

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์  
โครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง  
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีงบประมาณ 2553

กลุ่มวิจัยวัสดุขั้นสูง (Advance Material Cluster)

ชุดโครงการวิจัยเรื่อง

นวัตกรรมในระบบการตรวจวิเคราะห์เชิงเคมีไฟฟ้าและ/หรือเชิงแสง  
(Innovations in Electrochemical and/or Optical Analytical System)

หัวหน้าโครงการวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.อรรณณ ชัยลภากุล  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มี  
ศักยภาพสูง กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช (CU-CLUSTER-FUND)

## สารบัญ

	หน้า
<b>กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)</b>	i
<b>บทนำรวม</b>	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
วัตถุประสงค์หลักของชุดโครงการวิจัย	2
เป้าหมายเชิงยุทธศาสตร์ของชุดโครงการวิจัย	2
ประโยชน์ที่ได้รับ	2
<b>ชื่อโครงการ การพัฒนาระบบของไหลขนาดจุลภาคสำหรับการตรวจวัดคอเลสเตอรอล อย่างรวดเร็วและจำเพาะเจาะจง (Development of microfluidic devices for a fast and highly sensitive detection of cholesterol)</b>	3
บทคัดย่อ	4
บทนำ	6
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	6
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย	8
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
การทดลอง	9
เครื่องมือและอุปกรณ์	9
สารเคมี	9
การเตรียมไมโครชิพจาก PDMS	10
การทดสอบประสิทธิภาพของไมโครชิพ	11
การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	11
การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดคอเลสเตอรอล	13
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	20
บรรณานุกรม	20
<b>ชื่อโครงการ การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียมอินเจกชัน/ แอนดิกสทริบปีงโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน เคลือบด้วยฟิล์มทอง</b>	22
บทคัดย่อ	23

บทนำ	25
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	25
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26
วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย	30
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	30
การทดลอง	31
เครื่องมือและอุปกรณ์	31
สารเคมี	32
การให้ศักย์ไฟฟ้าและการวัดสัญญาณกระแสไฟฟ้าโดยใช้เทคนิคซีเควินเซลล์	32
อินเจกชัน/สแควร์เวฟแอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี	
การหาภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซลล์อินเจก	34
ชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี	
การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์	40
การวิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม	44
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	47
บรรณานุกรม	48
<b>ชื่อโครงการ</b> การพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าสำหรับการประยุกต์ใช้ในเชิง	50
วิเคราะห์ (Development of Electrochemical Catalysts for Analytical	
Application)	
บทคัดย่อ	51
บทนำ	53
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	53
การทดลอง	54
การเตรียมฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิก	54
การเกิดออกซิเดชันเชิงไฟฟ้า (electrooxidation) ของแอลดีไฮด์ชนิดต่าง ๆ	54
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	55
บรรณานุกรม	55
ประวัตินักวิจัย	56

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจ็กชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี	32
2	ลำดับขั้น (step sequence) ในการตรวจวัดปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจ็กชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี	33
3	ผลการวัดสัญญาณที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าของฟีกปรอท	43
4	ความสูงของฟีกปรอทจากโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ซ้ำ 10 ครั้ง	44
5	ความเข้มข้นของปรอทที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างน้ำดื่มที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอท	46
6	ภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปรอทปริมาณด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจ็กชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทอง	47

## สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างคอเลสเทอรอล	6
2	ปฏิกิริยาระหว่างคอเลสเทอรอลกับเอนไซม์โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีในการตรวจวัดคอเลสเทอรอล	6
3	PDMS ไมโครชิปที่ใช้ในการทดลอง (Channel มีความกว้างและความลึก 50 ไมโครเมตร, Separation channel มีความยาว 5 เซนติเมตร, Double-T injection channel มีความยาว 250 ไมโครเมตร, Working electrode ที่ใช้ คือ ลวดทอง ขนาด 25 ไมโครเมตร, บริเวณของ reservoir ต่างๆ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร)	10
4	อิเล็กโทรโพรแกรมของสารมาตรฐาน dopamine และ catechol โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลองคือ 250 $\mu$ M dopamine and catechol; running buffer, MES (pH 7.0); separation voltage 1300 V; detection potential 0.8 V; pinched injection time 20 s; working electrode; 25 $\mu$ m Au wire.	11
5	Hydrodynamic voltamogram ของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 500 $\mu$ M hydrogen peroxide, running buffer; 10mM PB (pH 7.4), separation voltage; 1300V, injection time; 20 s, working electrode; 25 $\mu$ m Au wire.	12
6	รูปแบบการใส่สารในการตรวจวัดคอเลสเทอรอลของไมโครชิปที่ใช้ในงานวิจัย	13
7	ปฏิกิริยาของเอนไซม์ใน separation channel และ ปฏิกิริยาการตรวจวัดที่เกิดขึ้นที่ขั้วทำงาน	13
8	ผลของ pH สารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่อกระแสและ migration time ของคอเลสเทอรอล โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 10mM PB, separation voltage; 1300 V, injection time; 20 s, working electrode; 25 $\mu$ m Au wire, และ ChOx; 0.034 U.mL <sup>-1</sup>	14
9	ผลของความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่อค่ากระแสของคอเลสเทอรอล โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 10mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, injection time; 20 s, working electrode; 25 $\mu$ m Au wire, และ ChOx; 0.034 U.mL <sup>-1</sup>	15
10	ผลของตัวทำละลายคอเลสเทอรอลเมื่อใช้ running buffer ความเข้มข้นตั้งแต่ 5-50mM โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer;	16

รูปที่		หน้า
	10mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, injection time; 20 s, working electrode; 25 $\mu\text{m}$ Au wire, และ ChOx; $0.034 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$	
11	ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดสต่อค่ากระแสของคอเลสเทอรอลโดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 40mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, injection time; 20 s, working electrode; 25 $\mu\text{m}$ Au wire	17
12	ผลของค่าศักย์ไฟฟ้าต่อ migration time ของคอเลสเทอรอลโดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 40mM PB (pH 7.0), injection time; 20 s, working electrode; 25 $\mu\text{m}$ Au wire, และ ChOx; $0.68 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$	17
13	ผลของ injection time ต่อค่ากระแสของคอเลสเทอรอลโดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 40mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, working electrode; 25 $\mu\text{m}$ Au wire, และ ChOx; $0.68 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$	18
14	Calibration curve และ linear range ของคอเลสเทอรอล โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 40mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, working electrode; 25 $\mu\text{m}$ Au wire, และ ChOx; $0.68 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$	19
15	แผนภาพแสดงการจัดเครื่องมือในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี	31
16	การต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับโพลีเซลล์	32
17	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์เข้มข้น 1 M 3 ชนิด คือกรดไนตริก ( $\text{HNO}_3$ ) กรดเปอร์คลอริก ( $\text{HClO}_4$ ) และกรดไฮโดรคลอริก ( $\text{HCl}$ )	34
18	กราฟแสดงสัญญาณกระแสไฟฟ้าของพีกที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ชนิดต่างๆ	34
19	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb เมื่อใช้สารละลายกรดไนตริกความเข้มข้นต่างๆ เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์	35
20	ผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดไนตริกต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้	35
21	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M ที่ค่าศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติดต่างๆ และระยะเวลาการเกาะติด 180 วินาที	36
22	ผลของศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติดต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้	36
23	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลาย	37

รูปที่		หน้า
24	กรดไนตริก 1 M โดยใช้สารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ปริมาตรต่างๆ ผลของปริมาณสารละลายมาตรฐานทองเข้มข้น 3 ppm ต่อสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้	37
25	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M โดยใช้สารละลายมาตรฐานทองเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ปริมาตร 900 $\mu$ L	38
26	ผลของความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานทองต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้	38
27	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M เมื่อใช้อัตราการไหลในขั้นตอนการเกาะติดต่างๆ	39
28	ผลของอัตราการไหลของสารละลายต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้	39
29	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M เมื่อใช้ระยะเวลาในการเกาะติดต่างๆ	40
30	ผลของระยะเวลาการเกาะติดต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้	40
31	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทเข้มข้น 4 – 50 ppb ที่ภาวะการทดลองที่เหมาะสม	41
32	กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในช่วงความเข้มข้น 4 – 50 ppb	41
33	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทเข้มข้น 3 – 10 ppb ที่ภาวะการทดลองที่เหมาะสม โดยใช้ระยะเวลาการเกาะติด 300 วินาที	42
34	กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในช่วงความเข้มข้น 3 – 10 ppb	42
35	โวลแทมโมแกรมของแบลنگ์จากการตรวจวัดซ้ำ 10 ครั้ง	43
36	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ซ้ำ 10 ครั้ง	44
37	โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างน้ำดื่มด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition method)	45
38	กราฟการเติมสารมาตรฐานปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม (standard addition curve)	45
39	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการเกิดฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกบนขั้ว GC	54



## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

PMMA	Polymethylmethacrylate
PDMA	Polydimethylsiloxane
LIF	Laser-induced fluorescence
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hydrogen peroxide
MCE	Microchip capillary electrophoresis
Au, Au(II), Au <sup>2+</sup>	Gold (ทอง), Gold (II) ion
MES	2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid
ChOx	Cholesterol oxidase
PB	Phosphate buffer
NCEP	The National Cholesterol Education Program
SIA	Sequential injection analysis
SWASV	Square wave anodic stripping voltammetry
Au-SPCE	Gold film screen-printed carbon electrode
Hg, Hg <sup>0</sup> , Hg <sup>2+</sup> , Hg(II)	Mercury (ปรอท), Mercury (II) ion
ICP-MS	Inductively-coupled plasma-mass spectrometry
ICP-AES	Inductively-coupled plasma-atomic emission spectroscopy
AAS	Atomic absorption spectroscopy
ASV	Anodic stripping voltammetry
SbF-CPE	Antimony film carbon paste electrode
BiF-CPE	Bismuth film carbon paste electrode
HgF-CPE	Mercury film carbon paste electrode
SI-LOV	Sequential injection lab-on-valve
DPASV	Differential pulse anodic stripping voltammetry
MF	Mercury film
HNO <sub>3</sub>	Nitric acid
HCl	Hydrochloric acid
HClO <sub>4</sub>	Perchloric acid
NaCl	Sodium Chloride
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
Au-NPs/CNT	Gold nanoparticle/ carbon nanotubes

CH <sub>3</sub> Hg <sup>+</sup>	Methylmercury
Bi, Bi(III), Bi <sup>3+</sup>	Bismuth (บิสมัท), Bismuth (II) ion
Bi-CNT	Bismuth-modified carbon nanotube
NCBFE	Nafion-coated bismuth film electrode
GFAAS	Graphite furnace atomic absorption spectroscopy
SPEs	Screen-printed electrodes
Pb, Pb(II), Pb <sup>2+</sup>	Lead
Cd, Cd(II), Cd <sup>2+</sup>	Cadmium
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of quantitative
GC	Glassy carbon
CV	Cyclic voltammetry
m	Meter (หน่วยความยาว มิลลิเมตร)
mm	Millimeter (หน่วยความยาว มิลลิเมตร เท่ากับ 10 <sup>-3</sup> เมตร)
μm	Micrometer (หน่วยความยาว ไมโครเมตร เท่ากับ 10 <sup>-6</sup> เมตร)
nm	Nanometer (หน่วยความยาว นาโนเมตร เท่ากับ 10 <sup>-9</sup> เมตร)
g	gram (หน่วยน้ำหนัก กรัม)
mg	Milligram (หน่วยน้ำหนัก มิลลิกรัม เท่ากับ 10 <sup>-3</sup> กรัม)
μg	Microgram (หน่วยความยาว ไมโครกรัม เท่ากับ 10 <sup>-6</sup> กรัม)
L	Liter (หน่วยวัดปริมาตร ลิตร)
mL	Milliliter (หน่วยวัดปริมาตร มิลลิลิตร เท่ากับ 10 <sup>-3</sup> ลิตร)
μL	Microliter (หน่วยความยาว ไมโครลิตร เท่ากับ 10 <sup>-6</sup> ลิตร)
ppb	Part per billion (หน่วยความเข้มข้น หนึ่งในพันล้านส่วน)
w/v	Weight per volume (หน่วยความเข้มข้น โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)
v/v	Volume per volume (หน่วยความเข้มข้นโดยปริมาตรต่อปริมาตร)
M	Molarity (หน่วยความเข้มข้น โมลาร์ เท่ากับ โมลต่อลิตร)
mM	Millimolar (หน่วยวัดปริมาตร มิลลิโมลาร์ เท่ากับ 10 <sup>-3</sup> โมลาร์)
μM	Micromolar (หน่วยความยาว ไมโครโมลาร์ เท่ากับ 10 <sup>-6</sup> โมลาร์)
nM	Nanomolar (หน่วยความยาว นาโนโมลาร์ เท่ากับ 10 <sup>-9</sup> โมลาร์)
pH	หน่วยแสดงความเป็นกรดเบส
°C	Degree celcius (หน่วยวัดอุณหภูมิ องศาเซลเซียส)
h	Hour (หน่วยเวลา ชั่วโมง)

min	Minute (หน่วยเวลา นาที)
s	Second (หน่วยเวลา วินาที)
rpm	Round per minute (รอบต่อนาที)
V	Volt (หน่วยความต่างศักย์ โวลต์)
Hz	Hertz (หน่วยความถี่ รอบต่อวินาที)
A	Ampere (หน่วยวัดกระแส แอมแปร์)
$\mu\text{A}$	Microampere (หน่วยวัดกระแส เท่ากับ $10^{-6}$ แอมแปร์)
$\text{M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ โอห์มต่อเซนติเมตร)	Megaohm per centrometer (หน่วยความต้านทานไฟฟ้า เมกกะ โอห์มต่อเซนติเมตร)
$r^2$ regression)	Coefficient of regression (ค่าทางสถิติแสดงถึงคุณภาพของ regression)
SD	Standard deviation
RSD	Relative standard deviation
n	จำนวนตัวอย่าง (ซ้ำ)

## บทนำรวม

### ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันวิกฤตทางการเงินและปัญหาการแพร่ระบาดของโรคร้ายแรงที่เกิดขึ้นใหม่ของโลก ส่งผลกระทบด้านลบต่อเสถียรภาพทางเศรษฐกิจในประเทศไทย ซึ่งเน้นการส่งออกและการแปรรูปผลิตผลทางเกษตรกรรม เช่น อาหาร และผลิตภัณฑ์สุขภาพเป็นหลัก ดังนั้นการพัฒนางานวิจัยพื้นฐานภายในประเทศเพื่อส่งเสริมองค์ความรู้ทางด้านเกษตรกรรม อุตสาหกรรมแปรรูปสินค้าเกษตร และสุขภาพจึงเป็นสิ่งจำเป็นยิ่ง หนึ่งในงานวิจัยที่มีนัยสำคัญคือ การพัฒนาเทคนิคในการตรวจวัดสารต่างๆ ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ โดยทั่วไปการตรวจวัดสารสำคัญ และ/หรือสารปนเปื้อน และ/หรือสารตกค้างในผลิตภัณฑ์ และในสิ่งแวดล้อม มักใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทางสเปกโทรเมตรีหรือโครมาโตกราฟีซึ่งต้องใช้อุปกรณ์เครื่องมือขนาดใหญ่ เครื่องมือที่มีราคาสูง และมีขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่าง และการวิเคราะห์ที่ยุ่งยากต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ ดังนั้นเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าจึงกลายเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์สารสำคัญและ/หรือสารตกค้าง เนื่องจากมีความไวและความแม่นยำในการตรวจวัดสูง อีกทั้งยังใช้ปริมาณสารในการวิเคราะห์น้อย ต้นทุนไม่สูง สะดวกและรวดเร็ว และที่สำคัญอย่างยิ่งคือสามารถย่อยส่วนและพัฒนาให้ใช้งานได้ง่ายในภาคสนาม เช่น ชุดตรวจวัดขนาดเล็ก (test kit) อีกทั้งยังเหมาะสำหรับการทำเป็นระบบอัตโนมัติซึ่งใช้งานร่วมกับระบบของไหล (flow-based system) ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างสูงทั้งในเชิงการแพทย์นั่นคือ ผู้ป่วยสามารถวินิจฉัยโรคเบื้องต้นได้ด้วยตนเองอย่างรวดเร็ว ทำให้ลดความเสี่ยงต่อโรคและลดจำนวนผู้ป่วยที่ต้องอยู่ในความดูแลด้วยแพทย์ ประโยชน์ในเชิงเกษตรกรรมนั่นคือ เกษตรกรสามารถรู้ปัญหาและที่มาของโรคพืชหรือ/และสัตว์ด้วยชุดตรวจวัดที่มีราคาถูกและวิเคราะห์ได้ด้วยตนเอง ทำให้สามารถแก้ปัญหาโรคพืชหรือ/และสัตว์ได้อย่างรวดเร็ว ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมนั่นคือ สามารถควบคุมการผลิตให้มีคุณภาพด้วยเทคนิคการตรวจวัดที่รวดเร็ว ราคาถูก ทำให้ลดต้นทุนในการผลิต สามารถแข่งขันกับประเทศผู้ผลิตคู่แข่งได้ทั้งในแง่คุณภาพและราคา และประโยชน์ในด้านสิ่งแวดล้อมนั่นคือ สามารถตรวจวัดและควบคุมปริมาณสารพิษที่เกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนของการเพาะปลูก รวมไปถึงการผลิตในระดับย่อยและระดับอุตสาหกรรม ส่งผลให้สุขภาพและคุณภาพชีวิตของประชาชนทั่วไปดีขึ้น ด้วยประโยชน์หลากหลายที่กล่าวมาข้างต้น

