



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: อุปกรณ์รื่องขนาดเล็ก: หลักการใหม่และประหยัด
เพื่องานวิเคราะห์ทางเคมีอาศัยหลักการไหลแบบอัตโนมัติ

โดย ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

เดือน ปี ที่เสร็จโครงการ: กรกฎาคม 2552

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: อุปกรณ์ร่องขนาดเล็ก: หลักการใหม่และประหยัด
เพื่องานวิเคราะห์ทางเคมีอาศัยหลักการไหลแบบอัตโนมัติ

ผู้วิจัย

ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

บทคัดย่อ.....	1
Abstract	2
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary).....	3
รายละเอียดโครงการวิจัย	
ก การใช้อุปกรณ์ร่องขนาดเล็กร่วมกับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมีย.....	5
1 บทนำ.....	5
2 วิธีดำเนินการ.....	7
3 อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	9
4 สรุปผลการทดลอง.....	11
ข การใช้อุปกรณ์ร่องขนาดเล็กร่วมกับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์.....	12
1 บทนำ.....	12
2 วิธีดำเนินการ.....	15
3 อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	16
4 สรุปผลการทดลอง.....	23
เอกสารอ้างอิง.....	25
Outputs ที่ได้จากโครงการ.....	27
ภาคผนวก.....	29

โครงการ: อุปกรณ์ร่อนขนาดเล็ก: หลักการใหม่และประหยัดเพื่องานวิเคราะห์ทางเคมี อาศัยหลักการไหลแบบอัตโนมัติ

ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

โครงการนี้ ได้พัฒนาหลักการใหม่ ซึ่งใช้อุปกรณ์ที่ภายในเซาะเป็นร่อนขนาดเล็ก (ในระดับมิลลิเมตร) 2 แบบ เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลว อุปกรณ์แบบที่ 1 ใช้สำหรับสารตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบ และ อุปกรณ์แบบที่ 2 ใช้ร่วมกับเยื่อเลือกผ่านแบบที่ยอมให้แก๊สแพร่ผ่านได้เพื่อนำไปใช้กับงานวิเคราะห์ที่ต้องการความจำเพาะเจาะจงสูง โดยนำแบบที่ 1 ไปใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและครีอาตินินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยที่เป็นโรคธาลัสซีเมียซึ่งได้รับการบำบัดโดยการรับประทานครีอาตินิน เพื่อใช้วินิจฉัยว่ามีการขับเหล็กออกมาในปัสสาวะได้มากน้อยเพียงใด และ นำแบบที่ 2 ไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ผลิตภายในประเทศ เพื่อประโยชน์ในแง่ของการควบคุมคุณภาพและเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค

ขั้นตอนในการตรวจวัดหาปริมาณเหล็กและครีอาตินินนั้น ใช้ปฏิกิริยาระหว่างเหล็กกับ 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino) aniline (5-Br-PSAA) แล้วติดตามค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ 580 นาโนเมตร ส่วนการตรวจวัดครีเอตินิน อาศัยการติดตามค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างครีเอตินินกับ picric acid ที่ 520 นาโนเมตร ส่วนการตรวจวัดเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ ใช้ปฏิกิริยาระหว่างอะซีทัลดีไฮด์กับสารละลายผสมของมอร์โฟลีนกับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร สำหรับอะซีทัลดีไฮด์สามารถตรวจวัดได้โดยตรง ส่วนการตรวจวัดเอทานอลจะต้องเปลี่ยนเอทานอลโดยใช้โพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนตให้เป็นอะซีทัลดีไฮด์ก่อน

ผลจากการศึกษา พบว่า สามารถนำหลักการที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและครีอาตินินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่รับประทานครีอาตินินได้เป็นอย่างดี โดยช่วงความเข้มข้นของเหล็กและครีเอตินินที่วิเคราะห์ได้ คือ 1 ถึง 25 mg/L และ 50 ถึง 1,000 mg/L ตามลำดับ ข้อดีของหลักการที่พัฒนาขึ้นนี้ คือ ช่วยให้นำส่งสารตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการตรวจวัดเข้าสู่ระบบได้ภายในคราวเดียวกันและใช้ปริมาณน้อยมาก ทำให้ประหยัดสารที่ใช้ อีกทั้งใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่นาน ในทำนองเดียวกัน ก็พบว่า สามารถนำหลักการที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ได้ โดยช่วงความเข้มข้นของเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ที่วิเคราะห์ได้ คือ 10 ถึง 50 % และ 1 ถึง 5 mM ตามลำดับ หลักการแบบใหม่นี้ ส่งผลดีต่อการวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ คือ เมื่อนำอุปกรณ์ร่อนขนาดเล็กไปใช้ร่วมกับเยื่อเลือกผ่านแบบที่ยอมให้แก๊สแพร่ผ่านได้เท่านั้น ช่วยทำให้ระบบมีความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น อีกทั้งยังประหยัดสารเคมีที่ใช้ ทำให้ผลผลิตของเสียน้อยอีกด้วย

Micro-channel Device: A New and Low-cost Concept for Chemical Flow Analysis and Automation

**Nathawut Choengchan, Ph. D., Department of Chemistry, Faculty of Science,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang**

Abstract

In this work, a novel concept, using small acrylic devices, was developed for chemical analyses based on liquid flow-based technique. Two patterns of devices were employed. '*Pattern 1*' was designed for sample and reagents introduction to liquid flow system while '*pattern 2*' was exploited in corporation with gas permeable membrane for selective determination. Pattern 1 was applied to measurement of iron and creatinine in urine, collected from Thalassemia patients who were under treatment by iron excretion medicine. Pattern 2 was used for determination of ethanol and acetaldehyde in local alcoholic beverages for the sakes of food safety and quality control.

Detection reaction for iron is based on reaction of iron chelation reaction where complex between iron and 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino) aniline (5-Br-PSAA) is monitored at 580 nm. While for creatinine, a product, according to reaction between creatinine and picric acid was detected at 550 nm. For ethanol and acetaldehyde, similar detection reaction was used. Acetaldehyde can be directly measured by its reaction with mixture between morpholine and nitroprusside at 600 nm. However, for ethanol, prior oxidation with acidic permanganate to become acetaldehyde was necessary.

Results were indicated that the developed principle with pattern I device was applicable for determination of iron and creatinine in urine samples. Linearity ranges from 1 to 25 mg/L iron (as Fe(III)) and 50 to 1,000 mg/L creatinine were achieved. Advantages of this method are listed as the followings: (i) simultaneous loading of sample and reagents with minute volume (ii) low cost and (iii) rapid determination. Similar to the method for determination of iron and creatinine, the method using pattern II device for measurement of ethanol and acetaldehyde was effectively applied to alcoholic drinks. By means of pattern II device with gas permeable membrane, the method provided high selectivity. In addition, it also consumed small amount of reagent which can lead to minimize waste production.

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

วัตถุประสงค์ของโครงการนี้ คือ เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้อุปกรณ์ร่อนขนาดเล็ก 2 แบบ ร่วมกับเทคนิคที่อาศัยการไหลอย่างต่อเนื่องของของเหลว เพื่อนำไปประยุกต์ใช้สำหรับหาปริมาณเหล็กและครีอะตินินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาโดยการกินยาขับเหล็ก และ เพื่อหาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

ในการหาปริมาณเหล็กและครีอะตินิน ได้ออกแบบและจัดทำอุปกรณ์ร่อนขนาดเล็กแบบที่ 1 ซึ่งทำจากชิ้นงานอะคริลิก ภายในเจาะเป็นร่องตรง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร ใช้สำหรับนำส่งสารตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเข้าสู่ระบบภายในคราวเดียวกัน จากนั้นจึงนำอุปกรณ์ดังกล่าวไปใช้สร้างระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวและพัฒนาเป็นระบบอัตโนมัติ หลักการสำหรับตรวจวัดเหล็ก อาศัยปฏิกิริยาระหว่างเหล็กกับ 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino) aniline (5-Br-PSAA) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ 580 นาโนเมตร ส่วนการตรวจวัดครีอะตินิน อาศัยการติดตามค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินกับ picric acid ที่ 520 นาโนเมตร จากนั้น ได้ทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเมื่อใช้สภาวะดังกล่าว พบว่า ช่วงความเข้มข้นของเหล็กและครีอะตินินที่วิเคราะห์ได้ คือ 1 ถึง 25 mg/L และ 50 ถึง 1,000 mg/L ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.7 mg/L สำหรับเหล็ก และ 43 mg/L สำหรับครีอะตินิน จากนั้นจึงนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะทั้งแบบที่เป็นของคนปกติแต่เดิมเหล็กและครีอะตินินที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงไป และปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาโดยการรับประทานยาขับเหล็ก แล้วเปรียบเทียบปริมาณที่วิเคราะห์ได้ด้วยระบบที่นำเสนอ กับปริมาณที่วิเคราะห์ได้จากวิธีแบบเดิมที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล พบว่าปริมาณที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยวิธีของ Paired t-test ($t_{stat} = 0.57$, $t_{critical} = 0.98$ สำหรับการวิเคราะห์เหล็ก และ $t_{stat} = 0.97$, $t_{critical} = 1.48$ สำหรับการวิเคราะห์ครีอะตินิน) จึงกล่าวได้ว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำสูง

ในส่วนของการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์นั้น ได้ใช้อุปกรณ์ร่อนขนาดเล็กแบบที่ 2 ซึ่งทำจากชิ้นงานอะคริลิกเช่นเดียวกันแต่เจาะเป็นร่องขดแบบกันหอย แล้วนำอุปกรณ์แบบที่ 2 ไปใช้กับเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้โมเลกุลของแก๊สเท่านั้นที่แพร่ผ่านไปได้ เรียกรวมอุปกรณ์ทั้งสองชิ้นนี้ว่า แก๊สดีฟฟิวชันยูนิต จากนั้นได้นำแก๊สดีฟฟิวชันยูนิตนี้ไปใช้ร่วมกับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยหลักการไหลของของเหลวเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ การตรวจวัด ใช้ปฏิกิริยาระหว่างอะซีทัลดีไฮด์กับสารละลายผสมระหว่าง มอร์โฟลีนกับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร อะซีทัลดีไฮด์สามารถตรวจวัดได้โดยตรง ส่วนการตรวจวัดเอทานอลจะต้องเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นอะซีทัลดีไฮด์ก่อน โดยในโครงการนี้เลือกใช้โพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนตที่เตรียมในสารละลายกรดซัลฟิวริก ซึ่งพบว่าสามารถทำให้เอทานอลถูกออกซิไดส์เป็นอะซีทัลดีไฮด์ได้โดยที่ไม่กลายไปเป็นกรดอะซิติก ต่อมาได้ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของระบบ และพบว่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดนั้น ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของเอทานอลและอะ

ซีทลดีไฮด์ คือ 10 ถึง 50 % และ 1 ถึง 5 mM ตามลำดับ และสามารถนำระบบวิเคราะห์นี้ไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเครื่องต้มแอลกอฮอล์ได้ โดยที่เมื่อใช้ Paired t-test ผลวิเคราะห์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีมาตรฐานคือวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (อะซีทลดีไฮด์: $t_{\text{observed}} = 0.50$, $t_{\text{critical}} = 2.78$, เอทานอล: $t_{\text{observed}} = 0.62$, $t_{\text{critical}} = 2.78$) นอกจากนี้ วิธีที่พัฒนาขึ้นยังไม่ได้รับอิทธิพลจากตัวรบกวนอื่นๆ ที่อาจมีในตัวอย่างอีกด้วย วิธีที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้จึงมีความน่าเชื่อถือสูง

กล่าวโดยสรุปคือ โครงการนี้สามารถนำอุปกรณ์ร่องขนาดเล็ก มาพัฒนาเป็นหลักการใหม่สำหรับใช้ร่วมกับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยหลักการไหลของของเหลวอย่างต่อเนื่องได้เป็นอย่างดี เพราะสามารถดำเนินการวิเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และโดยการใช้อุปกรณ์ร่องขนาดเล็กแบบที่ 1 ช่วยให้นำส่งสารตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเข้าสู่ระบบได้พร้อมกันทำให้ใช้เวลานานในการวิเคราะห์ไม่นาน ส่วนการใช้อุปกรณ์ร่องขนาดเล็กแบบที่ 1 ช่วยให้การวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจงมากขึ้น

การใช้อุปกรณ์ร่อนขนาดเล็กร่วมกับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

1. บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคเลือดจางธาลัสซีเมีย (thalassaemia) เป็นโรคเลือดจางที่มีสาเหตุมาจากมีความผิดปกติทางพันธุกรรม ทำให้มีการสร้างโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของเม็ดเลือดผิดปกติ จึงทำให้เม็ดเลือดแดงมีอายุสั้นกว่าปกติ แดงง่าย ถูกทำลายง่าย ผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้จึงมีเลือดจาง โรคนี้พบได้ทั้งหญิงและชายปริมาณเท่าๆ กัน ถ่ายทอดมาจากพ่อและแม่ทางพันธุกรรมพบได้ทั่วโลก และพบมากในประเทศไทยด้วยเช่นกัน ประเทศไทยพบผู้ป่วยโรคนี้ร้อยละ 1 และพบผู้ที่มีพาหะนำโรคถึงร้อยละ 30-40 คือประมาณ 20-25 ล้านคน เมื่อพาหะแต่งงานกันและพบยีนผิดปกติร่วมกัน ก็อาจมีลูกที่เกิดโรคนี้ได้ ซึ่งประมาณการแล้วจะมีคนไทยเป็นมากถึง 500,000 คน โรคนี้ทำให้เกิดโลหิตจางโดยเป็นกรรมพันธุ์ของการสร้างเฮโมโกลบิน ซึ่งมีสีแดงและนำออกซิเจนไปเลี้ยงร่างกายส่วนต่างๆ ของร่างกาย

เฮโมโกลบินปกติประกอบด้วยสายโกลบินสองชนิด (แอลฟาและไมโซแอลฟา) ในอัตราส่วน 1:1 สายโกลบินปกติส่วนเกินจะตกค้างและสะสมอยู่ในเซลล์ในรูปของผลผลิตที่ไม่เสถียร ทำให้เซลล์เสียหายได้ง่าย ความไม่สมดุลนี้เป็นลักษณะสำคัญของธาลัสซีเมียทุกชนิด ด้วยเหตุผลนี้ธาลัสซีเมียหลายชนิดจึงไม่ถูกถือว่าเป็นโรคทางความผิดปกติของเฮโมโกลบินเนื่องจากลักษณะของสายโกลบินเหล่านี้ปกติแต่มีความผิดปกติอยู่ที่การลดลงของอัตราการสร้างสายโกลบินปกติเหล่านี้ อย่างไรก็ตาม โรคธาลัสซีเมียที่เป็นโรคเฮโมโกลบินผิดปกตินั้นก็ยังมีอยู่เช่นกัน

ธาลัสซีเมีย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ แอลฟาธาลัสซีเมีย และ เบต้าธาลัสซีเมีย ซึ่งก็คือถ้ามีความผิดปกติของสายแอลฟา ก็เรียกแอลฟาธาลัสซีเมีย และถ้ามีความผิดปกติของสายเบตาก็เรียกเบต้าธาลัสซีเมีย

เบต้าธาลัสซีเมีย เบต้าธาลัสซีเมียจะเกิดขึ้นเมื่อสายเบต้าในเฮโมโกลบินนั้นสร้างไม่สมบูรณ์ ดังนั้นเฮโมโกลบินจึงขนส่งออกซิเจนได้ลดลง ในเบต้าธาลัสซีเมียสามารถแบ่งออกได้เป็นหลายชนิดย่อยขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของยีนส์ในการสร้างสายเบต้า

แหล่งระบาดของเบต้าธาลัสซีเมียได้แก่ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแถบเมดิเตอร์เรเนียน

ถ้ามียีนที่สร้างสายเบต้าได้ไม่สมบูรณ์ 1 สาย (จากสายเบต้า 2 สาย) อาจจะมีภาวะซีดเพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจไม่จำเป็นต้องได้รับการรักษา

ถ้ามียีนที่สร้างสายเบต้าได้ไม่สมบูรณ์ทั้ง 2 สาย (จากสายเบต้าทั้ง 2 สาย) ภาวะซีดอาจมีความรุนแรงได้ปานกลางถึงมาก ในกรณีนี้เกิดจากได้รับยีนที่ผิดปกติมาจากทั้งพ่อและแม่

