สิ่งสำคัญอีกประการหนึ่งที่จะทำให้การวิเคราะห์แบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส 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. มีรูปแบบที่ไม่ซับซ้อน

โดยตัวตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสามารถอาศัยทั้งทางการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงทางเคมี โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่เหมาะสม ซึ่งในปัจจุบันมีเครื่องตรวจวัดหลายชนิดที่นำมาใช้งานได้กับระบบ FIA ได้ดังตาราง 1.1 สามารถทำให้วิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลากหลายชนิดแล้วยังสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างในปริมาณที่มีอยู่น้อย ๆ ได้อีกด้วย

ตาราง 1.1 ตัวตรวจวัดที่ใช้ระบบ FIA^[10]

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
11. IR/FTIR spectrometry	(PSA)
12. Raman spectroscopy	

โดยตัวตรวจวัดส่วนใหญ่ที่ใช้ทางสเปกโทรสโกปี และการตรวจวัดคุณสมบัติทางไฟฟ้า มักจะมีความจำเพาะที่ต่ำ และมีความไวต่ำ และมีสัญญาณรบกวนสูง และมีขนาดใหญ่ ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการพัฒนาใช้เทคนิคการตรวจวัดที่มีความจำเพาะสูง แม่นยำ และมีการตอบสนองที่

รวดเร็วและมีรูปแบบที่ไม่ซับซ้อนขึ้น โดยตัวตรวจวัดที่กำลังเป็นที่นิยมในปัจจุบัน คือเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์ ซึ่งสามารถวัดได้ถึงระบบไมโครกรัมหรือนาโนกรัมได้ดี

3.1 การตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์

เคมีลูมิเนสเซนซ์^[11] หมายถึง คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีโดยอาจเป็นรังสีอัลตราไวโอเลต วิสิเบิล หรือ รังสีอินฟราเรดก็ได้ การเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์นั้นจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานจากสภาวะกระตุ้นไปยังสภาวะพื้นของโมเลกุลหรือไอออน ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยปฏิกิริยาทางเคมีแล้วมีการปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งก็คล้ายกันกับกระบวนการทำงานของโฟโตลูมิเนสเซนซ์ (photoluminescence)

ความน่าสนใจในการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ ก็คือความสามารถในการสร้างโมเลกุลที่จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาได้โดยไม่จำเป็นต้องมีการกระตุ้นด้วยการฉายรังสีก่อน ซึ่งจะช่วยให้หลีกเลี่ยงปัญหาเกี่ยวกับการเปื้อนเบนจากแสงรบกวน รวมไปถึงปัญหาทางด้านกระบวนการกระตุ้นให้เกิดแสง และความไม่เสถียรของแหล่งกำเนิดแสงอีกด้วย

โดยทั่วไปการวิเคราะห์และการนำไปใช้ประโยชน์ของเคมีลูมิเนสเซนซ์ในตัวอย่างที่เป็นของเหลว 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”^[12] เคมีลูมิเนสเซนซ์แบบนี้ที่สำคัญ คือการเกิดออกซิเดชันของเปอร์แมงกาเนต (MnO_4^-) เป็น $\text{Mn}(\text{II})$

3.2 หลักการวิเคราะห์ของเคมีลูมิเนสเซนซ์^[13, 14]

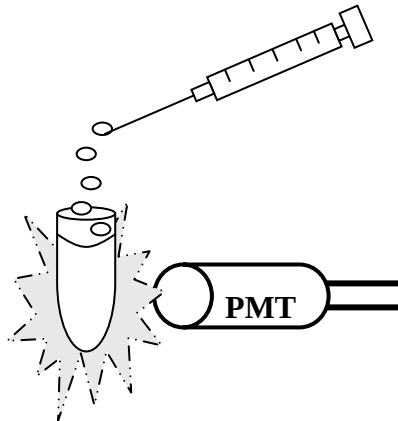
หลักการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยทั่วไปแล้วจะอาศัยการก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่สามารถปลดปล่อยพลังงานแสงที่มีความเข้มสูงออกมาอย่างต่อเนื่องในระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งจากปฏิกิริยานี้จะทำให้สามารถศึกษาหรือวัดค่าความเข้มของแสงที่ปลดปล่อยออกมาได้โดยอาศัยเครื่องมือหรือวิธีการง่าย ๆ ไม่ซับซ้อน โดยจะสามารถวัดค่าความเข้มของแสงได้ด้วยหลอดวัดแสง (photomultiplier tube; PMT) เพราะว่าแหล่งกำเนิดแสงจะอยู่ในสารเคมีที่ในการทำปฏิกิริยาอยู่ แล้วจึงไม่จำเป็นที่จะต้องใช้เครื่องแยกแสงความยาวคลื่นเดียว เพื่อมาแยกความแตกต่างของความยาวคลื่น เหมือนดังเช่นในกระบวนการตรวจวัดขั้นสูงที่อยู่ในเครื่องมือหลายชนิด โดยระบบ

การตรวจวัดจะมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อลดขั้นตอนลงให้น้อยที่สุด ไม่ว่าจะเป็นกระบวนการแบบใช้แรงงานคนหรือกระบวนการแบบอัตโนมัติ เช่น การเติมรีเอเจนต์ การรวบรวมและประมวลผลข้อมูล เป็นต้น

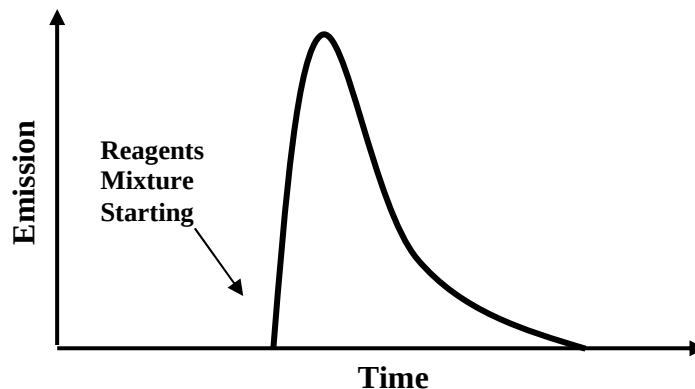
วิธีวัดค่าของแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ มีอยู่ 2 แบบ คือ

1) ทำการวัดค่าในสารละลายที่คงตัว (static solution)

จะมีการผสมแค่ส่วนของรีเอเจนต์ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาที่คายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์และตัวอย่างเท่านั้น จากนั้นจึงนำเอาตัวอย่างที่ได้ใส่ในคิวเวตต์ แล้วนำเข้าช่องตรวจวัดของลูมิโนมิเตอร์ (luminometer chamber) ที่มีส่วนของหลอด เป็นส่วนประกอบโดยใช้หลอดฉีดยาเป็นตัวฉีดสารเคมีที่ทำให้เกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์หรือไบโอลูมิเนสเซนซ์ลงไปผสมในคิวเวตต์โดยในรูป 1.8 และในรูป 1.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ในช่วงเวลาที่มีการทำปฏิกิริยา ความสูงของเส้นโค้งหรือพื้นที่ใต้เส้นโค้งเป็นผลมาจากความเข้มข้นของตัวอย่างในทางกลับกันส่วนของความกว้างหรือส่วนของเส้นโค้งก็จะสามารถให้เป็นตัวแปรของการวิเคราะห์ได้



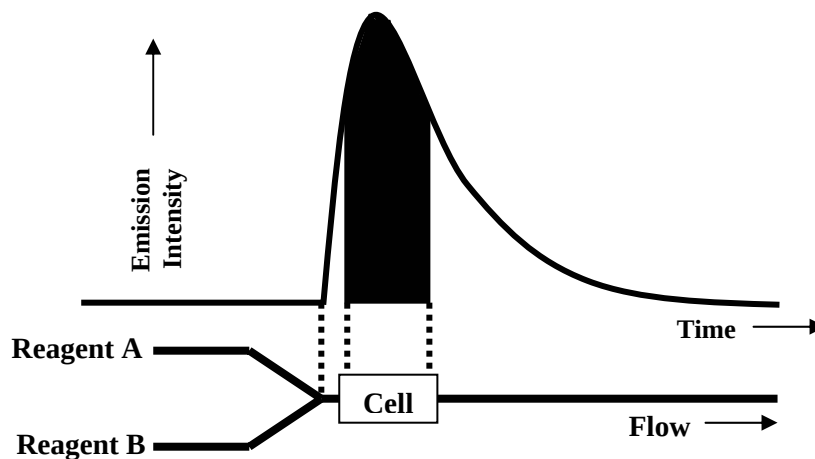
รูป 1.8 การคายเคมีลูมิเนสเซนซ์ในสารละลายที่คงตัว



รูป 1.9 ค่าความเข้มแสงของเคมีลูมิเนสเซนซ์เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลง^[13]

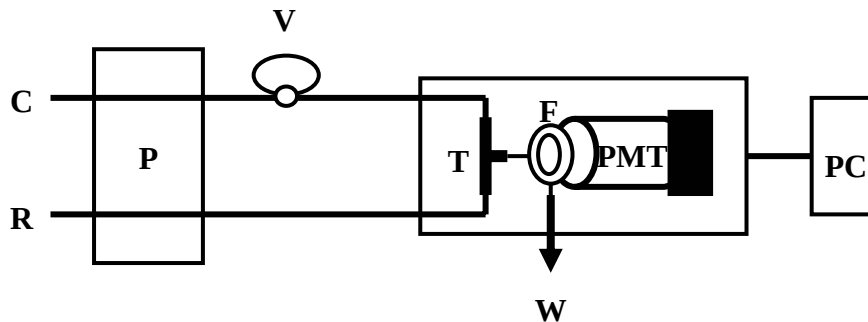
2) ทำการวัดค่าในตัวกลางที่อยู่ในระบบที่มีการไหลแบบต่อเนื่อง (continuous-flow stream หรือ segment-flow stream)

รีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์และสารตัวอย่างนั้น จะถูกส่งผ่านช่องทางที่แยกกันอยู่และจะไปผสมกันก่อนที่จะถึงส่วนของตัวตรวจวัด โดยจะมีการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่อง ดังรูป 1.10 และต้องการศึกษาตรงช่วงก่อนหน้าที่มีการผสม และหลังมีการผสมกัน เพื่อให้การทำปฏิกิริยากันของสารทั้งสองเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ โดยจะมีการนำเอาค่าความแตกต่างระหว่างก่อนทำปฏิกิริยาและหลังการเข้าทำปฏิกิริยารวมไปถึงอัตราการไหลมาใช้ในการคำนวณค่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาและรวมไปถึงค่าการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของแสงในช่วงเวลาทำปฏิกิริยาอีกด้วย



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

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



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

ในรูป 1.11 แสดงให้เห็นถึงการติดตั้งระบบ FIA พื้นฐานสำหรับการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยตัวอย่างจะถูกนำไปยังกระแสตัวพาโดยมีการปรับค่า pH ให้เหมาะสม จากนั้นจะให้รีเอเจนต์ผ่านไประดมกับตัวอย่างที่ข้อต่อตัว T ซึ่งจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์อย่างรวดเร็วระหว่างรีเอเจนต์และตัวอย่าง โดยที่รีเอเจนต์และตัวอย่างจะต้องมาผสมกันให้ใกล้เคียงบริเวณตรวจวัดค่า (flow through cell) ให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ในสภาวะที่มีระดับพลังงานจลน์อยู่ระดับพื้น จากนั้นจะทำการวัดค่าพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาโดยอาศัยหลอด PMT ที่เชื่อมต่อกับอุปกรณ์ในการรวบรวมข้อมูล ซึ่งจะสามารถวัดค่าของเคมีลูมิเนสเซนซ์ได้ภายในเวลาแค่เสี้ยววินาทีที่หลังจากมีการผสมกันของตัวอย่างกับรีเอเจนต์ ซึ่งตรงจุดนี้จะเป็นประโยชน์มากในการติดตามดูการเปลี่ยนแปลงของพลังงานจลน์ในการเกิดปฏิกิริยาและการปลดปล่อยพลังงานแสงที่จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว

ในส่วนของการ stop-flow mode นั้น เมื่อทำการผสมรีเอเจนต์และตัวอย่างแล้ว จะมีการกักสารทั้งสองที่กำลังทำปฏิกิริยากันอยู่ไว้ที่ส่วนเซลล์ ทำการวัดค่าเพื่อจะนำไปใช้ในการสร้างกราฟเส้นโค้งของค่าความเข้มแสงกับเวลา ข้อมูลทางจลนศาสตร์จะได้มาจากการวิเคราะห์ผลจากเส้นโค้งคือดูจากอัตราส่วนของความสูงของเส้นโค้งและช่วงลาดลงของเส้นโค้ง ค่าที่ได้มีความจำเพาะและละเอียดมากกว่าการดูความสูงของเส้นโค้งหรือพื้นที่ใต้เส้นโค้งเพียงอย่างเดียว

ถ้านำเอาการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์และวิธีโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส มาให้ร่วมกัน ก็เกิดผลดีเป็นอย่างมาก เนื่องมาจากความไวของการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีอยู่สูง รวมไปถึงความจำเพาะของวิธีโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส หรือแม้กระทั่งการใช้งานเคมีลูมิเนสเซนซ์กับวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวที่ใช้ซิลิกาเป็นตัวกลาง

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

สิ่งที่จำเป็นมากสำหรับการออกแบบเซลล์ก็คือ จะต้องให้ปฏิกิริยานั้นปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาให้มีค่าความเข้มข้นสูงสุดในขณะที่สารตัวอย่างนั้นอยู่หน้าตัวตรวจวัดค่า เพราะว่าการเกิดปฏิกิริยานั้นจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการใช้เซลล์ควรเลือกใช้ชนิดที่มีปริมาตรที่เหมาะสม จึงจะส่งผลให้ปฏิกิริยาขึ้นสู่จุดสูงสุดจนสามารถวัดค่าได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ซึ่งจะสามารถเพิ่มค่าสัญญาณของตัวอย่าง โดยการเพิ่มความยาวของเกลียวเซลล์ โดยทั่วไปแล้วค่าความยาวต่ำสุดของเกลียวจะดูจากอัตราการเกิดปฏิกิริยา และถ้าเพิ่มความยาวมากเกินไปก็ไม่ได้ส่งผลใด ๆ เลย อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการจำกัดการแพร่กระจายของตัวอย่างให้น้อยที่สุด จึงต้องพา ซึ่งในกรณีนี้ จะมีการเกิดปฏิกิริยาที่สม่ำเสมอจนสามารถยอมรับผลของประสิทธิภาพของปฏิกิริยาและการแพร่กระจายได้ และเมื่อทำการเปรียบเทียบเซลล์ในวิธีการวิเคราะห์แบบสเปกโทรเมตรี อื่น ๆ พบว่าเซลล์สำหรับเคมิลูมิเนสเซนซ์จะมีปริมาตรมากกว่ามาก เนื่องจากมีความจำเป็นที่จะต้องเก็บกักพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจากปฏิกิริยาได้มากกว่านั่นเอง

ตัวตรวจวัด (detectors) ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์แบบเคมิลูมิเนสเซนซ์คือ หลอดวัดแสงชนิด photomultiplier tubes ที่จะเป็นบริเวณตกกระทบของโฟตอนทำให้เกิดเป็นซึ่งจะปลดปล่อยอิเล็กตรอนออกมาเป็น cascade-amplified และแม้ว่า PMTs จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่า liquid scintillation counters (LSCs) แต่มีข้อดีตรงที่สามารถนำไปให้ได้หลากหลายกว่าเพราะว่าลักษณะการตอบสนองต่อสเปกตรัมไม่ได้มีรูปแบบเดียว PMT จะมีการตอบสนองอย่างจำเพาะกับช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ หรือช่วงความยาวคลื่นที่มีการปลดปล่อยพลังงานแสงออกมาและในกรณีที่ความเข้มแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์อยู่ในระดับต่ำ ค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์จะขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ PMT ที่เหมาะสมเพราะว่าการเลือก PMT ที่เหมาะสมจะช่วยให้มีค่า signal-to-noise ratio สูง ซึ่งในกรณีนี้จะขึ้นอยู่กับการประยุกต์ใช้และสภาวะที่เหมาะสมและในกรณีที่มีการปลดปล่อยเคมิลูมิเนสเซนซ์ออกมาในปริมาณมากนั้นสามารถใช้ตัวตรวจวัดที่เชื่อมต่อกับระบบบันทึกสัญญาณที่เป็น multimeter หรือ recorder หรือคอมพิวเตอร์ได้

3.3 ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์^[13]

ข้อดีของกระบวนการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ นอกจากจะมีความจำเพาะสูงแล้วยังพบว่าข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์น้อยมาก ซึ่งสามารถทำการวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ได้โดยอาศัยเครื่องมือง่าย ๆ เท่านั้น ซึ่งความสามารถเกี่ยวกับทางด้านข้อจำกัดในการวิเคราะห์ต่ำนั้นเป็นผลมาจากการที่ไม่ต้องอาศัยแหล่งกำเนิดแสง จากเหตุผลข้อนี้จะช่วยลดหรือยับยั้งการกระจายของ Raman และ Rayleigh และยังช่วยกรองสิ่งรบกวนจากแหล่งที่มาของแสงได้ ซึ่งจากผลเหล่านี้ทำให้สามารถใช้ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอด (photomultiplier voltage) ได้ในระดับสูงและยังมีส่วนทำให้เพิ่มอัตราส่วนความสัมพันธ์ระหว่าง signal-to-noise มากกว่ากระบวนการตรวจวัดแบบฟลูออโรเมตรีแบบทั่ว ๆ ไปอีกด้วย การวิเคราะห์ในลักษณะนี้จะวิเคราะห์ได้ในช่วง femto-mole และในบางกรณีอาจจะวิเคราะห์ได้ถึงส่วนของ alto-mole region ดังนั้น จึงถือได้ว่าดีกว่าการวิเคราะห์โดยทั่วไปมาก ซึ่งตามความเป็นจริงแล้วจะสามารถวิเคราะห์ได้ที่ขนาดโมเลกุลประมาณ โมเลกุล ซึ่งเล็กพอ ๆ กับเอนไซม์เลยทีเดียวและมีช่วงของความเป็นเส้นตรงที่กว้าง

3.4 FIA-chemiluminescence ในอนาคต^[14]

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

ในปัจจุบันนี้การวิเคราะห์แบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ก็สามารถพิสูจน์ให้เห็นแล้วว่ามี ความจำเพาะสูงต่อตัวอย่างหลายชนิด และไม่จำเป็นต้องทำการแยกตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์อีกด้วย ซึ่งตรงจุดนี้พบว่าการวิเคราะห์ที่มีข้อจำกัดของการตรวจวัดต่ำและจะมีความจำเพาะสูง และเมื่อนำประสิทธิภาพของการตรวจวัดที่ข้อจำกัดต่ำนั้นสามารถนำมารวมกันกับเทคนิคโครมาโท- กราฟิของเหลว หรือการแยกแบบคาปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส ก่อให้เกิดเป็นตัวตรวจวัดในอุดมคติได้

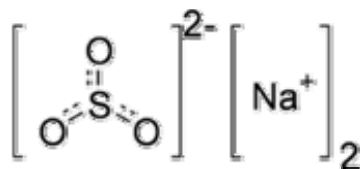
ปัจจุบันการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับเคมีลูมิเนสเซนซ์นั้นมักจะใช้อุปกรณ์ที่ทำขึ้นเองเป็นส่วน ใหญ่จึงยากที่จะทำการเปรียบเทียบค่าหรือวิธีการวิเคราะห์ เพราะว่ามีการใช้อุปกรณ์ที่หลากหลาย

และยิ่งไปกว่านั้น ยังไม่มีเคมีลูมิเนสเซนซ์รีเอเจนต์ที่จะใช้เป็นตัวมาตรฐานสากล ดังนั้นควรจะมีการศึกษาและเผยแพร่เครื่องมือและวิธีการในการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพ และราคาไม่แพง เพื่อนำไปใช้ในการอ้างอิงให้เป็นสากล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาด้านการแพทย์ รวมไปถึงด้านสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

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

4. ซัลไฟต์^[15]

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



รูป 1.12 โครงสร้างของโซเดียมซัลไฟต์^[16]

4.1 ข้อมูลทั่วไปของซัลไฟต์^[16]

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

4.2 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (Physical and chemical properties)^[17]

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

4.3 ความคงตัวและการเกิดปฏิกิริยา (Stability and reaction)^[18]