โครงการนี้จึงมุ่งเน้นเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าร่วมกับระบบของไหล (flow-based system) โดยมุ่งเน้นพัฒนาขั้วไฟฟ้าใช้งานให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น เช่น พัฒนาขั้วไฟฟ้าตัดแปรตัวแรงปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมกับสารอินทรีย์ขนาดเล็ก พัฒนาขั้วไฟฟ้าโลหะที่เพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดและนำขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาดังกล่าวนี้มาสร้างเป็นชุดตรวจวัดขนาดเล็กซึ่งประยุกต์ใช้กับของไหลจุลภาค เพื่อให้ได้เทคนิคในการตรวจวัดที่มีราคาถูก ใช้งานในภาคสนามได้จริง สำหรับวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณของสารกลุ่มต่างๆ อันได้แก่ สารบ่งชี้โรค สารสำคัญ สารปนเปื้อน และ/หรือสารตกค้าง ในผลิตภัณฑ์ด้านอาหารและสุขภาพ และในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้โครงการนี้ยังมุ่งพัฒนาตัวตรวจวัดเชิงแสงที่มีราคาไม่แพง สามารถย่อยส่วนได้ โดยใช้ร่วมกับของไหลจุลภาค เพื่อให้ได้ชุดอุปกรณ์ตรวจวัดที่ได้มาตรฐาน ไม่แพง (ราคาไม่เกิน 50 บาท) ผลิตง่าย และเหมาะกับการใช้งานในภาคสนามอย่างแท้จริง

### วัตถุประสงค์หลักของชุดโครงการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาขั้วไฟฟ้าสำหรับระบบเคมีไฟฟ้า
2. เพื่อศึกษากลไกปฏิกิริยาของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นสำหรับเทคนิคเชิงเคมีไฟฟ้า
3. เพื่อพัฒนาระบบของไหลจุลภาคสำหรับประยุกต์ใช้สำหรับเทคนิคเชิงเคมีไฟฟ้า
4. เพื่อพัฒนาเทคนิคเชิงเคมีไฟฟ้าและเชิงแสงสำหรับเป็นตัวตรวจวัดที่มีประสิทธิภาพต่อสารบ่งชี้โรค และ/หรือสารสำคัญและสารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และ/หรือสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม
5. เพื่อประยุกต์เทคนิคดังกล่าวเป็นชุดตรวจวัดขนาดเล็กสำหรับวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณของสารบ่งชี้โรค และ/หรือ สารสำคัญและสารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และ/หรือสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม

### เป้าหมายเชิงยุทธศาสตร์ของชุดโครงการวิจัย

เพื่อให้ได้ระบบตรวจวัดสารบ่งชี้โรค สารอินทรีย์ขนาดเล็กและโลหะหนัก ที่ปนเปื้อนและ/หรือตกค้างในอาหาร และ/หรือในสิ่งแวดล้อม ที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ว่องไว ราคาถูก ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเศรษฐกิจและเกษตรกรรม

### ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ใหม่และได้ผลงานที่สามารถตีพิมพ์ได้ในวารสารระดับนานาชาติ
2. ได้เทคนิคตรวจวัดที่มีประสิทธิภาพ ว่องไว ราคาถูก แม่นยำ ใช้ในตัวอย่างจริงได้เช่น น้ำดื่ม สมุนไพร

## โครงการวิจัยที่ 1

การพัฒนาระบบของไหลขนาดจุลภาคสำหรับการตรวจวัดคอเลสเตอรอลอย่างรวดเร็วและ  
จำเพาะเจาะจง

(Development of microfluidic devices for a fast and highly sensitive detection of  
cholesterol)

### โครงการวิจัย

นวัตกรรมในระบบการตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคเชิงเคมีไฟฟ้าและ/หรือเชิงแสง  
(Innovations in Electrochemical and/or Optical Microfluidic Analytical System)

### ชุดโครงการวิจัย

นวัตกรรมในระบบการตรวจวิเคราะห์เชิงเคมีไฟฟ้าและ/หรือเชิงแสง  
(Innovations in Electrochemical and/or Optical Analytical System)

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร.อรรณ ชัยลภากุล

ดร.วีณา เสียงเพราะ

นางสาวนิภาพรรณ ฤาชา

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาเพื่อตรวจวิเคราะห์คอเลสเทอรอลแบบรวดเร็ว โดยใช้เทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอีเล็กโทรฟอริซิสร่วมกับการวิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์และตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า ระบบสำหรับการวิเคราะห์โดยตรงแบบแอมเพอโรเมทรีในไมโครชิพคะพิลลารีอีเล็กโทรฟอริซิสถูกนำมาใช้ในวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเทอรอลได้เป็นอย่างดี อิทธิพลของความเข้มข้นและพีเอชของบัฟเฟอร์, ความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดส, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับระบบ, เวลาที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่าง และศักย์ไฟฟ้าในการตรวจวัด ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาค่าการตอบสนองของตัวตรวจวัดซึ่งได้ทำการตรวจสอบและหาค่าที่ทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการตรวจวัด จากผลการทดลองพบว่าสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เป็นผลผลิตสามารถตรวจวัดได้ในเวลาน้อยกว่า 100 วินาที เมื่อใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ที่พีเอช 7.0, ความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดสที่ 0.68 ยูนิทต่อมิลลิลิตร, ศักย์ไฟฟ้าในการแยกที่ +1600 โวลต์, เวลาที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างที่ 20 วินาที และศักย์ไฟฟ้าในการตรวจวัดที่ +0.5 โวลต์ โดยพบว่าพีดีเอ็มเอสไมโครชิพคะพิลลารีอีเล็กโทรฟอริซิสสามารถวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเทอรอลได้ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 38.7 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร ( 1 ไมโครโมลาร์) ถึง 270.6 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ( 7 มิลลิโมลาร์) โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเป็น 38.7 นาโนกรัมต่อเดซิลิตร ในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงระบบของไมโครชิพคะพิลลารีอีเล็กโทรฟอริซิสที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเทอรอลในตัวอย่างซีรัมเปอร์เซนต์การคีนกล้อยู่ในช่วง 98.9 เปอร์เซ็นต์ ถึง 101.8 เปอร์เซ็นต์ พีดีเอ็มเอสไมโครชิพคะพิลลารีอีเล็กโทรฟอริซิสควบคู่กับการวิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ร่วมกับตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าเป็นเทคนิคที่มีความรวดเร็วและไวสำหรับการวิเคราะห์คอเลสเทอรอล



### Abstract

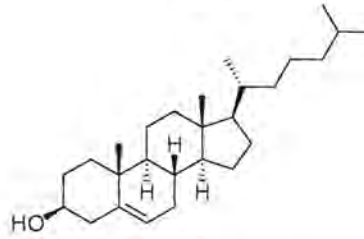
In this work, the rapid detection of cholesterol using poly(dimethylsiloxane) microchip capillary electrophoresis, based on the coupling of enzymatic assays and electrochemical detection, was developed. Direct amperometric detection for poly(dimethylsiloxane) (PDMS) microchip capillary electrophoresis was successfully applied to quantify cholesterol levels. Factors influencing the performance of the method (such as the concentration and pH value of buffer electrolyte, concentration of cholesterol oxidase enzyme, separation voltage, injection time, and detection potential) were carefully investigated and optimized. The migration time of hydrogen peroxide, product of the reaction, was less than 100 s when using 40 mM phosphate buffer at pH 7.0 as the running buffer, a concentration of  $0.68 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$  of the cholesterol oxidase enzyme, a separation voltage of +1600 V, an injection time of 20 s, and a detection potential of +0.5 V. PDMS microchip capillary electrophoresis showed linearity between  $38.7 \mu\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$  ( $1 \mu\text{M}$ ) and  $270.6 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  (7 mM) for the cholesterol standard; the detection limit was determined as  $38.7 \text{ ng}\cdot\text{dL}^{-1}$ . To demonstrate the potential of this assay, the proposed method was applied to quantify cholesterol in serum samples. The percentages of recoveries were assessed over the range of 98.9 % to 101.8 %. Therefore, PDMS microchip capillary electrophoresis, based on the coupling of enzymatic assays and electrochemical detection, is very rapid and sensitive method for the determination of cholesterol levels.



## บทนำ

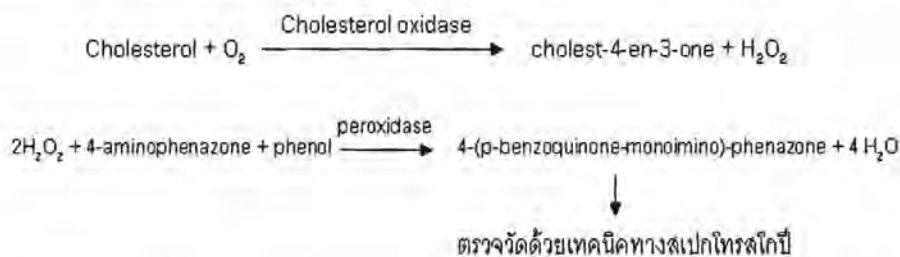
### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

คอเลสเตอรอลจัดเป็นสารสเตอรอยด์ชนิดหนึ่งที่พบในผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อในร่างกาย ซึ่งถูกสังเคราะห์ได้จากตับ และจากอาหารที่กินเข้าไป คอเลสเตอรอลมีบทบาทในกระบวนการทางชีวเคมีมาก คอเลสเตอรอลละลายในน้ำได้น้อยมากเพราะโมเลกุลมีส่วนที่เป็นไขมันอยู่มาก ดังนั้นเมื่ออยู่ในร่างกายจะเคลื่อนที่ไปในกระแสเลือดโดยจับกับ ไลโปโปรตีน (lipoprotein) แล้วจึงเคลื่อนไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย โดยคอเลสเตอรอลจะสะสมอยู่ในผนังหลอดเลือดแดง ดังนั้นเมื่อมีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงจึงส่งผลให้หลอดเลือดตีบตันและทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดตามมา



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างคอเลสเตอรอล

จากมูลเหตุที่กล่าวมา การพัฒนาวิธีวิเคราะห์คอเลสเตอรอลให้มีความรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ ราคาถูก จึงมีความสำคัญมาก พบว่าวิธีทั่วไปที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ การทำปฏิกิริยาระหว่างคอเลสเตอรอลและเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสร่วมกับเทคนิคต่าง ๆ ในการตรวจวัด ได้แก่ เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ซึ่งมีความยุ่งยากเนื่องจากต้องทำปฏิกิริยาสองขั้นตอนทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ใช้ปริมาณรีเอเจนต์มาก อีกทั้งเครื่องมือยังมีราคาแพง และขนาดใหญ่ เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าเมื่อใช้ร่วมกับระบบไมโครชิพอะพอลาร์รีโอเล็กโทรฟอริซิสพบว่ามีข้อได้เปรียบหลายประการ เช่น อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์มีขนาดเล็ก พกพาไปใช้นอกสถานที่ได้ ลดปริมาณสารทั้งรีเอเจนต์และตัวอย่าง ทำให้เกิดของเสียจากกระบวนการวิเคราะห์น้อย มีความรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ ในการตรวจวัด และราคาถูกรายงานการตรวจวัดคอเลสเตอรอลโดยใช้ไบโอเซนเซอร์ตรวจวัดด้วยเทคนิคทาง spectrophotometry<sup>1,2,3</sup> พบว่ามีประสิทธิภาพดีแต่มีข้อเสียบางประการ เช่น ต้องทำการเปลี่ยนสารให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ที่สามารถตรวจวัดได้ ซึ่งใช้ปริมาณสารมาก สิ้นเปลือง



รูปที่ 2 ปฏิกิริยาระหว่างคอเลสเตอรอลกับเอนไซม์โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีในการตรวจวัดคอเลสเตอรอล

## 1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากรายงานการตรวจวัดคอเลสเทอรอลโดยใช้ไบโอเซนเซอร์ร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า<sup>4</sup> พบว่ามีประสิทธิภาพดีแต่เนื่องจากระบบที่ใช้เป็นระบบ batch ซึ่งมีข้อเสียบางประการ เช่น ใช้ปริมาณรีเอเจนต์และตัวอย่างมาก ทำให้มีของเสียเกิดขึ้นมาก ต่อมาได้มีผู้พัฒนาระบบไมโครชิพอิเล็กโทรฟอเรซิส<sup>5-12</sup> สำหรับตรวจวัดสารบ่งชี้ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น กลูโคส กรดแอสคอร์บิก กรดยูริก ครีตินีน ไลโปโปรตีน โฮโมซิสเตอีน กลูตาไทโอน เป็นต้น พบว่ามีความรวดเร็ว ถูกต้อง และแม่นยำในการวิเคราะห์สูง อีกทั้งยังสามารถออกแบบเครื่องมือให้มีขนาดเล็ก ประหยัดรีเอเจนต์และสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นอีกด้วย

วัสดุที่นิยมทำไมโครชิพ คือ แก้ว<sup>5-8</sup> เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการแยกสารสูง มีค่าการไหลแบบอิเล็กโทรออสโมซิส (electroosmotic flow) มาก แต่แก้วมีราคาแพง นอกจากนี้ขั้นตอนระหว่างการทำเป็นไมโครชิพต้องใช้สารเคมีในการกัดให้แก้วมีรูพรุนตามต้องการซึ่งทำได้ยากต้องอาศัยความเชี่ยวชาญสูง ทำให้เกิดข้อจำกัดจากการใช้วัสดุประเภทนี้ โดยเฉพาะกับประเทศกำลังพัฒนาที่มีต้นทุนการวิจัยต่ำ จึงมีการเลือกใช้วัสดุอื่นมาทำเป็นต้นแบบไมโครชิพแทน ซึ่งวัสดุที่มีความนิยมมาก ได้แก่ พอลิเมอร์ต่างๆ เนื่องจากสามารถทำเป็นไมโครชิพได้ง่ายกว่าแก้ว ออกแบบรูปแบบได้หลากหลายกว่า และมีราคาถูกกว่า พอลิเมอร์ที่นิยมนำมาทำเป็นวัสดุทำเป็นไมโครชิพ ได้แก่ พอลิเมทิลเมทาคริเลท (polymethylmethacrylate; PMMA)<sup>9</sup> และพอลิไดเมทิลซิลอกเซน (polydimethylsiloxane; PDMS)<sup>10-13</sup> โดยพอลิไดเมทิลซิลอกเซนเป็นพอลิเมอร์ที่นิยมนำมาทำเป็นไมโครชิพมากที่สุด เนื่องจาก มีความยืดหยุ่น มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โปร่งแสง ยอมให้แก๊สซึมผ่านได้ ดึงออกจากแม่แบบได้ง่าย ไม่มีความเป็นพิษ และยังสามารถประกบสองชิ้นให้ติดกันได้แบบไม่คืนรูปเมื่อนำไปผ่าน air plasma

นอกจากพอลิไดเมทิลซิลอกเซนแล้ว ปัจจุบันเซลลูโลส (cellulose) เป็นพอลิเมอร์อีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจนำมาใช้ออกแบบและสร้างไมโครชิพ ข้อดีของเซลลูโลสที่โดดเด่นคือ การเป็นขั้วสเตรทที่มีรูพรุนราคาถูก ใช้งานง่าย อีกทั้งสามารถสร้างและออกแบบต้นแบบ (mold) ได้ง่ายด้วยวิธีการที่สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการ

ระบบการตรวจวัดที่นำมาใช้กับระบบไมโครชิพมีหลายแบบเช่น laser induced fluorescence (LIF)<sup>8</sup> แต่เนื่องมาจากตัวตรวจวัดชนิดนี้มีราคาแพง ตัวอุปกรณ์มีขนาดใหญ่ไม่เหมาะสมกับอุปกรณ์ชิพ และมีความยุ่งยากของขั้นตอนการเตรียมอนุพันธ์ การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า<sup>5-7,9-13</sup> พบว่ามีข้อได้เปรียบมากเนื่องจากไม่ต้องมีขั้นตอนการเตรียมสารให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ และเครื่องมือยังสามารถออกแบบให้มีขนาดเล็ก พกพาได้ มีราคาถูก ใช้งานง่าย และให้สภาพไวในการตรวจวัดที่สูง