ถ้ามีภาวะซีดปานกลาง จำเป็นต้องได้รับเลือดบ่อยๆ โดยปกติแล้วสามารถมีชีวิตได้จนถึงวัยผู้ใหญ่ แต่ถ้ามีภาวะซีดที่รุนแรงมักจะเสียชีวิตก่อนเนื่องจากซีดมาก ถ้าเป็นรุนแรงอาการมักจะเริ่มต้น

ตั้งแต่อายุ 6 เดือนแรกหลังเกิด แต่ถ้าเด็กได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอตั้งแต่แรกเริ่มก็มักจะมีชีวิตอยู่ได้นานมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามก็มักจะเสียชีวิตเนื่องจากอวัยวะต่างๆถูกทำลาย เช่นหัวใจ และตับ

แอลฟาธาลัสซีเมีย แอลฟาธาลัสซีเมีย เกิดขึ้นเนื่องจากเฮโมโกลบินในสายแอลฟามีการสร้างผิดปกติ โดยปกติแล้วจะมีแหล่งระบอดอยู่ในแถบตะวันออกเฉียงใต้เป็นหลัก ได้แก่ ไทย จีน ฟิลิปปินส์ และบางส่วนของแอฟริกาตอนใต้

ความผิดปกติเกี่ยวกับการสร้างสายแอลฟา โดยปกติแล้วสายแอลฟา 1 สายจะกำหนดโดยยีน 1 คู่ (2 ยีน) ดังนี้

ถ้ามีความผิดปกติเกี่ยวกับยีนในการสร้างสายแอลฟา 1 ยีน จะไม่มีอาการใดๆ แต่จะเป็นพาหะที่ส่งยีนนี้ไปยังลูกหลาน ถ้ามีความผิดปกติเกี่ยวกับยีนในการสร้างสายแอลฟา 2 ยีน จะมีภาวะซีดเพียงเล็กน้อย แต่ไม่จำเป็นต้องได้รับการรักษา ถ้ามีความผิดปกติเกี่ยวกับยีนในการสร้างสายแอลฟา 3 ยีน จะเกิดภาวะซีดได้ตั้งแต่รุนแรงน้อย จนถึงรุนแรงมาก บางครั้งเรียกว่าเฮโมโกลบิน H ซึ่งอาจจำเป็นต้องได้รับเลือด ถ้ามีความผิดปกติเกี่ยวกับยีนในการสร้างสายแอลฟา 4 ยีน จะเสียชีวิตภายในระยะเวลาสั้นๆ ภายหลังจากเกิดออกมา เรียกว่า เฮโมโกลบินบาร์ต

แนวทางการรักษา

1. ให้รับประทานวิตามินโฟลิควันละเม็ด
2. ให้เลือดเมื่อผู้ป่วยซีดมากและมีอาการของการขาดเลือด
3. ตัดม้ามเมื่อต้องรับเลือดบ่อยๆ และม้ามโตมากจนมีอาการอัดแน่นท้อง กินอาหารได้น้อย
4. ไม่ควรรับประทานยาบำรุงเลือดที่มีธาตุเหล็ก
5. ผู้ป่วยที่อาการรุนแรงซีดมาก ต้องให้เลือดบ่อยมากจะมีภาวะเหล็กเกิน อาจต้องฉีดยาขับเหล็ก

ผู้ป่วยควรได้รับยาขับเหล็กเพื่อขจัดภาวะเหล็กเกิน เพราะภาวะเหล็กเกินก่อให้เกิดพยาธิสภาพหลายแห่ง ปัญหาคือ ยาขับเหล็กมีราคาแพง และการให้ก็ยากลำบาก desferrioxamine เป็นยาขับเหล็กตัวเดียวที่ใช้กันมา 3 ทศวรรษ การบริหารยานี้ต้องใช้เครื่องฉีดตัวที่สามารถฉีดเข้าใต้ผิวหนังต่อเนื่องอัตโนมัติ ในระยะหลังมีการใช้ยา L1 ที่เพิ่งออกวางตลาดเกี่ยวกับยาขับเหล็กนี้ต้องการพัฒนาความสามารถแห่งชาติในการประเมินยาตัวใหม่ รวมทั้งการวิจัยผลิตยาใช้เองด้วย

แนวทางในการประเมินว่ายาขับเหล็กมีประสิทธิภาพหรือไม่คือ ต้องนำตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมียไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก โดยที่ในปัสสาวะของคนปกตินั้นจะไม่พบเหล็กเลย ทั้งนี้ในการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กหรือตัวแปรอื่นๆในตัวอย่างปัสสาวะนั้น มักจะหาปริมาณครีอะตินินร่วมด้วยแล้วรายงานเป็นค่าอัตราส่วน โดยที่ปริมาณครีอะตินินนี้มักจะใช้เป็น correction factor เพราะปริมาณที่หลังในปัสสาวะนั้นจะคงที่

มีรายงานเป็นจำนวนมากที่กล่าวถึงวิธีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและครีอะตินิน แต่วิธีเหล่านั้นล้วนใช้เวลาในการวิเคราะห์นานกว่าจะรู้ผล เพราะเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ไม่ต่อเนื่องและไม่สามารถพัฒนาเป็นวิธีแบบอัตโนมัติได้ ในโครงการนี้จึงจะพัฒนาวิธีและหลักการใหม่ที่ช่วยตรวจวัดปริมาณเหล็กและครีอะตินินได้เร็วขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติโดยใช้อุปกรณ์ร่องขนาดเล็กร่วมกับเทคนิควิเคราะห์ที่อาศัยการไหลอย่างต่อเนื่องของของเหลว
2. เพื่อประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับหาปริมาณเหล็กและครีอะตินินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ได้พัฒนาหลักการใหม่สำหรับการตรวจวัดหาปริมาณเหล็กและครีอะตินิน โดยใช้ชิ้นงานอะครีลิกในการนำส่งสารตัวอย่างและสารเคมี จากนั้นจึงนำอุปกรณ์ดังกล่าวไปใช้สร้างระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวและพัฒนาเป็นระบบอัตโนมัติ หลักการสำหรับตรวจวัดเหล็ก อาศัยปฏิกิริยาระหว่างเหล็กกับ 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfo-propylamino) aniline (5-Br-PSAA) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ 580 นาโนเมตร ส่วนการตรวจวัดครีอะตินิน อาศัยการติดตามค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินกับ picric acid ที่ 520 นาโนเมตร

จึงนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะทั้งแบบที่เป็นของคนปกติแต่เติมเหล็กและครีอะตินินที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงไป และปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาโดยการรับประทานยาขับเหล็ก แล้วเปรียบเทียบปริมาณที่วิเคราะห์ได้ด้วยระบบที่นำเสนอ กับปริมาณที่วิเคราะห์ได้จากวิธีแบบเดิมที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ระบบวิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็ว และสามารถพัฒนาให้ระบบวิเคราะห์แบบอัตโนมัติได้ เพื่อใช้เป็นวิธีสำหรับประเมินปริมาณเหล็กและครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาโดยการรับประทานยาขับเหล็ก

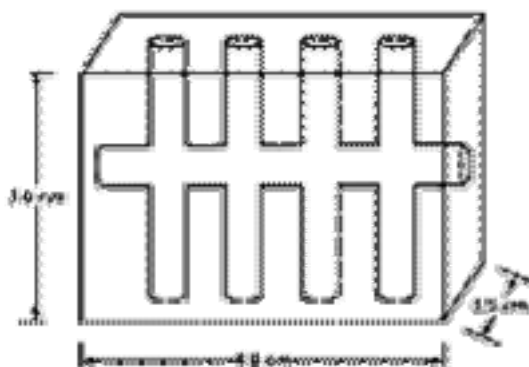
2. วิธีดำเนินการ

2.1 เครื่องมือ

การตรวจวัดสัญญาณใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ แบบ Diode array detector ของ Hewlet Packard การขับเคลื่อนสารละลายจะใช้ peristaltic pump (4 channels และ 12 channels) ท่อที่ใช้สร้างระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลเป็นชนิด PTFE (i.d. 0.5 mm)

2.2 การออกแบบอุปกรณ์ร่องขนาดเล็ก

แบบของอุปกรณ์ดังกล่าวแสดงดังรูปที่ 1



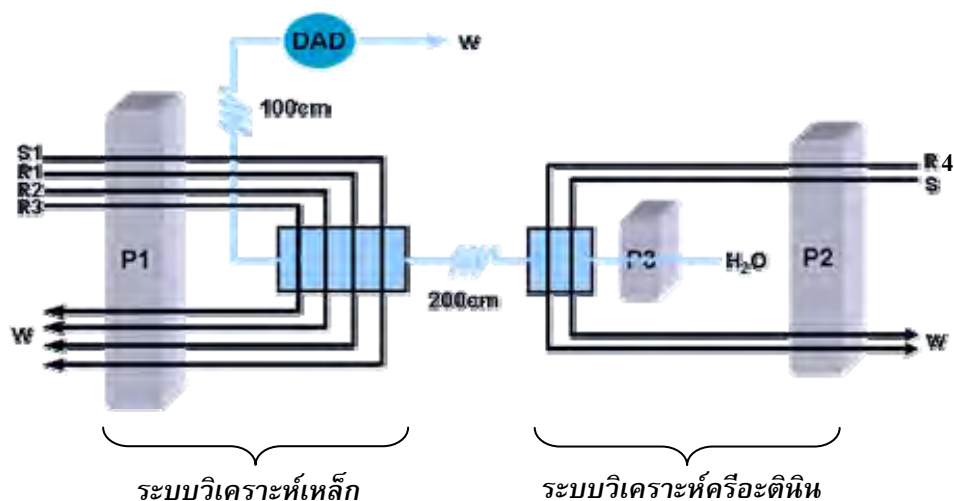
รูปที่ 1 แบบของอุปกรณ์ร่องขนาดเล็ก



รูปที่ 2 อุปกรณ์ร่องขนาดเล็กที่ใช้

2.3 ระบบวิเคราะห์

ระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลซึ่งใช้ร่วมกับอุปกรณ์ร่องขนาดเล็ก ใช้สำหรับหาปริมาณเหล็ก และครีอะตินิน ระบบดังกล่าวประกอบไปด้วย (1) ระบบสำหรับวิเคราะห์เหล็ก และ (2) ระบบสำหรับวิเคราะห์ครีอะตินิน แผนภาพของระบบแสดงดังรูปที่ 3

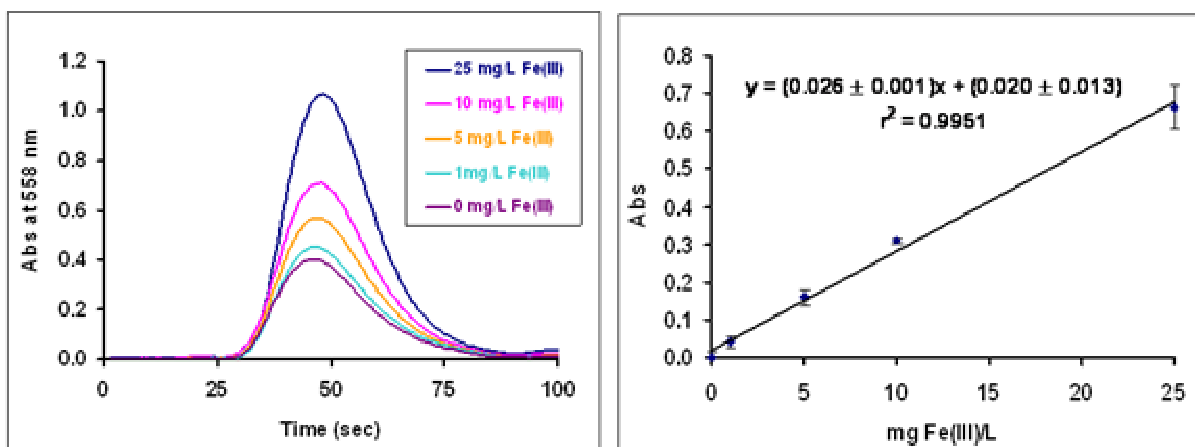


รูปที่ 3 ระบบอัตโนมัติโดยใช้อุปกรณ์รื่องขนาดเล็กสำหรับวิเคราะห์เหล็กและครีอะตินิน โดย S คือ ตัวอย่าง หรือ สารมาตรฐาน/ R1 คือ Ascorbic acid/ R2 คือ Acetate buffer pH 3.2/ R3 คือ 5-Br-PSAA/ R4 คือ Picric acid/ P คือ Peristaltic pump/ DAD คือ Diode-array detector/ W คือ Waste และ  คือ อุปกรณ์รื่องขนาดเล็ก

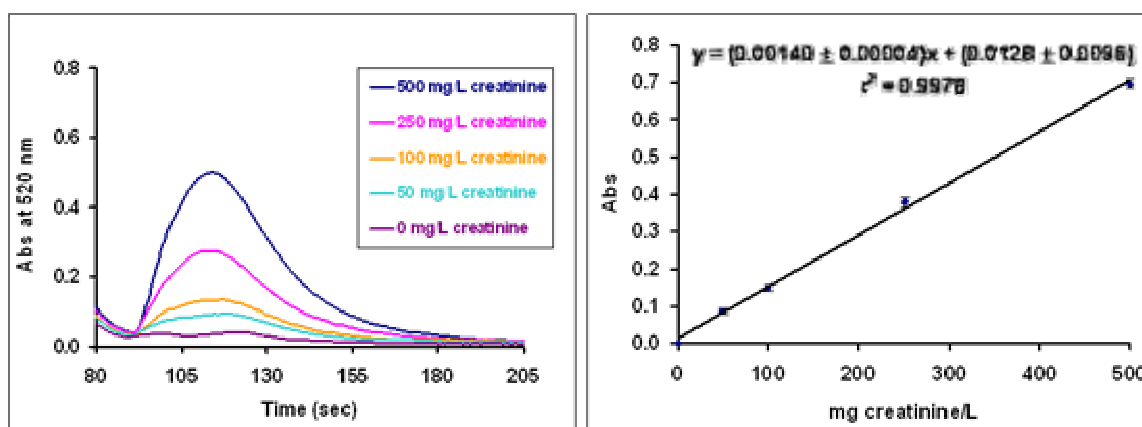
3. อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากระบบดังกล่าว พบว่า เมื่อทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเหล็กและครีอะตินิน จะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของเหล็กที่ความเข้มข้น 1 ถึง 25 mg/L และ ของครีอะตินินที่ 50 ถึง 500 mg/L กราฟมาตรฐานและตัวอย่างสัญญาณที่ได้แสดงดังรูปที่ 4 (ก) และ 4 (ข) และจะนำระบบที่พัฒนาขึ้นนี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะต่อไป

4 (ก) ตัวอย่างสัญญาณและกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเหล็ก



4 (ข) ตัวอย่างสัญญาณและกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานครีเอตินิน



รูปที่ 4 ตัวอย่างสัญญาณและกราฟมาตรฐานเมื่อทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานหลักและครีเอตินิน

การประยุกต์ใช้เพื่อหาปริมาณหลักและครีเอตินินในตัวอย่างปัสสาวะ ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณหลักและครีเอตินินในปัสสาวะของคนปกติและผู้ป่วยโรคไตที่วิเคราะห์ได้

สารที่ต้องการวิเคราะห์	ระดับความเข้มข้น (mg/L)			ค่าการวิเคราะห์คืนกลับ (%)
	ที่ตรวจพบ / Mean $\pm$ SD	ที่เติมลงไป	ที่วิเคราะห์ได้ / Mean $\pm$ SD	
หลัก/				
ตัวอย่างที่ 1	-	2.0	1.92 $\pm$ 0.09	97
ตัวอย่างที่ 2	-	3.0	2.82 $\pm$ 0.09	96
ครีเอตินิน/				
ตัวอย่างที่ 1	257 $\pm$ 31	250	444 $\pm$ 50	92
ตัวอย่างที่ 2	151 $\pm$ 23	500	571 $\pm$ 53	84

จากตารางจะเห็นว่า ค่าการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วงที่น่าพอใจ (84 ถึง 97%) แสดงว่าการวิเคราะห์ไม่ถูกรบกวนด้วยตัวรบกวนใดๆ ซึ่งอาจมีอยู่ในตัวอย่าง