สิ่งที่ควรหลีกเลี่ยง คือ สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง และสารที่ควรหลีกเลี่ยง คือ สารที่ออกซิไดซ์อย่างแรง จะทำให้เกิดปฏิกิริยาคายความร้อนอย่างรุนแรง โดยกรดจะทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และสลายตัวของซัลไฟต์ คือ ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เป็นก๊าซพิษและมีฤทธิ์กัดกร่อน โซเดียมซัลไฟต์ที่เหลือ สามารถติดไฟได้ มีความเสี่ยงต่อการเกิดอันตรายเนื่องจากไฟไหม้ ทำให้ผิวหนัง และเนื้อเยื่อเกิดอาการระคายเคืองอย่างรุนแรง

4.4 อันตรายต่อสุขภาพ^[18]

สารซัลไฟต์ที่มีต่อทางการหายใจ โดยเมื่อหายใจเอาฝุ่นเข้าไป อาจทำให้ระบบทางเดินหายใจเกิดการระคายเคือง และอาจเสียชีวิตได้ จากก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และหากสัมผัสทางผิวหนังจะทำให้ผิวหนังระคายเคืองถ้าสัมผัสเป็นเวลานาน ส่วนการกินหรือกลืนเข้าไป

ทำให้ระบบการย่อยเกิดการ ระคายเคือง ถ้าผู้ป่วยเป็นโรคหอบหืดจะเกิดการอักเสบอย่างรุนแรงถ้ากลืนหรือกินเข้าไปปริมาณมาก ๆ อาจจะทำให้เกิด การเสียดท้องและท้องร่วงอย่างรุนแรง เมื่อสัมผัสถูกตา ทำให้เกิดการระคายเคืองและแผลไหม้ สารซัลไฟต์ผลกระทบต่อพันธุกรรม และมีความเป็นพิษระดับปานกลาง

4.5 บทบาทสารซัลไฟต์ในอาหาร^[19]

สารซัลไฟต์มีคุณสมบัติสำคัญหลายประการในการถนอมอาหาร คือ

1. ป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีผลต่อจุลินทรีย์ตามลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ gram negative bacteria, gram positive bacteria ราและยีสต์ ประสิทธิภาพจะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย ยิ่งค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ ประสิทธิภาพยิ่งสูงและค่าที่เป็นความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ รา และต้องให้ปริมาณมากถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จึงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ ส่วนไบซัลไฟต์จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่ากรดซัลฟิวรัส

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 อาหารที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตที่ต้องใช้ความร้อนจะเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีระหว่างน้ำตาลกับโปรตีนหรือกรดอะมิโนได้สารที่มีสีเกิดขึ้น หรือเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลเนื่องจากความร้อนทำให้โมเลกุลของน้ำตาลสูญเสียแล้ว polymerise ได้สาร hydroxymethyl furfural ซึ่งมีสีน้ำตาล

รวมทั้งปฏิกิริยาการสลายตัวของวิตามินซี (ascorbic acid) สารซัลไฟต์ที่เติมลงไปจะทำปฏิกิริยากับโปรตีน หรือน้ำตาล หรือวิตามินซี ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสี

4. เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเป็นตัวรีดิวซ์ ด้วยคุณสมบัติการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระ และ ตัวรีดิวซ์ จึงมีบทบาทป้องกันการสูญเสียวิตามินซีในระหว่างการแปรรูปและการเก็บผลิตภัณฑ์ของผักและผลไม้ ป้องกันการเหม็นหืนของไขมัน น้ำมันระเหยและคาโรทีนอยด์ ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่น รส ที่ผิดไป และใช้เป็นสารฟอกสี พวคน้ำตาลและแป้ง

4.6 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารซัลไฟต์ในอาหาร ^[20]

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

2. กรรมวิธีการผลิต อาหารที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตที่ต้องใช้ความร้อนจะทำให้ซัลไฟต์บางส่วนสลายตัวเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ระเหยไป หรือถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟตและบางส่วนทำปฏิกิริยากับสารอาหาร ยิ่งขั้นตอนการผลิตมีมากหรือมีอุณหภูมิสูงปริมาณตกค้างในอาหารก็จะยิ่งลดน้อยลง

3. ระยะเวลาและอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษา อาหารที่เติมสารซัลไฟต์ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานและเก็บไว้ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมเช่น อุณหภูมิหรืออาหารสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศจะทำให้สารซัลไฟต์สลายไปในรูปของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟต ดังนั้น ยิ่งเก็บไว้นานปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ตกค้างอยู่ในอาหารยิ่งลดลง

4.7 ชนิดของอาหารที่ใช้สารซัลไฟต์^[20]

สารซัลไฟต์ใช้ในการถนอมอาหารหลายชนิดดังนี้

1. ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้

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

ผักและผลไม้สด เพื่อควบคุมการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ถนอมวิตามินซี และป้องกันการเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์

ผลไม้ถนอม เช่น ผลไม้ดอง แครอทและแย้ม จะป้องกันการเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้วิตามินซีคงอยู่ได้เป็นเวลากหลายเดือน โดยปริมาณของซัลไฟต์ลดลงเรื่อยๆ

2. เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ สารซัลไฟต์มีความสำคัญในการทำไวน์หลายขั้นตอน ตั้งแต่การใช้สารซัลไฟต์ในรูปของสารละลายทำความสะอาดเครื่องมืออุปกรณ์ การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในผลไมีก่อนการหมักเพื่อให้ได้ยีสต์ที่บริสุทธิ์เหมาะในการทำไวน์ในระหว่างการหมัก สารซัลไฟต์จะเป็นตัวป้องกันการเปลี่ยนแปลงหลังการหมักเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ ในระหว่างการหมักปริมาณซัลไฟต์ที่เหมาะสมคือ 50-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับคุณภาพขององุ่นอุณหภูมิ ความเข้มข้นของน้ำตาลและระดับของการปนเปื้อน ในระหว่างการเก็บไวน์หลังการหมัก ระดับของสารซัลไฟต์ควรมีอยู่ระหว่าง 50-75 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. น้ำผลไม้และเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ ใช้สารซัลไฟต์เพื่อป้องกันการเปลี่ยนสีที่ไม่ได้เกิดจากเอนไซม์ ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และเป็นวัตถุกันหืน ปริมาณของสารซัลไฟต์ที่ใช้ขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ชนิดของสารซัลไฟต์องค์ประกอบของน้ำผลไม้ ไบซัลไฟต์และเมตาซัลไฟต์ที่ใช้ประสิทธิผลในการรักษาน้ำผลไม้ตระกูลส้มได้ดีกว่ากรดซัลฟิวรัส โดยปกติปริมาณสารซัลไฟต์ที่ใช้ประมาณ 350-600 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือมากกว่าทั้งนี้เพราะว่าสารซัลไฟต์ที่เติมจะให้ซัลไฟต์อิสระเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

4. ผลิตภัณฑ์เนื้อ สารซัลไฟต์สามารถหยุดการเจริญของแบคทีเรียเนื้อสด และผลิตภัณฑ์เนื้อได้ ขณะเดียวกันยังทำให้สีของเนื้อคงตัวระยะหนึ่งด้วย แต่ในประเทศสหรัฐอเมริกาห้ามใช้สารซัลไฟต์ในเนื้อสด และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์และเนื้อปลา เนื่องจากเป็นแหล่งของวิตามินบี 1

แต่มีการใช้สารซัลไฟต์ในกึ่งเพื่อป้องกันการเกิดจุดดำ ในบางประเทศอนุญาตให้ใช้สารซัลไฟต์ได้ในบางผลิตภัณฑ์ ส่วนประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศกลุ่มสหภาพยุโรประบุว่าต้องแสดงปริมาณของซัลไฟต์ในฉลาดผลิตภัณฑ์อาหารที่มีปริมาณซัลไฟต์เกินกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารหมักดองและเครื่องดื่ม

4.8 ปริมาณของสารซัลไฟต์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร^[20]

ปริมาณของซัลไฟต์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของอาหารและแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ เช่น

ประเทศญี่ปุ่น อนุญาตให้ใส่สารซัลไฟต์ในอาหาร ดังนี้

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

อนึ่งประเทศญี่ปุ่นได้อนุญาตให้ใช้สารโซเดียมไฮโดรซัลไฟต์ ในอาหารได้ด้วย

ประเทศนอร์เวย์ สวีเดน อนุญาตให้ใส่สารซัลไฟต์ในอาหาร ดังนี้

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

ประเทศไทยอนุญาตให้ใช้สารซัลไฟต์เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ดังนี้

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

ส่วนอาหารประเภทหมักดอง เช่น หน่อไม้ดอง กระเทียมแช่อิ่ม ชিংหั่นฝอย ไม่อนุญาตให้ใส่^[21]

4.9 ความเป็นพิษของสารซัลไฟต์^[20]

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

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

5. วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์

ปัจจุบันมีวิธีมาตรฐาน (AOAC Method) ในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ และได้รับความนิยมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ในอาหาร และผลิตภัณฑ์อาหาร ดังเช่น

1) Iodometric method^[22]

การวิเคราะห์ด้วยวิธีการไทเทรตโดยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ในตัวอย่างเป็นของเหลวสามารถวิเคราะห์ปริมาณได้โดยการไทเทรตกับสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน โดยบีบตัวอย่างมาในปริมาตรที่พอประมาณแล้วเติม กรดซัลฟิวริก 10 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5 นาที เมื่อครบแล้วให้เติมสารละลายอินดิเคเตอร์น้ำแบ่งลงใน จากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานไอโอดีน สังเกตการณ์เปลี่ยนสี (ไม่มีสีเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินม่วง) แล้วคำนวณหาปริมาณของซัลเฟอร์ไดออกไซด์จากปริมาณของไอโอดีนที่ใช้ไปทั้งหมด

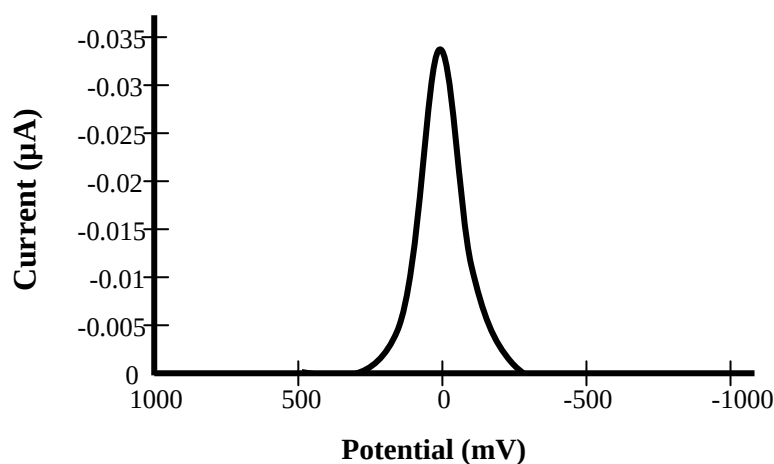
2) Differential Pulse Polarographic method^[22]

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

แล้วทำการผ่านก๊าซไนโตรเจนผ่านยังตัวอย่าง เพื่อไล่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ลงในสารละลายอเล็กโทรไลต์ (ammonium acetate ใน ethanol) แล้วนำไปวัดปริมาณกระแสจากการแพร่ของสารละลายโดยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์โวลตาโรกราฟี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานปรอทหยด เพื่อนำค่าของกระแสที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น เพื่อหาความเข้มข้นของซัลไฟต์ในอาหารตัวอย่างได้ โดยกระบวนการวิเคราะห์นี้จะสามารถประยุกต์ใช้ที่ความเข้มข้นที่มากกว่า 10 ไมโครกรัมของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดต่อจำนวนตัวอย่าง (กรัม) สภาวะการทำงานของเครื่องโวลตาโรกราฟี และตัวอย่างโวลตาโรแกรมที่เกิดขึ้น แสดงดังตาราง 1.2 และรูป 1.13

ตาราง 1.2 สภาวะการทำงานของเครื่องมือและดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์โวลตาโรกราฟี^[22]

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 มิลลิโวลต์ต่อวินาที
Differential pulse range	10 ไมโครแอมแปร์
ขั้วไฟฟ้าทำงาน(working electrode)	Dropping Hg electrode
ขั้วไฟฟ้าช่วย(auxiliary electrode)	Pt wire counter electrode
ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง(reference electrode)	Ag/Ag reference electrode



รูป 1.13 ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวลตาโรแกรม^[22]

3) Optimized Monier-Williams method^[22]

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

4) Flow Injection analysis method^[22]

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ ได้เริ่มทำการศึกษาเมื่อ ค.ศ. 1990 มีหลักการคือนำตัวอย่างที่มีปริมาณซัลไฟต์ทำปฏิกิริยากับคาร์มาไทดัทกรีน โดยขั้นตอนระบบโพลินเจคชันนั้น ขั้นตอนแรกสารละลายตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วทำปฏิกิริยากับกรด ทำให้เกิดการออกซิไดซ์เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะแพร่ผ่านหน่วย gas diffusion cell ซึ่งจะทำให้การผสมกับสารละลาย คาร์มาไทดัทกรีนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีของสารละลาย คาร์มาไทดัทกรีนขึ้น ซึ่งสามารถทำปริมาณความแตกต่างของสีซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของปริมาณซัลไฟต์ แล้วตรวจวัดด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ได้ วิธีการวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

5) Ion Exclusion Chromatographic method^[22]

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

สำหรับวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในงานวิจัยนี้จะได้เลือกใช้วิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคฟิออเรนเชียล ฟัลส์โพลาริกราฟี ซึ่งสามารถวิเคราะห์หาปริมาณของสารตัวอย่างได้ในปริมาณที่น้อยกว่า มีความไวและความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่อยู่ในรูปโมเลกุลที่สามารถละลายในตัวทำละลายได้ด้วย

6. สรุปสาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากการติดตามตรวจสอบปริมาณของซัลไฟด์ทั้งในผลิตภัณฑ์อาหารหรือแม้แต่ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมต่างๆ จะพบว่าได้มีรายงานเกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ต่าง ๆ ให้เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารฟอกขาวประเภทซัลไฟด์ ในสารตัวอย่างทางอาหารและจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีเมทริกซ์ต่าง ๆ กัน ซึ่งกระบวนการวิเคราะห์นั้นพบว่ามีความหลากหลายเทคนิคในการศึกษาสารฟอกขาวประเภทซัลไฟด์ เช่น เทคนิคไอโอโดเมตริกไทเทรชัน สเปกโตรโฟโตเมตริก^[23] แอมแปร์โรเมตริก^[24-25] โฟลาริกราฟี^[26] ไอออนโครมาโทกราฟี^[27] แคปิลลารีอีเล็กโทรโฟเรซิส^[28-29] จลน์ศาสตร์^[30] และโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส^[31]

โดยเทคนิคทางโฟลอินเจกชันในการวิเคราะห์หาซัลไฟด์สามารถเลือกใช้ตัวตรวจวัดต่าง ๆ เช่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คอนดักโทมิเตอร์ และแอมแปร์โรมิเตอร์ ฯลฯ ตามความเหมาะสม แต่การใช้เครื่องมือตรวจวัดที่กล่าวมาข้างต้น มีสภาพไวค่อนข้างต่ำจึงมีผู้ประยุกต์ใช้เครื่องมือตรวจวัดชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์มาใช้ในการวิเคราะห์ซัลไฟด์ร่วมกับเทคนิคโฟลอินเจกชัน

จากการสืบค้นรายงานในการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยเทคนิคทางโฟลอินเจกชัน โดยมีเครื่องตรวจวัดชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์พบว่าสามารถหาปริมาณได้ในระดับต่ำและมีค่าสัมประสิทธิ์การเบี่ยงเบนที่มีประสิทธิภาพสูง โดยสรุประบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ชนิดต่างๆ ที่มีรายงานมาแล้วมีดังแสดงในตาราง 1.3

ตาราง 1.3 ตัวอย่างการศึกษาหาปริมาณของสารซัลไฟต์ โดยเทคนิคทางฟลูออโรเมตริกเคมีลูมิเนสเซนส์

ตัวอย่างที่ ศึกษา	สารที่ใช้ทำปฏิกิริยา	ระดับความเข้มข้น ที่ วัดได้ (โมลาร์)	ขีดต่ำสุดของ การวิเคราะห์ (โมลาร์)	ค่าสัมประสิทธิ์การ เบี่ยงเบน	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)	32
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)	33
น้ำตาล	$\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	⁵	4.1×10^{-8}	4.3% (n = 9)	34
เบียร์ และไวน์	Riboflavin phosphate กับ KMnO_4	1.5×10^{-7} - 1.0×10^{-5}	0.06 mg l^{-1}	3.7% (n=11)	35
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์	Tris(1,10-Phenanthroline)	⁴	7×10^{-10}	2.3% (n = 9)	36
ออกไซด์ใน อากาศ	Ruthenium- KIO_4	0.1 - 100 mg l^{-1} 1.0×10^{-7} - 1.5×10^{-4}	0.03 mg l^{-1}	5.0% (n = 11)	37
เบียร์ และไวน์	Auto-oxidation sensitized by rhodamine 6G	$0.05 - 10 \text{ mg l}^{-1}$			

นอกจากนี้ปัจจุบันยังได้มีรายงานเกี่ยวกับการพัฒนาบางชนิดเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online-separation) เกิดขึ้นเนื่องจากสารตัวอย่างที่มีสารปนเปื้อนภายในตัวอย่างมาก ทำให้รบกวนการวิเคราะห์ จึงมีความพยายามในการพัฒนาการแยกแบบออนไลน์ขึ้น เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่มีอิทธิพลต่อการทดลอง และรบกวนการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สนใจเพื่อให้ถูกกำจัดแยกออกไป หรือทำปฏิกิริยากับสารละลายทำให้สารตัวอย่างเปลี่ยนโครงสร้าง โดยเทคนิคที่สนใจพัฒนาขึ้นคือ เทคนิคก๊าซดัดฟิวชันโฟลอะนาไลซิส (GD FI) และเพอร์วาพอเรชันโฟลอะนาไลซิส (PFI) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่นำมาใช้เพื่อแยกสารที่สนใจจากสารละลายตัวอย่างที่เกิดการปนเปื้อน โดยในเทคนิคทางเพอร์วาพอเรชันจะอาศัยการทำปฏิกิริยาของซิลไฟด์กับกรดให้ได้ก๊าซซิลเฟอร์ไดออกไซด์ขึ้นทางด้านบนของสารละลายที่ระเหยสู่ช่องอากาศเหนือสารละลายก่อนที่จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสน้ำต่อไป ส่วนเทคนิคทางก๊าซดัดฟิวชันจะอาศัยการแยกสิ่งปนเปื้อนผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยสารปนเปื้อนไม่สามารถที่จะเข้าสู่ระบบได้ เนื่องจากผลึกที่เกิดขึ้นจะมีเฉพาะสารตัวอย่างที่สนใจสามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าสู่กระแสน้ำได้ โดยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์นั้นจะมีวิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์ที่พัฒนาเพิ่มเติมขึ้นจากวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์ สารปนเปื้อนในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม ดังแสดงในตาราง 1.4

ในงานวิจัยนี้จะนำข้อดีของเคมีลูมิเนสเซนซ์ ซึ่งมีสภาพไวสูงและมีความจำเพาะที่ดีมาใช้เป็นตัวตรวจวัดในเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโฟลอะนาไลซิส เพื่อให้เกิดวิธีการวิเคราะห์ซิลไฟด์แบบใหม่ขึ้น ซึ่งจะมีประสิทธิภาพสูง โดยไม่ต้องต้องมีการเตรียมตัวอย่างและใช้สารเคมีที่มีราคาต่ำ และความเป็นพิษต่ำ สำหรับการเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ตาราง 1.4 ตัวอย่างการวิเคราะห์หัลไฟต์ด้วยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์

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

7. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อออกแบบและสร้างเครื่องมือราคาถูกลงแต่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารฟอกขาวบางชนิดในกลุ่มซัลไฟต์ ด้วยเทคนิคการแยกแบบออนไลน์ (online separation) ชนิดเพอวาพอร์เรนซ์ ร่วมกับวิธีโฟลอินเจคชันอะนาไลซิส ที่มีส่วนตรวจวัดที่มีสภาพไวสูงชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์
2. เพื่อนำเอาเครื่องมือและเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้กับการวิธีวิเคราะห์สารปนเปื้อนในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม โดยเน้นในการวิเคราะห์สารฟอกขาวในกลุ่มซัลไฟต์
3. เพื่อศึกษาและสร้างองค์ความรู้ใหม่ โดยเน้นในด้านเคมีวิเคราะห์วิเคราะห์สมัยใหม่ ที่ใช้เครื่องมือราคาถูกลงและสารเคมีน้อยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 สารเคมี

ในการศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์สัฟไฟต์ด้วยระบบการแยกแบบออนไลน์ ด้วยวิธีเพอร์วาพอร์ชันโฟลอินเจกชันโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส มีการใช้สารเคมีที่เกี่ยวข้องดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	เกรด	ประเทศ
1. Acetic acid ($C_2H_4O_2$)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
2. Ammonium acetate (CH_3COONH_4)	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)			
8. Fluorescein ($C_{20}H_{14}O_5$)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
9. Glucose ($C_6H_{12}O_6$)	Merck	Analytical Reagent	Germany
10. Hydrochloric acid (HCl)	May & Baker Merck	Analytical Reagent A.C.S. Reagent	UK 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

ตาราง 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	เกรด	ประเทศ
13. Magnesium sulphate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
14. Manganese (II) sulphate ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
15. Nikel sulphate ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	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
19. Potassium iodide (KI)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
20. Potassium permanganate (KMnO_4)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
21. Potassium sulphate (K_2SO_4)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
22. Rhodamine B ($\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_3$)	Fluka	Analytical Reagent	UK
23. Sodium acetate ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	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_2SO_4)	Fisher scientific	Analytical Reagent	UK
28. Sucrose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	May & Baker	Analytical Reagent	UK

ตาราง 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	เกรด	ประเทศ
29. Sulphuric acid (H_2SO_4)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
30. Zinc sulphate ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

ในการศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์สัณฐานไฟต์ด้วยระบบการแยกแบบออนไลน์ ด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน วิธีก๊าซดีฟิวชันโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส และวิธีดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารोगราฟี มีการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องดังตาราง 2.2

ตาราง 2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

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	Hong Kong
4. Two channel peristaltic pump	Gilson Minipuls 3	France
5. pH meter	Metrohm รุ่น 827 pH lab	Switzerland
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 Metrohm รุ่น 791 VA	Switzerland Switzerland
12. Glassy carbon electrode	Metrohm รุ่น 6.0728.020	Switzerland
13. Ag/AgCl reference electrode	Metrohm รุ่น 6.2308.020	Switzerland
14. 3M KCl Electrolyte solution	Metrohm	Switzerland
15. Hg (DME) electrode	Metrohm รุ่น 6.1226.030	Switzerland
16. Pt rod counter electrode	Metrohm รุ่น 6.1204.120	Switzerland

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมสารละลาย

2.3.1.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีเพอร์วาพอเรชัน โพลินเจคชันและก๊าซดิฟฟิวชันโพลินเจคชัน

1. การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์

ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 97 % มา 109.9 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2. การเตรียมสารละลายกรดตัวพาซัลฟิวริก (donor stream solution)

การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นสารละลายในกระแสดำให้ในวิธีเพอร์วาพอเรชันโพลินเจคชัน โดยใช้ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ทำได้โดยปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 100.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นสารละลายในกระแสดำให้ในวิธีก๊าซดิฟฟิวชันโพลินเจคชันจะใช้ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 50.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

3. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 1.0×10^{-2} โมลาร์

ชั่งโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.1587 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร หุ้มด้วยกระดาษฟอลซ์

4. การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2 โมลาร์

ตวงกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 85 % มา 197.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

5. การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 0.02 โมลาร์

ปิเปตกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 10.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

6. การเตรียมสารละลายโรดามีน บี เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งโรดามีน บี 0.01 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร หุ้มด้วยกระดาษฟอลซ์ เก็บไว้ในที่มืด

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

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

8. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 8.0×10^{-5} โมลาร์ที่อยู่ในสภาพกรดสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (reagent stream solution)

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

9. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งไดโซเดียมซัลไฟต์ 0.1589 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

10. การเตรียมสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 1 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

11. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

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

2.3.1.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวนที่มีผลต่อการวัดปริมาณซัลไฟต์โดยวิธี เพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน K^+ 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์โพแทสเซียมซัลเฟตมา 22.5099 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Na^+ 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์โซเดียมซัลเฟตมา 15.5949 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์แคลเซียมคลอไรด์มา 18.7525 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

4. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Co^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์แคลเซียมซัลเฟตมา 24.0627 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

5. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Fe^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์เหล็กซัลเฟตมา 25.1417 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

6. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Mg^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์แมกนีเซียมซัลเฟตมา 51.7176 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

7. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Mn^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์แมงกานีสซัลเฟตมา 15.6895 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

8. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์นิกเกิลซัลเฟตมา 23.3255 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

9. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Fe^{3+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์เหล็กไนเตรตมา 36.9130 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

10. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Cl^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงค์ไคลด์คลอไรด์มา 8.3141 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

11. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน I^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงค์โพแทสเซียมไอโอไดด์มา 6.6010 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

12. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน CH_3COO^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงค์ไคลด์อะซิเตตมา 11.5901 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

13. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน SO_4^{2-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงค์ไคลด์ซัลเฟตมา 7.4726 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

14. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน S^{2-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงค์ไคลด์ซัลไฟด์มา 22.4179 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

15. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน PO_4^{3-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงค์โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตมา 7.2323 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

16. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงค์กลูโคสมา 5.0000 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

17. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซูโครส 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงค์ซูโครสมา 5.0000 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

18. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตเอทานอลมา 6.33 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

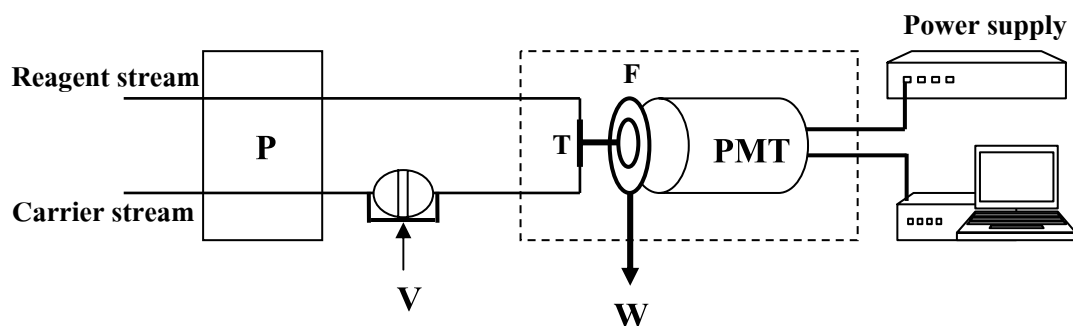
19. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชั่งแอสคอร์บิกมา 5.0050 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัด
ปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.3.1.3 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลาริกราฟี (AOAC Method)^[22]

1. การเตรียมสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดยปริมาตร
ตวงสารละลายเอทานอล มา 50 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร
2. การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 9.19 โมลาร์
ตวงสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 18.39 โมลาร์มา 125 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับ
ปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีน้ำปราศจากไอออนอยู่เล็กน้อย เติมน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีด
วัดปริมาตร
3. การเตรียมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์
ชั่งแอมโมเนียมอะซิเตต 79.50 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลง
ในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 57 มิลลิลิตร ปรับ
ปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร
4. การเตรียมสารละลายอิเล็กโตรไลต์ แทปปีง (electrolyte trapping)
เจือจางสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์ จากข้อ 3 โดยตรง
สารละลายมา 125 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน
จนถึงขีดวัดปริมาตร
5. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร
ชั่งไดโซเดียมซัลไฟต์ 0.3972 กรัม ละลายด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดย
ปริมาตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น
5% โดยปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร
6. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 5.0, 15.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
นำสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร ต่างๆ เทลง
ในกระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดยปริมาตร
จนถึงขีดวัดปริมาตร

2.3.2 การศึกษาความเป็นไปได้ของระบบการตรวจแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน

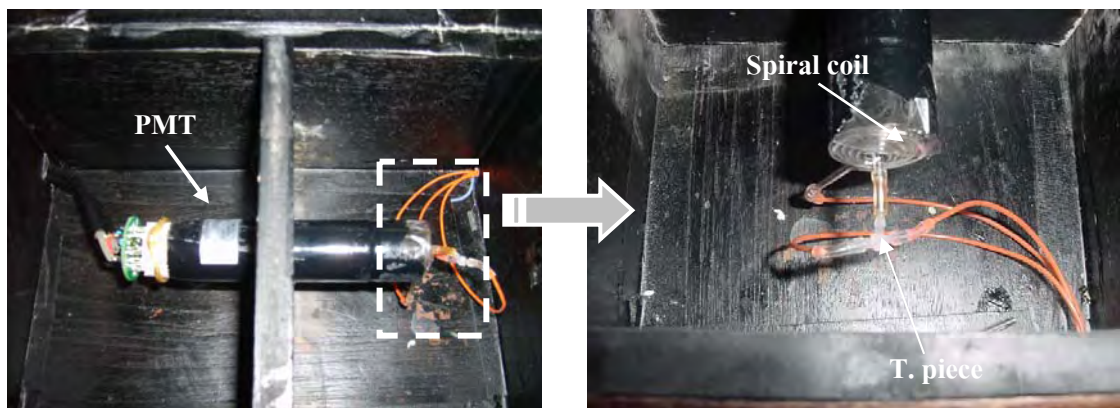
ในการศึกษาความเป็นไปได้ของการวิเคราะห์ด้วยระบบการตรวจแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน ได้อาศัยพื้นฐานจากบทความวิจัยของ Adcock และคณะ^[45] พบว่าสารละลายในกลุ่มซัลไฟต์ ซัลไฟด์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ มักจะสามารถเกิดปรากฏการณ์เคมีลูมิเนสเซนซ์ได้ดีกับสารประกอบโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสภาวะที่เป็นกรดโดยมีสารลดแรงตึงผิวประเภทสารประกอบโพลีฟอสเฟต (เช่น โซเดียมพอร์ฟอสเฟต โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต กรดไฟโรฟอสเฟต กรดเตตระฟอสเฟต และกรดพลีฟอสฟอริก รวมถึงการใช้สารประกอบฟูลออเรสเซนต์ เช่น ไรโบฟลาวิน (riboflavin) และกรดไพปีมิติก (pipemidic acid) มาช่วยในการเพิ่มความสามารถในการคายแสงขึ้นเมื่อสารประกอบในกลุ่มซัลเฟอร์ทำปฏิกิริยากับสารประกอบโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสภาวะที่เป็นกรด เพื่อพัฒนาให้การวิเคราะห์ซัลไฟต์มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น จึงได้ทดลองใช้ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสภาวะกรดเป็นระบบตรวจวัดชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์ขึ้นร่วมกับวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน ดังแสดงในรูป 3.1 และรูป 3.2 โดยปฏิกิริยาการคายแสงที่เกิดขึ้น ณ บริเวณข้อต่อรูปตัว T จะไหลเข้าสู่ spiral coil flow cell ที่วางไว้อยู่หน้าหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (PMT) ภายในกล่องลูมิโนมิเตอร์ (luminometer) ที่สร้างขึ้นอย่างรวดเร็ว เพื่อว่าการเรืองแสงของ Mn(II) ที่เกิดจากการเกิดรีดักชันของเปอร์แมงกาเนตไอออนในสภาวะที่เป็นกรด



รูป 2.1 แผนผังการจัดวางเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน;

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 μl 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 โดยการจัดวางอุปกรณ์ภายในกล่องได้แสดงดังรูป 2.2



รูป 2.2 การจัดวางอุปกรณ์วัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ ภายในกล่องลูมิโนมิเตอร์

ซึ่งการตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์โดยหลอดวัดแสงโฟโตมัลติพลายเออร์จะมีการส่งสัญญาณไปยังเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยผ่านเครื่องแปลงสัญญาณอะนาล็อกเป็นดิจิตอล ผ่านช่องสัญญาณ RS-232 ของเครื่องดิจิตอลมิเตอร์เข้าสู่โปรแกรมบันทึกสัญญาณ UT60D เพื่อวัดความสูงของพีคสัญญาณ

ในเบื้องต้นของการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรชนิดต่าง ๆ ทั้งตัวแปรทางกายภาพและทางเคมีของระบบ CL-FI เพื่อเป็นแนวทางในการใช้เป็นเครื่องมือตรวจวัดสำหรับระบบโฟลอินเจคชัน ที่มีระบบการแยกระบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอเรชันโฟล-อินเจคชัน และก๊าซดีฟิวชันโฟลอินเจคชัน ต่อไป

2.3.2.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธี CL-FI

1. การศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสม

การศึกษาชนิดของกรดที่ใช้เป็นตัวกลางในการเตรียมสารละลายของกระแสตัวพาที่มีสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และกระแสรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 5×10^{-5} โมลาร์ โดยศึกษาชนิดของกรดต่างๆ เพื่อใช้เป็น

ตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์โดยเลือก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก กรดฟอสฟอริก และกรดซัลฟิวริก ที่กำหนดความเข้มข้นที่ 0.08 โมลาร์ แล้วทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดขึ้นภายในระบบ CL-FI ที่เกิดขึ้นโดยทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้งแล้วนำค่าความสูงของพีคที่ได้ ไปเปรียบเทียบกับระหว่างกรดแต่ละชนิดที่ใช้เพื่อหาชนิดของกรดที่เหมาะสมที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์

2. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

หลังจากเลือกชนิดของกรดที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวกลางในระบบ CL-FI ได้จากข้อ 1 แล้วได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.12 โมลาร์ สำหรับการเตรียมสารละลายไฮเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก และสารละลายรีเอเจนต์สำหรับระบบ CL-FI จากนั้นทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของระบบ CL-FI ที่ได้ เพื่อนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริกที่จะนำไปใช้ในการเตรียมสารละลายตัวพา และสารละลายรีเอเจนต์ต่อไป

3. การศึกษาหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์

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

4. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ในสารละลายรีเอเจนต์

ในการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสรีเอเจนต์ที่ประกอบด้วยสารละลายตัวกลางไฮเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตและกรดฟอสฟอริก 0.02 โมลาร์ ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-5} - 1×10^{-3} โมลาร์ ได้เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ไปใช้ศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น

2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเข้าไปในระบบ CL-FI ที่มีปริมาณโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้นต่างๆ โดยจะนำค่าการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ในกระแสรีเอเจนต์ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่กระแสรีเอเจนต์ต่อไป

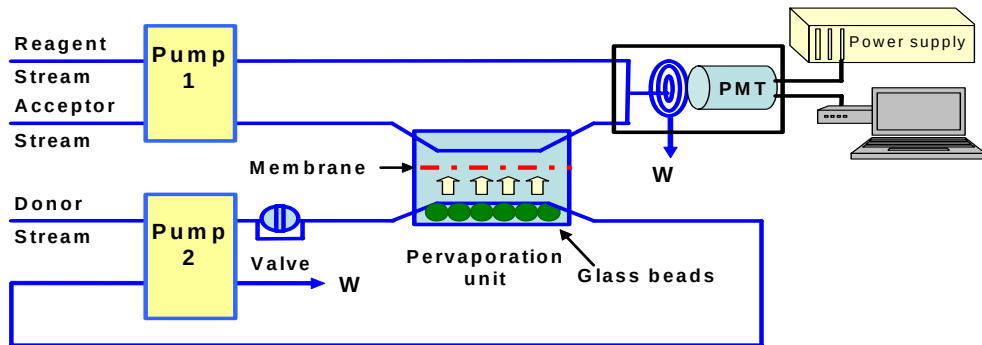
5. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

หลังจากปรับสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้เติมในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์ในช่วงความเข้มข้น 0.25-1.25 % โดยน้ำหนัก โดยนำสารละลายกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์เพื่อใช้เป็นตัวอย่างที่มีสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ละลายอยู่ไปใช้ศึกษาถึงการเพิ่มของความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ CL-FI นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้ในกระแสตัวพาที่ให้ค่าสัญญาณการคายแสงสูงสุด

2.3.3 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ที่มีระบบการแยกแบบออนไลน์ชนิดเพอร์วาพอเรชัน

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ (PFI-CL) นั้นจะมีการฉีดสารตัวอย่างลงไปในการผสมของสารละลายกรดซัลฟิวริกซึ่งทำหน้าที่เป็นกระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์ ระหว่างที่ถูกส่งผ่านไปยัง pervaporation unit ซึ่งภายในจะประกอบด้วยเม็ด glass beads เรียงกันอย่างมีระเบียบในแนวระนาบ ซัลไฟด์เมื่อทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยทิ้งสิ่งปนเปื้อนอื่น ๆ ที่ปะปนอยู่ในสารละลายค้างอยู่ในกระแสตัวให้ เนื่องจากไม่สามารถผ่านเยื่อเลือกผ่านได้ เนื่องจากสารละลายถูกคั่นไว้ด้วยช่องอากาศ จึงไม่สัมผัสกับเยื่อเลือกผ่านโดยตรงจึงทำให้มีเฉพาะก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เท่านั้นที่สามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารตัวรับได้แล้วเคลื่อนที่ไปเข้าทำปฏิกิริยากับกระแสรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่บริเวณ Flat spiral coil cell แล้วจะเกิดการเรืองแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่สามารถถูกตรวจวัดด้วยหลอดวัดแสง

ในการทดลองจะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรชนิดต่าง ๆ ทั้งตัวแปรทางกายภาพและทางเคมีของระบบ PFI-CL เพื่อให้ได้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมก่อนเพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงเพื่อให้ค่าถูกต้อง



รูป 2.3 แผนผังการตรวจวัดเครื่องมือวิเคราะห์หัลไฟต์ด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนส์

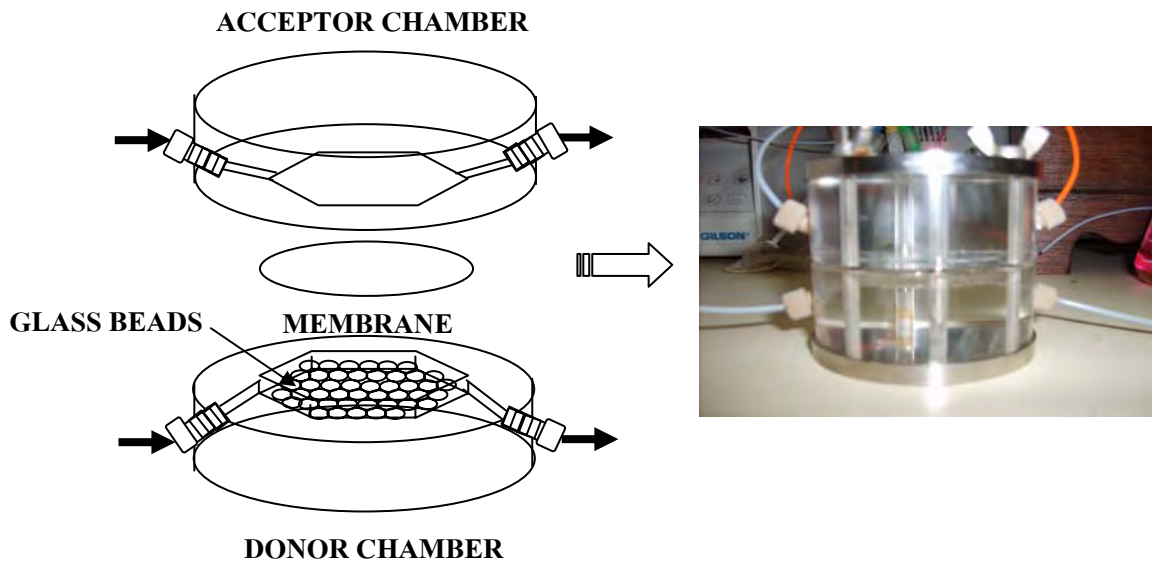
Pump1, Pump2, peristaltic pump; Reagent stream (8.0×10^{-5} M KMnO_4 ใน sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Acceptor stream (1 mg l^{-1} Rhodamine B ใน 0.75 % sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Donor stream (0.2 M H_2SO_4); Valve (500 μl sample loop); PMT, photomultiplier tube; W,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

รูป 2.3 ระบบโฟลติเนเจชันที่พัฒนาในการวิเคราะห์หัลไฟต์โดยระบบเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนส์ ที่ทำการสร้างขึ้นเองจากวัสดุและอุปกรณ์ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นดังรูป 2.4 ในขณะที่หน่วยแยกเพอร์วาพอเรชันที่ได้สร้างขึ้นได้เลียนแบบจากงานวิจัยของ Hermin^[46] ที่ได้ทำการศึกษาหาปริมาณไซยาไนด์ มีลักษณะดังรูป 2.5 และลักษณะการจัดวางเม็ด glass beads ที่บรรจุอยู่ในหน่วยเพอร์วาพอเรชันเป็นแนวระนาบ แสดงดังในรูป 2.6