จากข้อดีของระบบไมโครชิพอะพอสมาโรอิเล็กโทรฟอเรซิสและเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าดังกล่าวมาข้างต้น งานวิจัยนี้จึงได้มุ่งเน้นการพัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณคอเลสเทอรอลซึ่งเป็นสารบ่งชี้ชีวภาพที่สำคัญ ให้มีความรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ ใช้งานง่าย และราคาถูก โดยใช้พอลิเมอร์ชนิดต่างๆ เช่น พอลิไดเมทิลซิลอกเซนไมโครชิพ และเซลลูโลสไมโครชิพ ที่สามารถเตรียมได้ในห้องปฏิบัติการ เป็นอุปกรณ์ช่วยในการแยกคอเลสเทอรอลออกจากสารรบกวน ร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า ซึ่งจากปฏิกิริยาระหว่าง เอนไซม์และคอเลสเทอรอลพบว่ามีสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) เกิดขึ้น ซึ่งสารนี้สามารถตรวจวัดโดยตรงได้ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า จึงเป็นการลดขั้นตอนการทำปฏิกิริยาของสารให้สั้นลงทำให้เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ลดลง ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย และเป็นวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

### 1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการใช้ความรู้จากการตรวจวัดคอเลสเทอรอลด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามาบูรณาการกับฐานความรู้ทางเทคโนโลยีระดับจุลภาค ได้แก่ ระบบไมโครชิพอะพอลาร์รีเล็กโทรพอเรซิส (MCE) เพื่อให้ได้เครื่องมือชนิดใหม่ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการช่วยตรวจวินิจฉัยในแง่มุมมองต่างๆ ของโรคหลอดเลือดและหัวใจในคนไทย เพื่อเอื้อประโยชน์ต่อระบบป้องกันโรคที่สามารถยกระดับความเป็นอยู่ของสังคมของประชาชนในด้านสุขภาพอนามัยอันส่งผลถึงการสร้างรายได้บุคคลและผลผลิตมวลรวมของประเทศชาติ โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจวัดคอเลสเทอรอล โดยใช้เทคนิค MCE ร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ซึ่งจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และคอเลสเทอรอลพบว่ามีสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) เกิดขึ้น ซึ่งสารนี้สามารถตรวจวัดโดยตรงได้ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า จึงเป็นการลดขั้นตอนการทำปฏิกิริยาของสารให้สั้นลงทำให้เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ลดลงด้วย

โดยในงานวิจัยนี้เริ่มจากการออกแบบไมโครชิพ, สร้างต้นแบบไมโครชิพ และทดสอบประสิทธิภาพของไมโครชิพที่ได้ โดยไมโครชิพที่ใช้ในงานวิจัยนี้สร้างขึ้นจากพอลิเมอร์ คือ พอลิไดเมทิลซิลอกเซน (polydimethylsiloxane; PDMS) เนื่องจาก PDMS เป็นพอลิเมอร์ที่นิยมนำมาทำ ไมโครชิพมากที่สุด เนื่องจาก มีความยืดหยุ่น มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โปร่งแสง ยอมให้แก๊สซึมผ่านได้ ดึงออกจากแม่แบบได้ง่าย ไม่มีความเป็นพิษ และยังสามารถประกบสองชิ้นให้ติดกันได้แบบไม่คิ่รูปเมื่อนำไปผ่าน air plasma

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้อุปกรณ์ตรวจวัดบนชิพจากพอลิเมอร์ สำหรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเทอรอล ที่มีความถูกต้องมากขึ้น ใช้งานได้ง่าย และสะดวกขึ้น นอกจากนี้ยังมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำ

## การทดลอง

### 2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. CHI1232a (CH-instrument, USA)
2. Analytical balance (Mettler AT 200, Mettler, Switzerland)
3. pH meter (Metrohm 744 pH meter, Metrohm, Switzerland)
4. Homemade high-voltage power supply
5. Air plasma cleaner (PDG-32G, Harrick plasma)
6. Microscope (SZ-PT, Olympus, Japan)
7. Auto pipette and tips (Eppendorf, Germany)
8. G3P-8 Spincoat series from Specialty Coating Systems (USA)
9. Milli Q Water System (Millipore, USA,  $R \geq 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ )
10. Hot plate stirrer C-MAG HS 10 (IKA, Germany)
11. Vacuum Pump (Gast, USA)
12. Magnetic stirring bars (SCS ICS, Switzerland)
13. Dedicator (CSN, Simax, USA)
14. บีกเกอร์ ขนาด 10, 25, 50 มิลลิลิตร
15. Volumetric flask ขนาด 10, 100, 250 มิลลิลิตร

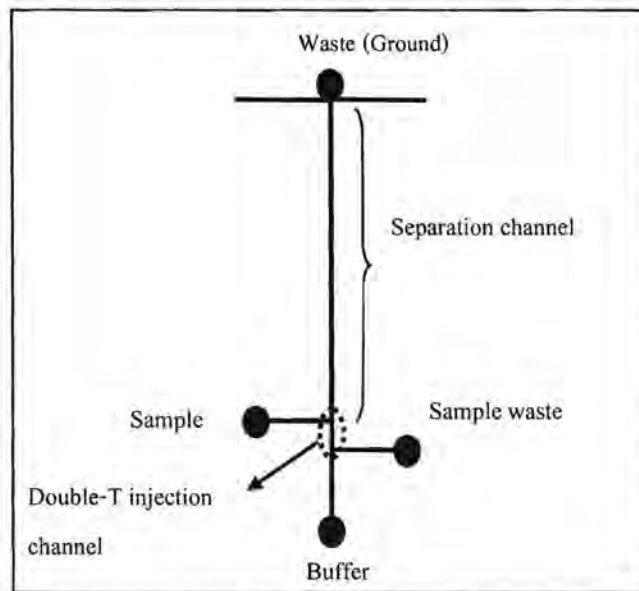
### 2.2 สารเคมี

1. Sylgard 184 silicone elastomer และ curing agent จากบริษัท Dow Corning
2. สารมาตรฐานคอเลสเทอรอล  $\geq 99\%$  จากบริษัท Sigma
3. เอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดสจาก *Streptomyces* sp. จากบริษัท Sigma
4. 2-Morpholinoethanesulfonic acid monohydrate (MES) จากบริษัท Sigma
5. สารมาตรฐาน Dopamine hydrochloride จากบริษัท Sigma
6. สารมาตรฐาน Pyrocatechol จากบริษัท Fluka
7. Potassium dihydrogen phosphate จากบริษัท Merk
8. Dipotassium hydrogen phosphate จากบริษัท Merk
9. Lipid cholesterol rich from adult bovine serum จากบริษัท Sigma
10. Methanol จากบริษัท Merk
11. Sodium hydroxide จากบริษัท Merk
12. Hydrochloric acid จากบริษัท Merk
13. L(+)-Ascorbic acid จากบริษัท Wako Pure Chemical Industries
14. Triton X-100 for molecular biology จากบริษัท Sigma
15. ลวดทอง (Au) 99.99% ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 ไมโครเมตร จากบริษัท Goodfellow
16. ลวดแพลททินัม (Pt) 99.99% ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 ไมโครเมตร จากบริษัท Goodfellow

17. แผ่นซิลิกอน จากบริษัท UniversityWafer
18. SU-8 3025 และ SU-8 Developer จากบริษัท Microchem
19. 2-Propanol จากบริษัท Merk
20. Acetone จากบริษัท Merk

### 2.3 การเตรียมไมโครชิพจาก PDMS

1. การชั่ง PDMS prepolymer : curing agent ในอัตราส่วน 10:1
2. คนให้เข้ากันจากนั้นนำไปไว้ใน vacuum pump เพื่อไล่ฟองอากาศออก
3. เทสารผสมลงบน mold แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. นำออกมาจากตู้อบตั้งไว้ให้เย็น แล้วลอก PDMS ที่ได้ออกจาก mold แล้วนำแผ่นที่มีลาย channel ไปเจาะรู
5. นำแผ่น PDMS ที่เจาะรูแล้วมาวางขั้วทอง (Au electrode) ลงในช่องอิเล็กโทรดโดยใช้เครื่อง microscope ช่วยในการวางอิเล็กโทรด
6. นำแผ่น PDMS ทั้ง 2 แผ่น (แผ่นที่มีลาย channel และ แผ่น blank) ไปเข้าเครื่อง Plasma cleaner แล้วนำออกมาประกบกันทันที ซึ่งเครื่อง Plasma cleaner
7. ทำการเชื่อมต่อขั้วทองทำงานเข้ากับสายไฟ โดยใช้ silver paint เป็นตัวเชื่อม ทั้งให้แห้งแล้วปิดทับด้วย silicone glue ตั้งไว้ให้แห้ง จึงได้ PDMS microchip ดังรูปที่ 3



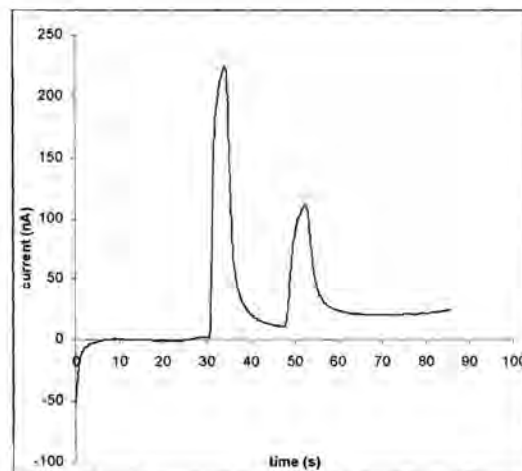
รูปที่ 3 แผนภาพ PDMS ไมโครชิพที่ใช้ในการทดลอง (Channel มีความกว้างและความลึก 50 ไมโครเมตร, Separation channel มีความยาว 5 เซนติเมตร, Double-T injection channel มีความยาว 250 ไมโครเมตร, Working electrode ที่ใช้ คือ ลวดทอง ขนาด 25 ไมโครเมตร, บริเวณของ reservoir ต่างๆ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร)



## 2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของไมโครชิพ

ก่อนทำการทดลอง microchip channel จะถูกชะด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของ channel จากเดิมเป็น -OH มีลักษณะเป็นประจุลบ ( $O^-$ ) จากนั้นบรรจุสารละลายอิเล็กโทรไลต์ และสารมาตรฐาน ลงใน buffer reservoir, waste reservoir, detection reservoir และ sample reservoir ตามลำดับ สำหรับการแยกสาร ทำโดยการให้ศักย์ไฟฟ้าคร่อมระหว่าง buffer reservoir และ ground electrode ใน detection reservoir

การทดสอบประสิทธิภาพของ PDMS microchip ทำโดยการนำไปใช้ในการแยกสารมาตรฐานโดปามีนและแคทีคอลออกจากกันเนื่องจากสารสองชนิดนี้สามารถแยกออกจากกันได้ดีและง่ายด้วยระบบไมโครชิพอะนาล็อกอิเล็กโทรฟอเรซิส นอกจากนี้ยังสามารถตรวจวัดได้ด้วยขั้วไฟฟ้าใช้งานทั่วไป โดยการเตรียมสารละลายผสมของสารมาตรฐานโดปามีนและแคทีคอลที่ความเข้มข้น 250 ไมโครโมลาร์ แล้วบรรจุลงในช่องของ sample reservoir ส่วนช่องอื่นๆบรรจุด้วยสารละลาย MES บัฟเฟอร์ จากนั้นทำการแยกสารมาตรฐานโดปามีนและแคทีคอลโดยการให้ศักย์ไฟฟ้าคร่อมระหว่าง buffer reservoir และ ground electrode ใน detection reservoir การแยกออกจากกันของสารทั้งสองแสดงในอิเล็กโทรโแกรมดังรูปที่ 4 ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้พบว่าสารมาตรฐานโดปามีนและแคทีคอลแยกออกจากกันที่ 35 วินาทีและ 55 วินาทีตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าพีดีเอ็มเอสไมโครชิพที่เตรียมได้นั้นมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะนำไปใช้แยกสารอื่นๆต่อไป

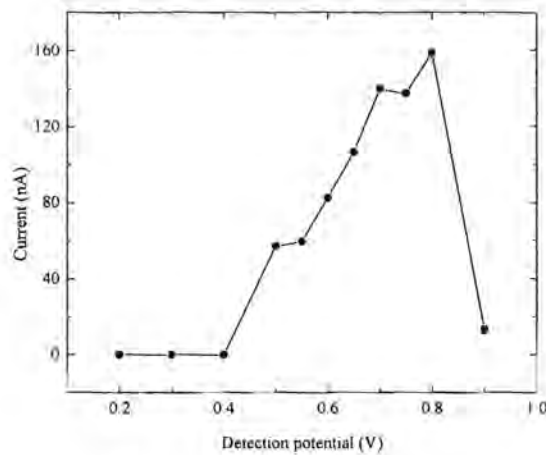


รูปที่ 4 อิเล็กโทรโแกรมของสารมาตรฐาน dopamine และ catechol โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 250  $\mu$ M dopamine and catechol; running buffer, MES (pH 7.0); separation voltage 1300 V; detection potential 0.8 V; pinched injection time 20 s; working electrode; 25  $\mu$ m Au wire.

## 2.5 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

### 2.5.1 ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

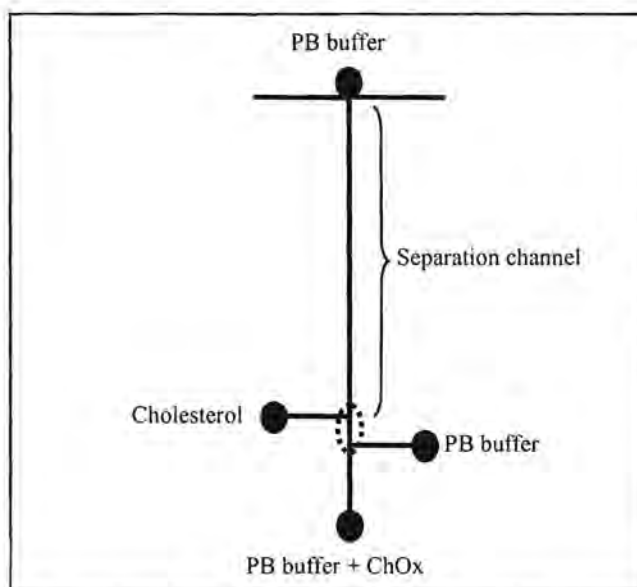
ค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่ต้องใช้ในการตรวจวัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อให้ได้กระแสสูงสุด โดยทำการให้ศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วทำงานตั้งแต่ 0.2 โวลต์ ถึง 0.9 โวลต์ ได้ผลดังรูปที่ 5



**รูปที่ 5** Hydrodynamic voltammogram ของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 500  $\mu\text{M}$  hydrogen peroxide, running buffer; 10mM PB (pH 7.4), separation voltage; 1300V, injection time; 20 s, working electrode; 25  $\mu\text{m}$  Au wire.