จากการเปรียบเทียบปริมาณที่วิเคราะห์ได้ด้วยระบบที่นำเสนอกับปริมาณที่วิเคราะห์ได้จากวิธีแบบเดิมที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล พบว่าปริมาณที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยวิธีของ Paired t-test ($t_{stat} = 0.57$, $t_{critical} = 0.98$)

สำหรับการวิเคราะห์เหล็ก และ $t_{stat} = 0.97$, $t_{critical} = 1.48$ สำหรับการวิเคราะห์ครีอะตินิน) จึงกล่าวได้ว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำสูง

4. สรุปผลการทดลอง

ในโครงการนี้ ได้พัฒนาหลักการใหม่ในการหาปริมาณเหล็กและครีอะตินิน ได้ออกแบบและจัดทำอุปกรณ์ร่อนขนาดเล็ก ซึ่งทำจากชิ้นงานอะคริลิก ภายในเซาะเป็นร่องตรง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร ใช้นำส่งสารตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเข้าสู่ระบบอย่างพร้อมกัน เมื่อนำอุปกรณ์ดังกล่าวไปใช้สร้างระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวและพัฒนาเป็นระบบอัตโนมัติ หลักการสำหรับตรวจวัดเหล็ก อาศัยปฏิกิริยาระหว่างเหล็กกับ 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino) aniline (5-Br-PSAA) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ 580 นาโนเมตร ส่วนการตรวจวัดครีอะตินิน อาศัยการติดตามค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างครีอะตินินกับ picric acid ที่ 520 นาโนเมตร

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด พบว่า ช่วงความเข้มข้นของเหล็กและครีอะตินินที่วิเคราะห์ได้ คือ 1 ถึง 25 mg/L และ 50 ถึง 1,000 mg/L ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.7 mg/L สำหรับเหล็ก และ 43 mg/L สำหรับครีอะตินิน เมื่อนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างปัสสาวะทั้งแบบที่เป็นของคนปกติแต่เติมเหล็กและครีอะตินินที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงไป และปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาโดยการรับประทานยาขับเหล็ก แล้วเปรียบเทียบปริมาณที่วิเคราะห์ได้ด้วยระบบที่นำเสนอ กับปริมาณที่วิเคราะห์ได้จากวิธีแบบเดิมที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล พบว่าปริมาณที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยวิธีของ Paired t-test ($t_{stat} = 0.57$, $t_{critical} = 0.98$ สำหรับการวิเคราะห์เหล็ก และ $t_{stat} = 0.97$, $t_{critical} = 1.48$ สำหรับการวิเคราะห์ครีอะตินิน) จึงกล่าวได้ว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำสูง จึงอาจใช้วิธีนี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการตรวจวัดหาปริมาณเหล็กและครีอะตินินในปัสสาวะผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้

การใช้อุปกรณ์ร่อนขนาดเล็กร่วมกับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

1. บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ภายหลังจากที่มีโครงการ ‘หนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ (OTOP)’ เกิดขึ้นเมื่อ ปี พ.ศ 2544 .แต่ละชุมชนได้ใช้ภูมิปัญญาท้องถิ่นเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ OTOP ที่มีคุณภาพประจำตำบล โดยเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย เช่น สาโท และ ไวน์ผลไม้ ก็เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ OTOP ที่มีวางจำหน่ายเป็นจำนวนมาก กรรมวิธีในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ทำได้โดยนำวัตถุดิบจากธรรมชาติ ได้แก่ ผักและผลไม้ มาหมักกับจุลินทรีย์จะได้ผลผลิตหลักคือ ‘เอทานอล’ หรือ ‘เอทิลแอลกอฮอล์’ ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ชนิดที่บริโภคได้ แต่ถ้ามีปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มสูงเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ในระหว่างขั้นตอนการหมัก นอกจากจะเกิดเอทานอลแล้วยังอาจเกิดอะซีทัลดีไฮด์ด้วย ถ้าสภาวะการหมักไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูงเกินไป หรือกระบวนการหมักยังไม่สิ้นสุด อะซีทัลดีไฮด์เป็นสารพิษ ถ้าร่างกายได้รับหรือสัมผัสกับอะซีทัลดีไฮด์ จะทำให้ คอแห้ง ไอ ปวดศีรษะ และอาจทำให้เสียชีวิต ดังนั้นการควบคุมปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ให้เหมาะสมจึงเป็นสิ่งจำเป็น

ในประเทศไทย กระทรวงอุตสาหกรรม ได้ออกประกาศของกระทรวง เรื่องกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ไว้ในราชกิจจานุเบกษา โดยระบุให้มีปริมาณเอทานอลอยู่ในช่วง 15-40 ดีกรี) หรือ ร้อยละ 40-15 โดยปริมาตร (และปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ ไม่เกิน 160 พีพีเอ็ม ถ้าผู้ผลิต ผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แล้วพบว่า มีความเข้มข้นของเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ไม่เป็นไปตามกำหนดจะถือว่าผิดกฎหมาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยเฉพาะเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทยซึ่งอาจมีกระบวนการผลิตที่ยังไม่ได้มาตรฐานเพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค ซึ่งจะสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่) 10 พ.ศ-2550. (2554) ในประเด็นของยุทธศาสตร์การพัฒนาคุณภาพคนและสังคมไทย ซึ่งมุ่งเน้นเสริมสร้างให้คนไทยมีความมั่นคงทางอาหารและบริโภคอาหารที่ปลอดภัย

วิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ตามที่กระทรวงอุตสาหกรรมประกาศไว้ในราชกิจจานุเบกษา ได้แก่ วิธีมาตรฐานของ Association of Analytical Communities (AOAC) การวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ด้วยวิธีดังกล่าวจะใช้หลักการรวมถึงเครื่องมือที่แตกต่างกัน กล่าวคือ การวิเคราะห์เอทานอลทำโดยใช้เครื่องวัดค่าความถ่วงจำเพาะแล้วจึงนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาเป็นความเข้มข้นของเอทานอล และยังมีการนำเสนอวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มด้วยหลักการต่างๆ เช่น หลักการทางโครมาโทกราฟี ซึ่งมีทั้งแก๊สโครมาโทกราฟีและ

ลิวิดโครมาโทกราฟี ในส่วนของแก๊สโครมาโทกราฟีนั้น Jan Kovai ได้ใช้หลักการแก๊ส-โซลิดโครมาโทกราฟี ร่วมกับวิธี internal standard สำหรับหาเอทานอลเพื่อให้วิธีวิเคราะห์มีความเที่ยงและแม่นยำขึ้น ในส่วนของเทคนิคลิวิดโครมาโทกราฟีนั้น T. Takeuchi และคณะ ได้พัฒนาวิธีไมโคร-ไฮเพอร์ฟอร์มแมนซ์ลิวิดโครมาโทกราฟี อาศัยการตรวจวัดทางแสงเพื่อวิเคราะห์อะลิฟาติกแอลกอฮอล์ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล โพรพานอล และบิวทานอล ในเครื่องต้ม แต่วิธีทางโครมาโทกราฟีมักใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน วิธีที่อาศัยหลักการสเปกโทสโกปี เช่น การวัดการดูดกลืนแสงในความยาวคลื่นอินฟราเรด ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า จึงเป็นอีกวิธีที่ได้รับความนิยมเพื่อใช้วิเคราะห์เอทานอล นอกจากหลักการดังกล่าวข้างต้นแล้ว การใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าร่วมกับการใช้หัวตรวจวัดทางชีวภาพอาศัยการทำงานของเอนไซม์ ที่ถูกตรึงอยู่บนหัวเพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงของการตรวจวัดก็เป็นวิธีที่มีผู้เสนอเช่นเดียวกัน ในการเพิ่มความจำเพาะเจาะจงสำหรับการตรวจวัดเอทานอล นอกจากใช้หัวชีวภาพที่มีเอนไซม์ตรึงอยู่แล้วนั้น ยังทำได้โดยใช้อุปกรณ์ขนาดเล็กที่มีเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้แก๊สเท่านั้นที่แพร่ผ่านได้วางอยู่ภายใน เนื่องจากเอทานอลระเหยกลายเป็นแก๊สได้ง่ายที่อุณหภูมิห้องในขณะที่ตัวรบกวนอื่นๆไม่สามารถระเหยได้ การใช้อุปกรณ์ชนิดนี้จึงสามารถแยกเอทานอลออกจากตัวรบกวนได้ อุปกรณ์ดังกล่าวเรียกว่า แก๊สดิฟฟิวชันยูนิต ในการวิเคราะห์เอทานอลด้วยอุปกรณ์นี้ มักใช้ร่วมกับเทคนิคโพลีอินเจกชัน โดยมีคณะนักวิจัยจำนวนหนึ่ง เสนอวิธีการตรวจวัดเอทานอลด้วยระบบโพลีอินเจกชันร่วมกับการใช้แก๊สดิฟฟิวชันแล้วประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเครื่องต้มแอลกอฮอล์

สำหรับการวัดปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ เทคนิคส่วนใหญ่ที่กลุ่มนักวิจัยเสนอขึ้นสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ คือ แก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งมีผู้เสนอทั้งแบบที่ใช้ร่วมกับเทคนิคเฮดสเปซ (Head-space) และแบบที่ใช้ร่วมกับอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์สารระเหยอีกลักษณะหนึ่งคือ เพอร์แวพเพอชันยูนิต ซึ่งมีหลักการคล้ายกับเทคนิคเฮดสเปซ หลักการแยกอีกหลักการหนึ่งคือ ลิวิดโครมาโทกราฟี ก็มีผู้เสนอขึ้นเพื่อหาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ ซึ่งวิธีดังกล่าวนี้เตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดบนเฟสของแข็งด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ทั้งแก๊สโครมาโทกราฟีและลิวิดโครมาโทกราฟี ต่างก็เป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความจำเพาะเจาะจงเนื่องจากมีการแยกอะซีทัลดีไฮด์ออกจากตัวรบกวนซึ่งมีในตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ อีกวิธีหนึ่งที่สามารถวิเคราะห์อะซีทัลดีไฮด์ได้อย่างจำเพาะเจาะจง คือ การใช้เอนไซม์อะซีทัลดีไฮด์ไฮโดรจีเนส วิธีการวิเคราะห์ทำได้โดยบรรจุเอนไซม์ดังกล่าวในคอลัมน์แล้วนำไปต่อเข้ากับระบบโพลีอินเจกชันเพื่อให้วิเคราะห์ได้อย่างต่อเนื่อง ซึ่งพบว่าวิธีดังกล่าวนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างไวน์ได้อย่างไรก็ตาม วิธีที่ดังกล่าวข้างต้น ล้วนแล้วแต่ต้องใช้เครื่องมือและสารเคมีที่มีราคาแพง ใช้เวลาในการวิเคราะห์นานกว่าจะรู้ผล อีกทั้งไม่สามารถดำเนินการวิเคราะห์ให้เป็นไปอย่างอัตโนมัติได้

ดังนั้น ในโครงการนี้ จึงจะพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติสำหรับหาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์โดยอาศัยหลักการตรวจวัดแบบใหม่ ซึ่งใช้อุปกรณ์และสารเคมีที่ราคาไม่แพง วิธีที่พัฒนาขึ้นจะใช้เทคนิคโพลีอินเจกชันกับการใช้อุปกรณ์ร่องขนาดเล็กแบบพิเศษซึ่งภายในมีเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้แก๊สเท่านั้นที่แพร่ผ่านได้ ซึ่งเรียกว่า ‘แก๊สดิฟฟิวชันยูนิต (Gas-diffusion (GD) unit)’ เพื่อแยกสารระเหยที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากตัวรบกวนที่อาจเจือปนอยู่ในตัวอย่าง จึงทำให้การวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจงมากขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ในการพัฒนาหลักการสำหรับตรวจวัดเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์
2. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์อาศัยเทคนิคโพลีอินเจกชันร่วมกับการใช้อุปกรณ์แบบพิเศษซึ่งภายในมีเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้แก๊สแพร่ผ่านได้
3. เพื่อประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับควบคุมคุณภาพของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ได้พัฒนาหลักการใหม่สำหรับตรวจวัดเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ สำหรับอะซีทัลดีไฮด์สามารถตรวจวัดได้โดยตรงโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างอะซีทัลดีไฮด์กับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์และเมอร์โพลีนเกิดเป็นสารประกอบซึ่งสามารถติดตามค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ส่วนการวิเคราะห์เอทานอลนั้น ต้องเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นอะซีทัลดีไฮด์ก่อนโดยใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เตรียมในสารละลายกรดเป็นตัวออกซิไดส์ เนื่องจากเอทานอลไม่ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์และเมอร์โพลีน

จากนั้นนำหลักการที่พัฒนาขึ้นนี้ไปใช้กับเทคนิคโพลีอินเจกชัน โดยต่อเข้ากับอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์สารระเหยได้แก่ แก๊สดีฟฟิวชันยูนิต ซึ่งภายในจะมีเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้แก๊สแพร่ผ่านได้ ดังนั้น จะมีเฉพาะอะซีทัลดีไฮด์ (ทั้งที่เป็นอะซีทัลดีไฮด์มาแต่เดิมหรือเป็นอะซีทัลดีไฮด์ที่ถูกเปลี่ยนมาจากเอทานอล (ซึ่งสามารถระเหยได้ดีแม้ที่อุณหภูมิห้อง เท่านั้นที่แพร่ผ่านได้ ในขณะที่ตัวรบกวนอื่นๆจะไม่แพร่ผ่าน จากนั้น อะซีทัลดีไฮด์ที่แพร่ผ่านได้นี้ จะไปทำปฏิกิริยากับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์และเมอร์โพลีนต่อไป การใช้แก๊สดีฟฟิวชันยูนิตจึงทำให้การวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจงสูง

ได้ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ ไปประยุกต์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย เช่น สาโท และ ไวน์ผลไม้ต่างๆ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ระบบวิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็ว และสามารถพัฒนาให้ระบบวิเคราะห์แบบอัตโนมัติได้ เพื่อใช้เป็นวิธีสำหรับควบคุมคุณภาพของการผลิตเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์

2. วิธีดำเนินการ

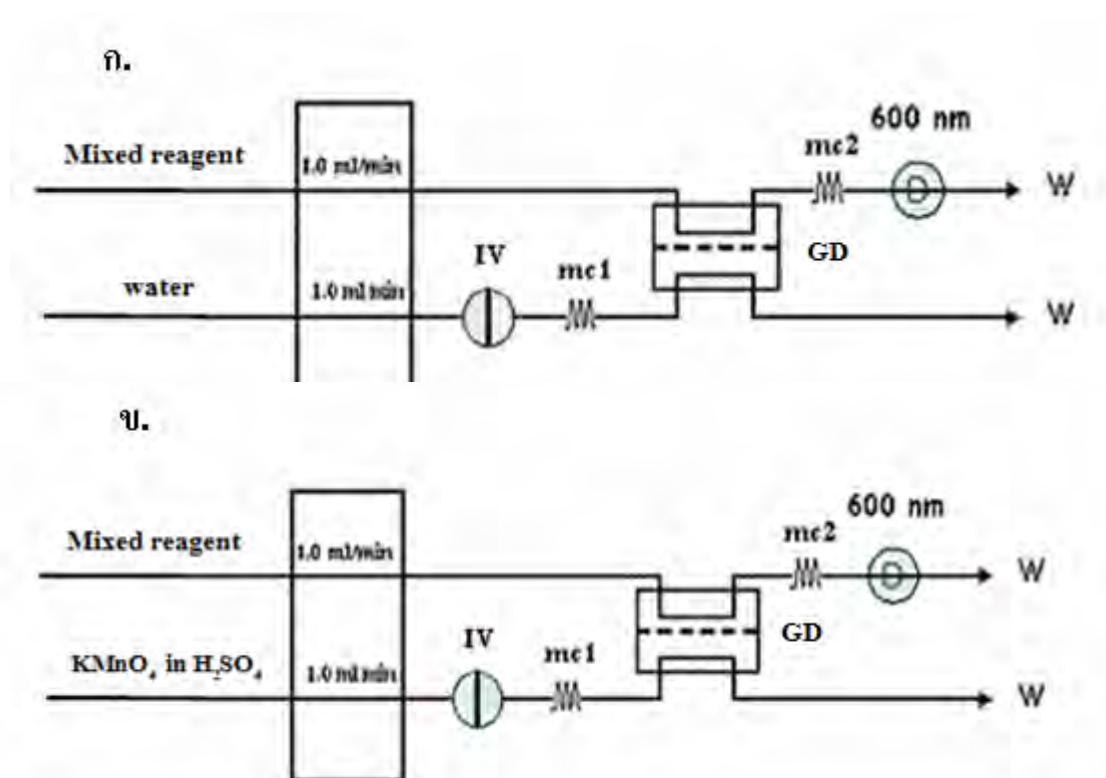
2.1 เครื่องมือ

การตรวจวัดสัญญาณใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ของ Jasco V-630 สำหรับระบบโฟลอินเจกชัน ส่วนในการขับเคลื่อนสารละลายจะใช้ peristaltic pump (4 channels) การนำสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบจะใช้ Six port injection valve ท่อนำส่งสารเป็นชนิด Tygon (i.d. 0.95 mm) และ poly(tetrafluoro ethylene) (PTFE, i.d 0.05 mm) และ ส่วนของแก๊สดีฟฟิวชัน (GD) ภายในมี PTFE membrane (pore size = 0.45 μm)