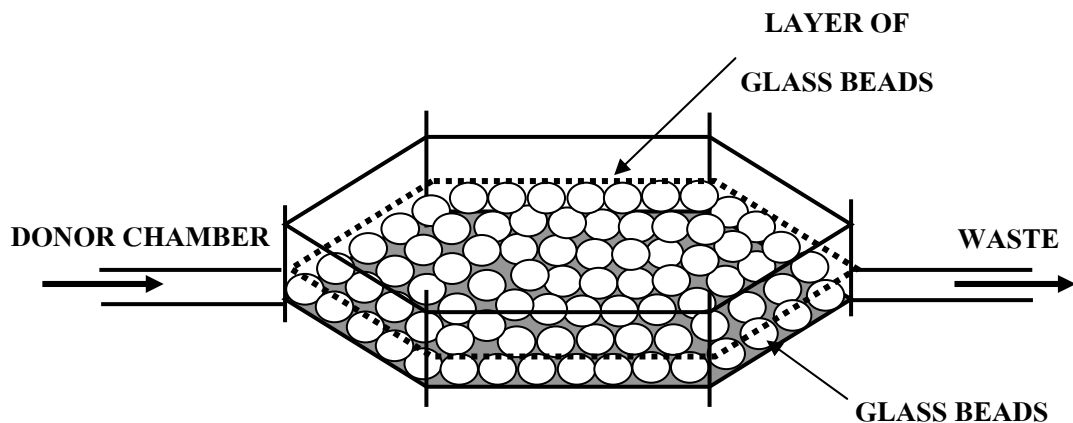


รูป 2.4 ระบบการวิเคราะห์หัลไฟต์ด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนส์

(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



รูป 2.5 หน่วยแยกสารเพอร์วาพอเรชั่น



รูป 2.6 การจัดเรียงเม็ด glass beads ใน donor chamber

2.3.3.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยโดยวิธี เพอร์วาพอเรชั่นโพลินเจคชัน

การศึกษาค้นคว้าเพื่อปรับสภาวะของระบบเพอร์วาพอเรชั่นโพลินเจคชัน สามารถทำได้โดยวิธี univariation เพื่อศึกษาตัวแปรทางกายภาพและทางเคมี โดยจะปรับเปลี่ยนตัวแปรใดตัวแปรหนึ่งในการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในขณะที่ตัวแปรอื่น ๆ จะถูกควบคุมให้คงที่ตลอดเวลาที่ทำการศึกษาผลของตัวแปรนั้น ๆ โดยทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมได้เริ่มต้นทำการควบคุมสภาวะการทดลองในส่วนของการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิโนมิเตอร์ให้เหมือนกับสภาวะของ CL-FI ที่ได้ทดลองไว้ตามข้อ 3.3.1 และได้เพิ่มการศึกษาสภาวะต่างๆ ดังนี้

1. การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของส่วนตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ (กระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์)

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

2. การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงในระบบ

หลังจากปรับอัตราการไหลที่เหมาะสมตามข้อ 1 ทำการศึกษหาปริมาตรสารตัวอย่างสำหรับฉีดลงไปในกระแสตัวให้ในช่วงปริมาตร 50-500 ไมโครลิตร เพื่อนำไปใช้สำหรับศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ PFI-CL โดยจะนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดลงไปในระบบเพื่อหาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ทำให้ได้พีคสูงสุด

3. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสตัวให้

เมื่อปรับสถานะของระบบ PFI-CL ที่เหมาะสมตามข้อ 2 จะศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ละลายอยู่ในกระแสตัวให้ (donor stream) ในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.3 โมลาร์ โดยนำสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นต่างๆ ไปใช้ศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ PFI-CL เพื่อนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีค กับความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสตัวให้

4. การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวให้

ในการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งจะศึกษาอัตราการไหลในช่วง 0.5-3.5 มิลลิลิตรต่อนาที เพื่อศึกษาผลของความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ PFI-CL โดยนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีค กับอัตราการไหล เพื่อหาอัตราการไหลที่เหมาะสมที่ทำให้ได้พีคสูงสุด

5. การศึกษาผลของฟลูออโรฟอร์บางชนิดต่อการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์

หลังจากปรับสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำการศึกษาผลของฟลูออโรฟอร์ที่ใช้ในการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ โดยศึกษาผลของฟลูออโรฟอร์บางชนิด (โรดามีน บี และฟลูออเรสซีน) โดยทำการเติมลงฟลูออโรฟอร์ในกระแสดั้วรับไฮเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต โดยกำหนดความเข้มข้นที่ไว้ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดขึ้น ภายในระบบ PFI-CL ที่เกิดขึ้น แล้วนำค่า ความสูงของพีคที่ได้ไปเปรียบเทียบกับระบบที่ไม่มีการเติมสารฟลูออโรฟอร์

6. การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของฟลูออโรฟอร์

หลังจากเลือกชนิดของฟลูออโรฟอร์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ในระบบ PFI-CL ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของโรดามีน บี ในช่วงความเข้มข้น 0.5-3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเตรียมโรดามีน บี ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในกระแสดั้วรับสารละลายไฮเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่อยู่ในสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าไปวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของระบบ PFI-CL แล้วนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายโรดามีน บี ที่ใช้เพิ่มสภาพไวในการวิเคราะห์

2.3.3.2. การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

1. ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้น 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 3.3.3.1 แล้ววัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์เพื่อหาความสูงของพีคแต่ละความเข้มข้นเพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐานและหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

2. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ จะพิจารณาจากปริมาณของซัลไฟต์ที่ทำการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์อยู่ในช่วงที่มีความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

2.3.3.3. การศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวนที่สามัญ

1. เตรียมสารละลายซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าระบบ PFI-CL เพื่อใช้เป็นพีคเปรียบเทียบ

2. เตรียมสารละลายซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและเตรียมสารละลายมาตรฐาน K^+ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดเดียวกัน (อัตราส่วน 1:1) แล้วมาฉีดเข้าระบบ PFI-CL เปรียบเทียบพีคที่ได้กับพีคข้อ 1 (หากว่าพีคที่ได้มีความสูงหรือต่ำกว่าเกิน 50 % จะถือว่าเกิดการรบกวนขึ้น)

3. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2 โดยเปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000 ตามลำดับ

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 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

2.3.3.4 การวิเคราะห์สารตัวอย่างอาหารหมักดอง

1. เก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองมาทำการวิเคราะห์ โดยจะเก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองที่คาดว่าจะมีสารซัลไฟด์ปนเปื้อนอยู่เพื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI-CL ในการทดลองได้เก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองมาจากตลาดสดแม่ใจ ต.หนองหาร อ.สันทราย คือ น้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และซิงหั่นฝอย

2. ทำการวิเคราะห์หาซัลไฟด์โดยวิธี PFI-CL โดยนำน้ำตัวอย่างมาทำการฉีดสู่ระบบ PFI-CL ซึ่งอาจต้องมีการเจือจางให้เหมาะสมเพื่อให้มีความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ ในกรณีที่ตัวอย่างมีสารซัลไฟด์พิคสัญญาณก็จะเกิดขึ้น ซึ่งความสูงของพิคสัญญาณจะนำมาใช้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น

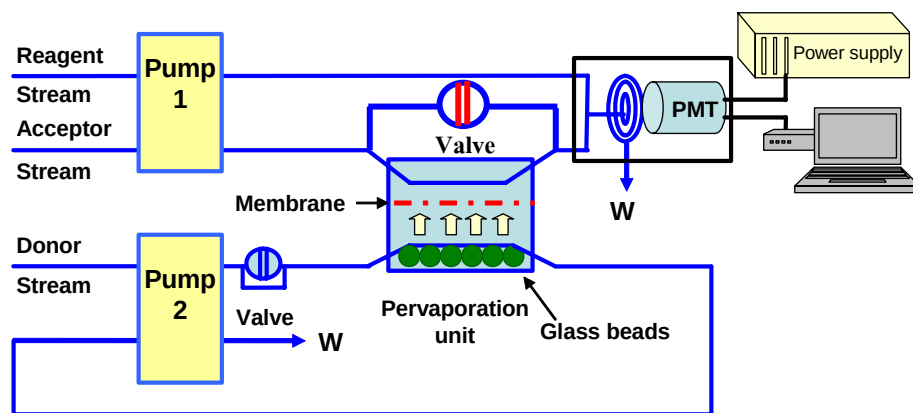
2.3.3.5 การหาค่าความเข้มข้นและการกลับคืนของการวิเคราะห์

1. เจือจางสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรง มาทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยวิธีเติมสารมาตรฐาน (standard addition) โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างในปริมาตรที่เท่ากันลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวด จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวดในปริมาตรที่แตกต่างกัน ปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI เพื่อวัดค่าความเข้มข้นเคมีลูมิเนสเซนซ์ มาสร้างกราฟมาตรฐานแบบเติมสารมาตรฐานจากปริมาณของซัลไฟด์ที่เติมลงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2. คำนวณร้อยละการกลับคืน จากการหักลบจากค่าที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน

2.3.6. การทดลองเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ โดยวิธีหยุดการไหลชั่วคราว (Stop flow mode)

โดยทำการฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้าไปกระแสตัวพา เพื่อให้ไปเกิดปฏิกิริยากับสารละลายกรดในกระแสตัวให้ เพื่อเปลี่ยนสารละลายซัลไฟต์เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ภายใน pervaporation unit นั้น เมื่อก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน และเข้าไปสะสมในสารตัวพาเฮกซะเมตอะฟอสเฟต โดยการกักเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในระยะเวลาที่เหมาะสม ทำได้โดยหยุดสารละลายใน acceptor chamber เป็นการชั่วคราวในระยะเวลาต่าง ๆ ตั้งแต่ 2-15 นาที โดยอาศัยวาล์วตัวที่ 2 มาต่อเข้ากับ acceptor chamber ดังรูป 2.7 โดยในขณะที่วาล์วตัวที่ 2 อยู่ในตำแหน่ง “Load” กระแสตัวรับบางส่วนจะถูกกักอยู่ใน acceptor chamber โดยที่กระแสตัวรับที่ถูกปั๊มจาก pump1 จะผ่านวาล์ว 2 โดยไม่ผ่านเข้าไปใน acceptor chamber แต่เมื่อครบเวลาที่ต้องการให้หยุดการไหลชั่วคราว จะสับวาล์วไปยังตำแหน่ง “Inject” เพื่อได้สารตัวรับที่ถูกกักอยู่ใน acceptor chamber ให้ไหลผ่านไปเจอกับสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ซึ่งเป็นตัวทำปฏิกิริยากับซัลไฟต์ที่บริเวณ Flat coil cell เพื่อตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ต่อไป



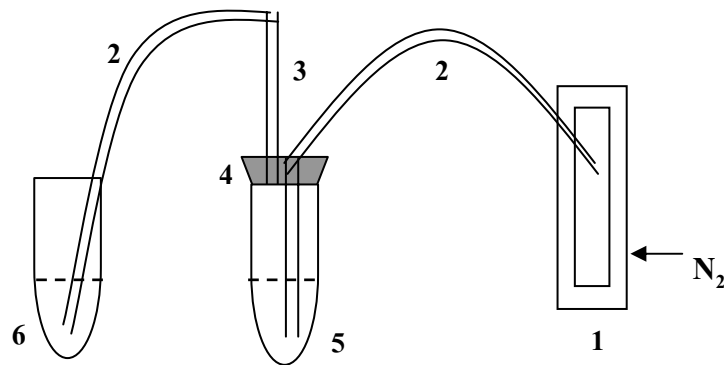
รูป 2.7 แผนผังการจัดวางเครื่องมือ PFI-CL ในการศึกษาการหยุดการไหลชั่วคราว

ขั้นตอนการทำระบบ flow stop

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าเครื่อง PFI-CL โดยต่อระบบวาล์วขึ้นดังรูป 3.7 เพื่อใช้ในการศึกษาหยุดการไหลของสารละลายตัวรับ
2. จับเวลาในการกักหยุดสารละลายตัวรับ เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาในช่วง 2-15 นาที
3. ตรวจวัดสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ตามระยะเวลาที่กำหนด

2.3.7 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์แบบดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี เป็นวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานของ AOAC ที่วัดปริมาณก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยทำการกลั่นด้วยกรดซัลฟิวริก (acid distillation) ในการแยกซัลไฟต์ออกจากอาหาร โดยเติมกรดซัลฟิวริก 35% โดยปริมาตร ลงไปในตัวอย่างแล้วทำการผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในตัวอย่าง เพื่อไล่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ถ่ายลงในสารละลายอเล็กโทรไลต์ (ammonium acetate ใน ethanol) จากนั้นนำไปวัดปริมาณกระแสจากการแพร่ของสารละลายโดยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี โดยใช้หัวไฟฟ้าทำงานปรอทหยดโดยวัดกระแสและความต่างศักย์ที่แตกต่างกันเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน



รูป 2.8 การจัดชุดอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี

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

ขั้นตอนการทำวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟี

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

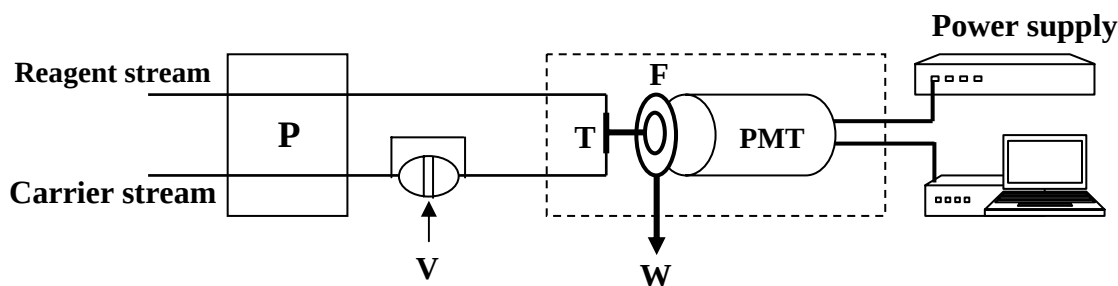
2. ปิเปตสารละลายอิเล็กโทรไลต์แทปปิง (electrolyte-trapping solution) มาปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง (ขนาด 25× 200 mm) อีกหลอดหนึ่ง
3. จัดตั้งอุปกรณ์ดังรูป 2.8 จากนั้นผ่านก๊าซไนโตรเจนลงใน 10 นาที เมื่อครบ 10 นาที หยุดปล่อยก๊าซไนโตรเจนแล้วเติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 9.19 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ แล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างให้ความร้อน (อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส) ผ่านก๊าซไนโตรเจนลงไปอีก 10 นาที หยุดปล่อยก๊าซไนโตรเจน
4. นำสารละลายอิเล็กโทรไลต์แทปปิง (electrolyte-trapping solution) จากหลอดทดลอง ถ่ายลงในโพลารोगราฟิเคเซลล์ จากนั้นผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในโพลารोगราฟิเคเซลล์ พร้อมกับคนสารละลายเป็นเวลา 240 วินาทีเพื่อทำการไล่ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลายเพื่อลดคลื่นออกซิเจน (oxygen wave)
5. วัดกระแสที่เกิดขึ้นและบันทึกค่ากระแสจากการแพร่ที่วัดได้ (-nA) โดยใช้ mode ดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟิ ในช่วงค่าศักย์ไฟฟ้า -400 ถึง -800 โวลต์
6. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ ความเข้มข้น 15.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ทำการฉีดล้างหัวไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่น และซับด้วยกระดาษทิชชูทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนสารละลายใหม่)
7. วิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างโดยวิธีเดียวกัน เพื่อนำค่าที่กระแสนมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น ระหว่างกระแสจากการแพร่และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการวิจัยฉบับนี้ได้ทำการสร้างและทดสอบวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชันอะนาลิซิส (CL-FI) ร่วมกับเทคนิคการแยกสารด้วยระบบออนไลน์ ซึ่งอาศัยเทคนิคเพอร์วอร์ชัน โฟลอินเจกชัน (PFI) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในอาหารประเภทหมักดอง โดยนำเครื่องมือที่มีในห้องปฏิบัติการมาประยุกต์ใช้ เพื่อให้ได้วิธีการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ใช้ปริมาณสารตัวอย่างและสารรีเอเจนต์ในการทำปฏิกิริยาน้อย ซึ่งจะช่วยให้เกิดของเสียที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมน้อย นอกจากนั้นระบบที่ใช้วิเคราะห์เป็นระบบปิด ทำให้มีผลดีให้ผู้ปฏิบัติการทดลองที่ไม่ต้องสัมผัสกับสารเคมีโดยตรง และวิธีการแยกสารแบบออนไลน์ ยังช่วยลดขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างให้น้อยลง ทำให้การวิเคราะห์ทำได้อย่างรวดเร็วมากยิ่งขึ้น

3.1 การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิคเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน (CL-FI)



รูป 3.1 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

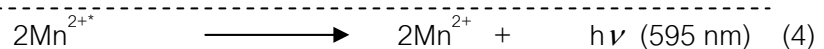
โดยในการทดลองขั้นต้นได้ทำการศึกษาและออกแบบการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชันโดยใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นรีเอเจนต์ สำหรับวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิค CL-FI ที่ได้ทำการศึกษานี้มีการใช้สารตัวพาคือสารละลาย 1% โดยน้ำหนัก โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่อยู่ในสภาวะกรดและมีรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกา

เนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นตัวออกซิไดส์ในการทำปฏิกิริยากับซัลไฟต์

ทฤษฎีของการวิเคราะห์คือเมื่อฉีดสารตัวอย่างซัลไฟต์เข้าไปในกระแสตัวพา สารละลายตัวพาจะถูก บำบัดเอาสารละลายผสมของตัวพาและสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ FI-CL โดยซัลไฟต์ในสารผสมจะเข้าเกิดปฏิกิริยากับปรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่บริเวณ ที่ตัวต่อรูปตัวที่ โดยปฏิกิริยารีดักชันของซัลไฟต์กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในตัวกลางสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 1% โดยน้ำหนัก ที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางช่วยให้กระบวนการการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของไอออน Mn^{2+} ที่สภาวะกระตุ้นสามารถตรวจวัดได้ในเวลาที่เหมาะสมดังสมการ



ปฏิกิริยารวม



เมื่อ * คือ สภาวะกระตุ้น

แสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของไอออน Mn^{2+} ที่คายออกมามีความยาวคลื่นประมาณ 595 นาโนเมตร^[47] ซึ่งมีความเข้มแสงในช่วงความยาวคลื่น ดังกล่าวตรงกับช่วงคลื่นของแสงสีแดงโดยแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ถูกผลิตขึ้นจะถูกตรวจวัดโดยหลอดวัดแสงโฟโตมัลติพลายเออร์ (PMT) และส่งสัญญาณไปยังเครื่องบันทึกผลเพื่อบันทึกผลที่ได้ออกมาในรูปของพีคสัญญาณ

3.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ CL-FI จาก แผนภาพในรูป 3.1 มีสภาวะเริ่มต้นก่อนที่จะทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมแสดงดังตาราง 3.1 ซึ่งใช้สภาวะเริ่มต้นนี้ได้เลียนแบบขึ้นจากงานวิจัยการหาสารหนู^[48] ในระบบโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่รายงานไว้