Hydrodynamic voltammogram จากรูปที่ 5 สร้างจากการเปลี่ยนค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วทำงาน โดยพบว่าค่ากระแสของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นจาก 0.4 โวลต์ ถึง 0.8 โวลต์จากนั้นจึงลดลง แต่ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับขั้วทำงานที่ 0.5 โวลต์ เนื่องจากเป็นศักย์ไฟฟ้าที่ต่ำที่สามารถตรวจวัดสารได้ เพื่อเป็นการลดผลของสารรบกวนอื่นๆที่มีในตัวอย่างเช่น กรดแอสคอร์บิก และ กรดยูริก

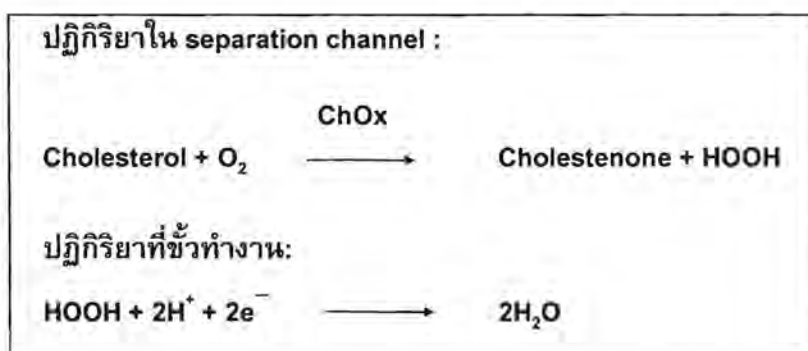
จากผลการตรวจวัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของ PDMS microchip จึงพัฒนาใช้ในการวัดคอเลสเทอรอลต่อไปโดยอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และคอเลสเทอรอลกลายเป็นสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ซึ่งสารนี้สามารถตรวจวัดโดยตรงได้ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า โดยจะนำ PDMS microchip มาใช้ตรวจวัดคอเลสเทอรอลโดยการผสมเอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดสกับสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (Phosphate buffer) ในช่องบัฟเฟอร์ส่วนในช่อง sample ใส่สารมาตรฐานคอเลสเทอรอลหรือสารตัวอย่าง ส่วนในช่อง sample waste และ waste ใส่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ดังรูปที่ 6 จากนั้นทำการตรวจวัด พบว่าสามารถตรวจวัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้



รูปที่ 6 รูปแบบการใส่สารในการตรวจวัดคอเลสเตอรอลของไมโครชิปที่ใช้ในงานวิจัย

## 2.6 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดคอเลสเตอรอล

ในการตรวจวัดสารคอเลสเตอรอลโดยใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าในการตรวจวัด ทำได้โดยการนำคอเลสเตอรอลมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสกลายเป็นสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยที่ปฏิกิริยาของคอเลสเตอรอลกับเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสเกิดขึ้นใน separation channel แล้วทำการตรวจวัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นที่ขั้วทองตรงปลายของ separation channel ดังรูปที่ 7



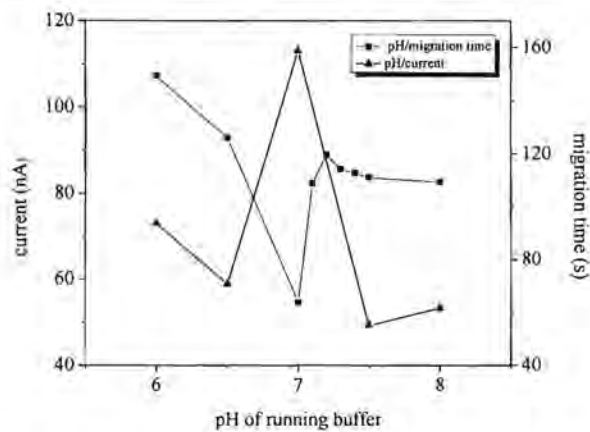
รูปที่ 7 ปฏิกิริยาของเอนไซม์ใน separation channel และ ปฏิกิริยาการตรวจวัดที่เกิดขึ้นที่ขั้วทำงาน

### 2.6.1 พีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์

ค่าพีเอชของสารละลายมีผลต่อการเกิดไอออนไนส์เซชันและ electrophoretic mobility ของสาร ค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากคอเลสเตอรอล



เพื่อให้ได้กระแสสูงสุดนั้นหาโดยการ varies ค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ตั้งแต่ พีเอช 5.0 ถึง พีเอช 8.0 ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 8

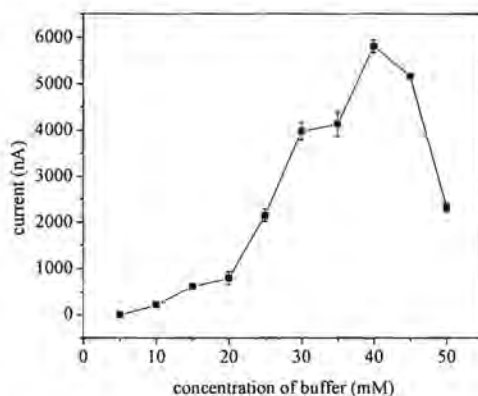


รูปที่ 8 ผลของ pH สารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่อกระแสและ migration time ของคอเลสเทอรอลโดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 10mM PB, separation voltage; 1300 V, injection time; 20 s, working electrode; 25  $\mu\text{m}$  Au wire, และ ChOx;  $0.034 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$

จากรูปพบว่าผลของพีเอชต่อกระแสที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นจากพีเอช 6.5 ถึง พีเอช 7.0 จากนั้นค่ากระแสมีค่าลดลงและเกือบคงที่ และเมื่อดูผลของพีเอชต่อ migration time พบว่าเวลาที่ใช้ลดลงจากพีเอช 6.5 ถึง พีเอช 7.0 จากนั้นเวลาที่ใช้ในการตรวจวัดมีค่าเพิ่มขึ้นและเกือบคงที่ ซึ่งเป็นผลของพีเอชมีความสอดคล้องกันทั้งต่อค่ากระแสและ migration time ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่พีเอช 7.0 เนื่องจากเป็นพีเอชที่ทำให้ตรวจวัดสารได้กระแสสูงสุดในเวลาที่น้อยที่สุดอีกด้วย นอกจากนี้ค่าพีเอชยังมีผลต่อการทำงานของคอเลสเทอรอลออกซิเดสเอนไซม์อีกด้วยซึ่งพบว่าถ้าใช้พีเอชสูงหรือต่ำเกินไปเอนไซม์จะเสื่อมประสิทธิภาพลงทำให้ค่ากระแสในการตรวจวัดสารมีค่าต่ำลง

### 2.6.2 ความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์

ค่าความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมที่ต้องใช้ในการตรวจวัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากคอเลสเทอรอลเพื่อให้ได้กระแสสูงสุดโดยทำการ varies ค่าความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ระหว่าง 5 มิลลิโมลาร์ ถึง 50 มิลลิโมลาร์ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 9

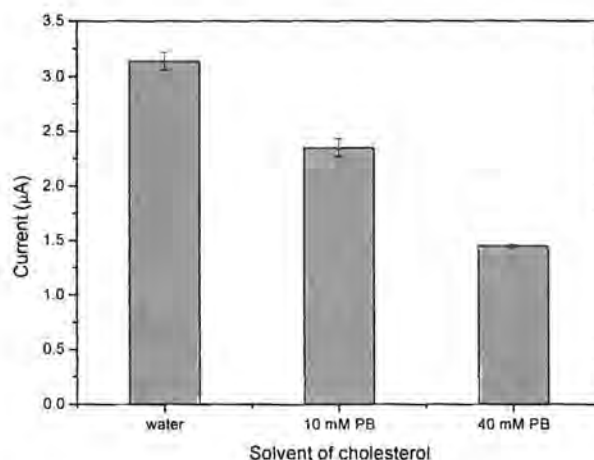


รูปที่ 9 ผลของความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่อค่ากระแสของคอเลสเทอรอลโดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 10mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, injection time; 20 s, working electrode; 25  $\mu\text{m}$  Au wire, และ ChOx;  $0.034 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$

จากรูปที่ 9 พบว่าค่ากระแสในการตรวจวัดสารคอเลสเทอรอลเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นจาก 5 มิลลิโมลาร์จนถึง 40 มิลลิโมลาร์จาก ค่ากระแสในการตรวจวัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากคอเลสเทอรอลจากการตรวจวัดจึงลดต่ำลง จากการทดลองพบว่าเมื่อสารละลายอิเล็กโทรไลต์มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ทำให้ได้กระแสจากการตรวจวัดสูงสุด ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์สำหรับการตรวจวัดสารคอเลสเทอรอล

### 2.6.3 ชนิดของตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่ใช้กับสารที่ทำกรวิเคราะห์โดยทั่วไปจะใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เป็น running buffer เป็นตัวทำละลายแต่ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ลองเปรียบเทียบตัวทำละลายสำหรับคอเลสเทอรอล คือ น้ำ, 10 mM PB และสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีความเข้มข้นเดียวกับ running buffer เป็นตัวทำละลาย ได้ผลดังรูปที่ 10

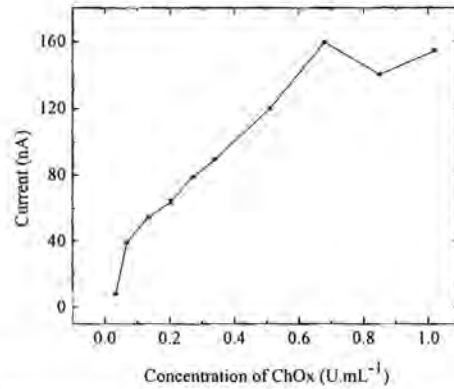


รูปที่ 10 ผลของตัวทำละลายคอเลสเตอรอลเมื่อใช้ running buffer ความเข้มข้นตั้งแต่ 5-50mM โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 10mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, injection time; 20 s, working electrode; 25 µm Au wire, และ ChOx; 0.034 U.mL<sup>-1</sup>

จากรูปที่ 10 พบว่าเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายกระแสที่ได้จากการตรวจวัดมีค่าสูงกว่าใช้ 10mM PBS และสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นเดียวกับ running buffer เป็นตัวทำละลาย เนื่องจากเมื่อสารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นน้อยกว่าสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้จะทำให้เกิด sample stacking คืออนุภาคของตัวอย่างจะเคลื่อนที่จากสารละลายที่เจือจางกว่าไปยังสารละลายที่เข้มข้นกว่าอนุภาคตัวอย่างที่เคลื่อนที่ไปนั้นจะเคลื่อนที่ไปพร้อม ๆ กัน โกลัซติดกันทำให้สัญญาณที่วัดได้สูงกว่าปกติ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้น้ำเป็นตัวทำละลายคอเลสเตอรอล

#### 2.6.4 ความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดส

ค่าความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสมีผลต่อการตรวจวัดสารคอเลสเตอรอล เนื่องจากใช้ในการทำปฏิกิริยากับคอเลสเตอรอลเพื่อเปลี่ยนเป็นสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แล้วทำการตรวจวัด โดยทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสในช่วงระหว่าง 0.034 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ถึง 0.85 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ได้ผลดังรูปที่ 11

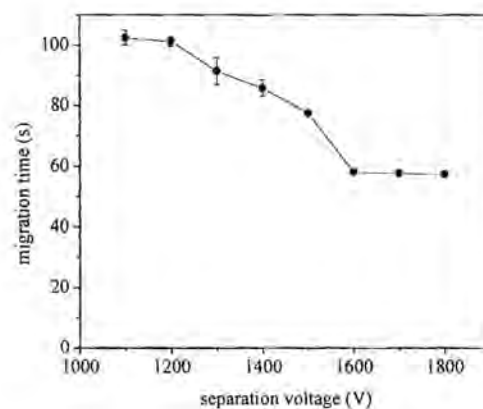


รูปที่ 11 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสต่อค่ากระแสของคอเลสเตอรอลโดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 40mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, injection time; 20 s, working electrode; 25  $\mu$ m Au wire

จากรูปที่ 11 พบว่ากระแสของ 0.1 มิลลิโมลาร์คอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 0.034 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ถึง 0.68 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นค่อนข้างลดต่ำลง ที่ลดต่ำลงนี้เนื่องจากเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสสูงทำให้เกิดกระแสรบกวนและเอนไซม์ยังเกิดการดูดซับบนผิวของพีดีเอ็มเอสไมโครชิพอีกด้วย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดสที่ 0.68 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

#### 2.6.5 ศักย์ไฟฟ้าในการแยก

ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการแยกมีผลโดยตรงต่อเวลาในการตรวจวัดของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากคอเลสเตอรอล โดยทำการศึกษาในช่วง 1100 โวลต์ ถึง 1800 โวลต์ ได้ผลดังรูปที่ 12

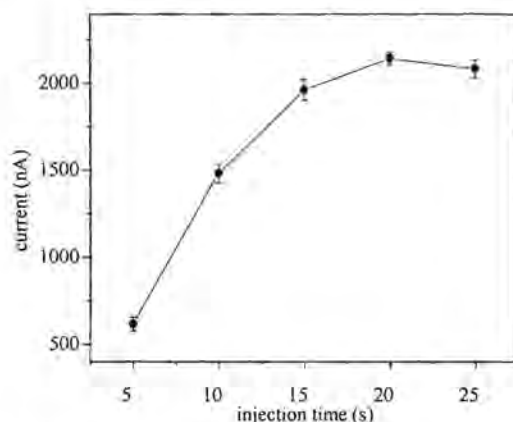


รูปที่ 12 ผลของค่าศักย์ไฟฟ้าต่อ migration time ของคอเลสเตอรอลโดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 40mM PB (pH 7.0), injection time; 20 s, working electrode; 25  $\mu$ m Au wire, และ ChOx; 0.68 U.mL<sup>-1</sup>

จากรูปที่ 12 พบว่าเมื่อค่าศักย์ไฟฟ้าเพิ่มขึ้นจาก 1100 โวลต์ 1600 โวลต์ เวลาในการตรวจวัดสารจะลดลงจากนั้นเวลาที่ใช้ในการตรวจวัดเกือบจะคงที่ แต่เมื่อใช้ศักย์ไฟฟ้าในการแยกสูงจะมีผลทำให้เกิดกระแสรบกวนเพิ่มขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ศักย์ไฟฟ้าในการแยกที่ 1600 โวลต์

### 2.6.6 เวลาในการฉีดสาร

เวลาที่ใช้ในการฉีดสาร (injection time) มีผลต่อการควบคุมปริมาณสารตัวอย่าง ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพในการแยกและตรวจวัดของสาร โดยผลของเวลาในการฉีดสารศึกษาในช่วงระหว่าง 5 วินาที ถึง 25 วินาที ได้ผลดังรูปที่ 13

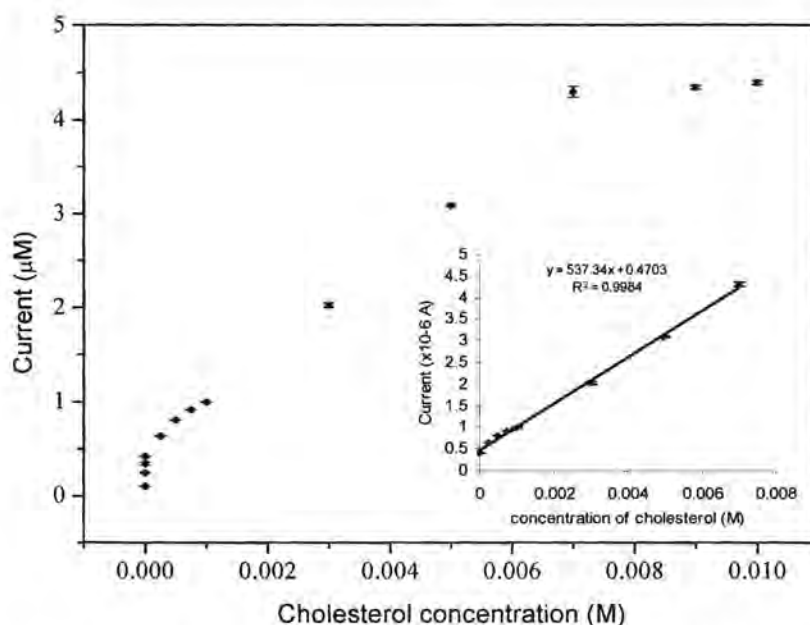


รูปที่ 13 ผลของ injection time ต่อค่ากระแสของคอเลสเทอรอลโดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 40mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, working electrode; 25  $\mu\text{m}$  Au wire, และ ChOx;  $0.68 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$

จากรูปที่ 13 พบว่าเมื่อเวลาในการฉีดสารเพิ่มขึ้นจาก 5 วินาที ถึง 20 วินาที ค่ากระแสในการตรวจวัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากคอเลสเทอรอลเพิ่มสูงขึ้นจากนั้นจึงมีค่าเกือบคงที่ แต่เมื่อใช้เวลาในการฉีดสารสูงๆ พบว่าพีคของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากคอเลสเทอรอลที่ตรวจวัดได้จะ broad มากขึ้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้เลือกใช้เวลาที่ 20 วินาทีในการฉีดสารตัวอย่าง

### 2.6.7 Calibration curve, linear range และ detection limit

Calibration curve หาได้จากการตรวจวัดคอเลสเทอรอลที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1 นาโนโมลาร์ ถึง 10 มิลลิโมลาร์ ดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 Calibration curve และ linear range ของคอเลสเตอรอล โดยมีภาวะที่ใช้ในการทดลอง คือ 1 mM cholesterol, running buffer; 40mM PB (pH 7.0), separation voltage; 1300 V, working electrode; 25 µm Au wire, และ ChOx; 0.68 U·mL<sup>-1</sup>

จากรูปที่ 14 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นค่ากระแสที่ตรวจวัดได้ก็มีค่าเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยจากกราฟ Calibration curve พบว่าช่วงที่เป็นเส้นตรง (linear range) ของคอเลสเตอรอลอยู่ในช่วงระหว่าง 1 ไมโครโมลาร์ถึง 7 มิลลิโมลาร์ ซึ่งครอบคลุมช่วงที่มีในมนุษย์ คือ ในคนปกติปริมาณคอเลสเตอรอลจะน้อยกว่า 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (5.17 mM) ถ้ามีปริมาณ 200-239 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (5.17 mM - 6.18 mM) ถือว่าเป็นระดับก้ำกึ่ง และมากกว่า 240 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (8.21 mM) เป็นระดับสูง ซึ่งระดับคอเลสเตอรอลกำหนดโดย The National Cholesterol Education Program (NCEP) นอกจากนี้ยังพบค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถตรวจวัดได้ (detection limit) ที่ 1 นาโนโมลาร์ ซึ่งถือว่าต่ำมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฟิตีเอ็มเอสไมโครชิพในการวิจัยนี้สามารถใช้ตรวจวัดคอเลสเตอรอลได้จริง