2.2 วิธีดำเนินการ

ระบบโฟลอินเจกชัน (FI) แบ่งออกเป็น 2 ระบบ ระบบที่ 1 แสดงดังรูปที่ 2.1 (ก) สัญญาณที่ได้จะเป็นสัญญาณของอะซีทัลดีไฮด์ โดยจะปั๊ม น้ำกลั่นปราศจากไอออนเข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 1.0 mL.min⁻¹ ทำหน้าที่เป็นตัวพา จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่กระแสของตัวพา อะซีทัลดีไฮด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน (GD unit) ทำปฏิกิริยากับสารละลายผสม เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีฟ้า เข้าสู่เครื่อง UV-VIS spectrophotometer ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 600 nm

สำหรับระบบที่ 2 แสดงดังรูปที่ 2.1 (ข) สัญญาณที่ได้จะเป็นสัญญาณของเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ โดยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต)ตัวพา (และสารละลายผสมระหว่างมอร์โฟลีนกับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ จะถูกปั๊มให้ไหลเข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 1.0 mL.min⁻¹ จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่กระแสของตัวพา เอทานอลจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เกิดเป็นอะซีทัลดีไฮด์ แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน)GD unit) ทำปฏิกิริยากับสารละลายผสม เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีฟ้า เข้าสู่เครื่อง UV-VIS spectrophotometers ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 600 nm สัญญาณของเอทานอลได้จากนำสัญญาณจากระบบที่ 1 หักลบกับระบบที่ 2 วิธีที่ใช้ในวิเคราะห์หาปริมาณคือ วิธีการสร้างกราฟมาตรฐาน

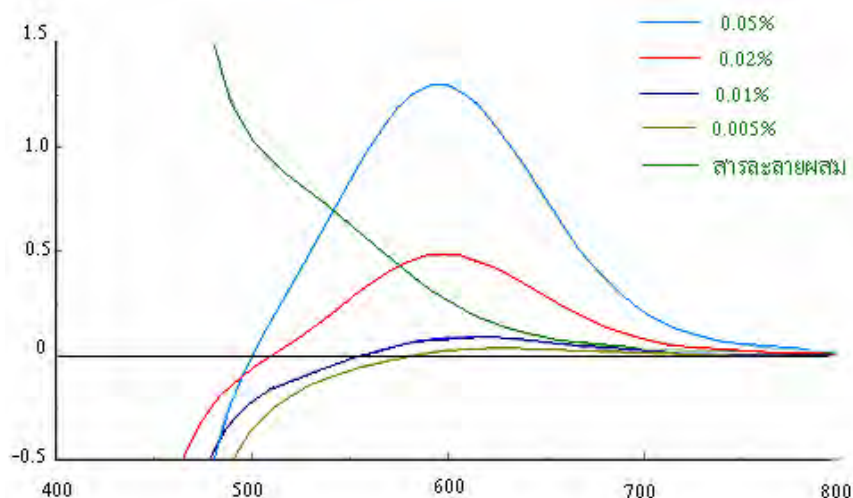


รูปที่ 2.1 แสดงระบบ FI เพื่อวิเคราะห์ อะซีทาลดีไฮด์ (ก) และเอทานอล (ข) IV: Injection volume, SV: selection valve, MC: Mixing coil GD: Gas-diffusion ภายในมี PTFE membrane (pore size = 0.45 μm (D: Detector

3. อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

โดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างอะซีทาลดีไฮด์กับสารละลายผสม มอร์โฟลีนกับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอะซีทาลดีไฮด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการทดลองแบบ Batch สเปกตรัมแสดงดังรูปที่ 3.1 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างอะซีทาลดีไฮด์กับสารละลายผสม สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 600 nm ดังนั้นจึงเลือกความยาวคลื่นนี้ในการตรวจวัดตลอดการทดลอง



รูปที่ 3.1 แสดงสเปกตรัมของสารละลายอะซีทัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยาระหว่าง สารละลายผสม มอร์โฟลีน กับ โซเดียมไนโตรพรัสไซด์

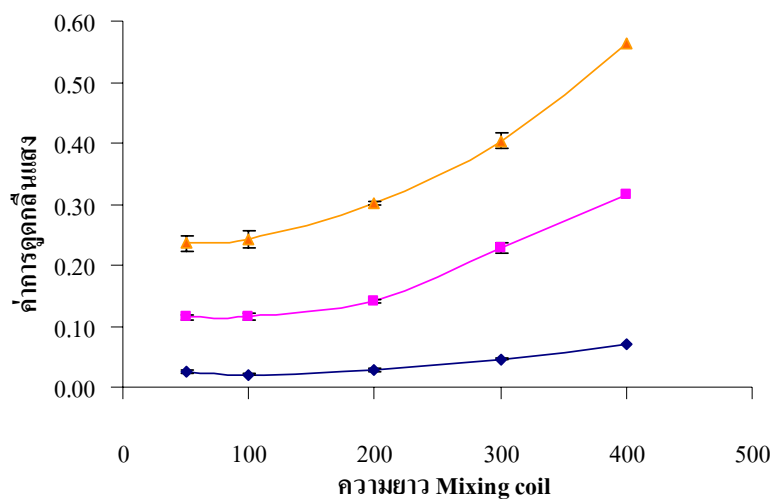
3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ FI เพื่อวิเคราะห์อะซีทัลดีไฮด์และเอทานอล

3.2.1 อิทธิพลของ Injection volume

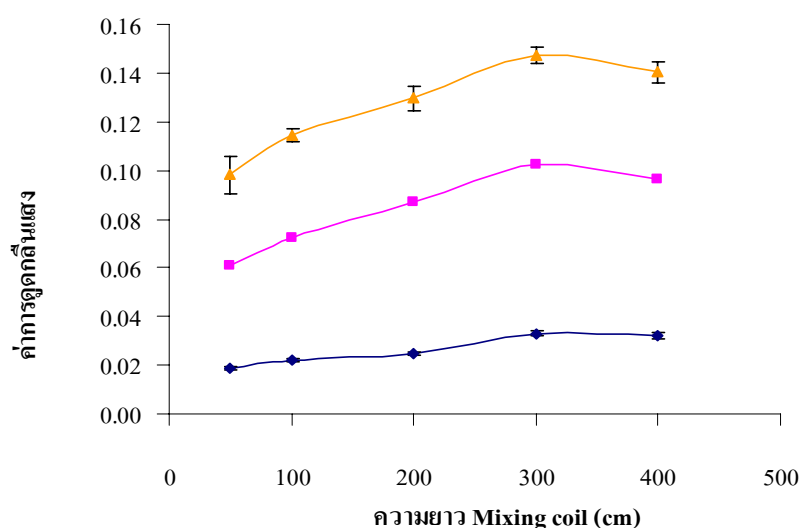
ศึกษา Injection volume ศึกษาในปริมาตรช่วง 100-500 μL พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจนถึงปริมาตร 300 μL ที่ปริมาตรมากขึ้นค่าการดูดกลืนแสงลดลงทั้งนี้เนื่องจาก จำนวนโมลของอะซีทัลดีไฮด์แพร่ผ่าน แก๊สดีฟฟิวชันมากขึ้นทำให้จำนวนโมลของสารละลายผสมไม่เพียงพอในการทำปฏิกิริยา

3.2.2 อิทธิพลของ ความยาวของ mixing coils

ความยาวของ mixing coil ของ Acceptor และ donor ศึกษาที่ 40-400 cm สัญญาณเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ความยาวเท่ากับ 300 cm เมื่อเพิ่มความยาว สัญญาณลดลง เนื่องจากเกิดการกระจายตัวมากขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเจือจาง สัญญาณจึงลดลง จึงเลือกใช้ความยาวของ mixing coil ของ Acceptor ที่ 300 cm แสดงดังรูปที่ 3.2 ส่วนความยาว mixing coil ของ donor จะส่งผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลมากกว่าการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ ทั้งนี้เนื่องจากในการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลนั้นจะต้องทำปฏิกิริยากับ โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เกิดเป็นอะซีทัลดีไฮด์ เพราะฉะนั้น เมื่อเพิ่มความยาวของ mixing coil จะทำให้มีปริมาณอะซีทัลดีไฮด์เกิดเพิ่มมากขึ้น จึงเลือกใช้ mixing coil ของ donor ที่ 400 cm แสดงดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.2. กราฟแสดงอิทธิพลของ ความยาว Mixing coil ของ acceptor ศึกษาในช่วงความยาว 40-400 cm, (Δ) 40% v/v เอทานอล, ($\square$) 30% v/v เอทานอล และ ($\diamond$) 5% v/v เอทานอล

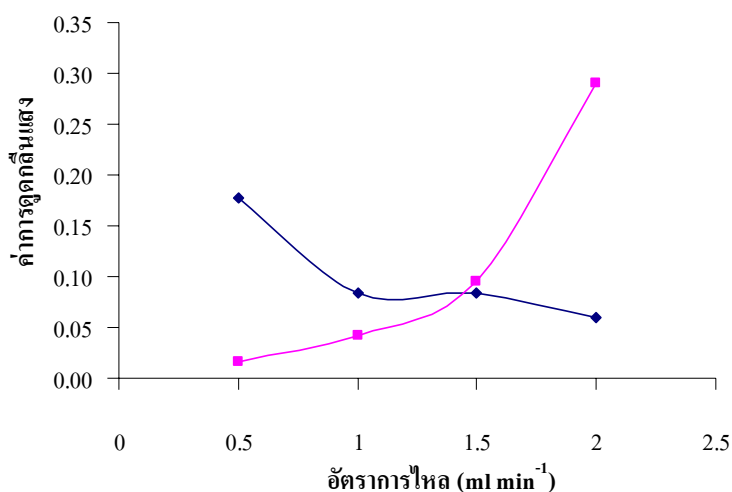


รูปที่ 3.3 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความยาว Mixing coil ของ donor ศึกษาในช่วงความยาว 40-400 cm, (Δ) 40% v/v เอทานอล, ($\square$) 30% v/v เอทานอล และ ($\diamond$) 5% v/v เอทานอล

3.2.3 อิทธิพลของอัตราการไหล

เนื่องจากอัตราการไหลส่งผลโดยตรงต่อการตอบสนองของสัญญาณ จึงได้ศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหลของของสารละลายผสมและสารละลายตัวพา ในช่วงอัตราการไหลระหว่าง $0.5-2.0 \text{ ml min}^{-1}$ จากการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของตัวพาเพิ่มขึ้น สัญญาณที่ตรวจวัดได้จะเพิ่มขึ้น ในทาง

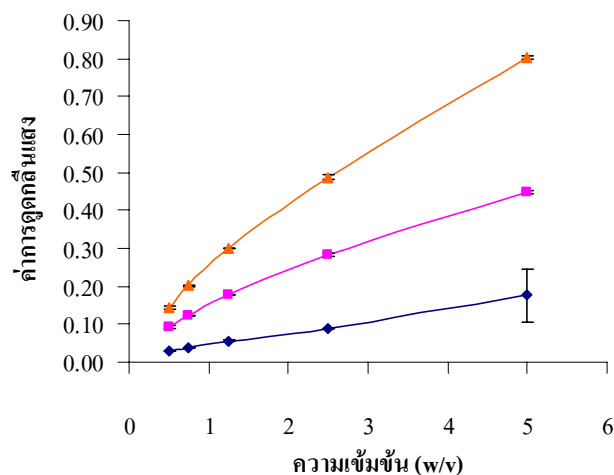
กลับกัน เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายผสมเพิ่มขึ้น สัญญาณลดลง เนื่องจากระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาลดลงเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้น้อยลง แสดงดังรูปที่ 3.4



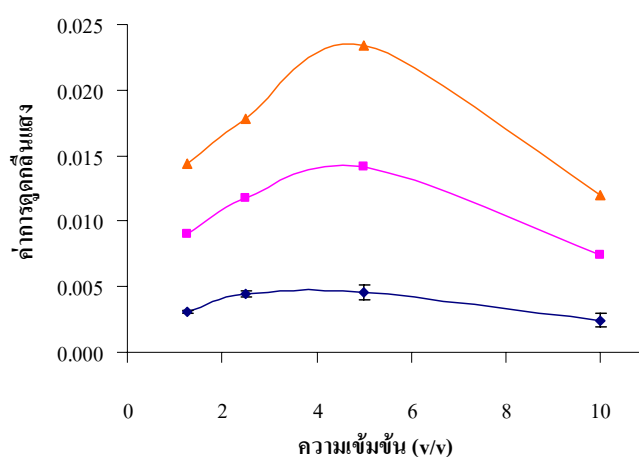
รูปที่ 3.3 กราฟแสดงอิทธิพลของ อัตราการไหล โดยศึกษาที่ 0.5-2.0 ml min⁻¹ (□) 5% v/v เอทานอล และ (◇) 5x10⁻³ M อะซีทิลดีไฮด์

3.2.4 อิทธิพลของความเข้มข้นสารละลายผสม (โซเดียมไนโตรพลัสไซด์ผสมกับมอร์โฟลีน)

ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ในช่วงความเข้มข้น 0.5-5 w/v พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไนโตรพลัสไซด์เพิ่มขึ้น ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.4 จึงได้เลือกความเข้มข้นโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ที่ 2.5 % w/v เนื่องจากให้ค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมและไม่สิ้นเปลืองมากเกินไป สำหรับศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นมอร์โฟลีนในช่วงความเข้มข้น 1.25-10 % v/v จากกราฟแสดงดังรูปที่ 3.5 สัญญาณที่ตรวจได้จะเพิ่มจนถึงที่ความเข้มข้นมอร์โฟลีนเท่ากับ 5% v/v และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของมอร์โฟลีนขึ้นอีกพบว่าสัญญาณลดลง จึงเลือกใช้ความเข้มข้นมอร์โฟลีนที่ 5%v/v เป็นค่าที่เหมาะสม



รูปที่ 3.4 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.5-5 w/v, (Δ) 5×10^{-3} M อะซีทัลดีไฮด์, ($\square$) 3×10^{-3} M อะซีทัลดีไฮด์ และ ($\diamond$) 1×10^{-3} M อะซีทัลดีไฮด์