ตาราง 3.1 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ CL-FI

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

3.1.1.1 การศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสม

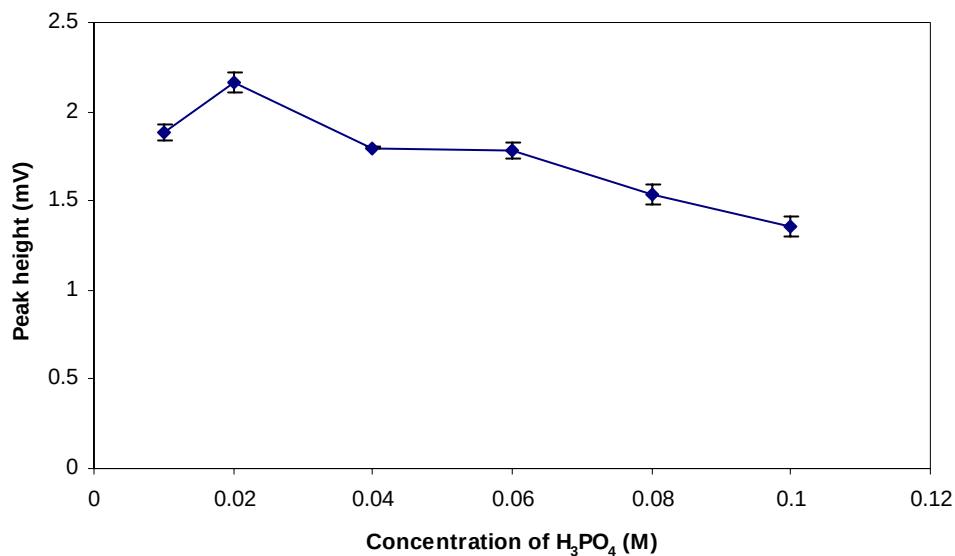
การศึกษานิตของกรดที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์ ได้ใช้กรด 4 ชนิด คือกรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก กรดฟอสฟอริก และกรดซัลฟิวริก ที่มีความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ มาทดสอบการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับระบบ CL-FI ที่สร้างขึ้น พบว่าได้ผลดังตาราง 3.2 โดยพบว่ากรดที่เหมาะสมที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์คือกรดฟอสฟอริก ซึ่งให้ค่าสัญญาณ CL intensity สูงกว่ากรดชนิดอื่น ซึ่งกรดไฮโดรคลอริก และกรดไนตริก ให้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ต่ำ เนื่องจากกรดไนตริก และกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวออกซิไดส์ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตแทนสารตัวอย่างซึ่งจะทำให้สัญญาณการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ลดลง^[49-50]

ตาราง 3.2 การเปรียบเทียบชนิดของกรดที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์

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

3.1.1.2 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

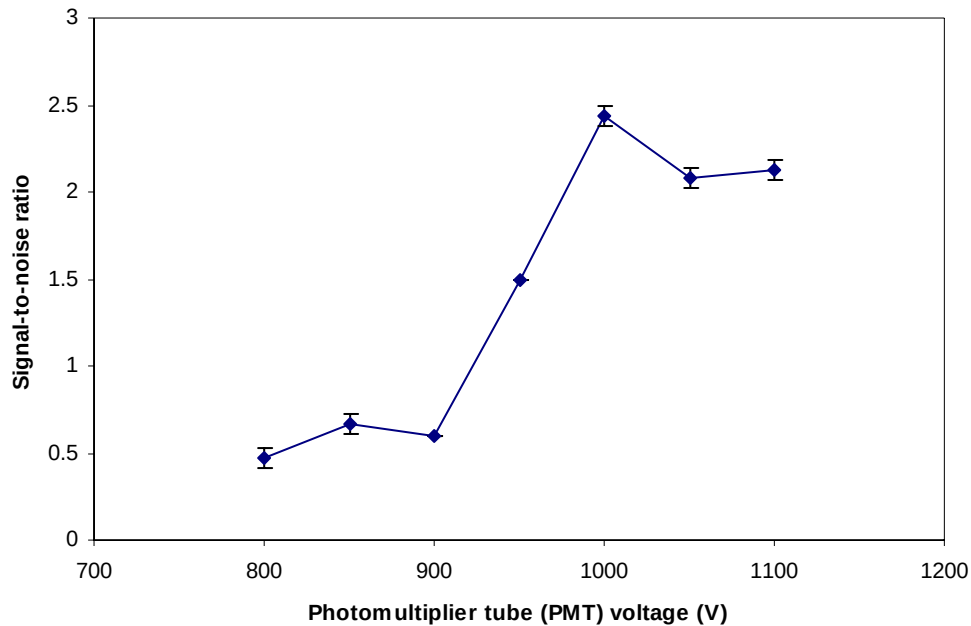
การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากตาราง 3.1 โดยศึกษาความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่มีผลต่อการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.01-0.10 โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.2 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริกที่ใช้จะมีค่าเท่ากับ 0.02 โมลาร์ (pH=2.72) ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกและการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์จะพบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเพิ่มมากกว่า 0.02 โมลาร์ กลับจะทำให้ค่าสัญญาณการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ยิ่งมีค่าลดลง



รูป 3.2 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

4.1.1.3 การศึกษาหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอดวัดแสงโฟโตมัลติพลายเออร์

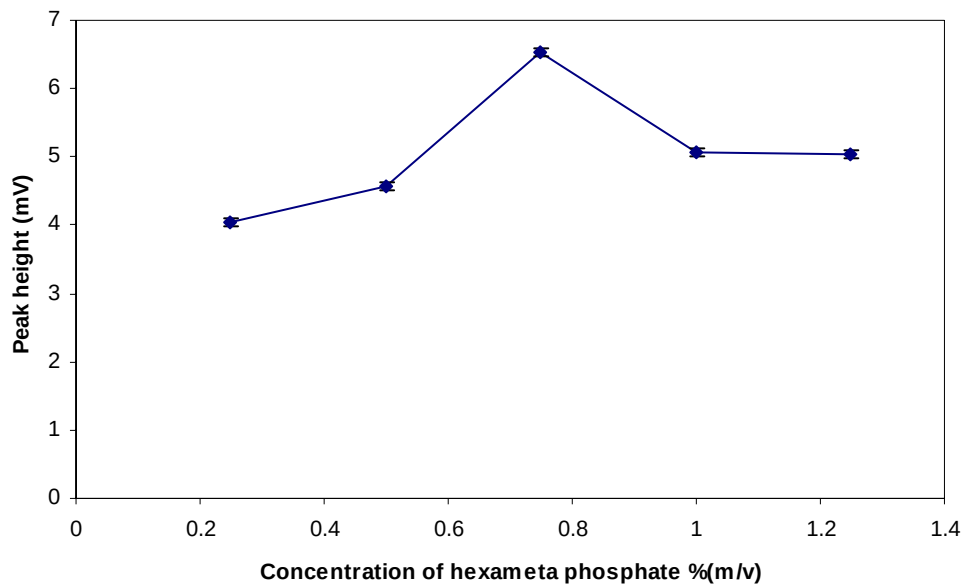
เมื่อทำการทดลองหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT ในช่วงความต่างศักย์ 800-1100 โวลต์ โดยใช้สภาวะที่ใช้ในการทดลองดังตาราง 3.1 พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.3 โดยค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการจ่ายให้แก่หลอด PMT เท่ากับ 1000 โวลต์ ซึ่งที่ค่าศักย์ไฟฟ้านี้พบว่ามีความสัญญาณการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีต่อสัญญาณพื้นหลัง (signal-to-noise ratio) มีค่าสูงสุด โดยที่ค่าศักย์ไฟฟ้าที่สูงกว่านี้พบว่า จะทำให้ค่าสัญญาณพื้นหลังมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก ทำให้การวัดสัญญาณที่ได้ไม่แม่นยำ และนอกจากนั้นแล้วค่าศักย์ไฟฟ้าที่สูงเกินไปก็ไม่ใช่เป็นที่ยอมรับจากบริษัทผู้ผลิต เนื่องจากจะทำให้ หลอด PMT เสื่อมสภาพได้เร็วกว่าที่ควร



รูป 3.3 ผลการศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอด PMT

3.1.1.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

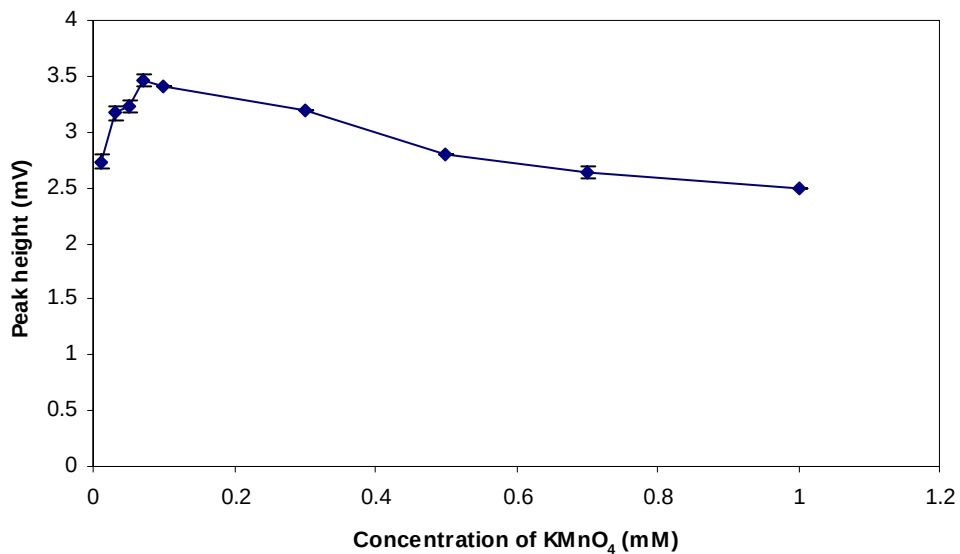
การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้เป็นสารตัวกลางที่เติมลงในกระแสดั้วฟ้า จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.1.1.1-3.1.1.3 โดยได้ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตในช่วงความเข้มข้น 0.25-1.25 % โดยน้ำหนัก ซึ่งพบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.4 โดยที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่หาได้จากกราฟมีค่าเท่ากับ 0.75% โดยน้ำหนัก ซึ่งจะเห็นได้ว่าแม้จะทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตให้มากขึ้นมากกว่า 0.75% ก็ไม่ทำให้สัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้นแต่ประการใด โดยในการเติมสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเนื่องจากต้องการให้เกิดปฏิกิริยาการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของสารตัวอย่างเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายรีเอเจนต์ มีระยะเวลาในการคายแสงที่นานขึ้น เนื่องจากโครงสร้างของโมเลกุลรูปทรงแบบมงกุฎของเฮกซะเมตาฟอสเฟต จะช่วยจับไอออน Mn^{2+} ที่อยู่ในสภาวะกระตุ้น มีช่วงชีวิตที่ยาวนานยิ่งขึ้น^[51]



รูป 3.4 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

3.1.1.5 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสรีเอเจนต์

โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ ข้อ 3.1.1.1-3.1.1.4 มาใช้ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสรีเอเจนต์ที่มีสภาพเป็นกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ในช่วงความเข้มข้น 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-3} โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.5 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาคายแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 7.0×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งถ้าเพิ่มความเข้มข้นมากกว่า 7.0×10^{-5} โมลาร์ ไม่ทำให้สัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้นแต่กลับทำให้สัญญาณลดต่ำลง ซึ่งอาจเกิดจากการที่สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่มีความเข้มข้นมากเกินไปทำให้เกิดการดูดกลืนแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ที่คายออกมาในบางส่วน (self absorption) ทำให้โฟตอนที่ถูกผลิตขึ้นมีจำนวนลดน้อยลงเนื่องจากผลของ inner filter effect



รูป 3.5 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสตัวพา

3.1.1.6 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเบื้องต้นในการวิเคราะห์ด้วยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน สามารถสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมเบื้องต้นสามารถทำให้ระบบ CL-FI มีประสิทธิภาพสูงสุดจากปัจจัยต่าง ๆ ทั้งทางกายภาพและทางเคมีได้ดังแสดงในตาราง 3.3

ตาราง 3.3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ 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

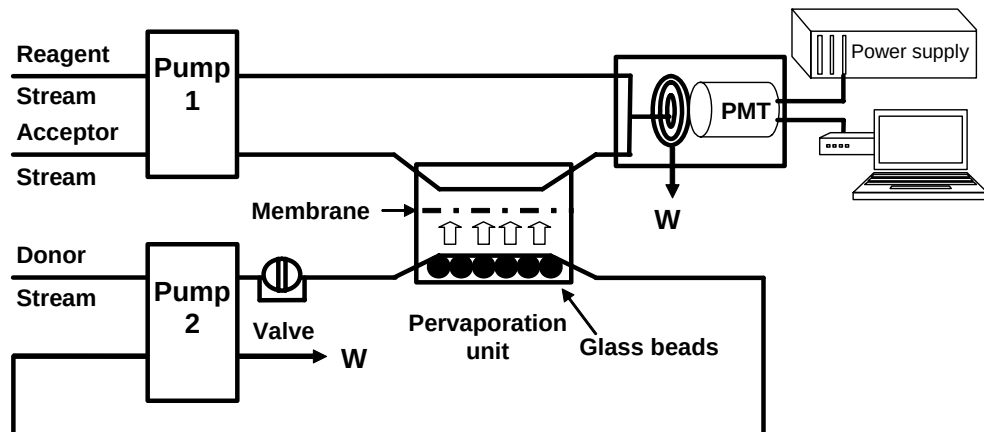
3.2 การออกแบบ Flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในอาหาร ที่แนะนำโดย AOAC ^[22] ที่อาศัยการกลั่นด้วยกรด (acid distillation) ของสารประกอบซัลไฟต์ที่มีอยู่ให้ออกมาในรูปก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพื่อเป็นการแยกสารประกอบซัลไฟต์ออกมาจากอาหารและสิ่งปนเจือปนอื่น ดังสมการ (1)



จากความรู้พื้นฐานดังกล่าว จึงนำไปสู่การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธีการโฟลอินเจกชันแบบใหม่ ที่มีการแยกสารแบบออนไลน์ โดยใช้เทคนิคเพอร์วาพอเรชันมาช่วยแยกซัลไฟต์ออกจากเมทริกซ์อื่น ๆ โดยการฉีดสารละลายซัลไฟต์ลงไปผสมกับสารละลายกรดซัลฟิวริกในกระแสดัวพา ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับซัลไฟต์ที่ฉีดลงไป ได้เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งเมื่อนำมาใช้กับระบบการแยกสารแบบออนไลน์ที่มีการใช้เยื่อเลือกผ่าน (semi-permeable membrane) เพื่อแยกก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ออกจากสารผสม ก็จะสามารถประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการแยกสารตัวอย่างออกจากสารตัวอย่างที่สกปรกและมีการปนเปื้อนสูงได้เป็นอย่างดี

โดยขั้นแรกของงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้หน่วยเพอร์วาพอเรชัน (pervaporation unit) มาช่วยในการแยกโดยอาศัยการระเหยของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์บริเวณด้านบนของกระแสดัวพาเหนือ glass beads ของหน่วยแยกสารเพอร์วาพอเรชันก่อนที่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านแล้วเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารเคมีบางอย่างในดัวพา (โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต) แล้วผ่านเข้าสู่ตัวผสมรูปตัวที่เพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยากับบรีเอเจนต์โพเทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสรีเอเจนต์ โดยมีสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตในสภาวะที่เป็นกรดเป็นตัวกลางช่วยทำให้การคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของไอออน Mn^{2+} ที่สภาวะกระตุ้น ให้สามารถเกิดได้ในระยะเวลาที่เหมาะสมและสามารถตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ได้ การวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์เมื่อไอออน Mn^{2+} กลับลงมายังสถานะพื้น จะถูกตรวจวัดโดยหลอดวัดแสง PMT และส่งสัญญาณไปยังเครื่องบันทึกผลเพื่อบันทึกผลที่ได้ออกมาในรูปของพีคสัญญาณ



รูป 3.6 ระบบเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจคชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์ (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

3.2.1 การหาสถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL จากแผนภาพเครื่องมือในรูป 3.6 ได้มีการกำหนดให้มีสถานะเริ่มต้นก่อนที่จะทำการหาสถานะที่เหมาะสมดังตาราง 3.4 โดยในการพัฒนาระบบ PFI-CL ภายในหน่วยเพอร์วาพอเรชันจะมี glass beads ทำหน้าที่ผสมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐานซัลไฟต์กับสารตัวพา ทำให้เกิดก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ขึ้นภายในช่องกระแสตัวพาของหน่วยเพอร์วาพอเรชัน จากนั้น ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะระเหยขึ้นสู่ช่องอากาศที่อยู่เหนือผิวหน้าของสารละลายกระแสตัวพา ก่อนที่จะแพร่สู่เยื่อเลือกผ่านไปยังกระแสของสารตัวรับ

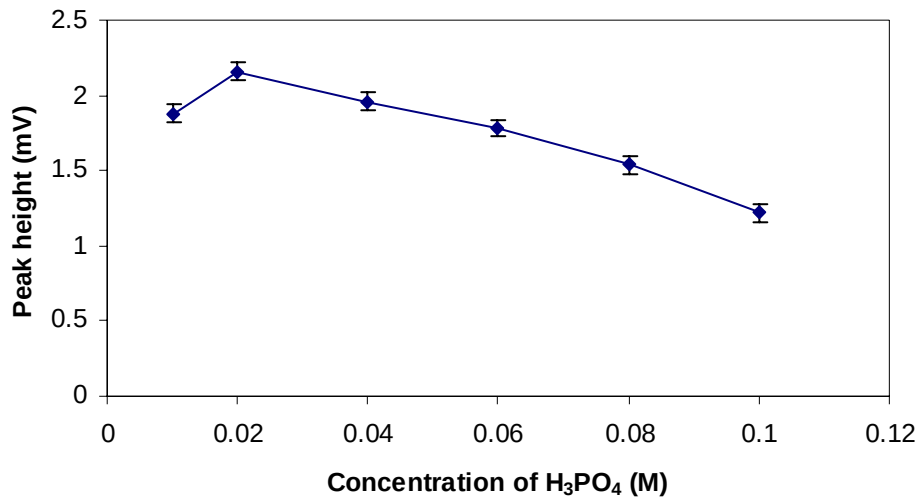
โดยในการนำสารตัวพา ไปยังหน่วยเพอร์วาพอเรชัน และการนำเอาสารตัวพาออกจากหน่วยเพอร์วาพอเรชันจะอาศัยปั๊ม ในการควบคุมให้สารละลายอยู่เหนือระดับผิวหน้าของ glass beads พอดี โดยต้องควบคุมอัตราการไหลของสารละลายก่อนเข้าสู่และหลังออกจากหน่วยเพอร์วาพอเรชันให้มีอัตราการไหลที่เท่ากัน เพื่อต้องการให้สารละลายอยู่ในระดับผิวหน้าของ glass beads พอดี และเหลือพื้นที่ว่างของช่องอากาศ (air gap) ระหว่าง glass beads และเยื่อเลือกผ่านให้มีปริมาตรคงที่ ซึ่งจะมีผลสำคัญอย่างยิ่งในการวิเคราะห์ที่จะทำให้ผลการทดลองมีความถูกต้อง และแม่นยำสม่ำเสมอตลอดการทดลอง^[52]

ตาราง 3.4 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

3.2.1.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

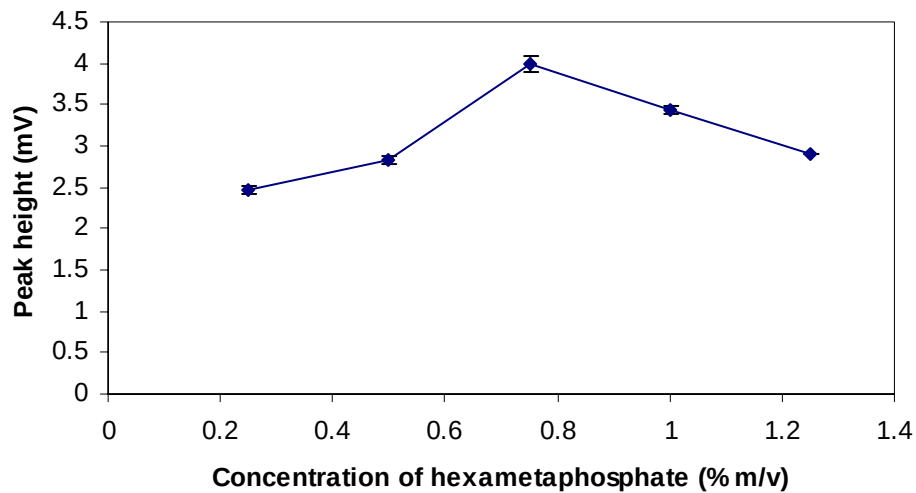
การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริกที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ จะใช้สภาวะเริ่มต้นของระบบ PFI-CL จากตาราง 3.4 โดยทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.01-0.10 โมลาร์ ที่ทำให้เกิดสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ของสารละลายซัลไฟด์ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่มีค่าสูงสุด ซึ่งจากการทดลองได้ผลดังแสดงในรูป 3.7 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก ที่หาได้มีค่าเท่ากับ 0.02 โมลาร์ (pH=2.72) โดยได้ผลคล้ายคลึงกับระบบ FI-CL จากข้อ 3.1.1.2 โดยความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ (0.01-0.02 โมลาร์) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้น จะให้สัญญาณของแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่สูงขึ้น แต่ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่สูงกว่า 0.02 โมลาร์ กลับจะพบว่าทำให้ค่าสัญญาณการคายแสงของสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าลดลง ดังนั้นจึงจะใช้ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ 0.02 โมลาร์ในการทดลองที่เหลือต่อไป