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาเครื่องมือสำหรับการตรวจวัดคอเลสเตอรอลในซีรัมโดยใช้เทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิลีกโทรฟอเรซิสจากพีดีเอ็มเอสควบคู่กับการวิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์และการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี ซึ่งการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าควบคู่กับเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิลีกโทรฟอเรซิสพบว่ามีประสิทธิภาพและว่องไวในการตรวจวัดสารที่เกิดปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าได้ นอกจากนี้เทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิลีกโทรฟอเรซิสยังเป็นเทคนิคที่ดีคือ ใช้งานง่าย, ใช้ปริมาณสารตัวอย่าง และสารเคมีน้อย และวิเคราะห์ได้รวดเร็ว โดยเทคนิคไมโครชิพคะพิลลารีอิลีกโทรฟอเรซิสนี้อาศัยแรงอิเลกโทรออสโมซิสในการพาให้สารตัวอย่างและเอนไซม์เข้ามาทำปฏิกิริยากันภายใน separation channel โดยที่กระแสในการตรวจวัดความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลจะขึ้นอยู่กับปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ ซึ่งเมื่อคอเลสเตอรอลทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แล้วจะได้สารผลิตภัณฑ์เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สามารถตรวจวัดที่ขั้วทองด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าได้ โดยสภาวะที่ใช้ในการทดลองคือ 40 มิลลิโมลาร์ (pH 7.0) ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์, ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการตรวจวัด คือ +0.5 โวลต์, ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการแยกคือ +1600 โวลต์, เวลาสำหรับฉีดสารตัวอย่าง คือ 20 วินาที และ ความเข้มข้นของเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดส คือ 0.68 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร โดยในงานวิจัยนี้พบว่าสามารถวิเคราะห์คอเลสเตอรอลในช่วงของความเข้มข้นระหว่าง 1 ไมโครโมลาร์ ถึง 7 มิลลิโมลาร์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจที่ 0.9984 และมีค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้และค่าต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ คือ 38.7 นาโนกรัมต่อเดซิลิตร (1 นาโนโมลาร์) และ 38.7 นาโนกรัมต่อเดซิลิตร (1 ไมโครโมลาร์) ตามลำดับ โดยความสามารถในการทำซ้ำของพีดีเอ็มเอสไมโครชิพเป็นที่ยอมรับได้ ซึ่งพีดีเอ็มเอสไมโครชิพเมื่อใช้ร่วมกับการวิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์และการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าเป็นวิธีที่มีความรวดเร็วและว่องไวในการตรวจวัดปริมาณคอเลสเตอรอลโดยสามารถวัดได้ภายในเวลา 100 วินาที

### ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

ทำการวิจัยเพิ่มเติม โดยการนำอุปกรณ์พีดีเอ็มเอสไมโครชิพ ไปใช้ในการหาคอเลสเตอรอลในตัวอย่างจริงต่อ เช่น ในซีรัม

### บรรณานุกรม (Bibliography)

1. Arya, S. K.; Prusty, A. K.; Singh, S. P.; Solanki, P. R.; Pandey, M. K.; Datta, M.; Malhotra, B. D., Cholesterol biosensor based on N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane self-assembled monolayer. *Analytical Biochemistry* 2007, 363, 210-218
2. Dhand. C.; Singh, S. P.; Arya, S. K.; Datta, M.; Malhotra, B. D., Cholesterol biosensor based on electrophoretically deposited conducting polymer film derived from nano-structured colloidal suspension. *Analytica Chimica Acta* 2007, 602, 244-251
3. Khan, R.; Kaushik, A.; Solanki R. P.; Ansari A. A.; Pandey K. M.; Malhotra, B.D.; Zinc oxide nanoparticles-chitosan composite film for cholesterol biosensor. *Analytica Chimica Acta* 2008, 616, 207-213



4. Parra, A.; Casero, E.; Pariente, F.; Vázquez, L.; Lorenzo, E.; Cholesterol oxidase modified gold electrodes as bioanalytical devices. *Sensors and Actuators* 2007, 124, 30–37
5. Wang, J.; Chatrathi, M. P.; Tian, C.; Polsky, R., Microfabricated electrophoresis chips for simultaneous bioassays of glucose, uric acid, ascorbic acid, and acetaminophen. *Analytical Chemistry* 2000, 72, 2514-2518
6. Wang, J.; Chatrathi, M. P.; Collins, G. E.; Microfabricated electrophoresis chip for bioassay of renal markers. *Analytical Chemistry* 2003, 75, 525-529
7. Lee, H.L.; Chen, S.C.; Microchip capillary electrophoresis with electrochemical detector for precolumn enzymatic analysis of glucose, creatinine, uric acid and ascorbic acid in urine and serum. *Talanta* 2004, 64, 750-757
8. Weiller, B. H.; Ceriotti, L.; Shibata, T.; Rein, D.; Roberts, M. A.; Lichtenberg, J.; German, J. B.; de Rooij, N. F.; Verpoor, E.; Analysis of Lipoproteins by Capillary Zone Electrophoresis in Microfluidic Devices: Assay Development and Surface Roughness Measurements. *Analytical Chemistry* 2002, 74, 1702-1711
9. Ping, G.; Zhu, B.; Jabasini, M.; Xu, F.; Oka, H.; Sugihara, H.; Baba, Y.; Analysis of lipoproteins by microchip electrophoresis with high speed and high reproducibility. *Analytical Chemistry* 2005, 77, 7282-7287
10. Garcia, C.D.; Henry, C. S.; Direct Determination of Carbohydrates, Amino Acids, and Antibiotics by Microchip Electrophoresis with Pulsed Amperometric Detection. *Analytical Chemistry* 2003, 75, 4778-4783
11. Garcia, C. D.; Henry, C. S.; Enhanced determination of glucose by microchip electrophoresis with pulsed amperometric detection. *Analytica Chimica Acta* 2004, 508, 1–9
12. Miyaki, K.; Zeng, H. L.; Nakagama, T.; Uchiyama, K.; Steady surface modification of polydimethylsiloxane microchannel and its application in simultaneous analysis of homocysteine and glutathione in human serum. *Journal of Chromatography A* 2007, 1166, 201–206
13. Vickers, J. A.; Henry, C. S.; Simplified current decoupler for microchip capillary electrophoresis with electrochemical and pulsed amperometric detection. *Electrophoresis* 2005, 26, 4641–4647



## โครงการวิจัยที่ 2

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเชิงสลับอินเจกชัน/  
แอนดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเคลือบด้วยฟิล์มทอง

**Method Development for Determination of Mercury by Sequential Injection/Anodic  
Stripping Voltammetric Method Using Gold-Film Screen-Printed Carbon Electrode**

### โครงการวิจัย

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยระบบการไหลร่วมกับเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า  
(Development of Analytical Methods by Flow-Based Electrochemical Methods)

### ชุดโครงการวิจัย

นวัตกรรมในระบบการตรวจวิเคราะห์เชิงเคมีไฟฟ้าและ/หรือเชิงแสง  
(Innovations in Electrochemical and/or Optical Analytical System)

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา จุฬานุวัฒน์กุล

นางสาวแคททรินญา ใจสบาย

นายเอกสิทธิ์ บัณฑิตน์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้รับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปรอทปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิคซีเควินเชิงอินเจกชันควบคู่กับแอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทอง ในขั้นแรก สารละลายปรอท(II) และสารละลายทอง(III) จะถูกดูดเข้าสู่ holding coil ตามลำดับและผลักเข้าสู่โพลีเซลล์โดยระบบซีเควินเชิงอินเจกชัน ในขณะที่ให้ศักย์ไฟฟ้า -0.5 โวลต์ เป็นเวลา 3 นาที ไอออนของทองและปรอทจะเกิดการเกาะติดที่ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน หลังจากปล่อยให้สารละลายนิ่งเป็นเวลา 15 วินาที บันทึกลงโวลแทมโกรมจากศักย์ไฟฟ้า 0.15 – 0.9 โวลต์ โดยให้ศักย์ไฟฟ้าในรูปแบบสแควร์เวฟ จากการทดลองพบว่าภาวะการทดลองที่เหมาะสมคือ ใช้สารละลายกรดไนตริก เข้มข้น 1 M เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด -0.5 โวลต์ ใช้สารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ปริมาตร 900  $\mu\text{L}$  สำหรับการเคลือบฟิล์มทองบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน อัตราการไหล 15  $\mu\text{L/s}$  ระยะเวลาการเกาะติด 180 วินาที ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณของกระแสไฟฟ้าที่ตรวจวัดได้กับความเข้มข้นของปรอทเป็นเส้นตรงในช่วง 4 ถึง 50 ppb ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ( $S/N = 3$ ) มีค่าเป็น 0.84 ppb ขีดจำกัดการวิเคราะห์ปริมาณ ( $S/N = 10$ ) เป็น 1.08 ppb ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ความเข้มข้น 50 ppb ( $n = 10$ ) มีค่า 1.2 % เมื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่มด้วยวิธีการเดิมสารมาตรฐานพบว่าการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 99.25 – 100.9 % ดังนั้น วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถประยุกต์ในการหาปริมาณปรอทในตัวอย่างจริงให้ผลเป็นที่น่าเชื่อถือได้

### Abstract

A new method for the determination of trace mercury by the sequential injection (SIA) coupled with anodic stripping voltammetry (SWASV) using gold film screen-printed carbon electrode (Au-SPCE) was developed. At first the sample and the Au(III) plating solution were sequentially aspirated into holding coil and dispensed into a flow cell which the Hg(II) and Au(III) were deposited on screen-printed carbon electrode (SPCE) at -0.5 V for 180 s. After 15 s equilibration time at stopped-flow, the voltammogram was recorded from 0.15 to 0.9 V by applying a potential in a square-wave form. The optimum experimental conditions were found to be electrolyte, 1 M nitric acid; deposition potential of -0.5 V, 900  $\mu\text{L}$  of 3 ppm Au(III) plating solution; flow rate of 15  $\mu\text{L/s}$  and 180 s deposition time. Under the optimum conditions, the linear range was found between 4 to 50 ppb. A detection limit (S/N = 3) of 0.84 ppb, a limit of quantitation (S/N = 10) of 1.08 ppb and RSD (n = 10, at 50 ppb) of 1.2 % were obtained. The proposed method was applied to the determination of mercury in water sample by standard addition method. The recoveries were in the range of 99.25-100.9 %. Consequently, this developed method can offer reliable results for the determination of trace mercury in real samples.

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ประเทศที่กำลังพัฒนา มุ่งเน้นการพัฒนาด้านอุตสาหกรรม ในขณะที่เดียวกันปัญหาสิ่งแวดล้อมกลับทวีความรุนแรงมากขึ้น เป็นเหตุให้มนุษย์จำเป็นต้องใส่ใจในคุณภาพชีวิต โดยเฉพาะปัญหาการปล่อยของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมซึ่งประกอบด้วยโลหะหนัก ได้แก่ พรอท ตัวอย่างโรงงานที่ปล่อยของเสียซึ่งมีพรอทเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ โรงงานผลิตก๊าซคลอรีนและโซดาไฟ โรงงานผลิตเยื่อกระดาษ โรงงานผลิตพลาสติก โรงงานหลอมโลหะ โรงงานผลิตเภสัชภัณฑ์ เป็นต้น พรอทที่อยู่ในน้ำทิ้งจากโรงงานจะถูกแบคทีเรียในดินหรือในตะกอนก้นทะเลเปลี่ยนให้เป็นเกลืออินทรีย์ เช่น พรอทเมทิล หรือ พรอทไดเมทิล เมื่อมีแพลงก์ตอนมากินแบคทีเรียที่เรียานั้น พรอทจะถูกถ่ายทอดไปยังสัตว์น้ำที่กินแพลงก์ตอนเหล่านี้เป็นอาหาร และในที่สุดพรอทก็จะไปสะสมในเม็ดเลือดแดง ไต และสมองของมนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคลำดับสุดท้าย ก่อให้เกิดโรคหรือความผิดปกติต่าง ๆ สาเหตุดังกล่าวจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้มนุษย์เกิดความตื่นตัวและตระหนักในปัญหาของการปนเปื้อนของสารพิษในอาหารมากขึ้น ปัจจัยสำคัญอีกประการคือ ในแต่ละปีประเทศไทยส่งออกอาหารทะเลแปรรูปหรืออาหารทะเลแช่แข็งเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในปัจจุบันมีวิกฤติเศรษฐกิจเกิดขึ้น ประเทศต่าง ๆ ก็ยิ่งเข้มงวดและมีมาตรการกีดกันทางการค้าว่าด้วยเรื่องสุขอนามัย ความสะอาด ความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น เพราะต้องการลดการนำเข้าและปกป้องอุตสาหกรรมภายในประเทศ การส่งออกสินค้าประเภทอาหารทะเลไปยังประเทศเหล่านั้นจึงเกิดปัญหาและอุปสรรค นอกจากนี้ยังมีการตรวจพบปริมาณพรอทเกินมาตรฐานในอาหารทะเลนำเข้าหรืออาหารทะเลภายในประเทศ เมื่อเป็นเช่นนี้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์พรอทปริมาณน้อยมาก (trace mercury) เพื่อวางมาตรการแก้ปัญหาระยะยาวของสิ่งแวดล้อมในเรื่องการจัดการสารพิษของโรงงานอุตสาหกรรม ลดความเสี่ยงจากพิษพรอทสะสมในผู้บริโภค และเพิ่มความมั่นใจในการส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารทะเลและการบริโภคอาหารทะเลภายในประเทศ

ในปัจจุบันวิธีการตรวจวัดปริมาณโลหะหนักมีหลายวิธี เช่น inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS), inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES), atomic absorption spectroscopy (AAS), anodic stripping voltammetry (ASV) เทคนิค ASV ได้รับความสนใจและนิยมใช้ เนื่องจากมี detection limit ต่ำ linear concentration range กว้าง สามารถตรวจวัดโลหะหลายชนิดได้ในคราวเดียวกัน นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่มีข้อดีกว่า ICP-MS, ICP-AES และ AAS คือเครื่องมือมีขนาดเล็ก ใช้งานได้ง่าย ราคาไม่แพง ใช้กำลังไฟฟ้าน้อย การบำรุงรักษาทำได้ง่าย และเหมาะสำหรับการทำให้เป็นระบบวิเคราะห์อัตโนมัติ

การใช้เทคนิค ASV ร่วมกับระบบการไหล (flow system) มีข้อดีหลายประการ ได้แก่ การวิเคราะห์ทำงานโดยระบบอัตโนมัติ รวดเร็ว ความแม่นยำและความเที่ยงเพิ่มขึ้น ลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนของตัวอย่าง งานวิจัยนี้ได้นำระบบการวิเคราะห์แบบซีเควินเซียลอินเจกชัน (sequential injection analysis, SIA) มาใช้เพื่อช่วยให้การปฏิบัติงานง่ายขึ้นเพราะเป็นระบบอัตโนมัติ ควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ จึงเหมาะสำหรับการทดสอบที่มีการถ่ายโอนตัวอย่างที่ต้องทำหลายขั้นตอน ข้อดีของวิธี SIA คือทำงานได้รวดเร็ว สะดวก มีความเที่ยง ลดภาระค่าใช้จ่าย ประหยัดแรงงานในการเตรียมตัวอย่าง ประหยัดสารเคมี และเครื่องมือมีขนาดเล็ก

## 1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 2009 Hocevar และคณะ<sup>1</sup> รายงานผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โลหะหนักปริมาณน้อยมาก ตรวจวัดด้วย square-wave anodic stripping voltammetry โดยใช้ antimony film carbon paste electrode (SbF-CPE) จากการทดลองวิเคราะห์ตะกั่วและแคดเมียม โดยใช้สารละลาย HCl 0.01 M เป็น supporting electrolyte ให้ศักย์ไฟฟ้าในขั้นการเกาะติด (deposition step) -1.2 V เป็นเวลา 120 วินาที ช่วงเวลาทำให้เข้าสู่สมดุล (equilibration time) 15 วินาที ขั้นการทำให้หลุดออก (stripping step) สแกนศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -1.2 V ถึง 0.2 V ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของสัญญาณที่ได้มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของแคดเมียมและตะกั่วในช่วงความเข้มข้น 5 – 50  $\mu\text{g/L}$  มีขีดจำกัดการตรวจวัด (detection limit) 0.8 และ 0.2  $\mu\text{g/L}$  ตามลำดับ มีสภาพทำซ้ำได้ (reproducibility) ดีคือมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) 3.8 % สำหรับแคดเมียม และ 1.2 % สำหรับตะกั่ว (ใช้สารละลาย 30  $\mu\text{g/L}$ ,  $n = 10$ ) การวิเคราะห์โดยใช้ SbF-CPE นี้ให้ผลดีกว่าการใช้ bismuth film carbon paste electrode (BiF-CPE) และ mercury film carbon paste electrode (MF-CPE) เนื่องจาก SbF-CPE เกิดไฮโดรเจนน้อยกว่า ให้สัญญาณของแคดเมียมและตะกั่วสูงกว่าและแคบกว่า BiF-CPE และ MF-CPE