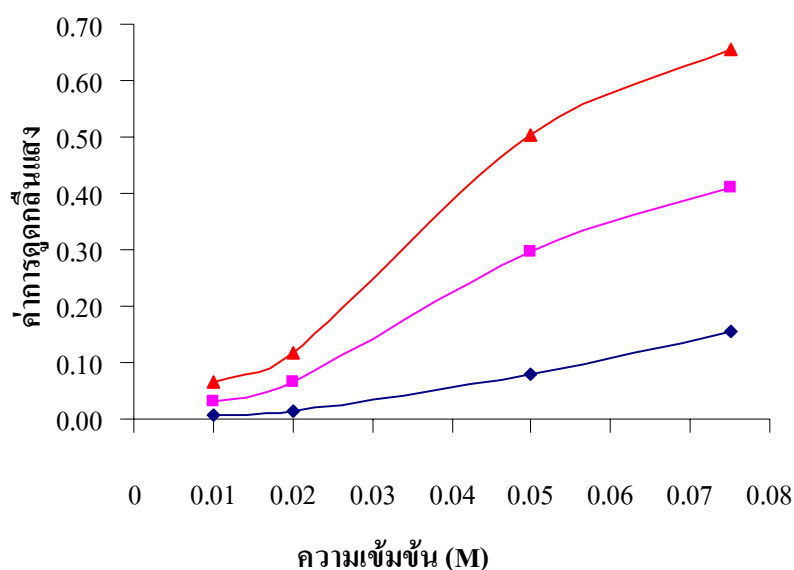


รูปที่ 3.5 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นมอร์โฟลีน ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 1.25-10 v/v, (Δ) 5×10^{-3} M อะซีทัลดีไฮด์, ($\square$) 3×10^{-3} M อะซีทัลดีไฮด์ และ ($\diamond$) 1×10^{-3} M อะซีทัลดีไฮด์

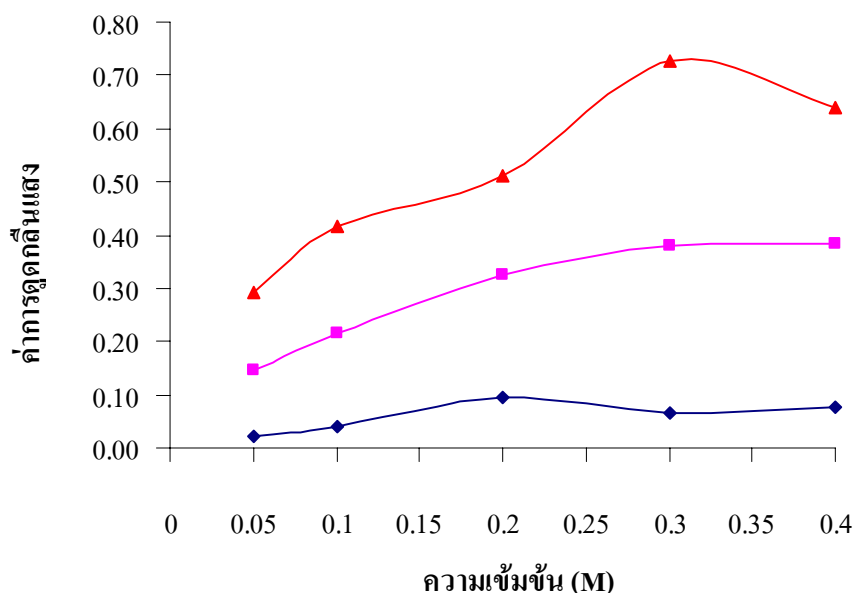
3.2.5 อิทธิพลของสารละลายออกซิเดชั่น

ในการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลนั้น เอทานอลจะถูกออกซิไดส์เกิดเป็นอะซีทัลดีไฮด์ ด้วยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ละลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก จึงได้ทดลองเพื่อศึกษาอิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและสารละลายกรดซัลฟูริก ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.075 M สำหรับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต และ 0.05-0.4 M สำหรับสารละลายกรดซัลฟูริก พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มมากขึ้นจึงได้เลือกความเข้มข้นที่ 0.05 M เป็นค่าที่เหมาะสมให้ค่าการตอบสนองที่ยอมรับได้และไม่

สันเปลื้อง สำหรับความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้น 0.3 M ความเข้มข้นที่มากขึ้นให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง จึงเลือกความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกที่ 0.3 M



รูปที่ 3.6 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.075 M, (Δ) 40% v/v เอทานอล, ($\square$) 20% v/v เอทานอล และ ($\diamond$) 5% v/v เอทานอล



รูปที่ 3.7 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟูริก ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.4 M, (Δ) 40% v/v เอทานอล, ($\square$) 20% v/v เอทานอล และ ($\diamond$) 5% v/v เอทานอล

3.3 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของระบบ FI

คุณลักษณะเด่นของระบบ FIA แสดงดังตารางที่ 3.1 ซึ่งในการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 1×10^{-3} และ 5×10^{-3} M มีสมการเชิงเส้นเป็น $y = 15.1x + 0.0039$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9901 สำหรับค่า RSD (n=10) มีค่าเท่ากับ 3.7% และ 2.9 % ของอะซีทัลดีไฮด์ความเข้มข้นที่ระดับ 1×10^{-3} และ 5×10^{-3} M ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด มีค่าเท่ากับ 5.2×10^{-4} M และขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ มีค่าเท่ากับ 1.74×10^{-3} M ส่วนของการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 10-50 %v/v สมการเส้นตรงเป็น $y = 0.032x + 0.0696$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9931 ค่า RSD (n=10) มีค่าเท่ากับ 4.50% และ 2.18% สารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้นที่ระดับ 10 และ 50 % v/v ตามลำดับ สำหรับค่าขีดจำกัดการตรวจวัด มีค่าเท่ากับ 4.56%v/v และขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ มีค่าเท่ากับ 15.19 %v/v

ตารางที่ 3.1 แสดงคุณลักษณะเด่นของระบบ FI ในการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอล

พารามิเตอร์	วิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์	วิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล
ช่วงความเป็นเส้นตรง	$1-5 \times 10^{-3}$ M	10-40 %v/v
RSD, %	3.7 และ 2.9 (1×10^{-3} และ 5×10^{-3} M)	4.50 และ 2.18 (10 และ 50 %v/v)
ขีดจำกัดการตรวจวัด	5.2×10^{-4} M	4.56 %v/v
ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ	1.74×10^{-3} M	15.19 %v/v

3.4 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเครื่องดื่มสุราและเครื่องดื่มผสมแอลกอฮอล์

ความเข้มข้นของอะซีทัลดีไฮด์และความเข้มข้นของเอทานอลที่ตรวจพบในตัวอย่างเครื่องดื่มสุราและเครื่องดื่มผสมแอลกอฮอล์ จำนวน 5 ตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นของอะซีทัลดีไฮด์และความเข้มข้นของเอทานอลที่ตรวจพบในตัวอย่าง

ตัวอย่าง	อะซีทัลดีไฮด์/ mM (mean $\pm$ SD)		เอทานอล / % v/v (mean $\pm$ SD)		
	วิธีที่พัฒนา	GC	ค่าข้างฉลาก	วิธีที่พัฒนา	GC
สุรากลั่น 1	3.57	3.69	35	36.8	37.9
สุรากลั่น 2	3.21	3.07	35	34.8	33.7
ไวน์ผลไม้ 1	5.24	5.37	10	9.81	9.88
ไวน์ผลไม้ 2	5.11	5.24	10	8.97	9.01
ไวน์ผลไม้ 3	5.87	5.78	14	13.5	14.7

จากตารางจะเห็นว่า ทั้งปริมาณอะซีทัลดีไฮด์และปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้ มีค่าใกล้เคียงกับที่เมื่อใช้วิธีมาตรฐานคือ Gas chromatography (GC) โดยเมื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติ คือ *paired t-test* (20) พบว่าผลลัพธ์วิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (อะซีทัลดีไฮด์: $t_{\text{observed}} = 0.50$, $t_{\text{critical}} = 2.78$, เอทานอล: $t_{\text{observed}} = 0.62$, $t_{\text{critical}} = 2.78$) จึงกล่าวได้ว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำ

4. สรุปผลการทดลอง

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอลในเครื่องดีมแอลกอฮอล์ โดยใช้เทคนิคโฟลอินเจกชัน Flow Injection Analysis (FIA) ร่วมกับ Gas diffusion (GD) unit เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอลนั้น ได้ออกแบบระบบเป็น 2 ระบบ ระบบที่ 1 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ใช้น้ำเป็นสารละลายตัวพา ระบบที่ 2 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ที่เกิดจากเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ที่มีในสารตัวอย่าง ใช้น้ำเป็นสารละลายตัวพาเป็นโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ที่แพร่ผ่านแก๊สดีฟฟิวชันขึ้นมานี้จะทำปฏิกิริยากับสารละลายผสมระหว่าง มอร์โฟลีน กับ โซเดียมไนโตรพรัสไซด์

การหาปริมาณของอะซีทัลดีไฮด์ได้ทำได้โดยสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งได้สมการเชิงเส้นเท่ากับ $y = 0.032x + 0.0696$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9931 และมีความเที่ยงการตรวจวัด %RSD = 3.67 และ 2.9 ในระดับความเข้มข้น 1×10^{-3} และ 5×10^{-3} M ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของอะซีทัลดีไฮด์ที่ตรวจพบได้ (LOD) เท่ากับ 5.2×10^{-4} M และความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดปริมาณของอะซีทัลดีไฮด์ได้ (LOQ) เท่ากับ 1.74×10^{-3} M

การหาปริมาณของเอทานอล ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งได้สมการเชิงเส้นเท่ากับคือ $y = 0.032x + 0.0696$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) = 0.9931 และมีความเที่ยงการตรวจวัด %RSD = 4.50 และ 2.18 ในระดับความเข้มข้น 10 และ 50 % v/v ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของเอทานอลที่ตรวจพบได้ (LOD) เท่ากับ 4.56 % v/v และ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดปริมาณของเอทานอลได้ (LOQ) เท่ากับ

15.19 % v/v เมื่อ นำผลการวิเคราะห์ผลสารตัวอย่างเครื่องต้มแอลกอฮอล์ด้วยระบบ FI-GD มาเปรียบเทียบกับเทคนิค แก๊สโครมาโทกราฟี ด้วยหลักทางสถิติ t-test พบว่าให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เทคนิคโพลินเจกชันที่ได้พัฒนาขึ้นมาใหม่นั้นเป็นเทคนิคที่ไม่จำเป็นต้องมีการเตรียมสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ทำให้ประหยัดเวลาและใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่นาน ใช้สารเคมีและสารตัวอย่างปริมาณน้อย ลดต้นทุนในการวิเคราะห์ และวิธีการวิเคราะห์เป็นแบบอัตโนมัติ

เอกสารอ้างอิง

- [1] ราชกิจจานุเบกษา, ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสุรากลั่น, เล่ม 118 ม, 2544
- [2] AOAC. (1990) *AOAC official method of analysis of the association of official analytical chemistry*: Inc. Virginia.
- [3] <http://www.flowinjection.com>
- [4] Kovai J. (1985). Determination of alcoholic strength in alcoholic beverage by gas-solid chromatography: precision and accuracy. *Journal of Chromatography A*; 333: 389-403.
- [5] Tekeuchi T., and Murase K. (1988). Determination of alcohols in alcoholic beverage by micro high-performance liquid chromatography with indirect photometric detection. *Journal of Chromatography A*; 445: 139-144.
- [6] M. Gallignani, C. Ayala, R. B. Brunetto, L. J. Burguera and M. Burguera *Talanta*; 68 (2005) 470-479.
- [7] Gallignani M., Garrigues S., and Guardia dela M. (1994). Derivative Fourier transform infrared spectrometric determination of ethanol in alcoholic beverage. *Analytica Chimica Acta*; 287: 275-283.
- [8] Nordon A., Mills A., Burn. T. R., Cusick. M. F., and Littlejohn D. (2005). Comparison of non-invasive NIR and Raman spectrometries for determination of alcohol content of spirits. *Analytica Chimica Acta*; 548: 148-158.
- [9] Lvova L., Paolesse R., Natale D. C., and D'Amico A. (2006). Detection of alcohols in beverages: An application of porphyrin-based Electronic tongue. *Sensors and Actuators B: Chemical*; 118:439-447.
- [10] Rotariu L., Bala C., and Magearu V. (2004). New potentiometric microbial biosensor for ethanol determination in alcoholic beverages. *Analytica Chimica Acta*; 513:119-123.
- [11] Santos S. A., Pereira C. A., Duran N., Kubota T. L. (2006). Amperometric biosensor for ethanol based on co-immobilization of alcohol dehydrogenase and Meldola's Blue on multi-wall carbon nanotube. *Electrochimica Acta*; 52:215-220.
- [12] Mattos I. L. Sartini R. P., and Zagatto E. A. G., Reis B. F. And Gine M. F. (1998) Spectrophotometric flow injection determination of ethanol in distilled spirits and wines involving permeation through a silicone tubular membrane. *Analytical Sciences*. 14: 1005-1008.
- [13] Jytte Molin Christensen, Helle Angelo, Joachim Knop (1981) Gas-liquid chromatographic determination of ethanol and acetaldehyde in tissues. *Clinica Chimica Acta*, 116(3), 389-395

- [14] Lena Kristoffersen, Liv –Ellen Stormhr and Anne Smith-Kielland (2006), Headspace gas chromatographic determination of ethanol: The use of factorial design to study effects of blood storage and headspace conditions on ethanol stability and acetaldehyde formation in whole blood and plasma *Forensic Science International*,161(2-3),151-157.
- [15] Jytte Molin Christensen, Helle Angelo and Joachim Knop (1981), Determination of acetaldehyde in human blood by a gas chromatographic method with negligible artefactual acetaldehyde formation *Clinica Chimica Acta*,116(3), 389-395.
- [16] E. Priego-Lopez and M.D.Luque de Castro (2002), Pervaporation-gas chromatography coupling for slurry samples: Determination of acetaldehyde and acetone in food, *Journal of chromatography*, 976 (1-2), 399-407.
- [17] Weidong Ma and W.R. Klemm (1997), Determination of acetaldehyde in blood by solid phase extraction and high performance liquid chromatography, *Alcohol*,14(5), 469-472.
- [18] Ala'ddin M. Almuaibed and Alan Townshend (1987), Determination of acetaldehyde by flow injection analysis with soluble or immobilized aldehyde hydrogenase, *Analytical Chimica Acta* ,198, 37-44.
- [19] F. Lazaro, M.D. Luque de Castro and M. Valcarcel (2001), Individual and simultaneous enzymatic determination of ethanol and acetaldehyde in wines by flow injection analysis, *Analytical Chimica Acta* ,185, 57-64.
- [20] J. N. Miller and J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4th edn., 2000, Pearson Education Limited, Essex, England

Outputs ที่ได้จากโครงการ

1. **ต้นแบบอุปกรณ์รื่องขนาดเล็ก** ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบสำหรับอุปกรณ์ที่มีวัตถุประสงค์ต่างกันดังนี้

1.1 อุปกรณ์รื่องขนาดเล็กแบบที่ 1 ใช้เป็นต้นแบบสำหรับสร้างอุปกรณ์ราคาถูกที่ใช้ในส่งสาร ตัวอย่างและสารเคมีปริมาตรน้อยๆภายในคราวเดียวกันได้

1.2 อุปกรณ์รื่องขนาดเล็กแบบที่ 2 โดยใช้ร่วมกับเยื่อเลือกผ่านแบบที่ยอมให้แก๊สเท่านั้นที่ผ่านได้ เป็นต้นแบบสำหรับนำไปวิเคราะห์สารระเหยแบบจำเพาะเจาะจง

2. **องค์ความรู้ใหม่** โดยการใช้อุปกรณ์รื่องขนาดเล็กแบบที่ 1 และ แบบที่ 2 ร่วมกับเทคนิควิเคราะห์ที่อาศัยหลักการไหลของของเหลว ทำให้ได้ระบบวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ 2 ระบบ

2.1 ระบบแบบรู้ผลเร็ว สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณหลักและครีอะตินินในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่รับประทานยาขับหลัก

2.2 ระบบแบบที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ของไทย ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ OTOP

3. **การพัฒนากำลังคนทางด้านวิทยาศาสตร์**

4. **สามารถเผยแพร่ผลงานวิจัย** ทั้งในรูปแบบของผลงานวิจัยตีพิมพ์ และ ในรูปแบบของการประชุมวิชาการระดับชาติและระดับนานาชาติดังนี้ (ดูรายละเอียดที่ภาคผนวก)

4.1 **รูปแบบของผลงานวิจัยตีพิมพ์** ได้แก่ Proceeding งานประชุมนานาชาติ PACCON 2010 จำนวน 1 เรื่อง

4.2 **รูปแบบของการประชุมวิชาการ**

ระดับชาติ ได้แก่

4.2.1 The 9th Asian Conference on Analytical Science

สถานที่ เมืองเจจู ประเทศเกาหลีใต้ วันที่ 4 -8 พฤศจิกายน 2550

4.2.2 ICFA 2008

สถานที่ เมืองนาโกยา ประเทศญี่ปุ่น วันที่ 28 กันยายน – 3 ตุลาคม 2551

4.2.3 Flow Analysis XI

สถานที่ เมือง Mallorca ประเทศสเปน วันที่ 14 -18 กันยายน 2552

4.2.4 The 48th Meeting by Japanese Association for Flow Injection Analysis

สถานที่ เมืองโอซากา ประเทศญี่ปุ่น วันที่ 24 -28 พฤศจิกายน 2552

4.2.5 PACCON 2010

สถานที่ จ.อุบลราชธานี ประเทศไทย วันที่ 21 -23 มกราคม 2553

ระดับนานาชาติ ได้แก่

4.2.6 การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 34 (วทท. 34)

สถานที่ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ วันที่ 31 ตุลาคม – 3 พฤศจิกายน

2551

ภาคผนวก

Reprint ผลงานวิจัย
(Proceeding ในงานประชุมนานาชาติ
PACCON 2010 จำนวน 1 เรื่อง)

SELECTIVE DETERMINATION OF ACETALDEHYDE BY MEMBRANE PERMEATION WITH SPECTROPHOTOMETRIC FLOW INJECTION

P. Inpota^{1,2}, A. Kongsakphaisal², D. Nacapricha^{1,3} and N. Choengchan^{1,2*}

¹ Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs),

² Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520 Thailand

³ Department of Chemistry and Center of Excellent for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, 10400 Thailand

*E-mail: nchoengchan@gmail.com

Abstract: This work describes method development for selective determination of acetaldehyde. The method is based on using gas-diffusion flow injection (GD-FI) with spectrophotometric detection. . Detection principle is based on monitoring of a blue-colored product of the reaction between diffused acetaldehyde with nitroprusside and morpholine. By the developed system, linear correlation between absorbance reading at 600 nm and acetaldehyde concentration (0.5 to 5.0 mM) was achieved. Application of the method to determine trace acetaldehyde in Thai alcoholic beverages was investigated for the sake of food safety. Results are compared with the results obtained from gas chromatographic (GC) method. They were successfully validated. The method also provided high precision (RSD = 3.7 % for 1 mM and 2.9 % for 5 mM), high accuracy (Recovery = 92-101 %) and high throughput (40 samples/ h). By means of GD, samples were determined selectively and directly without any pretreatment or dilution.