รูป 3.7 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

3.2.1.2 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

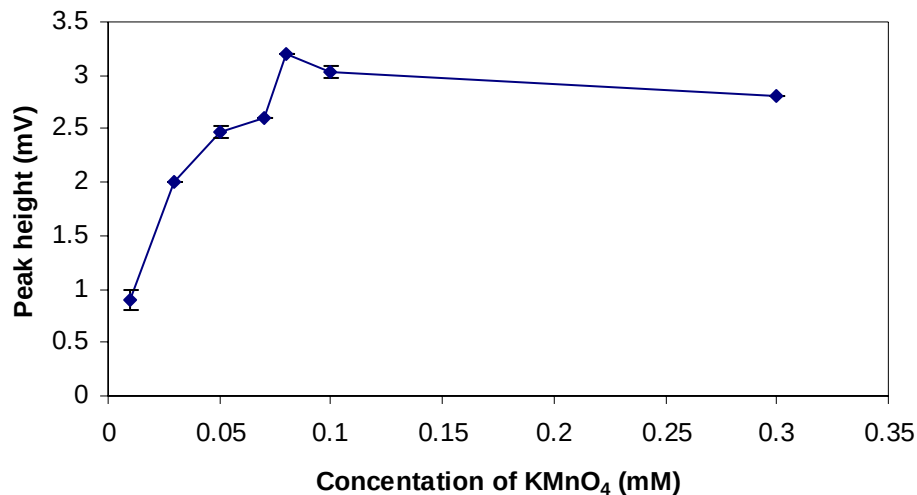
ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่เติมลงไปในการแสดตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ จะทำการศึกษาในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.25-1.25 % โดยน้ำหนัก ซึ่งพบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.8 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่จะทำให้สัญญาณแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของสารมาตรฐานซัลไฟต์ เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าสูงสุด มีค่าเท่ากับ 0.75% โดยน้ำหนักโดยจะสังเกตได้ว่าในช่วงความเข้มข้นต่ำ ๆ จะพบว่าสัญญาณการคายแสงที่ตรวจวัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุด เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตมีค่าเท่ากับ 0.75 % และหลังจากจุดนี้ แม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นขึ้นไปอีก สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์จะไม่เพิ่มขึ้นแต่กลับมีแนวโน้มที่ค่อย ๆ ลดลง ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่ใช้เติมในการแสดตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ ในการศึกษาขั้นต่อไปจะกำหนดไว้ที่ 0.75 % โดยน้ำหนัก



รูป 3.8 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

3.2.1.3 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสรีเอเจนต์

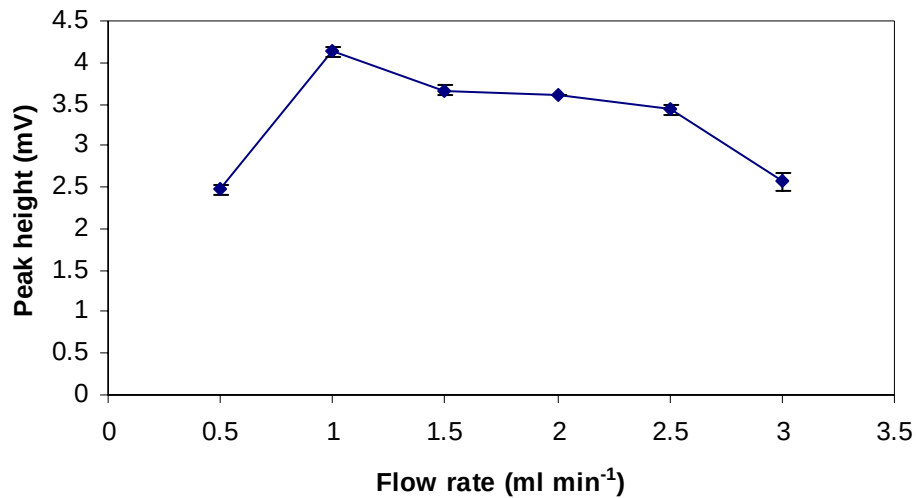
การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสรีเอเจนต์ที่มีสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ในช่วงความเข้มข้น 1.0×10^{-5} - 3.0×10^{-4} โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.9 โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในช่วงความเข้มข้นต่ำๆ จะพบว่าสัญญาณการคายแสงที่ตรวจวัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้น 8.0×10^{-5} โมลาร์ และหลังจากจุดนี้แม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นขึ้นไปอีก สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์กลับมีค่าคงที่โดยมีแนวโน้มที่จะค่อย ๆ ลดลงอันเป็นผลมาจากการเกิด self absorption ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ในกระแสรีเอเจนต์ ในการศึกษาต่อไปจะกำหนดไว้ที่ 8.0×10^{-5} โมลาร์



รูป 3.9 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกระแสรีเอเจนต์

3.2.1.5 การศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ที่มีต่อการตรวจวัด

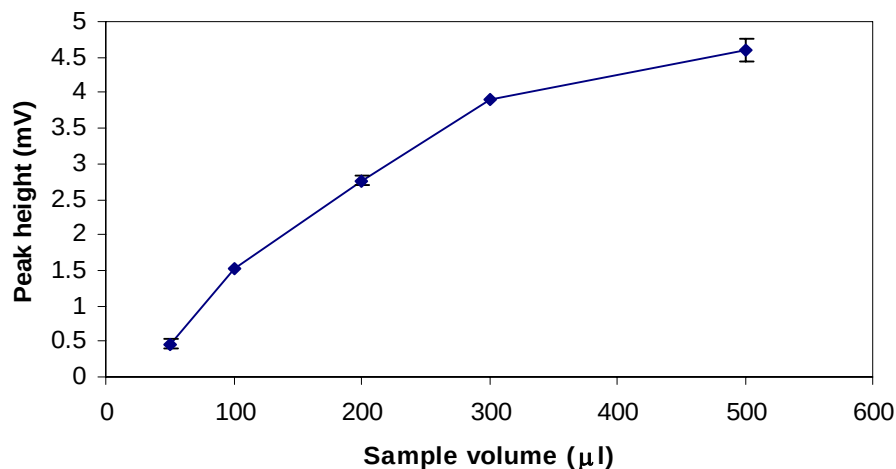
อัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ที่ไหลเข้าสู่เครื่องตรวจวัดแสงเคมีลูมิโนมิเตอร์ จะทำการศึกษาโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 3.2.1.1- 3.2.1.4 โดยจะควบคุมให้อัตราการไหลของแต่ละกระแสมีค่าเท่ากันโดยทำการศึกษาอัตราการไหลในช่วง 0.5-3.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งจะพบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.10 ซึ่งจะเห็นว่าที่อัตราการไหลของแต่ละกระแสที่สูงกว่า 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ทั้งของกระแสตัวรับ และกระแสรีเอเจนต์ (อัตราการไหลรวม 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที) ไม่พบว่าสัญญาณแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ตรวจวัดได้เพิ่มสูงขึ้นแต่ประการใด ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป จึงจะเลือกอัตราการไหลรวมที่มีค่าเท่ากับ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งนอกจากนี้เป็นการประหยัดสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารตัวพาและรีเอเจนต์แล้วยังจะช่วยป้องกันให้เยื่อเลือกผ่านที่กั้นอยู่ระหว่าง กระแสตัวรับและช่องอากาศในหน่วยเพอร์วาพอร์ชันไม่ได้รับแรงดันจากอัตราการไหลที่มากเกินไป ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการโป่งพองของเยื่อเลือกผ่าน และทำให้ปริมาตรของสารตัวรับที่อยู่ในช่องรับสารในหน่วยเพอร์วาพอร์ชัน มีค่าที่ผิดเพี้ยนไปจากเดิม



รูป 3.10 ผลการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสไอเจนต์

3.2.1.6 การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดลงไปในระบบเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจคชัน

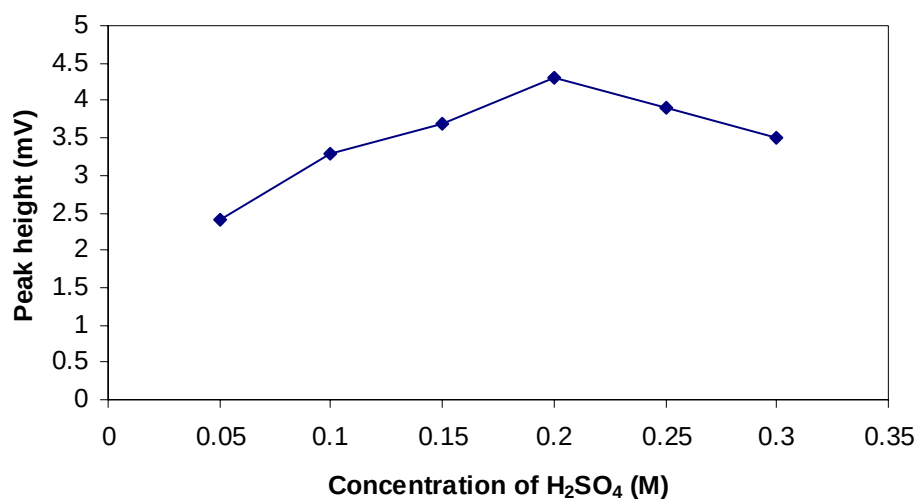
การศึกษาผลของปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดลงไปในระบบเพื่อให้สารประกอบซัลไฟด์ทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟิวริกที่อยู่ในกระแสตัวพา เพื่อทำให้เกิดเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่มีปริมาณเหมาะสมเพียงพอที่จะทำให้สามารถตรวจวัดได้ด้วยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่สร้างนั้น ได้ทำการศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างซัลไฟด์ที่ฉีดลงไปในระบบในช่วง 50-500 ไมโครลิตร พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.11 ปริมาตรของสารมาตรฐานซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ฉีดเพิ่มขึ้นทำให้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มที่จะให้สัญญาณคงที่เมื่อปริมาตรที่ใช้เพิ่มขึ้นมากกว่า 500 ไมโครลิตร ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปในระบบเท่ากับ 500 ไมโครลิตร ในการศึกษาสำหรับการทดลองขั้นต่อไป



รูป 3.11 ผลการศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไปในระบบ

3.2.1.7 การศึกษาผลจากความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสดั่วให้

การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสดั่วให้ จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.2.1.1-3.2.1.6 โดยศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในช่วง 0.05-0.3 โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.12 ซึ่งจะเห็นว่าที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ จะพบว่าสัญญาณการคายแสงที่ตรวจวัดได้จะมีค่าค่อย ๆ เพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และหลังจากจุดนี้ สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ค่อย ๆ ลดลง ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายซัลฟิวริก ที่ใช้เป็นกระแสดั่วพา ในการศึกษาต่อไปจะกำหนดไว้ที่ 0.2 โมลาร์ โดยอัตราการไหลของกรดซัลฟิวริกที่เป็นกระแสดั่วพาจะกำหนดให้เท่ากับ 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งเท่ากับอัตราการไหลรวมของส่วนตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่อยู่ด้านบน (acceptor chamber) ที่ศึกษาไปก่อนหน้านี้



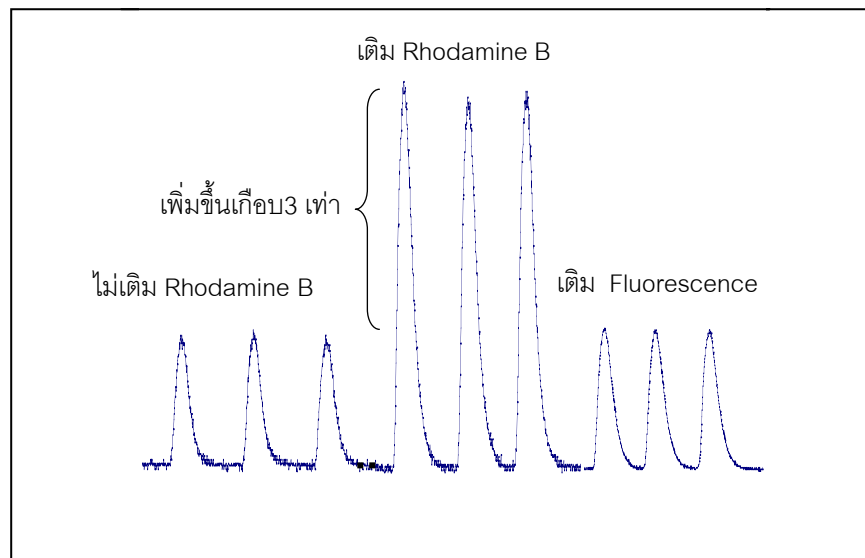
รูป 3.12 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นกระแสดั่วให้

3.2.1.8 ผลของฟลูออโรฟอร์ต่อการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์

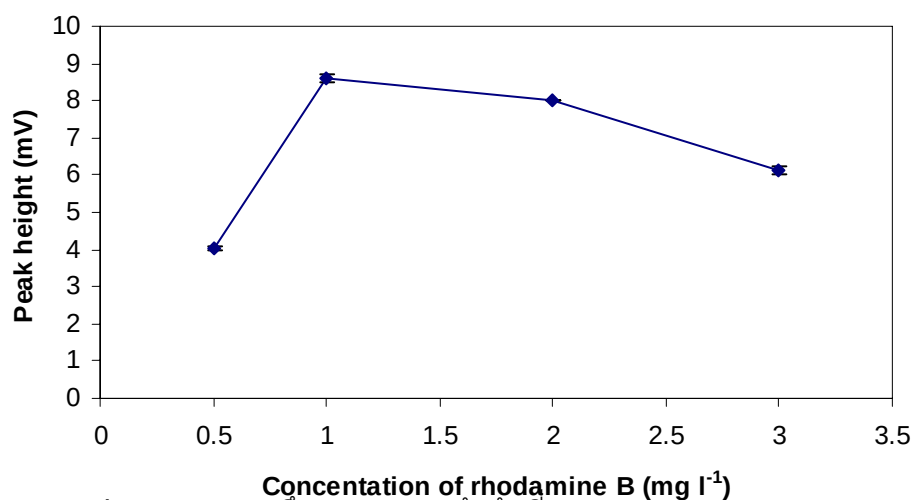
ในรายงานการวิจัยหลาย ๆ ฉบับ ที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นรีเอเจนต์ เช่น งานวิจัยในการศึกษาหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในยาวิตามินซี และดีเอ็นเอ มีการใช้โรดามีน บี (Rhodamine B) ทำปฏิกิริยากับซีเรียม (cerium (IV)) ในกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นตัวกลาง^[53-54] พบว่าสารประกอบฟลูออโรฟอร์บางชนิด เช่น โรดามีน บี ควินิน และฟลูออเรสซิน สามารถช่วยเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ได้ 2 ถึง 10 เท่า ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้ทำการเติมสารฟลูออโรฟอร์ 2 ชนิด (ฟลูออเรสซิน และโรดามีน บี) เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรลงไปในการแสดั่วรับ โพแทสเซียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต เพื่อศึกษาผลการเพิ่ม

สภาพไวของการตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบ PFI-CL ที่สร้างขึ้น โดยพบว่ามีเพียง โรดามีน บี เท่านั้น ที่ช่วยเพิ่มสัญญาณ การตรวจวัดเคมีลูมิเนสเซนซ์ขึ้นประมาณ 3 เท่า (รูป 3.13) ซึ่งสันนิษฐานได้ ว่าเกิดจากช่วยขยายสัญญาณการเรืองแสงที่เกิดขึ้นจาก Mn^{2+} ดังนั้นในการศึกษาหาความเข้มข้น ที่เหมาะสมของสารละลายโรดามีน บี ที่เติมลงไปเพื่อเพิ่มสัญญาณการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ ให้สูงขึ้น และเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ให้สูงขึ้น

จึงได้ทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.2.1.1-3.2.1.7 โดยศึกษาความเข้มข้น ของโรดามีน บี ในช่วง 0.5-3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นของโรดามีน บี ในกระแสตัวรับ ที่มีค่าเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์เพิ่มขึ้นได้สูงที่สุด ดังแสดงใน รูป 3.14



รูป 3.13 ตัวอย่าง PFI-CL gram ของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม ฟลูออโรฟอร์บางชนิด



รูป 3.14 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Rhodamine B

3.2.1.9 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยระบบเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจคชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์

จากการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยระบบ PFI-CL สามารถสรุปสภาวะการทดลองที่สามารถทำให้ระบบ PFI มีประสิทธิภาพสูงสุดจากปัจจัยต่าง ๆ ดังแสดงในตาราง 3.5

ตาราง 3.5 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL

พารามิเตอร์	ช่วงที่ศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT	800-1,100 โวลต์	1,000 โวลต์
<i>Acceptor stream</i>		
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
<i>Reagent stream</i>		
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมง-กานต์ในกระแสรีเอเจนต์	1.0×10^{-5} - 3.0×10^{-4} โมลาร์	8.0×10^{-5} โมลาร์
<i>Donor stream</i>		
ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	0.05-0.3 โมลาร์	0.2 โมลาร์
อัตราการไหล	-	2.0 มิลลิลิตรต่อนาที

3.2.2 คุณลักษณะเฉพาะของระบบเพอร์วาพอเรชัน เคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจคชัน

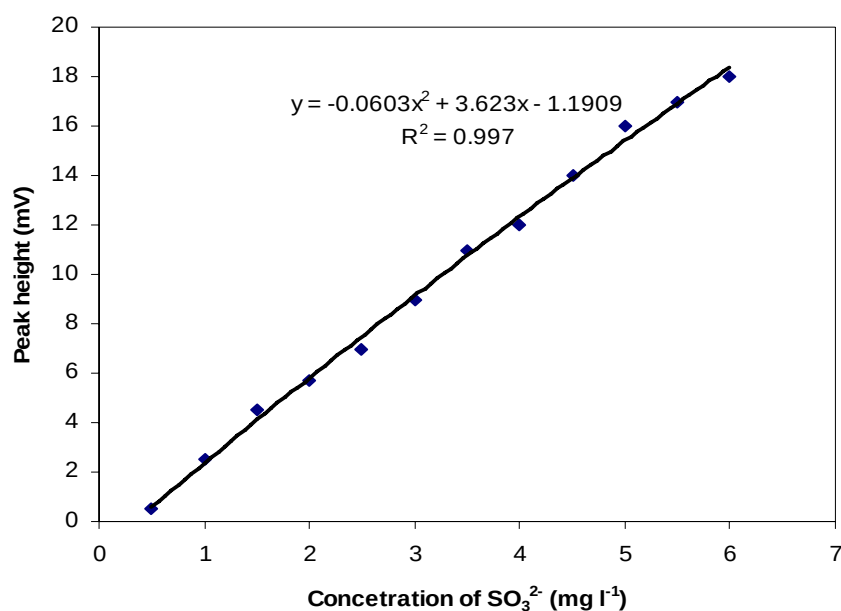
3.2.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง

ในการหาช่วงความเป็นเส้นตรงที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยระบบ PFI-CL ได้ทำการศึกษาโดยการนำสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ระหว่าง 0.5-6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ PFI-CL ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมตามตาราง 3.5 พบว่าได้ผลดังตาราง 3.6 และเมื่อพล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคสัญญาณกับความเข้มข้นของซัลไฟต์ พบว่าได้กราฟความสัมพันธ์ดังรูป 3.15