ในปี ค.ศ. 2009 Hu<sup>2</sup> และคณะ รายงานผลการทดลองวิเคราะห์ตะกั่วปริมาณน้อยมากในน้ำตัวอย่างด้วยเทคนิค sequential injection lab-on-valve (SI-LOV) ร่วมกับ differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) ซึ่งระบบนี้เป็นระบบอัตโนมัติและลดการใช้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ ใช้ mercury film (MF) carbon paste electrode ซึ่งเตรียมโดยใช้สารละลาย mercury(II) เข้มข้น 500 mg/L งานวิจัยนี้ได้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับ DPASV ได้แก่ ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด (deposition potential) ระยะเวลาในการเกาะติด (deposition time) วิธีการทำให้มีพื้นที่ผิวใหม่ของ mercury electrode และปริมาตรของสารละลาย และภาวะที่เหมาะสมสำหรับ SI-LOV ได้แก่ อัตราการไหลของสารละลายผ่านโฟลว์เซลล์ จากการทดลองตรวจวัดโลหะตะกั่วในน้ำตัวอย่างได้ผลเป็นที่น่าพอใจ แต่อย่างไรก็ตาม มีข้อเสียจากการใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มปรอทซึ่งก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและผู้ทดลอง

ในปี ค.ศ. 2008 Okcu<sup>3</sup> และคณะ ได้รายงานผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดในเกลือบรีโกลด์ตัวอย่างด้วยวิธี differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) โดยใช้ gold film electrode โดยทั่วไปเกลือบรีโกลด์จะมีปรอทปริมาณน้อยมาก แต่มีคลอไรด์ไอออนปริมาณมาก ซึ่งจะรบกวนการวิเคราะห์ในขั้นการหลุดออก (stripping step) เมื่อใช้ gold เป็นขั้วไฟฟ้าสำหรับการวัดด้วย



voltammetry การรบกวนนี้แก้ไขได้โดยการลดความเข้มข้นของคลอไรด์ไอออนให้อยู่ในระดับ  $3 \times 10^{-3}$  mol/L ซึ่งวิธีที่พัฒนาขึ้นเหมาะสมสำหรับการทำให้หลุดออกและตรวจวัดสัญญาณหลังจากเปลี่ยนตัวกลางแบบออนไลน์ (on-line) ทันทีที่เสร็จสิ้นขั้นการเกาะติด วิธีการคือบรรจุสารละลายตัวอย่างในเซลล์ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.2 V เป็นเวลา 60 วินาที เพื่อให้เกิดการเกาะติด จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่างออกจากเซลล์และดูดสารละลายอิเล็กโทรไลต์ใหม่ คือ  $\text{HClO}_4$  0.1 mol/L เข้าไปแทนที่ แล้วจึงสแกนศักย์ไฟฟ้าเพื่อให้เกิดการหลุดออก ผลการทดลองมีขีดจำกัดการตรวจวัด 0.17  $\mu\text{g/L}$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) 1.2 % (S/N = 3) และการได้กลับคืน (recovery = 94.6 %) วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ใช้ได้กับตัวอย่างที่มีเกลือสูง (saline samples)

ในปี ค.ศ. 2008 Abollino และคณะ<sup>4</sup> รายงานผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อรูปร่างและความเข้มข้นของฟลักปรอทในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยวิธี anodic stripping voltammetry (ASV) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทอง (gold electrode) ได้แก่ รูปแบบของสัญญาณศักย์ไฟฟ้า (linear sweep, differential pulse, square wave) พารามิเตอร์ในการสแกนศักย์ไฟฟ้า ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด ระยะเวลาในการเกาะติด วิธีการทำความสะอาดพื้นผิวขั้วไฟฟ้า งานวิจัยนี้ได้ทดลองใช้ supporting electrolyte 5 ชนิด ได้แก่  $\text{HNO}_3$  70 mM,  $\text{HCl}$  60 mM,  $\text{HClO}_4$  50 mM,  $\text{HNO}_3$  5 mM /  $\text{NaCl}$  5 mM และ  $\text{HClO}_4$  40 mM /  $\text{NaCl}$  0.6 mM /  $\text{EDTA}$  0.2 mM ผลการทดลองปรากฏว่า สัญญาณที่ได้จะดีที่สุดเมื่อใช้ square wave และใช้  $\text{HCl}$  เจือจางเป็นอิเล็กโทรไลต์ช่วย การทำความสะอาดพื้นผิวขั้วไฟฟ้าเพื่อกำจัดปรอทที่ติดอยู่ที่ขั้วจะทำให้ขั้วมีสมรรถนะที่ดี นอกจากนี้พบว่า gold electrode สามารถใช้หาปริมาณปรอทโดยมีสภาพทำซ้ำได้ (reproducibility) สภาพไว (sensitivity) และความแม่นยำ (accuracy) ดี

ในปี ค.ศ. 2008 Jin และคณะ<sup>5</sup> ได้รายงานผลการสังเคราะห์ gold nanoparticles/ carbon nanotubes (Au-NPs/CNTs) composites โดยใช้คลื่นไมโครเวฟ และประยุกต์ใช้เป็นครั้งแรกในการวิเคราะห์โลหะปรอทปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิค differential pulse anodic stripping voltammetry (DPAVS) โดยผลการทดสอบให้ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกับความเข้มข้นเป็นเส้นตรง (linear range) ในช่วงกว้าง  $5 \times 10^{-10} - 1.25 \times 10^{-6}$  mol/L RSD เท่ากับ 1.84 % ขีดจำกัดการตรวจวัดเป็น  $3 \times 10^{-10}$  mol/L (0.06  $\mu\text{g/L}$ ) เมื่อใช้ระยะเวลาในการเกาะติด 2 นาที ซึ่งตามมาตรฐานที่กำหนดไว้โดยองค์การอนามัยโลก ในน้ำดื่มมีปริมาณปรอทได้ไม่เกิน 1  $\mu\text{g/L}$  แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณปรอทได้ดี

ในปี ค.ศ. 2008 Korolczuk และคณะ<sup>6</sup> รายงานผลการวิเคราะห์ methylmercury ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) ปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิค anodic stripping voltammetry โดยใช้ gold film electrode (ให้  $\text{Au}^{3+}$  เกิดรีดักชันไปเคลือบที่ผิวของ glassy carbon ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.6 V เป็นเวลา 30 วินาที) ร่วมกับระบบการวิเคราะห์แบบการไหล (flow analysis) ใช้ EDTA เป็น supporting electrolyte แต่ในการทดลองมี  $\text{Hg}^{2+}$  รบกวนการวิเคราะห์  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  เนื่องจากให้สัญญาณที่ค่าศักย์ไฟฟ้าใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงต้องกำจัด  $\text{Hg}^{2+}$  โดยให้  $\text{Hg}^{2+}$  เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ DTPA เกิดเป็น  $\text{Hg-DTPA}$  ซึ่งไม่ถูกรีดิวซ์ที่ศักย์ไฟฟ้าที่ methylmercury เกิดรีดักชันไปเป็นโลหะ Hg ผลการทดลองได้กราฟเทียบมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วง  $5 \times 10^{-9} - 1 \times 10^{-7}$  mol/L เมื่อใช้ระยะเวลาในการเกาะติด 600 วินาที ขีดจำกัดการตรวจวัดเป็น  $2.3 \times 10^{-9}$  mol/L การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นทำโดยการวิเคราะห์ผสมของมนุษย์โดยใช้วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน

ในปี ค.ศ. 2008 Compton และคณะ<sup>7</sup> รายงานผลการศึกษากลไกการเกาะติดและการหลุดออกของบิสมัท ( $\text{Bi}^{3+}$ ) ที่ขั้วไฟฟ้า Au (111) จากสารละลาย  $\text{Bi}^{3+}$  1 mM /  $\text{HClO}_4$  0.1 M เนื่องจาก bismuth film สามารถใช้แทนขั้วไฟฟ้าปรอทสำหรับการตรวจวัดโลหะหนักซึ่งเป็นพิษ เช่น  $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Cd}^{2+}$  โดยเทคนิค anodic stripping voltammetry ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกาะติดด้วยไฟฟ้า (electrodeposition) ของฟิล์มบิสมัท ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ศักย์ไฟฟ้า pH ชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้ การเกาะติดของ  $\text{Bi}^{3+}$  บนขั้วไฟฟ้าทองจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ ขั้นที่ ศักย์ไฟฟ้าต่ำกว่าศักย์ไฟฟ้าที่จะเกิดการเกาะติด และขั้นที่ศักย์ไฟฟ้าสูงกว่าศักย์ไฟฟ้าที่เกิดการเกาะติดแล้ว ในการทดลองพบว่ากลไกของขั้นการเกาะติดของ  $\text{Bi}^{3+}$  เป็น  $\text{Bi(s)}$  เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง โดยปฏิกิริยาขึ้นกับความเข้มข้นของ  $\text{Bi}^{3+}$

ในปี ค.ศ. 2008 Kang และคณะ<sup>8</sup> รายงานผลการศึกษาทดลองวิเคราะห์ปริมาณโลหะตะกั่ว แคดเมียมและสังกะสีปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิค square-wave anodic stripping voltammetry (SWASV) โดยใช้ bismuth-modified carbon nanotube electrode (Bi-CNT electrode) ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด -1.4 V ระยะเวลาในการเกาะติด 300 วินาที และความเข้มข้นของสารละลาย  $\text{Bi}^{3+}$  1000  $\mu\text{g/L}$  ผลการทดลองพบว่าขั้วไฟฟ้า Bi-CNT สามารถใช้งานได้ดีกว่า glassy carbon, activated carbon และ graphite ที่ใช้กันโดยทั่วไป ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสัญญาณกับความเข้มข้นของโลหะเป็นเส้นตรงในช่วง 2 – 100  $\mu\text{g/L}$  ขีดจำกัดการตรวจวัด (S/N = 3) มีค่า 1.3, 0.7 และ 12  $\mu\text{g/L}$  สำหรับการวิเคราะห์ตะกั่ว แคดเมียม และสังกะสีตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 2008 Jin และคณะ<sup>9</sup> รายงานผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักที่ปนเปื้อนในผักด้วยเทคนิค differential pulse anodic stripping voltammetry โดยพัฒนาขั้วไฟฟ้า Nafion-coated bismuth film electrode (NCBFE) เป็นอีกหนทางเลือกที่ทดแทนการใช้ขั้วไฟฟ้าปรอท สำหรับการทดลองนี้ศึกษาการตรวจวัดตะกั่ว แคดเมียม และสังกะสี พร้อมกันในสารละลายที่ไม่ได้กำจัดอากาศ (non-deaerated solution) โดย differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) ด้วย NCBFE ขีดจำกัดการตรวจวัดมีค่า 0.30, 0.17, 0.17  $\mu\text{g/L}$  และ RSD เท่ากับ 3.4 %, 2.4 %, 2.0 % ที่ระดับความเข้มข้น 15  $\mu\text{g/L}$  ( $n = 15$ ) สำหรับการตรวจวัดสังกะสี แคดเมียมและตะกั่ว ตามลำดับ NCBFE สามารถประยุกต์ใช้หาปริมาณตะกั่วและแคดเมียมในตัวอย่างผักได้ผลเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ด้วย graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS)

ในปี ค.ศ. 2008 Ogorevc และคณะ<sup>10</sup> รายงานผลการค้นพบขั้วไฟฟ้าชนิดใหม่คือ carbon black nanoparticle film electrode (CBFE) ซึ่งประกอบด้วย carbon black nanoparticle เกาะติดบน gelatin-covered indium tin oxide/glass support ขั้วชนิดนี้เตรียมง่าย รวดเร็ว ราคาไม่แพง ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและเหมาะสมสำหรับการผลิตจำนวนมาก ขั้วไฟฟ้านี้ใช้งานได้ที่ศักย์ไฟฟ้าในช่วงกว้างคือ +1.0 ถึง -1.3 V (ขึ้นกับ pH ของสารละลาย) ช่วง pH กว้าง (อย่างน้อย 2 ถึง 12) มี voltammetric background ต่ำ ( $< 5 \mu\text{A cm}^{-2}$ ) ให้สัญญาณที่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ( $r^2 > 0.99$ ) กับความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์หลายชนิดทั้งในเทคนิค voltammetry และ amperometry สามารถทำซ้ำได้ (reproducibility) สูง เสถียรและให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าอย่างรวดเร็ว

ในปี ค.ศ. 2008 Kadar และคณะ<sup>11</sup> รายงานการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โลหะหนัก ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  และ  $\text{Pb}^{2+}$ ) ปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิค anodic stripping voltammetry โดยการดัดแปร glassy carbon

electrode (GCEs) ให้เป็น Nafion/2,2'-bipyridyl-modified bismuth film electrode (NC(Bpy)BiFE) ข้อดีของขั้วไฟฟ้านี้คือทำให้สภาพไวในการตรวจวัดเพิ่มขึ้นเนื่องจาก 2,2'-bipyridyl (Bpy) เป็นคีเลตติ้งเอเจนต์ (chelating agent) ในขณะที่ Nafion film ทำให้เสถียรภาพของ bismuth film ดีขึ้น ที่ภาวะการทดลองเหมาะสม เมื่อใช้ระยะเวลาในการเกาะติด 2 นาทีโดยมีออกซิเจน ได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้นกว้าง (ประมาณ 2 – 0.001  $\mu\text{M}$ ) และมีขีดจำกัดการตรวจวัด 8.6 nM (0.56  $\mu\text{g/L}$ ), 1.1 nM (0.12  $\mu\text{g/L}$ ) และ 0.37 nM (0.077  $\mu\text{g/L}$ ) สำหรับ  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  และ  $\text{Pb}^{2+}$  ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่า 3 – 5 % เมื่อใช้ 1.2  $\mu\text{M}$   $\text{Zn}^{2+}$  และ 0.3 – 0.3  $\mu\text{M}$   $\text{Pb}^{2+}$  และ  $\text{Cd}^{2+}$  วิธีนี้มีสภาพการเลือก (selectivity) สูงเมื่อมีไอออนของโลหะอื่นๆ ในปริมาณมาก งานวิจัยนี้ได้ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นหาปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างจริงบางชนิดและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยเทคนิค ICP-MS

ในปี ค.ศ. 2007 Economou และคณะ<sup>12</sup> รายงานระบบการวิเคราะห์โลหะหนักด้วยเทคนิค stripping voltammetry ร่วมกับ hybrid flow-injection/sequential-injection analysis (FIA/SIA) ซึ่งเป็นระบบอัตโนมัติ ทำให้การวิเคราะห์ทำได้ง่าย ค่าใช้จ่ายน้อย รวดเร็วและประหยัดสาร ขั้วไฟฟ้าใช้งานคือขั้วไฟฟ้าฟิล์มบิสมัท สามารถนำวิธีนี้ประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์แคดเมียมกับตะกั่วที่ปนเปื้อนปุ๋ยฟอสเฟตด้วย anodic stripping voltammetry (ASV) และวิเคราะห์นิกเกิลกับโคบอลต์ด้วย adsorptive stripping voltammetry (AdSV) สำหรับการวิเคราะห์แคดเมียมและตะกั่ว ขีดจำกัดการตรวจวัดมีค่า 2 และ 1  $\mu\text{g/L}$  ตามลำดับ และ RSD เป็น 5.3 % และ 4.7 % ตามลำดับ จากการทดลองสรุปได้ว่าขั้วไฟฟ้าฟิล์มบิสมัทสามารถใช้ได้ดีกับ flow-through detector สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค stripping voltammetry และเป็นอีกทางเลือกที่ใช้แทนขั้วไฟฟ้าปรอทซึ่งมีความเป็นพิษ

ในปี ค.ศ. 2007 Martinez และคณะ<sup>13</sup> ได้รวบรวมผลงานการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าโดยใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน (screen-printed electrodes, SPEs) ชนิดใช้แล้วทิ้งที่ไม่ได้ดัดแปร ดัดแปรด้วยฟิล์มของวัสดุต่างๆ ดัดแปรด้วยเอนไซม์ และดัดแปรด้วยแอนติเจน/แอนติบอดี ซึ่งขั้วไฟฟ้าแต่ละชนิดเหมาะกับการวิเคราะห์โลหะหนักที่แตกต่างกันไป เช่น Bi-coated SPCEs เหมาะสำหรับการวิเคราะห์  $\text{Pb(II)}$  และ  $\text{Cd(II)}$  Gold-coated SPCEs ใช้วิเคราะห์ปรอท ( $\text{Hg}$ ) ในระดับความเข้มข้นต่ำๆ Ni-coated SPCEs เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารอินทรีย์ รวมทั้งแสดงข้อดี ข้อเสีย และการนำขั้วไฟฟ้าแต่ละชนิดไปใช้งาน