Introduction

Acetaldehyde is toxic and is carcinogenic substance which can raise cancer risk for human, according to the International Agency for the Research on Cancer (IARC) [1]. Trace acetaldehyde can be contaminated in foods and beverages. For alcoholic drinks, acetaldehyde can be produced by further oxidation of ethanol by yeast during fermentation. Level of acetaldehyde in beverage should be legally under regulation. In Thailand, its quantity has to be lower than 160 ppm (approximately 4 mM) [2]. Therefore, measurement of acetaldehyde in beverage is necessary in term of quality control and food safety.

There are a great number of analytical methods for quantitative analysis of acetaldehyde. Electrochemical techniques with different detection patterns, such as conductometry, potentiometry and cyclic voltammetry, have been reported [3-5]. Colorimetry has also been presented for determination of acetaldehyde in variety of sample matrices [6-11]. Advantages of the colorimetric methods are their simplicity. However, the absorbance measurement is strongly perturbed by sample color and its matrix. Sample pretreatment step such as distillation before detection was essentially included for selectivity improvement [6, 7].

The other analytical methods for specific analysis of acetaldehyde are separation techniques. Some researchers proposed gas chromatography (GC) for separation of acetaldehyde from sample containing high acetic acid concentration [12]. Whilst another presented the GC with headspace as a method for direct analysis of acetaldehyde in food packaging [13]. Liquid chromatography with electrochemical detection for monitoring of acetaldehyde derivative was also reported [14]. Although the mentioned methods were selective, they consumed long analysis time which is not appropriate for routine work. Flow injection (FI) technique [15] then becomes more attractive due to its rapidity and automation. Usually for selective determination of acetaldehyde by the spectrophotometric-FI, the immobilized enzyme reactor was incorporated into the system [16-18]. Not only high selectivity but also high sampling frequency were achieved [16, 17]. Nevertheless, the cited enzyme-based FI method required dilution of beverage samples (>100 times) in order to eliminate interferences from sample color and matrices. This could lead to high risk of contamination and error.

In this work, a non enzymatic FI method for spectrophotometric determination of acetaldehyde is presented. Selective analysis can be accomplished by using gas-diffusion (GD) unit, fitted with gas permeable membrane. Diffused acetaldehyde was scrubbed into the acceptor stream of nitroprusside and morpholine. A blue-colored product was developed and was subsequently monitored at 600 nm. Application to alcoholic beverages and validation of the proposed method were also investigated.

Materials and Methods

Standards and reagents

All chemicals used were of analytical-reagent (AR) grade. Deionized-distilled water was used throughout.

Acetaldehyde standard (1 M) was prepared from 99.5 % (v/v) acetaldehyde (Riedel-de Haën, Germany)

and was standardized according to iodometry. Calibrators were prepared by appropriate dilution of stock standard with water.

Acceptor stream (AS in Figure 1) was freshly prepared by mixing 2.5 % (w/v) of sodium nitroprusside (AnalaR, Australia) and 5 % (v/v) of morpholine (Fluka, Germany).

The GD-FI manifold

The manifold of the GD-FI system is depicted in Figure 1. The system was established with TeflonTM tubing (0.5 mm i.d.). A peristaltic pump (P1) (Ismatec, Switzerland) was employed for delivering the streams of carrier (CS) and acceptor (AS). An AS-90 auto-sampling with another peristaltic pump (P2) (Perkin-Elmer, USA) was used for automatically loading standard or sample solutions into an injection loop of 300 μ l. A flat type GD unit (Methrohm, Switzerland), fitted with a circular PTFE membrane (47 mm diameter, pore size = 0.45 μ m; Sartorius, Germany), was used. Detection was carried out by a 630-UV-Vis. Spectrophotometer (Jasco, US).

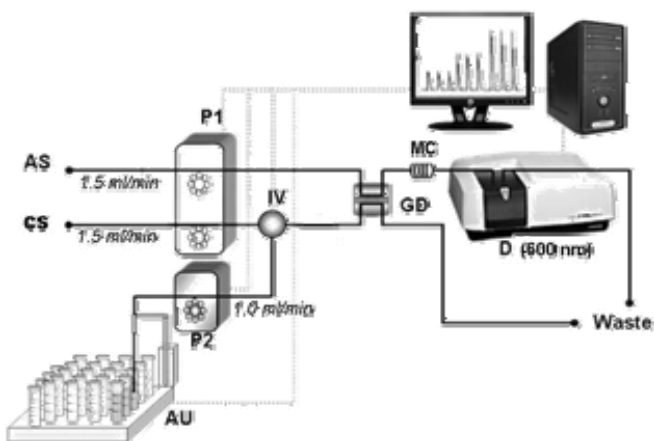


Figure 1. Manifold of the GD-FI system for determination of acetaldehyde. AU: Auto-sampler unit, P1, P2: Peristaltic Pump, IV: Injection Valve, MC: Mixing Coil, D: Detector, GD: Gas-diffusion unit with PTFE membrane, CS: Water and AS: Nitroprusside (2.5 % w/v) + Morpholine (5 % v/v).

Results and discussion

Absorption spectrum of detection reaction

The reaction between acetaldehyde with nitroprusside and morpholine was firstly proposed by F. Feigl [19] for qualitative analysis of acetaldehyde.

In this work, absorption spectra of the blue-colored product was monitored. Results are illustrated in Figure 2. Maximum absorption wavelength (λ_{max}) appears at 600 nm. This wavelength was therefore selected for all next investigation.

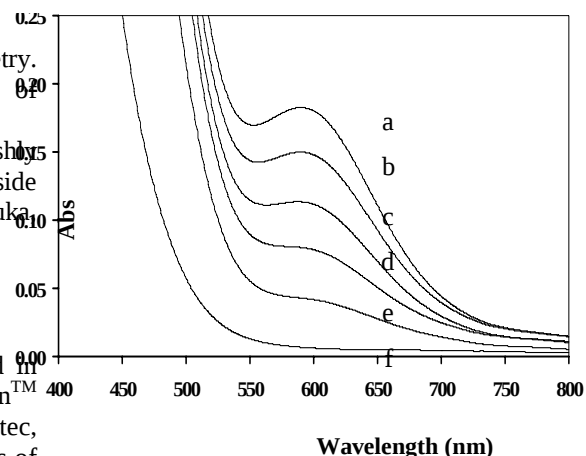


Figure 2. Spectra of standard acetaldehyde (a to e). a: 5, b: 4, c: 3, d: 2 and e: 1 mM. Spectrum of 0.6 % w/v nitroprusside, mixed with 1.2 % v/v morpholine (f).

Optimization of the GD-FI system

All chemical and physical parameters affecting sensitivity of the method were investigated by univariable approach. Each effect was discussed in subsections below. Summary of the studied ranges and the optimal values are shown in Table 1.

Effect of acceptor concentration

Effect of concentration of the acceptor stream is shown in Figure 3 and 4. Results in Figure 3 demonstrate that increasing in nitroprusside concentration results in improvement of sensitivity. Similar to the effect of morpholine (Figure 4), the sensitivity is increased with concentration of morpholine (upto 5 % v/v). At greater concentration (10 % v/v), the solution became more viscous. This leads to significant dropping in sensitivity. In addition, higher concentration of morpholine brought about strong alkaline solution. This can also affect the method sensitivity (See effect of pH of the acceptor stream). Concentration of 2.5 % (w/v) nitroprusside and of 5 % (v/v) morpholine is considerably appropriate since they gave adequate sensitivity.

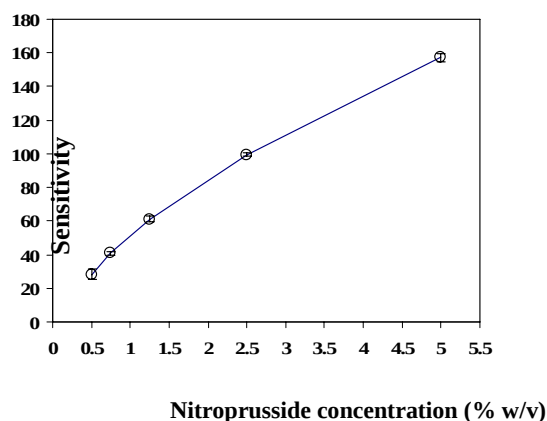


Figure 3. Effect of nitroprusside concentration.

Effect of sample volume

As expected, when sample size was increased from 100 to 500 μl , sensitivity was also increased. An aliquot of 300 μl was selected as compromising between sensitivity and consumption of sample.

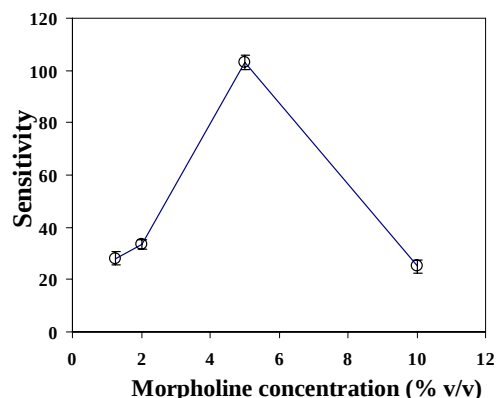


Figure 4. Effect of morpholine concentration.

Effect of donor and acceptor flow rate

The flow rate of donor and acceptor streams were examined simultaneously for the sake of simplicity. Sensitivity was noticeably declined when flow rate of the donor and acceptor stream were increased from 0.5 to 2.0 ml/min since residence time was decreased. The flow rate of 1.5 ml/min was selected with regards to sensitivity and sample throughput.

Effect of mixing coil length

When the length of mixing coil was prolonged from 50 to 300 cm, sensitivity was also enhanced. This was because of increasing in reaction time. However, at longer length (400 cm), sensitivity was slightly diminished due to dispersion. By taking into account for sensitivity and sampling frequency, a 300-cm mixing coil was chosen as suitable length.

Table 1: Studied and selected parameters of the GD-FI for determination of acetaldehyde.

Parameters	Studied range	Selected value
Chemical parameters		
Concentration of nitroprusside/ % w/v	0.5-5.0	2.5
Concentration of morpholine/ % v/v	1.25-10	5
Physical parameters		
Sample volume/ μl	100-500	300
Donor and acceptor flow rate/ ml/min	0.5-2.0	1.5
Mixing coil length/ cm	50-400	300

Effect of pH of the acceptor stream

M. Khanmohammadi *et al.* [11] presented that the reaction rate between nitroprusside and morpholine was inhibited by acetaldehyde itself in strong alkaline medium (pH 9.5). While the other researchers [8] reported that hypsochromic shift (blue shift) was occurred when the reaction was taken place in acidic solution. This brought about pink-colored product instead of blue.

In this work, pH of the acceptor solution with various morpholine concentrations was measured. Very high (10 % v/v) or low (2 % v/v) concentration of morpholine resulted in alkaline (pH 10.1) or acidic (pH 3.5) solution, respectively. Low sensitivity was observed when pH was not appropriate. Highest sensitivity was achieved with 5 % (v/v) morpholine. By this concentration, pH of the acceptor solution was 6.9. This can be an evidence for the highest sensitivity obtained when this concentration was exploited.

Analytical performances

Under the optimal condition, in Table 1, linear correlation between absorbance and acetaldehyde concentration (0.5 to 5 mM) was obtained with the following regression equation: $\text{Abs}_{600\text{nm}} = 99.5[\text{acetaldehyde}] + 0.0039$, $r^2=0.999$. Example of profiles when standard acetaldehyde was injected are shown in Figure 5.

Relative standard deviation (RSD, $n=10$) were 3.7 and 2.9 % when 1 and 5 mM were studied, respectively. Limit of detection (LOD, $3S/N$) was 0.42 mM. This was below regulation concentration of acetaldehyde in beverages [2]. This can guarantee that the developed method is capable for investigation the contaminated acetaldehyde in this kind of sample.

Accuracy of the method was also investigated in term of analytical recovery. It was found that recovery of seven samples was ranging from 92 to 101 %. This implies that the proposed system was not perturbed by sample matrix. Regarding sampling frequency of the system, throughput of 40 samples/ h was achieved.

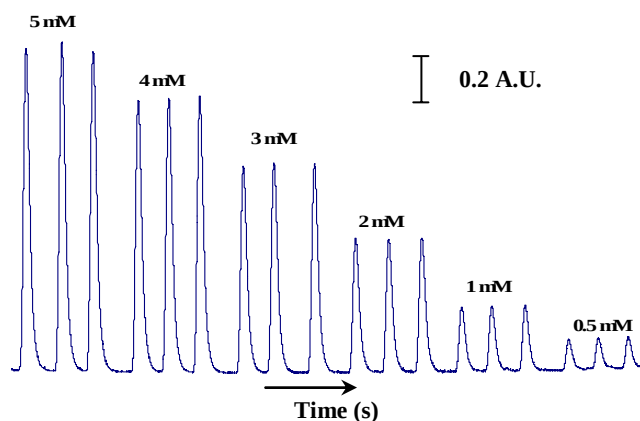


Figure 5. Profiles of standard acetaldehyde.

Interference study

D. J. Clancy *et al.* [8] revealed that the detection reaction was positively interfered by formaldehyde. In this work, effect of foreign species, namely the other aldehydes, (formaldehyde (0.04 M) and propionaldehyde (0.02 M), were examined.

Results indicated that signal alteration was within $\pm 3SD$ of the averaged absorbance of 5 mM acetaldehyde when high concentration of interferences (value in parenthesis) were studied. These concentration levels are much greater than their naturally found contents in beverages. This suggests that the method was not interfered by the investigated species.

Application to samples and validation

Synthetic (trace acetaldehyde in medium of high ethanol concentration) and real samples (wines and whisky) were determined. Red and fruit wines were made in Thailand, accordingly to 'OTOP' project. All samples were directly introduced into the GD-FI system without neither sample pretreatment nor any further dilution. The acetaldehyde concentration was validated against the GC method in which its operating condition was described elsewhere [20]. Results are presented in Table 2.

Table 2: Comparison of acetaldehyde concentration in alcoholic drinks, determined by the proposed method and by GC.