ตาราง 3.6 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL

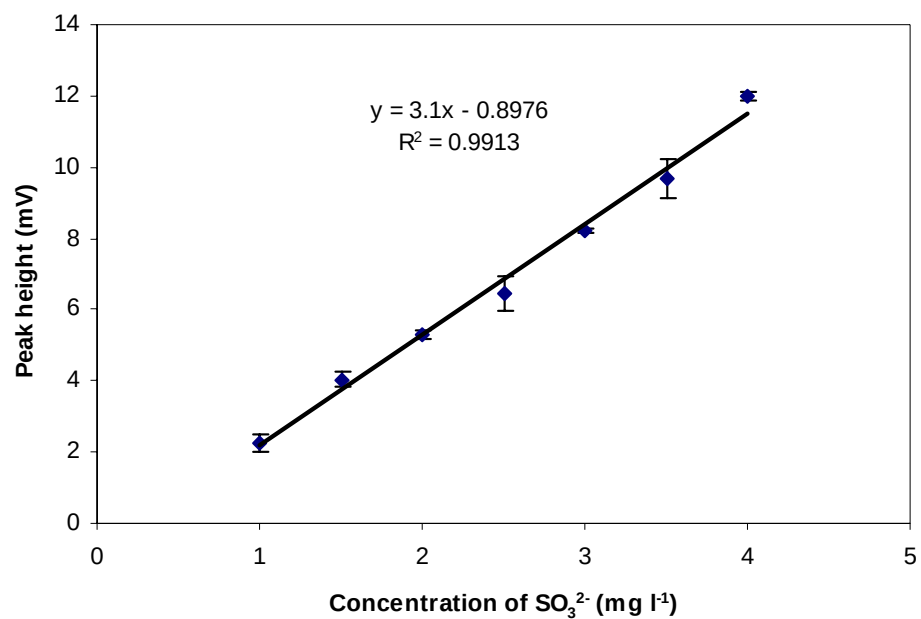
ความเข้มข้นซัลไฟต์ (mg l^{-1})	ความสูงของพีค (mV)*
0.5	0.60 ± 0.0
1.0	2.26 ± 0.2
1.5	4.03 ± 0.2
2.0	5.30 ± 0.1
2.5	6.46 ± 0.4
3.0	8.23 ± 0.0
3.5	9.66 ± 0.5
4.0	12.00 ± 0.1
4.5	15.36 ± 0.4
5.0	16.40 ± 0.0
5.5	17.76 ± 0.2
6.0	18.96 ± 0.1

*n = 3

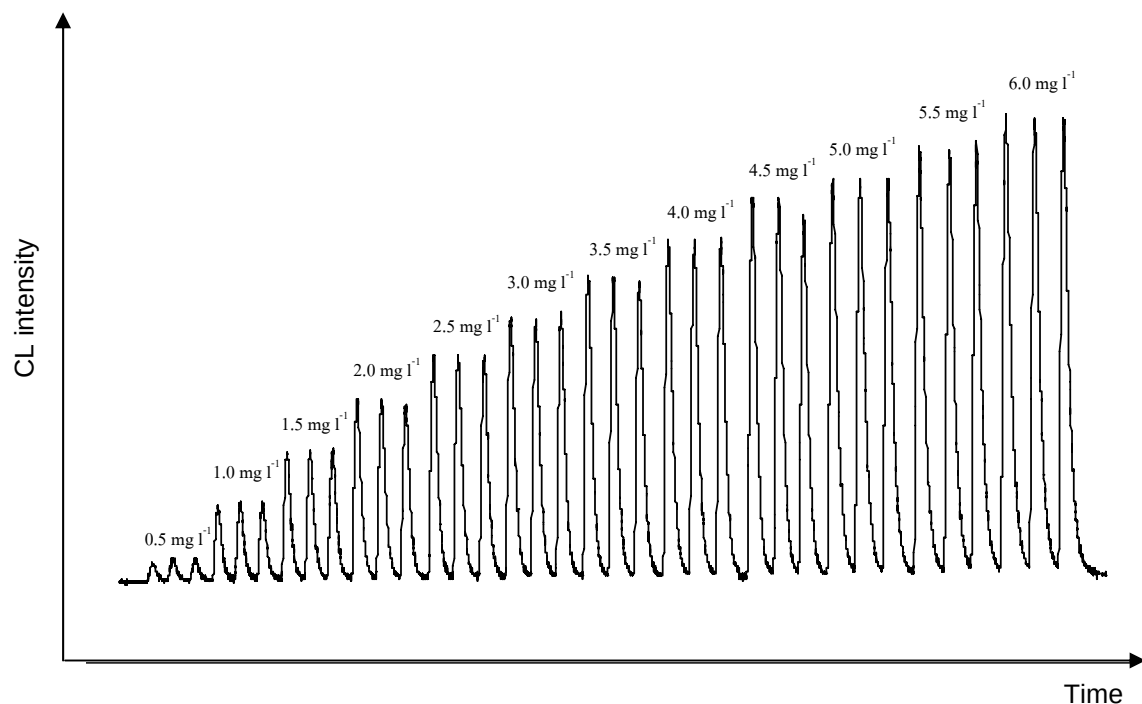


รูป 4.15 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยเทคนิค PFI-CL

จะสังเกตได้ว่ากราฟความสัมพันธ์ของความสูงของพีคสัญญาณที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนซ์ไม่เป็นเส้นตรง แต่มีแนวโน้มเป็นเส้นโค้งที่มีความสัมพันธ์ตามสมการพหุนามอันดับ 2 (polynomial second order) โดยมีสมการความสัมพันธ์คือ $y = -0.0603x^2 + 3.623x - 1.1909$ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัย^[55] ที่กล่าวว่ากราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หิมักจะเป็นเส้นโค้ง แต่อย่างไรก็ตามจากรูป 3.15 อาจพอกล่าวได้ว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ด้วยเทคนิค PFI-CL อยู่ในช่วงความเข้มข้น 1.0-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อสร้างกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ระหว่างสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ (mV) กับความเข้มข้นของซัลไฟต์ในหน่วยมิลลิโวลต์ พบว่ากราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์ดังสมการ $y = 3.10x - 0.897$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9913 ดังแสดงในรูป 3.16 โดยลักษณะตัวอย่าง PFI-CL gram ที่ได้แสดงดังรูป 3.17



รูป 3.16 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยระบบ PFI-CL



รูป 3.17 ตัวอย่าง PFI-CL แกรมของซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

3.2.2.2 การศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวน

การหาอิทธิพลจากไอออนรบกวนที่สำคัญและพบได้ในตัวอย่างอาหารหมักดอง อาทิ เช่น ไอออนรวมของเกลือ โลหะหนัก สารอินทรีย์บางชนิด ที่ใช้ในกระบวนการหมักดอง สามารถทำได้โดยการนำสารละลายซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าเครื่อง PFI-CL เพื่อให้เป็นพีคมาตรฐานเปรียบเทียบ จากนั้นนำสารละลายอีก 1 ขวดที่ประกอบไปด้วยสารละลายซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรผสมกับสารละลายมาตรฐานของไอออนรบกวนที่จะศึกษา 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (อัตราส่วน 1:1) มาฉีดเข้าไปในระบบ PFI-CL เพื่อเปรียบเทียบพีคสัญญาณที่ได้กับพีคมาตรฐานเปรียบเทียบ หากพบว่าพีคสัญญาณจากสารละลายผสมมีความสูงหรือต่ำกว่า 50 % จะถือว่าเกิดการรบกวน โดยจะเพิ่มความเข้มข้นของไอออนรบกวนขึ้น โดยจะทำการทดลองเช่นเดิมแต่เปลี่ยนอัตราส่วนไอออนรบกวนเป็น 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000 ตามลำดับ ซึ่งผลของไอออนรบกวนที่มีอัตราส่วนที่ทำให้เกิดการรบกวนต่อพีคสัญญาณของการวิเคราะห์แสดงดังตาราง 3.7

ตาราง 3.7 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⁺

จากผลการศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวนที่สามัญซึ่งมีผลต่อความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ในการวิเคราะห์ซัลไฟต์ ด้วยเทคนิค PFI-CL เช่น I⁻, S²⁻, Mn²⁺, Fe³⁺ จะมีผลทำให้ความเข้มของแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ลดลง เนื่องจากไอออนเหล่านี้เป็นตัวออกซิไดส์หรือตัวรีดิวส์ที่แรง จึงมีสมบัติในการเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง โดยเข้าไปแย่งทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างหรือเปอร์แมงกาเนตไอออน ทำให้สัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ลดลง ส่วนไอออน Cl⁻, กลูโคส, ซูโครส, เอทานอล และกรดแอสคอร์บิก แม้ว่าจะมีอยู่ปะปนที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ ก็ไม่มีผลต่อการวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของซัลไฟต์ด้วยเทคนิค PFI-CL ที่ได้พัฒนาขึ้น

3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง

3.2.3.1 วิธีการหาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่าง

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

โดยขั้นตอนการเก็บตัวอย่างอาหารประเภทหมักดอง เช่น หน่อไม้ดอง หัวผักกาดดอง และซิงหั่นฝอย ซึ่งคาดว่าจะพบปริมาณซัลไฟต์ที่เป็นสารปนเปื้อนในอาหาร จะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยระบบเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน (PFI-CL) โดยในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างอาหารหมักดองจากตลาดแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

วิธีการเก็บรักษา โดยนำอาหารประเภทหมักดองเก็บไปไว้ในที่อุณหภูมิที่ประมาณ 4 องศา โดยตัวอย่างต้องทำการวิเคราะห์ทันทีเพื่อป้องกันการสูญเสียซัลไฟต์หรือทดลองอย่างรวดเร็วที่สุด โดยทำการวิเคราะห์เฉพาะส่วนที่เป็นน้ำเท่านั้น

3.2.3.2 การหาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่าง

การทดลองโดยหาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารประเภทหมักดอง ในส่วนที่เป็นน้ำหน่อไม้ดอง ผักกาดดองและซิงหั่นฝอย โดยใช้ปริมาตรน้ำตัวอย่าง 0.025 0.125 และ 2.5 มิลลิลิตรตามลำดับ เติมน้ำในขวดปริมาตร 25 มิลลิลิตร และปรับด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน (PFI-CL) ที่พัฒนาขึ้น ซึ่งได้ผลการศึกษาค้นคว้าได้ผลดังตาราง 3.8

ตาราง 3.8 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
ซิงหั่นฝอย	10	22.7 $\pm$ 0.3	20.7 $\pm$ 0.2

3.2.3.3 การหาค่าร้อยละการกลับคืน

การหาค่าร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์สามารถหาได้จากการเปรียบเทียบผลที่จากวิธีการเติมสารมาตรฐานกับวิธีกราฟมาตรฐาน(ภาคผนวก ข) พบว่าในตัวอย่างน้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และ ซิงหั่นฝอย มีค่าร้อยละการกลับคืน ดังตาราง 3.9

ตาราง3.9 ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมน้ำในตัวอย่าง (mg l^{-1})		ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้	ความเข้มข้นที่กลับคืน	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
ชิงหันฝอย	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 น้ำหน่อบั๊ตตอง น้ำผักกาดตอง ชิงหันฝอย มีค่าเท่ากับ 95.2, 95.8 และ 96.4 ตามลำดับ

3.2.3.4 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือ PFI-CL

การหาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือ เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ ทำได้โดยการนำสารมาตรฐานซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ ในช่วง 0.1- 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ PFI-CL เพื่อสังเกตความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจพบพีคสัญญาณได้โดยเทคนิค PFI-CL ที่พัฒนาขึ้น โดยพิจารณาจากความสูงของพีคสัญญาณ เทียบกับพื้นหลังพบว่า ได้ผลดังตาราง 3.10

ซึ่งแม่น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม^[60] ได้กล่าวว่า ขีดจำกัดของการตรวจหา หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ทำการวิเคราะห์ซึ่งสามารถให้สัญญาณเป็น 2 หรือ 3 เท่าของพื้นหลังหรือสัญญาณรบกวน ซึ่งจากตาราง 3.10 ผลของขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือในระบบออนไลน์ พบว่า ใน PFI-CL ความเข้มข้นของซัลไฟต์ที่ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้สัญญาณที่สูงกว่าพื้นหลัง (back ground) เท่ากับ 2 เท่า ดังนั้นความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงเป็นขีดจำกัดต่ำสุดของการ

วิเคราะห์ และทำให้สามารถกล่าวได้ว่าวิธี PFI-CL ที่พัฒนาขึ้นไม่สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่ต่ำกว่า 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรได้

ตาราง 3.10 ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือของกระบวนการวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI-CL

ความเข้มข้นของซัลไฟด์ (mg l ⁻¹)	Signal-to-noise ratio
	วิธี PFI-CL
0.1	1.50
0.2	2.00
0.3	3.00
0.4	6.00
0.5	8.20

3.2.4 การทดลองเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์โดยวิธีหยุดการไหลชั่วคราว (Stop flow mode)

การศึกษาวิธี stop flow เป็นการศึกษาทางจลศาสตร์ที่ต้องการศึกษาอัตราการเก็บกักสารตัวอย่างที่สนใจดังมีรายงานการวิจัย ที่ศึกษาปริมาณสารหนู^[56] ฟลูออไรด์^[57] ฟีนอล^[58-59] โดยทำเพื่อจะนำไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ โดยคาดหวังว่าจะลดขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ได้ โดยการนำมาใช้กับการศึกษาประเภทระบบเพอร์วาพอร์ชันจะต้องมีการเก็บกักสารที่ระเหยไวให้ทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวรับโดยให้ทำปฏิกิริยากันอยู่ไว้บริเวณ acceptor chamber ดังนั้นจึงมีความสนใจที่ต้องการทดลองกักเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไว้เพื่อเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์

แต่จากผลการทำ stop flow นั้นพบว่าไม่สามารถทำการกักเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ได้ โดยพบว่าเมื่อให้ระยะเวลาผ่านไป พบว่าสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์มีค่าลดลง เนื่องจากสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เกิดการสลายตัวไปเมื่อปล่อยไว้ระยะเวลานานๆ โดยเกิดจากการที่ซัลไฟด์เป็นตัวออกซิไดส์ทำให้เกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนทำให้เปลี่ยนเป็นซัลเฟตแทน ดังนั้นต้องทำการฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ทันทีเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นในการทดลองการเก็บกักกับสารซัลไฟด์จึงไม่สามารถที่จะเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตามที่คาดหวังไว้ได้

3.3 การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักดองโดยวิธีดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารกราฟี (DPP)

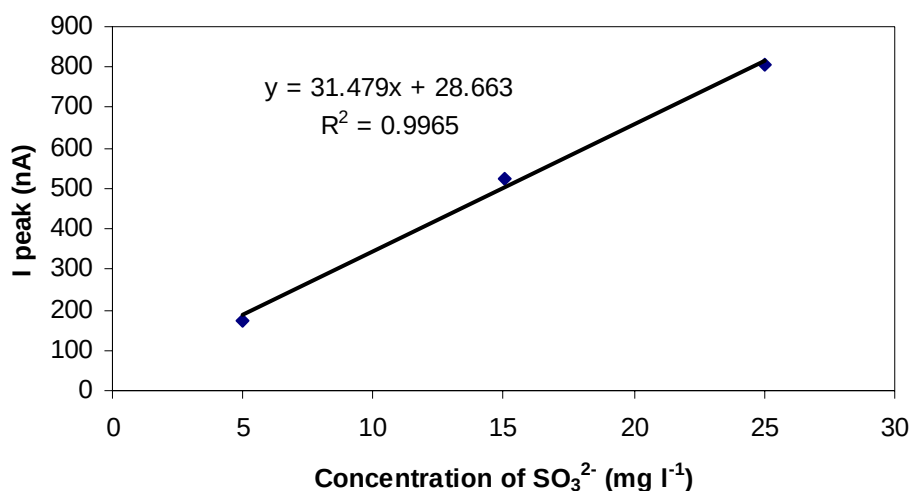
การทดลองเพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์แบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอร์ชันโพลีอินเจกชันที่ได้พัฒนาขึ้นทำได้โดยใช้วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ซัลไฟต์ในอาหารของ AOAC โดยเทคนิคดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารกราฟี เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับผลการทดลองจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI-CL โดยในการทดลองได้ใช้สภาวะที่กล่าวไว้ข้างต้น

3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของวิธีดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารกราฟี (DPP)

เมื่อนำสารละลายซัลไฟต์ ความเข้มข้น 5.0, 15.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาวัดค่ากระแสจากการแพร่ด้วยเครื่องดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารกราฟี ได้กระแสดังตาราง 3.11 และสามารถนำมาสร้างกราฟมาตรฐานได้ ดังรูป 3.18 โดยมีสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง คือ $y = 31.479x - 28.663$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9965

ตาราง 3.11 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธีดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารกราฟี (DPP)

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



รูป 3.18 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยวิธีเทคนิคดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารกราฟี

3.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในอาหารหมักดอง

นำตัวอย่างน้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และซิงหั่นฝอยที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการกลั่นด้วยกรด (acid distillation) มาเจือจางด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ มาวัดค่ากระแสการแพร่ของสารละลายตัวอย่างทั้งสาม จากนั้นนำค่ากระแสของสารตัวอย่างที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่าได้ผลดังตาราง 3.12

ตาราง 3.12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในอาหารด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารोगราฟี

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
ซิงหั่นฝอย	109.41	2.565	10	25.65±2.5

ซึ่งเมื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับ ผลที่ได้จากวิธี PFI-CL ที่ได้พัฒนาขึ้น พบว่าได้ผลดังตาราง 3.13 แสดงผลการทดลองที่ได้จากสองวิธี โดยจากวิธีเพอร์วาพอเรชัน (PFI-CL) และวิธีดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์โพลารोगราฟี (DPP) ผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเทคนิคนี้มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อพิจารณาจากค่า t-value

ตาราง 3.13 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
ซิงหั่นฝอย	22.7±0.3	25.6±2.6	1.921

บทที่ 4

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการวิจัย

ในการวิจัยนี้ได้เสนอผลการศึกษการพัฒนาวิธีการแยกแบบออนไลน์ (on-line) ชนิดเพอวาพอร์ชันโฟลอินเจคชัน (PFI) ที่มีระบบการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ ซึ่งเป็นอีกหนึ่งวิธีที่สามารถพัฒนาเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิสให้มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์เพิ่มสูงขึ้นเพื่อให้สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้ในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ซึ่งการศึกษาทางโฟลอินเจคชันอะนาลิซิสจะต้องมีการควบคุมการแพร่ ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญในการวิเคราะห์ตัวอย่าง โดยต้องการให้ได้การตรวจวัดเกิดขึ้นในสถานะที่ควบคุมได้และในการเกิดปฏิกิริยาขึ้นในระหว่างการผสมโดยการแพร่นั้นจะทำให้ความสูงของพีคสูงขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อปฏิกิริยาได้ดำเนินจนถึงจุด ๆ หนึ่ง จะได้ค่าการตอบสนองที่สูงที่สุดของปฏิกิริยานั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการนำเอาระบบการแยกสารแบบออนไลน์มาใช้ร่วมกัน เนื่องจากมีผลของการถ่วงมวลมาเกี่ยวข้องอีกขั้นตอนหนึ่งของการตรวจวิเคราะห์

ในการวิเคราะห์ระบบโฟลอินเจคชันนั้นตัวแปรที่สำคัญที่มีผลต่อการแพร่ของสารตัวอย่างทางกายภาพ เช่น อัตราการไหล ความเข้มข้นของสารที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ในการฉีด เป็นต้น ตัวอย่างเช่นปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ในการฉีด ถ้าเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่าง ในการวิเคราะห์โดยวิธีโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส พบว่าไม่มีการเปลี่ยนตำแหน่งที่พบสัญญาณในการวิเคราะห์แต่เวลาที่ทำการวิเคราะห์ในแต่ละตัวอย่างจะมีการเปลี่ยนแปลงไปหากปริมาตรสารตัวอย่างเพิ่มขึ้นก็จะพบว่าความกว้างของสัญญาณจะเพิ่มขึ้นด้วย แต่ถ้าในการศึกษา นั้น ๆ มีการใช้ปริมาตรสารตัวอย่างในปริมาตรที่สูงมากจะพบว่าสัญญาณของโฟลอินเจคชันจะไม่มีลักษณะเป็นพื้นราบแทน ซึ่งผลจากการเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่างนี้ยังพบว่าค่าการกระจายตัวของสารละลายจะมีค่าลดลงแต่ความกว้างของสัญญาณจะเพิ่มขึ้น ซึ่งภายหลังจากการทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ด้วยระบบออนไลน์ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารประเภทหมักดอง เพื่อศึกษาศักยภาพของระบบออนไลน์ได้

ภายหลังการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับระบบการแยกแบบออนไลน์ของระบบและภายใต้สภาวะดังกล่าว สามารถทำการศึกษาปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารประเภทหมักดองชนิดต่างๆ เช่น หน่อไม้ดอง หัวผักกาดดอง และซิงหั่นฝอยได้

การศึกษาการวิเคราะห์ด้วยระบบออนไลน์ พบว่าวิธี PFI-CL ซึ่งจะอาศัยการแยกก๊าซตัวอย่างให้แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยไม่สัมผัสกับเยื่อโดยตรงทำให้ระยะเวลาอายุการใช้งานของเยื่อเลือกผ่านใช้ได้นานกว่า ทำให้ไม่ต้องเปลี่ยนเยื่อเลือกผ่านบ่อย และสามารถหาคุณลักษณะเฉพาะของวิธีการวิเคราะห์ที่ได้ดังตาราง 4.1