ในปี ค.ศ. 2006 Economou และคณะ<sup>14</sup> รายงานผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โลหะหนักปริมาณน้อยมาก ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม และสังกะสี ด้วยเทคนิค square-wave anodic stripping voltammetry (SWASV) ร่วมกับ sequential injection analysis (SIA) โดยดัดแปรขั้วไฟฟ้า glassy carbon ให้เป็น polymer-coated bismuth film electrode การทดลองเป็นระบบอัตโนมัติ เมื่อใช้สารละลายตัวอย่างปริมาตร 1.2 mL พบว่าขีดจำกัดการตรวจวัด (ที่  $\text{S/N} = 3$ ) มีค่า 2, 2, 6  $\mu\text{g/L}$  สำหรับการตรวจวัดตะกั่ว แคดเมียม และสังกะสี ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนที่ 20  $\mu\text{g/L}$  เป็น 5.1 %, 5.9 % และ 6.2 % สำหรับการตรวจวัดตะกั่ว แคดเมียม และสังกะสีตามลำดับ แสดงว่าสามารถใช้ขั้วไฟฟ้านี้ร่วมกับ SIA สำหรับการวิเคราะห์โลหะปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิค ASV ที่มีสภาพไวสูง ทำได้รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายต่ำ และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม

ในปี ค.ศ. 2003 Liawruangrath และคณะ<sup>15</sup> รายงานผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยเทคนิค anodic stripping voltammetry ขั้วไฟฟ้าที่ใช้คือขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเคลือบด้วย



ทอง ร่วมกับการวิเคราะห์แบบฟลูว์อินเจกชัน (flow injection analysis) เมื่อใช้ระยะเวลาในการเกาะติด 120 วินาที ซีดจำกัดการตรวจวัดมีค่า 0.8  $\mu\text{g/L}$

### 1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย

สำหรับงานวิจัยนี้ มุ่งพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปรอทปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโดกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทอง (gold film screen-printed electrode, Au-SPCE) ที่เตรียมได้จากการนำขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน ซึ่งเป็นขั้วไฟฟ้าที่เตรียมง่าย ไม่ต้องขัดก่อนใช้งาน และราคาไม่แพง มาเคลือบด้วยฟิล์มทองในระหว่างการวิเคราะห์ (*in situ* plating) โดยการให้ศักย์ไฟฟ้ารีดักชันเพื่อให้ไอออนของทองจากสารละลายเกิดรีดักชันไปเป็นทองเกาะติดที่ขั้วไฟฟ้า ทั้งนี้เพื่อเพิ่มสภาพไวในการตรวจวัดปริมาณปรอท จากนั้นศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปรอทปริมาณน้อยมาก ได้แก่ ชนิดและความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ ศักย์ไฟฟ้าและระยะเวลาในการเกาะติด ปริมาตรและความเข้มข้นของสารละลายทอง และอัตราการไหล เพื่อหาภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ และตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ตลอดจนศึกษาการนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ในการหาปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

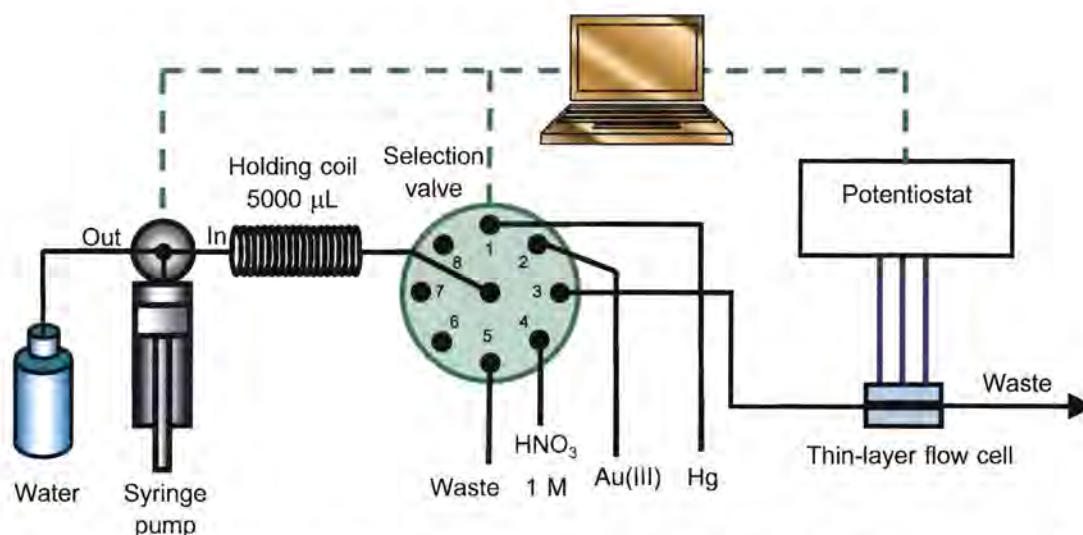
1. ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโดกสทริปปิงโวลแทมเมตรีที่มีสภาพไวสูง ซีดจำกัดการตรวจวัดต่ำ สะดวกและทำได้โดยอัตโนมัติ ประหยัดสาร และประหยัดเวลา

2. นำวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์กับการทดสอบตัวอย่างจริง เช่น น้ำ อาหารหรือตัวอย่างอื่นๆ ที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนของสารปรอทได้

## การทดลอง

### 2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Potentiostat (eDAQ V.2.0.13, Australia) ควบคุมด้วยโปรแกรม Echem v2.0.13 software® eDAQ
2. Thin-layer flow cell (Bioanalytical System, USA) ประกอบด้วย
  - 2.1 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน (Screen-printed carbon electrode)
  - 2.2 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl electrode)
  - 2.3 ขั้วไฟฟ้าช่วยสแตนเลสสตีล (stainless steel tube)
3. Faraday cage
4. Sequential injection system (MGC Auto-Pret MP-014S, JAPAN) ประกอบด้วย
  - 4.1 3-way syringe pump
  - 4.2 8-port selection valve
  - 4.3 PTFE tubing
 ควบคุมด้วยโปรแกรม Labview® software ver 7.1, National Instrument



Working electrode: Au-SPCE, Reference electrode: Ag/AgCl, Counter electrode: Stainless steel

รูปที่ 15 แผนภาพแสดงการจัดเครื่องมือในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินซีลอินเจกชันแอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี

## 2.2 สารเคมี

1. Nitric acid, 65% w/w (Merck, Germany)
2. Perchloric acid, 70-72% w/w (Merck, Germany)
3. Hydrochloric acid, fuming 37% w/w (Merck, Germany)
4. Gold standard solution, 1002 mg/L  $\pm$  4 mg/L (Fluka, Trace CERT®; Switzerland)
5. Mercury standard solution, 1000 mg/L  $\pm$  4 mg/L (Fluka, Trace CERT®; Switzerland)
6. น้ำบริสุทธิ์ ความต้านทาน  $\geq 18.3 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$  จาก Milli-Q Ultrapure Water Purification System: Millipore, USA

## 2.3 การให้ศักย์ไฟฟ้าและการวัดสัญญาณกระแสไฟฟ้าโดยใช้เทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/สแควร์เวฟแอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี

1. เปิดเครื่อง potentiostat (eDAQ V.2.0.13) เครื่องคอมพิวเตอร์และโปรแกรมควบคุม
2. เชื่อมต่อสายไฟกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ขั้วไฟฟ้าช่วย (stainless steel tube) และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนบริเวณแถบของหมึกซิลเวอร์ซึ่งเชื่อมต่อกับหมึกคาร์บอน ดังรูปที่ 16



รูปที่ 16 การต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับโพล์เซลล์

3. ตั้งค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของเครื่อง potentiostat ในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี ดังตารางที่ 1
- ตารางที่ 1 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี

ขั้นตอน	การตั้งค่า
Pretreatment	
- deposition potential	-0.5 V
- deposition time	180 s
- rest time	15 s
Measurement	

ขั้นตอน	การตั้งค่า
- frequency	50 Hz
Stripping Step	
- initial potential	0.15 V
- final potential	0.90 V
- amplitude	0.05 V

#### 4. ทำการทดลองตรวจวัดปริมาณปรอทตามลำดับขั้น (step sequence) ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2 ลำดับขั้น (step sequence) ในการตรวจวัดปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชันแอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี

Step	Sequence	SV	Volume ( $\mu\text{L}$ )	Flow rate ( $\mu\text{L/s}$ )	Time (s)	Electrode Potential (V)
Electrode activation	Aspirate 1 M HCl into holding coil	4	500	100	5	1.0
	Dispense 1 M HCl into flow cell	3	500	50	10	1.0
Deposition	Aspirate Hg(II) into holding coil	1	1800	200	9	1.0
	Aspirate Au(III) into holding coil	2	900	200	4.5	1.0
	Dispense Au(III) and Hg(II) into flow cell	3	2700	15	180	-0.5
Stripping	Equilibration	3	-	0	15	-0.5
	Stripping and recording data	3	-	0	15	Scan 0.15 - 0.9
Electrode cleaning	Aspirate 1 M HCl into holding coil	4	1000	200	5	1.2
	Dispense 1 M HCl into flow cell	3	1000	50	20	

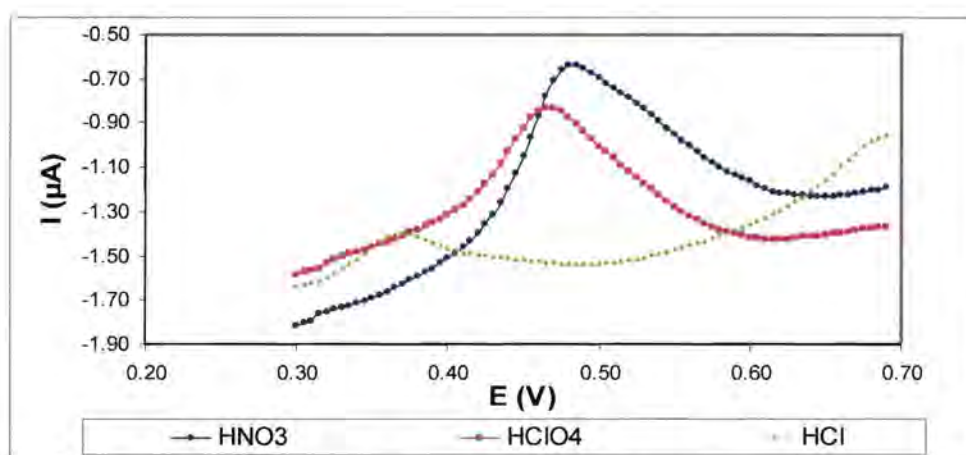
ลำดับขั้นการทำงานเริ่มจากดูดสารละลายมาตรฐานปรอทและสารละลายมาตรฐานทอง เข้าไปยัง holding coil ตามลำดับ จากนั้นผลึกสารละลายจาก holding coil เข้าไปยังโพล์เซลล์ในขณะที่ให้ศักย์ไฟฟ้าที่ -0.5 V เป็นเวลา 180 วินาที เพื่อให้ไอออนของทองจากสารละลายมาตรฐานทองซึ่งผ่านเข้าไปยังโพล์เซลล์เป็นอันดับแรกเกิดรีดักชันและเกาะติดกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน ทำให้เกิดเป็นขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทอง หลังจากนั้นไอออนของปรอทจะเกิดรีดักชันและเกาะติดกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทอง ปล่อยให้สารละลายหยุดนิ่งเป็นเวลา 15 วินาที เพื่อให้เข้าสู่สมดุล (equilibration time) สแกนศักย์ไฟฟ้าจาก 0.15 – 0.9 V โดยใช้สัญญาณกระตุ้นแบบสแควร์เวฟที่มีความถี่ (frequency) 50 Hz แอมพลิจูด (amplitude) 50 mV ปรอทและทองจะหลุดออกจากขั้วไฟฟ้าเนื่องจากเกิดออกซิเดชันให้ไอออนและอิเล็กตรอน ทำให้สามารถตรวจวัดสัญญาณกระแสไฟฟ้าได้ที่ศักย์ไฟฟ้าซึ่งปรอทและทองเริ่มเกิดออกซิเดชันโดยแสดงผลออกมาในรูปของโวลแทมโมแกรม เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนสแกนศักย์ไฟฟ้า ทั้งปรอทและทองจะหลุดจากขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน แต่อาจมีฟิล์มทองบางส่วนหลงเหลืออยู่ ดังนั้นจึงมีขั้นตอนทำความสะอาดขั้วคาร์บอนพิมพ์สกรีน โดยการดูดสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 M เข้าไปยัง holding coil แล้วผลึกเข้าสู่โพล์เซลล์ ในขณะที่ให้ศักย์ไฟฟ้า 1.2 V เพื่อให้ทองเกิดออกซิเดชันและหลุดออกจากขั้วไฟฟ้าอย่างสมบูรณ์



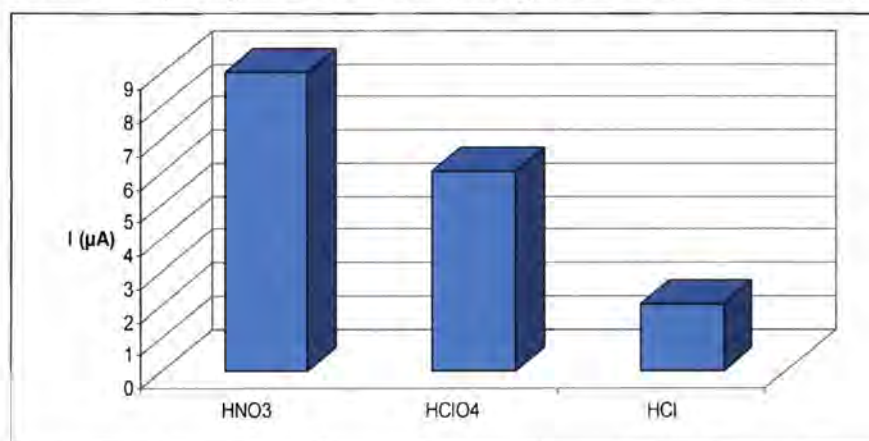
## 2.4 การหาภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี

### 2.4.1 ผลของชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่อสัญญาณกระแสไฟฟ้า

ทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb และสารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ที่เตรียมในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 3 ชนิด คือ สารละลายกรดไนตริก ( $\text{HNO}_3$ ) กรดเปอร์คลอริก ( $\text{HClO}_4$ ) และกรดไฮโดรคลอริก ( $\text{HCl}$ ) เข้มข้น 1 M โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีน ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 17 และกราฟแสดงความสัมพันธ์ของชนิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์กับความสูงของพีคที่วัดได้เป็นดังรูปที่ 18



รูปที่ 17 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ เข้มข้น 1 M 3 ชนิด คือกรดไนตริก ( $\text{HNO}_3$ ) กรดเปอร์คลอริก ( $\text{HClO}_4$ ) และกรดไฮโดรคลอริก ( $\text{HCl}$ )

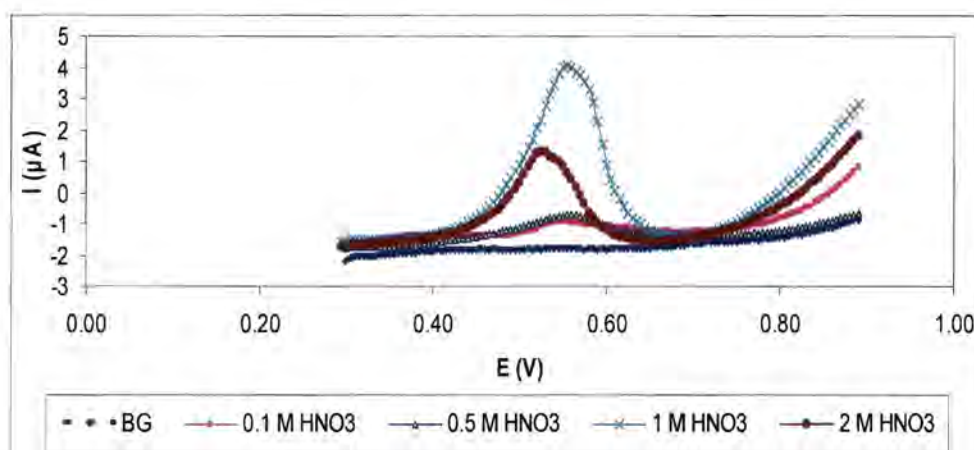


รูปที่ 18 กราฟแสดงสัญญาณกระแสไฟฟ้าของพีคที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ชนิดต่างๆ