Sample	Acetaldehyde concentration*/ mM	
	This method	GC
Synthetic sample 1 (1 mM in 20 % Ethanol)	0.93 ± 0.001	1.09 ± 0.009
Synthetic sample 2 (2 mM in 30 % Ethanol)	2.12 ± 0.006	2.04 ± 0.007
Synthetic sample 3 (3 mM in 40 % Ethanol)	3.07 ± 0.002	3.11 ± 0.001
Red wine	0.68 ± 0.003	0.63 ± 0.001
Lychee wine	1.41 ± 0.001	1.36 ± 0.002
Strawberry wine	1.27 ± 0.003	1.30 ± 0.005
Whisky	1.18 ± 0.005	1.21 ± 0.007

* mean $\pm$ SD, n = 3 replicates

Results in Table 2 are not significant difference by means of statistical paired *t*-test [21] ($t_{\text{critical}} = 2.45$, $t_{\text{obs}} = 0.37$) at degree of 95 % confidence. This specifies that the proposed method gave high accuracy. In addition, the acetaldehyde levels of all real samples are also lower than regulation limit (4 mM).

Conclusions

The FI system was developed for spectrophotometric determination of acetaldehyde in alcoholic beverages. Selective analysis was achieved by using membrane permeation technique instead of enzymatic method. The system allows 'on-line' separation of acetaldehyde from sample matrices. This can lead to direct analysis of samples without any prior preparation.

The proposed method was successfully validated against GC. It also provided high precision with high sampling frequency. Therefore, the method can be considered as an alternative method for determination of acetaldehyde in routine analysis of beverages.

Acknowledgements

The authors would like to thank financial supports from the Thailand Research Fund (Grant no. MRG 5080264, given to NC) and from Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand (given to PI and NC). The authors would also like to express their appreciations to FIRST Labs., Mahidol University for contribution.

Dr. Warawut Tiyaopongpattana (Thammasart University) and Ms. Thitima Bhusrisom (Mahidol University) are also acknowledged for their suggestion and helps on preliminary experiment on GC.

References

- [1] <http://www.iarc.fr>.
- [2] Declaration of Ministry of Industry of Thailand. Issue 118, pp. 21.
- [3] I. A. Capuano, *Anal. Chem.* **32** (1960), pp. 1025-1027.
- [4] A. Avramescu, T. Noguer, M. Avramescu and J. L. Marty, *Anal. Chim. Acta.* **458** (2002), pp. 203-213.
- [5] V. S. Rodgher, L. L. Okumura, A. A. Saczk, N. R. Stradiotto and M. V. B. Zanoni, *J. Anal. Chem.* **61** (2006), pp. 889-895.
- [6] M. A. Joslyn and C. L. Comar, *Ind. Eng. Chem.* **10** (1938), pp. 364-366.
- [7] M. C. Bowman, M. Beroza and F. Acree Jr., *Anal. Chem.* **33** (1961), pp. 1053-1055.
- [8] D. J. Clancy and D. E. Kramm, *Anal. Chem.* **35** (1963), pp. 1987-1988.
- [9] G. P. Arsenault and W. Yaphe, *Anal. Chem.* **38** (1966), pp. 503-504.
- [10] S. Flamerz and W. A. Bashlr, *Anal. Chem.* **54** (1982), pp. 1734-1735.
- [11] M. Khanmohammadi, H. Vahid, N. Moazzen, A. B. Garmarudi and R. Alijanianzadeh, *J. Anal. Chem.* **63** (2008), pp. 1164-1167.
- [12] H. J. Rhodes, D. W. Bode and M. I. Blake, *Anal. Chem.* **46** (1974), pp. 1584.
- [13] L. Gramiccioni, M. R. Milana, S. Di Marzio and S. Lorusso, *Chromatographia.* **21** (1986), pp. 9-11.
- [14] A. A. Saczk, L. L. Okumura, M. F. de Oliveira, M. V. B. Zanoni, and N. R. Stradiotto, *Anal. Sci.* **21** (2005), pp. 441-444.
- [15] <http://www.flowinjection.com>
- [16] A. M. Almuaibed and A. Townshend, *Anal. Chim. Acta.* **198** (1987), pp. 37-44.
- [17] F. Lazaro, M. D. L. de Castro and M. Valcarcel, *Anal. Chem.* **59** (1987), pp. 1859-1863.
- [18] H. Mori, Y. Sekine and Y. Takahashi, *J. Health Sci.* **49** (2003), pp. 55-58.
- [19] F. Feigl, *Spot Tests in Organic Analysis*, Elsevier, The Netherlands (1960).
- [20] T. Bhusrisom, Selective quantitation of ethanol in beverage using some membraneless vaporization apparatuses, Master's Thesis, Mahidol University, 2009.
- [21] J. N. Miller and J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, fourth ed., Pearson Education, Essex, 1993.

บทคัดย่อผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการต่าง ๆ



The 9th Asian Conference
on Analytical Sciences
&
The 39th Convention of The Korean
Society of Analytical Sciences

November 4-8, 2007

Ramada Plaza Jeju, Jeju Island, Korea

www.asianalysis2007.org

Organized by

The Korean Society of Analytical Sciences

Korean Society for Mass Spectrometry

Division of Analytical Chemistry of the Korean Chemical Society

Division of Electrochemistry of the Korean Chemical Society

Cheju National University

Dual-Cross Injection Analysis for Dual-measurements of Iron and Creatinine

Thitirat Mantim^{1, 2*}, Patidta Sastranurak^{1, 2}, Patcharin Chaisuwan^{1, 2}, Worapon Jearrasupat^{1, 2}, Thatchai Chaichachwalprateep^{1, 3}, Chatpong Chuyprasartwattana^{1, 3}, Kanchana Uraisin^{1, 2}, Piyada Jittangprasert^{1, 4}, Duangjai Nacapricha^{1, 2}, Chatchalida Boonpanaid^{1, 3}, Prapin Wilairat^{1, 2} and Nathawut Choengchan^{1, 5}

¹ Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs),

² Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

³ Department of Industrial Chemistry, Faculty of Applied Science, King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok, Bangkok 10800, Thailand

⁴ Department of Chemistry, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok 10110, Thailand

⁵ Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

*E-mail: mantim_r@hotmail.com

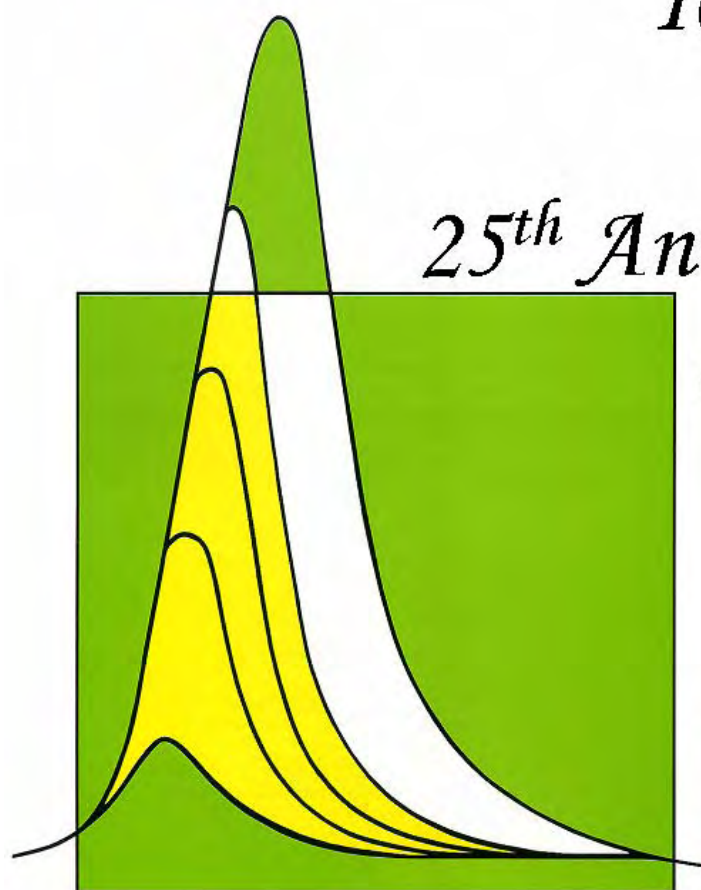
Tel: +66-22-015-120 Fax: +66-23-54-7151

Abstract

A recent flow-based technique, called 'cross injection analysis or CIA has been exploited in this work for simultaneous analyses of two analytes. CIA is a low-cost design of flow-system, which scarcely uses injection valve or selection valve. Flow channels are made by drilling small platforms of acrylic (match-box size) to obtain some cross-patterns. By this design, microliter-plugs of reagents and samples can be inserted at once, into the platforms and this offers rapid analysis with minute amount of waste. This work shows investigation of performance of a so-called 'dual-CIA' system, for dual-measurements of iron and creatinine. The system was developed in order to do simultaneous detection of iron and creatinine within a cycle of analysis. Utilization this dual-CIA concept for clinical analysis will be discussed.

Acknowledgements

Financial supports from the Thailand Research Fund or TRF (to NC and DN) and from the Center for Innovation in Chemistry: Postgraduate Education and Research Program in Chemistry (PERCH-CIC), Commission on Higher Education, Ministry of Education (to TM, PS, PC, KU, PW and DN), are gratefully acknowledged. The authors kindly appreciate the TRF RGJ-Ph. D. scholarship given to TM and the Staff Development in the Shortage Area grant given to PC.



ICFIA 2008

&

*25th Anniversary Meeting
of IAFIA*

in Nagoya

*September 28th –
October 3rd, 2008*

**determination of acetaldehyde and ethanol using gas-diffusion flow
injection with colorimetric detection**

Prewpan Inpota^{a,b}, Natta Wiriyakun^{a,b}, Kanyaporn Jaranayoot^{a,b},
Wannisa Thanateboorapashup^{a,b}, Patthama Kam-Oun^{a,b}, Arunee Kongsakphaisal^b,
Thitima Bhusrisom^{a,c}, Duangjai Nacapricha^{a,c} and Nathawut Choengchan^{a,b*}

^a*Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs.),*

^b*Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology*

Ladkrabang, Chalong Krung Road, Ladkrabang, Bangkok, 10520 Thailand

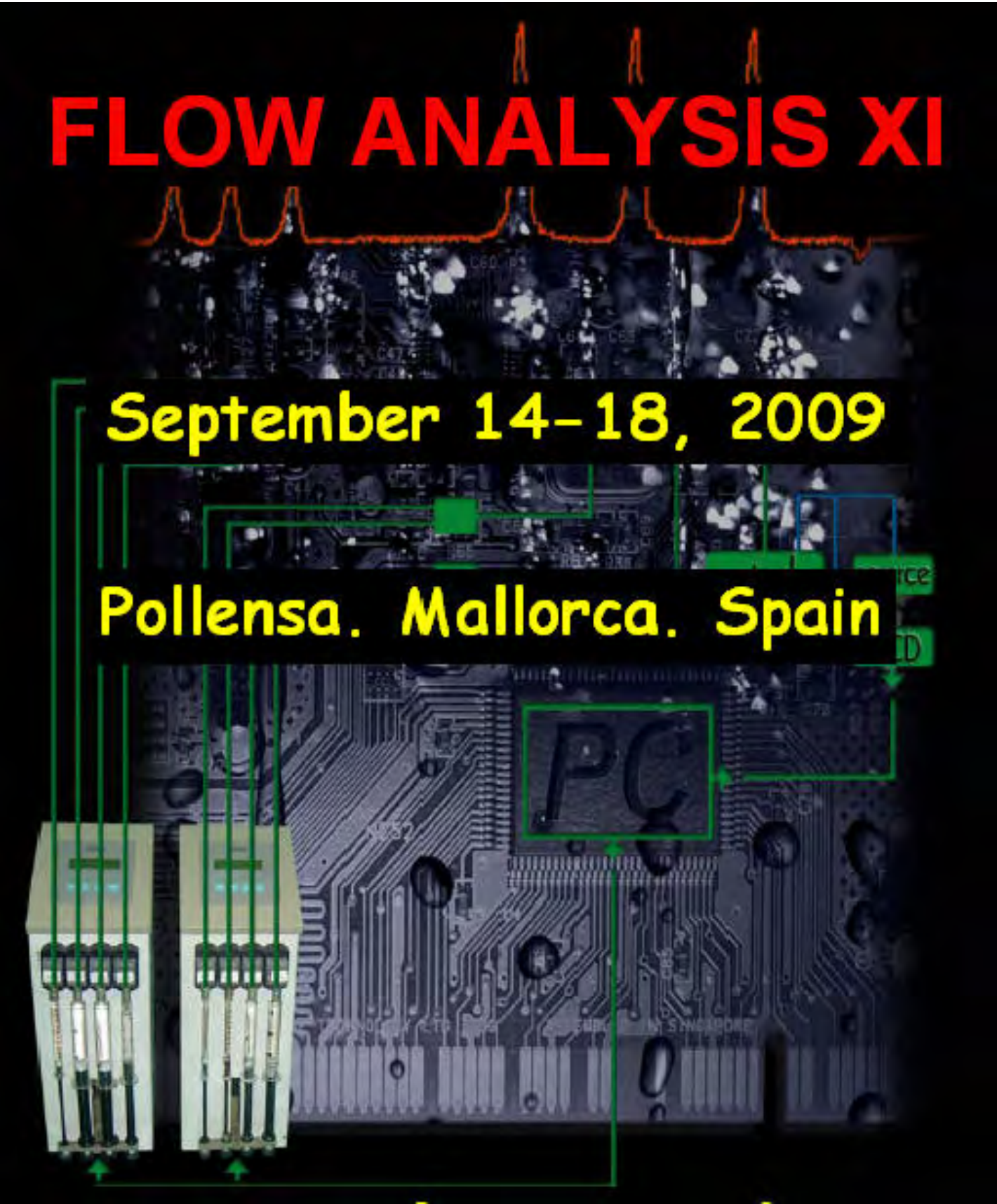
^c*Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Rama 6 Road, Rachatawee,*

Bangkok, 10400 Thailand

*E-mail: kcnathaw@kmitl.ac.th Tel: 66-2-326-4339-53 ext. 653 Fax: 66-2-326-4354

This work describes a simple gas-diffusion flow injection method for colorimetric determination of acetaldehyde and ethanol. Detection principle is relied on the reaction between acetaldehyde with a mixture solution of sodium nitroprusside and morpholine. After injection of standard/ sample solution into donor stream of water, acetaldehyde was passed through membrane inside a gas-diffusion unit. Permeated acetaldehyde was afterward reacted with the acceptor stream of mixed reagents. Blue-colored product was developed and was subsequently monitored at 600 nm. For the ethanol analysis, on-line oxidation of ethanol to become acetaldehyde was carried out using acidic potassium permanganate as the donor (instead of water). Under optimal conditions, linear calibrations of 1×10^{-3} to 5×10^{-3} M acetaldehyde and of 10 to 50 % (v/v) ethanol were achieved. Results were shown that selectivity of the method can be enhanced not only by means of gas-diffusion but also by using specific mixed reagents. Discussion will be also made on validation and application of the method to beverages.

FLOW ANALYSIS XI

The background of the slide is a dark, high-contrast image of a printed circuit board (PCB). Overlaid on the top half of the PCB is a chromatogram with several distinct peaks. The text 'FLOW ANALYSIS XI' is written in large, bold, red capital letters across the top. Below this, the dates 'September 14-18, 2009' are written in yellow. Further down, the location 'Pollensa. Mallorca. Spain' is written in yellow. At the bottom, there is a diagram showing two syringe pumps on the left, connected by green lines to a central box labeled 'PC' on the right. The green lines represent the flow paths between the pumps and the computer. The PCB itself has various components visible, including capacitors and integrated circuits, with some labels like 'C60', 'C47', and 'C65'.

September 14-18, 2009

Pollensa. Mallorca. Spain

PC

SIMULTANEOUS MEASUREMENTS OF IRON AND CREATININE IN URINE BY CROSS INJECTION ANALYSIS

T. Mantim^{a,b*}, K. Uraisin^{a,b}, N. Choengchan^{a,c}, P. Jittangprasert^{a,d}
W. Waiyawat^{a,b}, S. Foocharoen^e, P. Sirankpracha^e, N. Phumala Moralesy^f,
P. Wilairat^{a,b} and D. Nacapricha^{a,b}

^a Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs).