ตาราง 4.1 คุณลักษณะเฉพาะของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเพอร์วาพอร์ชันโฟลอินเจกชัน

คุณลักษณะเฉพาะ	ผลที่ได้จากวิธี PFI-CL
ช่วงความเป็นเส้นตรง ความแม่นยำในการวิเคราะห์	0.5-6 มิลลิกรัมต่อลิตร %RSD เท่ากับ 2.76
ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์	0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร
ความเร็วในการวิเคราะห์	30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง
ความคงทนของเยื่อเลือกผ่าน	ประมาณ 14 วัน
ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟต์	ร้อยละ 91-104

ส่วนในการศึกษาผลจากไอออนรบกวนที่สำคัญซึ่งมีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ ได้แก่ Cl^- , glucose, sucrose, ethanol, ascorbic acid ไอออนเหล่านี้จะไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ ส่วนไอออน I^- , S^{2-} , Mn^{2+} , Fe^{3+} ในอัตราส่วน 1:1 จะมีผลต่อการวิเคราะห์แม้ว่ามีการเจือปนในระดับความเข้มข้นที่ต่ำ (Negative error) ซึ่งเกิดจากไอออนเหล่านี้เป็นตัวออกซิไดส์หรือตัวรีดิวซ์ที่แรง จึงมีสมบัติในการเข้าแย่งทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และเปอร์เมมกานเนตได้ทำให้รบกวนผลการวิเคราะห์

จากการทดลองปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition) ได้ปริมาณของซัลไฟต์ในตัวอย่างอาหารหมักดอง เช่น หน่อไม้ดอง ผักกาดดอง และขิงหนัฉลอย เท่ากับ $1,300.0 \pm 0.1$ 406.0 ± 0.4 และ 20.7 ± 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่าวิธีเติมสารมาตรฐานและวิธีการฟมาตรฐานให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกันมาก แต่การวิจัยโดยการเติมสารมาตรฐานจะมีความถูกต้องแม่นยำมากกว่า เพราะเป็นค่าที่ได้จากสารละลายที่มีเมทริกซ์คล้ายกัน ส่วนวิธีการฟมาตรฐานอาจมีความคลาดเคลื่อนบ้างเล็กน้อยเนื่องจากได้จากการเปรียบเทียบ แต่มีผลดีสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีปริมาณมาก ๆ

จากการทดลองหาปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีการฟมาตรฐานด้วยวิธีเพอร์วาพอร์ชัน ได้ปริมาณของซัลไฟต์ในตัวอย่างน้ำหน่อไม้ดอง เท่ากับ $1,317.6 \pm 5.8$ มิลลิกรัมต่อลิตร และได้

ปริมาณของซัลไฟต์ในตัวอย่างน้ำผักกาดดอง เท่ากับ 466.5 ± 1.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และซิงค์หน่อย เท่ากับ 22.7 ± 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับวิธีการหาปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธีดีฟเฟอเรนเชียล ฟอสโฟลาโรกราฟี จากการศึกษาหาความแตกต่างของข้อมูลที่ได้ทั้ง 2 วิธี ด้วยค่า t (t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และที่ระดับความเสรีเท่ากับ 4 เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่า t ในตารางแจกแจงแบบที โดยค่า t จากตารางแจกแจงแบบทีเท่ากับ 2.776 จากการคำนวณค่า t ของทั้งสามตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างน้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และซิงค์หน่อย มีค่า t เท่ากับ 0.5726, 0.3640 และ 1.9216 ตามลำดับ ซึ่งค่า t ที่คำนวณได้มีค่าไม่มากกว่าค่า t จากตาราง ดังนั้นค่าความเข้มข้นของซัลไฟต์ที่ตรวจพบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และเทคนิค PFI-CL ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ปริมาณที่อนุญาตให้ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้สารซัลไฟต์ โดยใช้ได้สูงสุดไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และอาหารที่ไม่ให้ใช้สารซัลไฟต์ คือ หน่อไม้ดอง และซิงค์หน่อย จากการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารทั้งสาม พบว่าค่าที่ได้มีปริมาณสูงเกินกว่าที่กำหนดไว้ อันเป็นผลเนื่องมาจากทางผู้ผลิต ได้มีการใช้สารซัลไฟต์ในปริมาณที่มากในการผลิต เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณลักษณะดีเชิญชวนให้น่าบริโภคและเก็บรักษาไว้ได้นาน อย่างไรก็ตามหากใช้สารกลุ่มนี้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นในฐานะผู้บริโภค ควรพิจารณาเลือกซื้ออาหารจากแหล่งที่ปลอดภัยและมีสภาพภายนอกที่ไม่มีสีสั่นจัดจ้านหรือขาวมากเกินไป หรือเมื่อซื้อมาบริโภคควรทำการล้างและแช่อาหารไว้เป็นเวลานาน ๆ เพื่อลดปริมาณซัลไฟต์ลง

จากการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธีการแยกแบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอร์ชันโฟลอินเจคชัน ร่วมกับการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ พบว่าเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้มีความไว ความถูกต้องและแม่นยำสูง สามารถวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็ว เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาถูก และที่สำคัญคือ สามารถวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ได้ตามที่ตั้งจุดมุ่งหมายไว้ก่อนทำการทดลอง นอกจากนี้ระบบแยกแบบออนไลน์ ยังสามารถประหยัดการใช้รีเอเจนต์ที่มีราคาแพงได้อีกด้วย โดยระบบการแยกแบบออนไลน์ที่พัฒนาขึ้นยังสามารถดัดแปลงใหม่เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์สารที่สนใจตัวอื่น ๆ ได้ตามความเหมาะสมของปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้น

4.2 ข้อเสนอแนะ

ในระบบการแยกแบบออนไลน์ชนิดเพอร์วาพอเรชันโฟลิดินเจคชัน (PFI) ร่วมด้วยการตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์นั้นเป็นระบบที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว มีสภาพไวสูง และมีคุณลักษณะในการวิเคราะห์พื้นฐานอยู่ในเกณฑ์ที่ดี แต่ในการวิเคราะห์ยังมีข้อเสียจากการทดลองมากอยู่ ซึ่งนอกจากระบบตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์แล้วอาจเลือกใช้เครื่องมือตรวจวัดทางไฟฟ้าเช่นเทคนิคแอมแปร์โรเมตรี มาช่วยในการวิเคราะห์เพื่อช่วยลดความซับซ้อนในระบบการตรวจวัดลง หรืออาจใช้ระบบไมโครโฟลอะนาไลซิส (μ TAS) หรือ แล็บออนชิพ (lab-on-chip) เพื่อลดการใช้งานสารเคมีให้น้อยลง ซึ่งย่อมจะช่วยให้มีข้อเสียจากการทดลองน้อยลง และขนาดของเครื่องมือหรือชิ้นส่วนที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมียังสามารถลดขนาดลงเหลือเพียงไม่กี่ตารางเซนติเมตร

จึงไม่แปลกที่พบว่าบทความวิจัยและความสนใจในการวิเคราะห์แบบโฟลิดินเจคชันอะนาไลซิสในปัจจุบัน จึงมีเพิ่มขึ้นอย่างมาก และเป็นที่แพร่หลายในวงการวิทยาศาสตร์แขนงต่างๆ ดังนั้นจึงอาจคาดหมายได้ว่าการวิเคราะห์แบบโฟลิดินเจคชันอะนาไลซิสจะมีบทบาทสำคัญต่อการวิเคราะห์สารตัวอย่างประเภทต่าง ๆ ต่อไป ในสภาพปัจจุบันและในอนาคตอันใกล้

เอกสารอ้างอิง

1. วิรัช เรืองศรีตระกูล. 2548, **โฟลอินเจคชันที่ใช้การตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์สำหรับการวิเคราะห์เภสัชภัณฑ์**. ขอนแก่น: ภาควิชาเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
2. J. Ruzicka and E. H. Hansen, 1988, *Flow Injection Analysis*, 2nd ed., Wiley, New York.
3. E. H. Hansen, **30 years of flow injection analysis-And passing the torch**, *Anal. Chim. Acta*, 600 (2007) 4.
4. เกตุ กรุดพันธ์, 2539, **เทคนิคการวิเคราะห์ Flow Injection Analysis**. วารสารการไฟฟ้าแห่งประเทศไทย. 5 : 29-40,
5. Flowinstrument. no date . **Flow injection analysis**. [online]. Available <http://www.flowinstrument.com>. (November 20, 2007).
6. Informavorld. no date. **On-line separation**. (online).Available <http://www.informavorld.com> (November 20, 2007)
7. Globalfia, no date . **Gas diffusion**. (online).Available <http://www.globalfia.com> (November 20, 2007).
8. H. Baadenhuijsen and H.E.H. Seuren- Jacobs, **Determination of total CO₂ in plasma by automated flow-injection analysis**, *Clin. Chem.*, 25 (1979) 443.
9. สุเมธ บุญเกิด. ม.ป.ป. **การแยกสารโดยวิธี Pervaporation**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.gpo.or.th> . (20 พฤศจิกายน 2550)
10. เกตุ กรุดพันธ์, 2539, **เอกสารประกอบการประชุมปฏิบัติการเคมีเชิงวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ**. เชียงใหม่: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
11. E. N. Harvey, 1957, **A History of Luminescence from the Earliest Time until 1900**, The American Philosophical Society, Philadelphia.
12. L. L. Zamora, Y. F. Mestre, M. J. D. Duarte, G. M. A. Fos, R. G. Domenech, J. G. Alvarez and J. M. Calatayud, **Prediction of the chemiluminescent behavior of pharmaceuticals and pesticides**, *Anal. Chem.*, 73 (2001) 4301.

13. A. A. Alwarthan and A. Townshend, **Chemiluminescence determination of bufrenorphine hydrochloride by flow injection analysis**, *Anal. Chim. Acta*, 185 (1986) 635.
14. A. M. Garcia-Campana, W.R.G. Baeyens, 2001, **Chemiluminescence in Analytical Chemistry** , *Marcel Dekker*.
15. เวนิกา เบ็ญจพงษ์.ม.ป.ป. **สารฟอกขาวในอาหาร**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://wave.prohosting.com> (20 พฤศจิกายน 2550)
16. FDA. no date . **Prescription drugs containing sulfite**. [online]. Available <http://accessdata.fda.gov>. (April 1,2008)
17. กรมควบคุมมลพิษ. ม.ป.ป. **ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์ (MSDS)**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://msds.pcd.go.th>. (20 พฤศจิกายน 2550)
18. ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์.ม.ป.ป. **Disodium sulfite**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://chemtrack.trf.or.th>. (20 พฤศจิกายน 2550)
19. ศูนย์ข้อมูลวิทยา.ม.ป.ป. **สารฟอกสีอันตราย**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.webdb.msds.pcd.go.th>. (20 พฤศจิกายน 2550)
20. หมอชาวบ้าน. ม.ป.ป. **สารฟอกขาวในอาหาร**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.doctor.or.th>. (20 พฤศจิกายน 2550)
21. Association of Official Analytical Chemists. 1990. **Official Methods of Analysis: Food Composition, Additives, Natural Contaminants**, 15th ed., AOAC, Virginia.
22. S. S. M. Hassan , M. S. A. Hamza and A. H. K. Mohamed, **A novel spectrophotometric method for batch and flow injection determination of sulfite in beverages**, *Anal. Chim. Acta*, 570 (2006) 232.
23. M. Zhao, D. B. Hibbert and J. J. Gooding, **Determination of sulfite in beer samples using an amperometric fill and flow channel biosensor employing sulfite oxidase**, *Anal. Chim. Acta*, 556 (2006) 195.
24. I. G. Casella and R. Marchese, **Sulfite oxidation at a platinum glassy carbon electrode determination of sulfite by ion exclusion chromatography with amperometric detection**, *Anal. Chim. Acta*, 311 (1995) 199.
25. J. S. Redinha, C. Paliteiro and J. L. C. Pereira, **Determination of sulfide by square-wave polarography**, *Anal. Chim. Acta*, 351 (1997) 115.

26. C. Giuriati , S. Cavalli , A. Gorni , D. Badocco and P. Pastore, Ion chromatographic determination of sulfide and cyanide in real matrices by using pulsed amperometric detection on a silver electrode, *J. Chromatogr. A*, 1023 (2004) 105.
27. G. Jankovskiene, Z. Daunoravicius and A. Padarauskas, Capillary electrophoretic determination of sulfite using the zone-passing technique of in-capillary derivatization, *J. Chromatogr. A*, 934 (2001) 67.
28. A. Isaac, C. Livingstone, A. J. Wain, R.G. Compton and J. Davis, Electroanalytical methods for the determination of sulfite in food and beverages, *Anal. Chem.*, 25 (2006) 589.
29. A. Safavi, O. Moradlou and S. Maesum, Flow injection analysis of sulphite by gas-phase molecular absorption UV/VIS spectrophotometry, *Talanta*, 62 (2004) 51.
30. O. Fatibello - Filho and I. da Cruz Vieira, 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 (1997) 51.
31. S. S. M. Hassan , S. A. Marei , I. H. Badr and H. A. Arida, Flow injection analysis of sulfite ion with apotentiometric titanium phosphate–epoxy based membrane sensor, *Talanta*, 54 (2001) 773.
32. H. Meng, F. Wu, Z. He and Y. Zeng, Chemiluminescence determination of sulfite in sugar and sulfur dioxide in air using Tris(2,2%-bipyridyl)ruthenium(II)-permanganate system, *Talanta*, 48 (1999) 571.
33. F. Wu, Z. He, H. Meng and Yun'e Zeng, 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 (1998) 2109.
34. Z. He, F. Wu, H. Meng, L. Yuan, G. Song and Y. Zeng, 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 (1998) 737.
35. W. Qin, Z. Zhangb, and C. Zhang, Chemiluminescence flow system for the determination of sulfite, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 361 (1998) 824.

36. Z. He, F. Wu, H. Meng, L. Yuan, Q. Luo and Y. Zeng, Chemiluminescence determination of sulfur dioxide in air using tris(1,10-Phenanthroline) ruthenium- KIO_4 system, *Anal. Lett.*, **32** (1999) 401.
37. Y. Huang, C. Zhang, X. Zhang and Z. Zhang, Chemiluminescence of sulfite based on auto-oxidation sensitized by rhodamine 6G, *Anal. Chim. Acta*, **391** (1999) 95.
38. N.T.K. Thanh, L.G. Decnop-Weever and W.T. Kok, Determination of sulphite in wine by flow injection analysis with indirect electrochemical detection, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **349** (1994) 469.
39. J. Carinhonha, C. Santos and M. Korn, Exploiting sulphide generation and gas diffusion separation in a flow System for indirect sulphite determination in wines and fruit juices, *Microchim. Acta*, **153** (2006) 87.
40. L.G. Decnop-Weever and J.C. Kraak, Determination of sulphite in wines by gas diffusion flow injection analysis utilizing spectrophotometric pH-detection, *Anal. Chim. Acta*, **337** (1997) 125.
41. C.S. Tavares Araujo, J. Lira de Carvalho, D. Ribeiro Mota, C.L. de Araujo and N.M.M. Coelho, Determination of sulphite and acetic acid in foods by gas permeation flow injection analysis, *Food Chem.*, **92** (2005) 765.
42. R. L. Bonifácio and N. Coichev, 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** (2004) 125.
43. J. M. Lin and T. Hobo, Flow-injection analysis with chemiluminescent detection of sulphite using $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3\text{-Cu}^{2+}$ system, *Anal. Chim. Acta*, **323** (1996) 69.
44. X. Su, W. Wei, L. Nie and S. Yao, 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** (1998) 221.
45. J. L. Adcock, P. S. Francis and N. W. Barnett, Acidic potassium permanganate as a chemiluminescence reagent-A review, *Anal. Chim. Acta*, **601** (2007) 36.

46. H. Sulistyarti, T. J. Cardwell, M.D. L. Castro and S. D. Kolev, **On-line determination of cyanide in the presence of sulfide by flow injection with pervaporation**, *Anal. Chim. Acta*, **390** (1999) 133.
47. N. W. Barnett, B. J. Hindson, P. Jones and T.A. Smith, **Chemically induced phosphorescence from manganese(II) during the oxidation of various compounds by manganese (III), (IV) break and (VII) in acidic aqueous solutions**, *Anal. Chim. Acta*, **451** (2002) 181.
48. S. Satienperakul, T. J. Cardwell, S. D. Kolev, C. E. Lenehan and N. W. Barnett, **A sensitive procedure for the rapid determination of arsenic(III) by flow injection analysis and chemiluminescence detection**, *Anal. Chim. Acta*, **554** (2005) 25.
49. N. Anastos, N. W. Barnett, B. J. Hindson¹, C. E. Lenehan and S. W. Lewis, **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** (2004) 130.
50. N. W. Barnett, B. J. Hindson and S. W. Lewis, **Determination of 5-hydroxytryptamine (serotonin) and related indoles by flow injection analysis with acidic potassium permanganate chemiluminescence detection**, *Anal. Chim. Acta*, **362** (1998) 131.
51. N. W. Barnett, B. J. Hindson, S. W. Lewis, P. Jones and P. J. Worsfold, **Soluble manganese(IV); a new chemiluminescence reagent**, *Analyst*, **126** (2001) 1636.
52. D. Nacapricha, P. Sangkarn, C. Karuwan, T. Mantim, W. Waiyawat, P. Wilairat, T. Cardwell, I.D. McKelvie and N. Ratanawimarnwong, **Pervaporation-flow injection with chemiluminescence detection for determination of iodide in multivitamin tablets**, *Talanta*, **72** (2007) 626.
53. Y. Ma, M. Zhou, X. Jin, B. Zhang, H. Chen and N. Guo, **Flow-injection chemiluminescence determination of ascorbic acid by use of the cerium (IV)–Rhodamine B system**, *Anal. Chim. Acta*, **464** (2002) 289.
54. H. Chen, M. Zhou, X. Jin, Y. Song, Z. Zhang and Y. Ma, **Chemiluminescence determination of ultramicro DNA with a flow-injection method**, *Anal. Chim. Acta*, **478** (2003) 31.

55. K. Mervartova , M. Polasek and J. M. Calatayud, **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** (2007) 114.
56. T. Rupasinghe , T. J. Cardwell, R. W. Cattrall , I.D. Potter and S. D.Kolev, **Determination of arsenic by pervaporation-flow injection hydride generation and permanganate spectrophotometric detection**, *Anal. Chim. Acta*, **510** (2004) 225.
57. I. Papaefstathiou, M.T. Tena and M.D.L. Castro, **On-line pervaporation separation process for the potentiometric determination of fluoride in “dirty” samples**, *Anal. Chim. Acta*, **308** (1995) 246.
58. S. Y. Sheikheldin, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, M. D. Luque de Castro and S. D. Kolev, **Determination of phenol in water by pervaporation-flow injection analysis**, *Anal. Chim. Acta*, **419** (2000) 9.
59. S. Satienperakul, S. Y. Sheikheldin , T. J. Cardwell, R.W. Cattrall, M. D. Luque de Castro , I. D. McKelvie and S. D.Kolev, **Pervaporation-flow injection analysis of phenol after on-line derivatisation to phenyl acetate**, *Anal. Chim. Acta*, **485** (2003) 37.
60. แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. 2534. **หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ**. กรุงเทพฯ: ชวนพิมพ์.

ภาคผนวก

ผลงานตีพิมพ์ที่เป็นผลเกี่ยวข้อที่เกิดจากโครงการวิจัย

Research article

1. Sakchai Satienperakul, Pornthana Phongdong and Saisunee Liawruangrath, Pervaporation flow injection analysis for the determination of sulphite in food samples utilising potassium permanganate-rhodamine B chemiluminescence detection, *Food Chemistry*, 2010, **121**(3) : 893-898. Impact Factor 2.696
2. Lori Shayne T. Alamo, Tanin Tangkuaram and Sakchai Satienperakul, Determination of Sulfite by pervaporation flow Injection with amperometric detection using copper hexacyanoferrate-carbon nanotube modified carbon paste electrode, *Talanta*. 2010, **81** : 1793–1799. Impact factor: 3.206

Conference paper

1. Sakchai Satienperakul, Saisunee Liawruangrath, Terence J. Cardwell, Novel chemiluminescence flow-injection analysis for the determination of sulphide in aqueous samples, *Luminescence*, 2006, **21**(5) : 290-291, Impact factor 1.317