^b Department of Chemistry and Center for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand.

^c Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

^d Department of Chemistry, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok 10110, Thailand.

^e Thalassemia Research Center, Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University, Salaya Campus, Nakhonpathom 73170, Thailand.

^f Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand.

Thalassemic patients normally are suffered from the status of iron overload. These patients are often treated with some medicines that will bind with iron for excretion as iron complex during urination. Effectiveness and pharmaco-kinetics of the medication depends on various parameters, and this could be followed by monitoring iron contents excreted in urine. Like other cases of urine analysis, measurement of creatinine is also required at the same time for correction in the analysis.

In this work, we developed a microfluidic flow system, based on 'Cross Injection Analysis' or CIA, for simultaneous detections of both iron and creatinine using single wavelength detection. Within the system, two CIA platforms were connected in series before a visible spectrometer (540 nm). Detection principles for iron and creatinine were respectively based on Fe(II)-5-Br-PSAA reaction and Jaffé reaction. For iron, the linear working range is 1-8 mg L⁻¹ ($A-A_0$ at 540 nm = 4.59×10^{-2} [Fe(III)] + 8.55×10^{-3} , $r^2 = 0.999$). For creatinine, the linear working range is 50-800 mg L⁻¹ ($A-A_0$ at 540 nm = 6.55×10^{-4} [creatinine] + 2.79×10^{-3} , $r^2 = 0.999$).

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge financial supports from the Thailand Research Fund (TRF), and from the Center for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC),

Commission on Higher Education, Ministry of Education. The TRF-Royal Golden Jubilee Ph. D. scholarships of TM are gratefully acknowledged.

FLOW ANALYSIS XI

Contribution title: **SIMULTANEOUS MEASUREMENTS OF IRON AND CREATININE IN URINE BY CROSS INJECTION ANALYSIS**

Authors: **T. Mantim, K. Uraisin, N. Choengchan, P. Jittangprasert, W. Waiyawat, S. Foocharoen, P. Sirankpracha, N. Phumala Moralesy, P. Wilairat and D. Nacapricha**

Presentation preference: ☐ Oral ☒ Poster



AICHI INSTITUTE OF TECHNOLOGY

Department of Applied Chemistry

1247 Yachigusa, Yakusa, Toyota 470-0392, Japan

2009/09/29

Tadao Sakai

President of Japanese Association for Flow Injection Analysis
(JAFIA)

Aichi Institute of Technology
1247 Yachigusa, Yakusa-cho
Toyota 470-0392, Japan

Dr. Nathawut Choengchan

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Thailand

Dear Dr. Choengchan

The 48th Meeting by Japanese Association for Flow Injection Analysis will be held at Osaka Prefecture University, Osaka, Japan on November 27th, 2009. I would like invite you as an outstanding researcher of FIA and SIA fields. The Steering Committee has decided to accept your contribution entitled: "Selective Determination of Acetaldehyde and Ethanol using Membrane Permeation with Spectrophotometric Flow Injection" as a lecture. And I would also like invite you to visit my university, Aichi Institute of Technology (AIT) in Nagoya, to give a special seminar for graduate students in analytical chemistry on similar topic mentioned above.

I hope you will be able to accept this invitation. I am looking forward to seeing you in Osaka and Nagoya.

With best regards,

Tadao Sakai,

President of JAFIA,

Professor at AIT

Selective Determination of Acetaldehyde and Ethanol using Membrane Permeation with Spectrophotometric Flow Injection

Nathawut Choengchan^{1,2*}, Prawpan Inpota^{1,2},
Arunee Kongsakphaisal², Shoji Motomizu³ and Duangjai Nacapricha^{1,4}

¹ Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs),

² Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520 Thailand

³ Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, 3-1-1 Tsushimaoka, Okayama 700-8530, Japan

⁴ Department of Chemistry and Center for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, 10400 Thailand

* E-mail: nchoengchan@gmail.com

[Introduction] This work describes method development for selective determination of acetaldehyde and ethanol. The method is based on using gas-diffusion flow injection (GD-FI) with spectrophotometric detection. Detection principle is the reaction between acetaldehyde with nitroprusside and morpholine. Prior oxidation of ethanol to acetaldehyde is necessary. The method was applied to Thai alcoholic beverages for quality control.

[Procedure] The proposed GD-FI is depicted in Fig. 1.

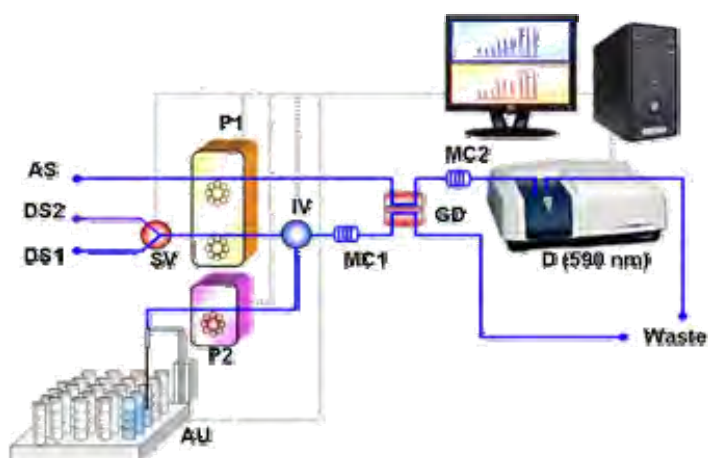


Fig. 1. Manifold of the GD-FI system for determination of acetaldehyde and/or ethanol.

AU: Autosampler Unit P1,P2: Peristaltic Pump SV : Selection Valve IV: Injection Valve

MC: Mixing Coil D : Spectrophotometer GD: Gas-diffusion Unit with PTFE membrane

(Pore size = 0.45 μm) DS1: Water DS2: Permanganate (0.05 M) in Sulfuric Acid (0.2 M)

AS : Nitroprusside (2.5%w/v) + Morpholine (5%v/v)

Detection was performed by monitoring a developed-blue product from the specific reaction of diffused acetaldehyde gas with morpholine and nitroprusside. For

the ethanol analysis, ‘on-line’ prior oxidation of ethanol to acetaldehyde by acidic permanganate was required.

[Results and Discussion] By the developed GD-FI system, linear correlations between absorbance reading at 600 nm and acetaldehyde or ethanol concentration were achieved. Application of the device to determine ethanol and toxic acetaldehyde level in ‘home-made’ and ‘industrial-made’ Thai alcoholic drinks was investigated for the sake of food safety. Results are compared with the results obtained from gas chromatographic (GC) method. They are summarized in Table 1.

Table 1 Concentration level of acetaldehyde and ethanol in alcoholic beverages

Sample	Acetaldehyde / mM (mean $\pm$ SD)		Ethanol / % v/v (mean $\pm$ SD)		
	This method	GC method	Label	This method	GC method
Thai whisky 1	3.57	3.69	35	36.8	37.9
Thai whisky 2	3.21	3.07	35	34.8	33.7
Fruit Wine 1	5.24	5.37	10	9.81	9.88
Fruit Wine 2	5.11	5.24	10	8.97	9.01
Fruit Wine 3	5.87	5.78	14	13.5	14.7

By statistical *paired t*-test, the results were not significant difference between the methods compared. (Acetaldehyde: $t_{\text{observed}} = 0.50$, $t_{\text{critical}} = 2.78$, Ethanol: $t_{\text{observed}} = 0.62$, $t_{\text{critical}} = 2.78$).

[Conclusions] The GD-FI system for spectrophotometric determination of acetaldehyde and ethanol was successfully developed. The method allows selective analysis of acetaldehyde and ethanol. It also provided high precession (Acetaldehyde: RSD = 1.2 %, Ethanol: RSD = 3.5 %) with high accuracy (Acetaldehyde: Recovery = 92-101 %, Ethanol: Recovery = 89-95 %).

[Acknowledgement] The author would like to thank the Thailand Research Fund (TRF) (given to NC) and Faculty of Science, King Mongkut’s Institute of Technology Ladkrabang (given to NC) for financial supports. The authors would also like to express their appreciations to FIRST Labs for contribution involving some glassware and the GD unit.



PACCON 2010

Pure and Applied Chemistry Conference 2010

Jan 21-23, 2010, Sunee Grand Hotel and Convention Center, Ubonratchathani, Thailand

December 15, 2009

Acceptance Letter for PACCON 2010

Dear Dr.Nathawut Choengchan,

E-mail: nchoengchan@gmail.com

The submission of your scientific contribution (Abstract ID ANC120) titled

“Selective determination of acetaldehyde in beverage by gas-diffusion flow injection method”

is acknowledged and its abstract accepted as **Poster presentation**. More information of abstract acceptance will be noticed in the PACCON 2010 website (<http://www.pacon2010.sci.ubu.ac.th/>) via your account.

We look forward to welcoming you to the PACCON 2010 in Ubonrachathani, Thailand.

With the best wishes,

Yours sincerely,

Janpen Intaraprasert

Chairperson, PACCON2010 Organizing Committee

Dean, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

Pure and Applied Chemistry Conference 2010

Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, Ubonratchathani, Thailand, 34190

Tel: (+66)-45-353401-4 ext. 4124, (+66)-89-7176787 Fax (+66)-4535-3422

E-mail: pacon2010@gmail.com

Website: <http://www.pacon2010.sci.ubu.ac.th>

Selective determination of acetaldehyde in beverage by gas-diffusion flow injection method

Prawpan Inpota^{1,2}, Natta Wiriyakun^{1,2}, Kanyaporn Jaranayoot^{1,2}, Arunee Kongsakphaisal², Duangjai Nacapricha^{1,3}, Nathawut Choengchan^{1,2} *

¹ Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs.),

² Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand 10520

³ Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand 10400

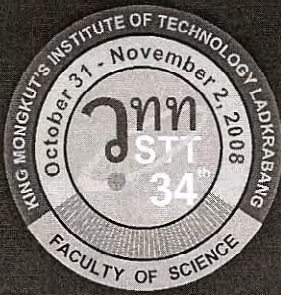
*E-mail: nchoengchan@gmail.com, Tel: +66-2-326-4339-53 ext 653

Gas-diffusion (GD) flow injection (FI) method can be classified as membrane-based technique. By means of this technique, separation of volatile analyte from non volatile interferences is accomplished with exploiting gas permeable membrane.

In this work, the GD-FI method was developed for the selective determination of acetaldehyde. A standard or sample was injected into a donor stream of water flowing into a GD unit. Acetaldehyde was diffused through a PTFE membrane (0.45 μm) into an acceptor stream of morpholine and nitroprusside and forming of blue-colored product was further detected at 600 nm. Under the optimal condition, a dynamic working range was 1.0 to 5.0 mM ($\text{Abs}_{600\text{nm}} = 0.032[\text{Acetaldehyde}] + 0.069$) with detection limit (3SD of blank) of 0.52 mM and RSD of 2.9 %. Validation and application to determination of contaminated acetaldehyde in Thai whiskies and fruit wines were also investigated. Based on statistical *paired t*-test, there was no evidence of significant difference between results, determined by the proposed method and by the standard gas chromatographic method ($t_{\text{observed}} = 0.50$, $t_{\text{critical}} = 2.78$) at 95 % confidence. The method is highly accurate and allows rapid measurement (Throughput of 30 samples h^{-1}). Thus, it is an alternative choice for selective and routine determination of acetaldehyde in alcoholic beverage.

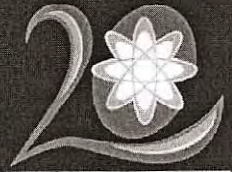
REFERENCES :

1. Fang, Z. L. Flow injection separation and preconcentration, VCH publishers, Germany, 1993.
2. Khanmohammadi M.; Vahid H.; Moazzen N.; Garmarudi A. B.; Alijanianzadeh R. J. *Anal. Chem.* **2008**, 63, 1164-1167.



THE 34th CONGRESS on SCIENCE and TECHNOLOGY of THAILAND (STT 34)

การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่ง
ประเทศไทย ครั้งที่ 34 (วทท 34)



20 ปี คณะวิทยาศาสตร์ 2551
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง



60 ปี สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์
60th ANNIVERSARY OF THE SCIENCE SOCIETY OF THAILAND UNDER THE PATRONAGE OF HIS MAJESTY THE KING

SCIENCE AND TECHNOLOGY FOR GLOBAL CHALLENGES

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสำหรับโลกแห่งความท้าทาย

To Celebrate the 60th
Anniversary of the Science
Society of Thailand under the
Patronage of His Majesty the King

To Celebrate the 20th
Anniversary of Faculty of Science,
King Mongkut's Institute of Technology
Ladkrabang

October 31 - November 2, 2008
Venue: Queen Sirikit National Convention Center
Bangkok, Thailand.

31 ตุลาคม - 2 พฤศจิกายน 2551
ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์
กรุงเทพมหานคร

Organized by :

The Science Society of Thailand under the Patronage of His Majesty the King
In association with Faculty of Science, King Mongkut's Institute of
Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand.



การตรวจวัดอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอลอย่างจำเพาะเจาะจงโดยใช้โฟลอินเจกชันร่วมกับแก๊สดีฟฟิวชัน

SELECTIVE DETECTION OF ACETALDEHYDE AND ETHANOL BY GAS-DIFFUSION FLOW INJECTION

แพรวพรรณ อินโปธา^{1,2}, นัฏฐา วิริยะกุล^{1,2}, กัญญาภรณ์ จรณายุธ^{1,2}, วรรณิศา ธเนศบุรพาทรัพย์², ปัทมา คำอูน², อรุณี คงศักดิ์ไพศาล², ดวงใจ นาคะปรีชา^{1,3} และ ณัฐวดี เชิงชัน^{1,2*}

Prewpan Inpota^{1,2}, Natta Wiriyakun^{1,2}, Kanyaporn Jaranayoot^{1,2}, Wannisa Thanateboorapashup¹, Patthama Kam-Oun¹, Arunee Kongsakphaisal¹, Duangjai Nacapricha^{1,3} and Nathawut Choengchan^{1,2*}

¹Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs.),

²Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chalong Krung Road, Bangkok, 10520 Thailand

³Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Rama 6 Road, Bangkok, 10400 Thailand: e-mail: kcnathaw@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้ นำเสนอวิธีการตรวจวัดอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอลโดยใช้ระบบโฟลอินเจกชันร่วมกับแก๊สดีฟฟิวชัน หลักการตรวจวัดอาศัยปฏิกิริยาระหว่างอะซีทัลดีไฮด์และโซเดียมไนโตรพรัสไซด์กับมอร์โฟลีน เมื่อฉีดสารมาตรฐานลงสู่กระแสของตัวพาที่เป็นน้ำ อะซีทัลดีไฮด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านชนิดไฮโดรโฟบิกแล้วทำปฏิกิริยากับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์และมอร์โฟลีนซึ่งใช้เป็นกระแสของตัวรับ เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินซึ่งติดตามค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร สำหรับการตรวจวัดเอทานอล ต้องเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นอะซีทัลดีไฮด์โดยการออกซิเดชันด้วยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกรดซึ่งใช้เป็นกระแสตัวพา (แทนที่จะใช้น้ำ) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมพบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงของอะซีทัลดีไฮด์ คือ 1×10^{-3} ถึง 5×10^{-3} โมลาร์ และของเอทานอลคือ ร้อยละ 5 ถึง 40 โดยปริมาตร ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าการใช้แก๊สดีฟฟิวชันทำให้ตรวจวัดอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอลได้อย่างจำเพาะเจาะจง

Abstract: This work presents a method for colorimetric detection of acetaldehyde and ethanol using a gas-diffusion flow injection system. Detection principle is based on the reaction between acetaldehyde with sodium nitroprusside and morpholine. After injection of standard solution into donor stream of water, acetaldehyde diffuses through hydrophobic membrane inside a gas-diffusion unit. Permeated acetaldehyde afterward reacts with the acceptor stream of sodium nitroprusside and morpholine. Blue-colored product is developed and is subsequently monitored at 600 nm. For the ethanol detection, on-line oxidation of ethanol to become acetaldehyde is carried out using acidic potassium permanganate as the donor (instead of water). Under optimal conditions, linear calibrations of 1×10^{-3} to 5×10^{-3} M acetaldehyde and of 5 to 40 % (v/v) ethanol were achieved. Results showed that selectivity of the method can be enhanced by means of gas-diffusion.