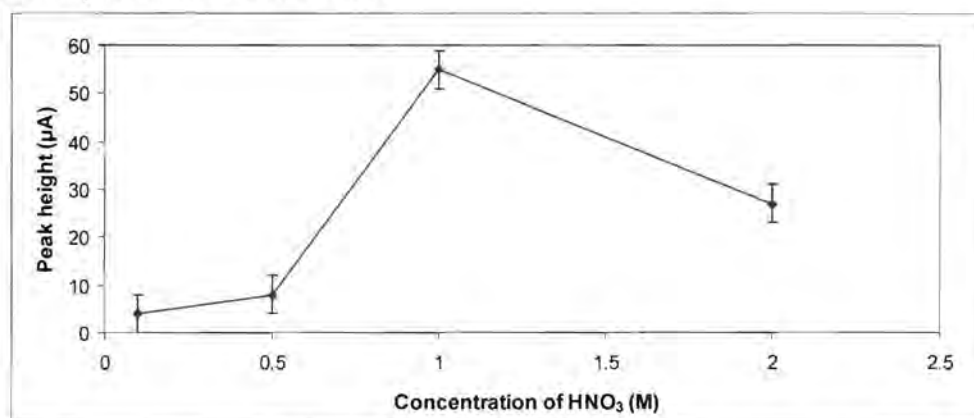
จากรูปที่ 18 แสดงว่าการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานปรอทในสารละลายกรดไนตริกให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้กรดไนตริกเป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์

## 2.4.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่อสัญญาณกระแสไฟฟ้า

ทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยซีเควินเชิงอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb และสารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ที่เตรียมในสารละลายกรดไนตริก ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 M ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 19 และกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์กับค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้ เป็นดังรูปที่ 20



รูปที่ 19 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb เมื่อใช้สารละลายกรดไนตริก ความเข้มข้นต่างๆ เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์



รูปที่ 20 ผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดไนตริกต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้

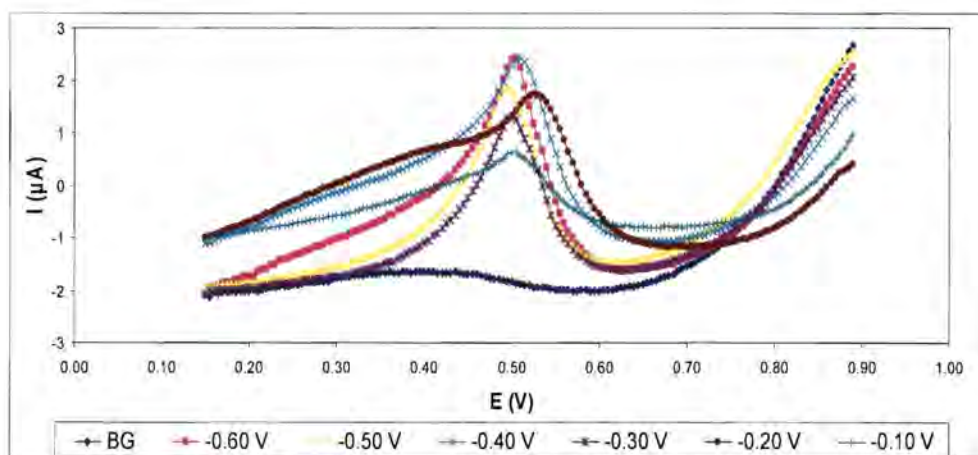
จากรูปที่ 20 แสดงให้เห็นว่าการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานปรอทในสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 1 M ให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 1 M เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์

## 2.4.3 การหาคักย์ไฟฟ้าในการเกาะติดที่เหมาะสม

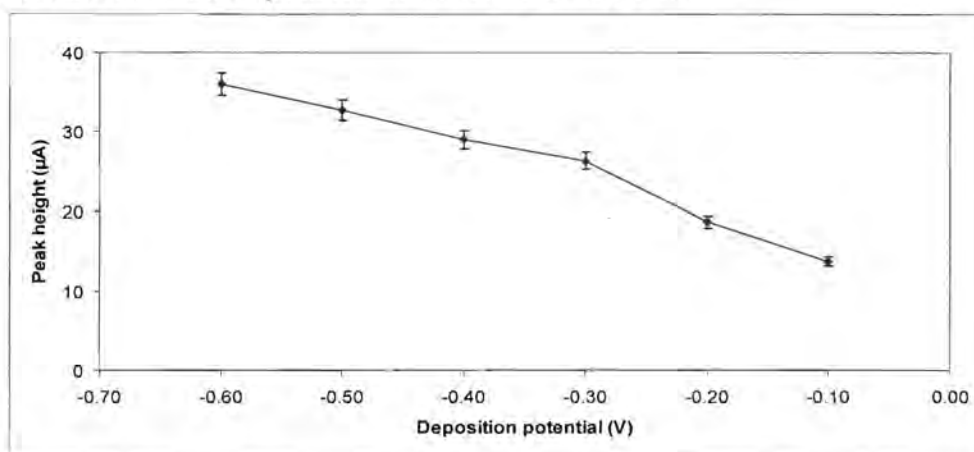
ทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทในสารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M ด้วยเทคนิคซีเควินเชิงอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทอง ระยะเวลาในการเกาะติด (deposition time) 180 วินาที ที่คักย์ไฟฟ้า



สำหรับการเกาะติด (deposition potential)  $-0.6$ ,  $-0.5$ ,  $-0.4$ ,  $-0.3$ ,  $-0.2$  และ  $-0.1$  V แสดงในรูปที่ 21 และกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติดกับค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เป็นดังรูปที่ 22



รูปที่ 21 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดในทริก 1 M ที่ค่าศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติดต่างๆ และระยะเวลาการเกาะติด 180 วินาที



รูปที่ 22 ผลของศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติดต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้

จากการทดลองพบว่า เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติดเป็นลบมากขึ้น สัญญาณของกระแสไฟฟ้าที่วัดได้มีค่าสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม การให้ศักย์ไฟฟ้าที่เป็นลบมากอาจทำให้เกิดการรบกวนการวิเคราะห์เนื่องจากการเกาะติดของไอออนของโลหะอื่นๆ ที่อาจมีอยู่ในสารละลายตัวอย่างได้มากขึ้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ค่าศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติดที่  $-0.5$  V

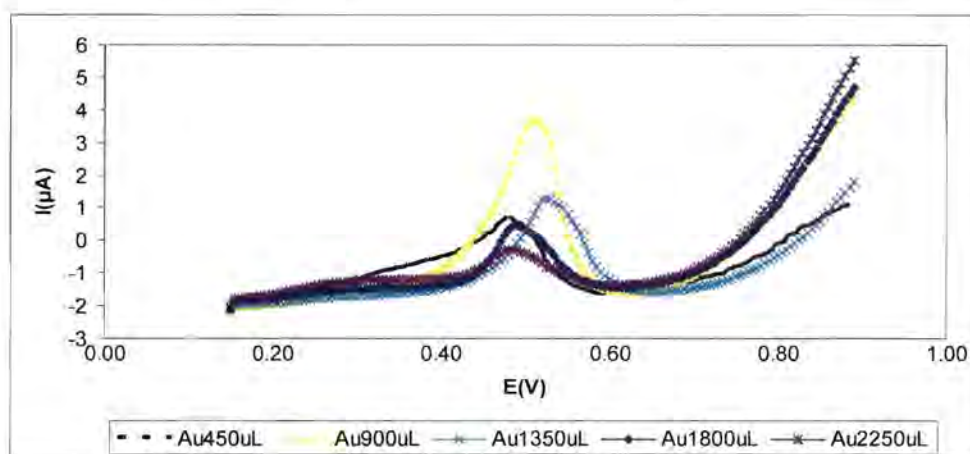
#### 2.4.4 ผลของปริมาตรของสารละลายทองต่อสัญญาณกระแสไฟฟ้า

ทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทในสารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดในทริก 1 M ด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทองที่เตรียมโดยใช้สารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ปริมาตรต่าง ๆ คือ 450, 900, 1350, 1800 และ 2250  $\mu$ L ระยะเวลาในการเกาะติดทองและปรอท 180 วินาที ที่ศักย์ไฟฟ้าสำหรับ

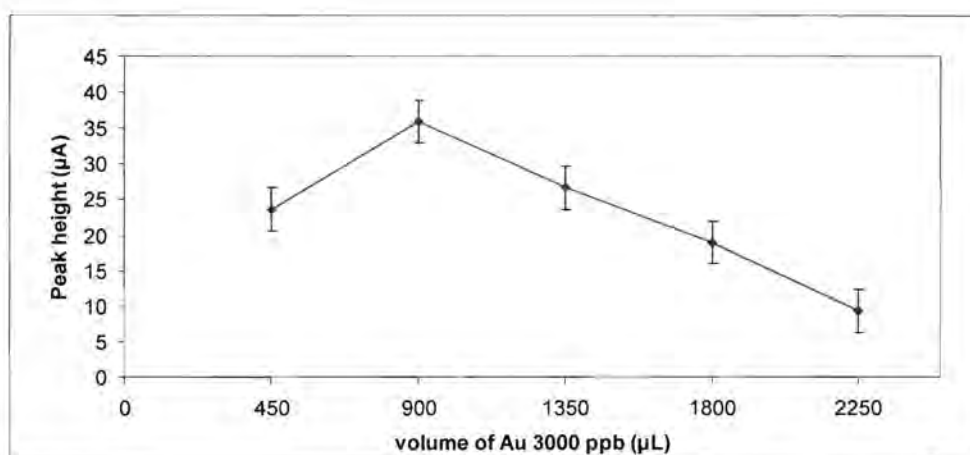


การเกาะติด  $-0.5$  V ได้ผลดังรูปที่ 23 และกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารละลายมาตรฐานทองคำกับค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เป็นดังรูปที่ 24

จากการทดลองพบว่า ปริมาณของสารละลายมาตรฐานทองคำที่เหมาะสมคือ  $900 \mu\text{L}$  เนื่องจากให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าสูงที่สุด



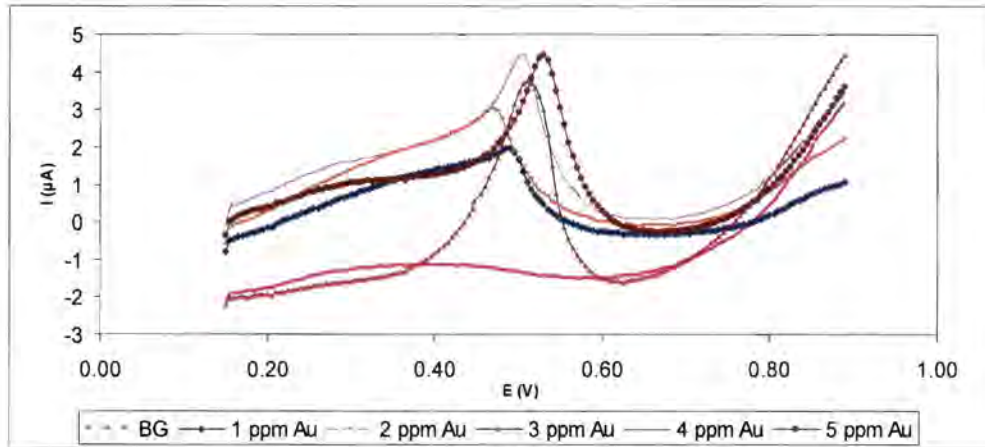
รูปที่ 23 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท  $50$  ppb ในสารละลายกรดไนตริก  $1$  M โดยใช้สารละลายมาตรฐานทอง  $3$  ppm ปริมาตรต่างๆ ระยะเวลาในการเกาะติด  $180$  วินาที ที่ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด  $-0.5$  V



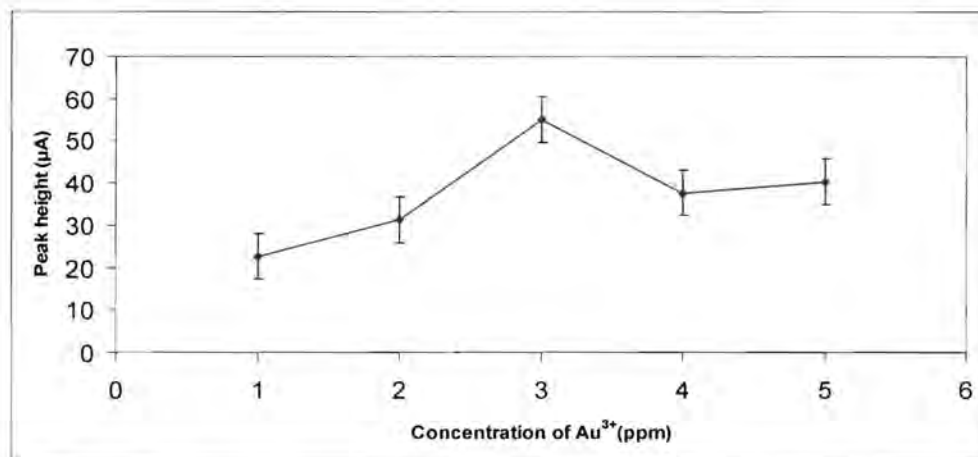
รูปที่ 24 ผลของปริมาณสารละลายมาตรฐานทองเข้มข้น  $3$  ppm ต่อสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้

#### 2.4.5 ผลของความเข้มข้นของสารละลายทองต่อสัญญาณกระแสไฟฟ้า

ทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทในสารละลายมาตรฐานปรอท  $50$  ppb ในสารละลายกรดไนตริก  $1$  M ด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทองที่เตรียมโดยใช้สารละลายมาตรฐานทองความเข้มข้นต่างๆ กันคือ  $1, 2, 3, 4$  และ  $5$  ppm ปริมาตร  $900 \mu\text{L}$  ระยะเวลาในการเกาะติดทองและปรอท  $180$  วินาที ที่ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด  $-0.5$  V ได้ผลดังรูปที่ 25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณของสารละลายมาตรฐานทองคำกับค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เป็นดังรูปที่ 26



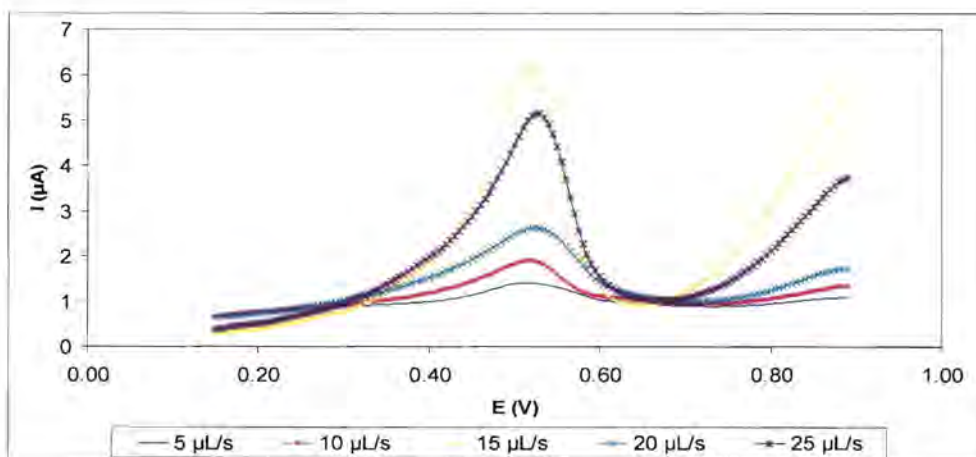
รูปที่ 25 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M โดยใช้สารละลายมาตรฐานทองเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ปริมาตร 900  $\mu\text{L}$  ระยะเวลาในการเกาะติด 180 วินาที ที่ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด -0.5 V



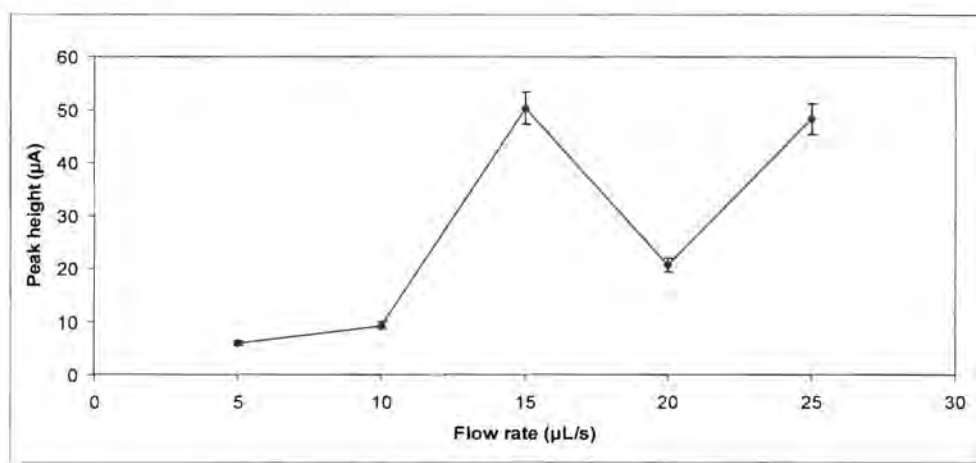
รูปที่ 26 ผลของความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานทองต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้

#### 2.4.6 การหาอัตราการไหลที่เหมาะสม

ทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทในสารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M ด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทองที่เตรียมโดยใช้สารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ปริมาตร 900  $\mu\text{L}$  ระยะเวลาในการเกาะติดทองและปรอท 180 วินาที ที่ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด -0.5 V เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายมาตรฐานทองและสารละลายมาตรฐานปรอทในขั้นตอนการเกาะติดต่างๆ คือ 5, 10, 15, 20, 25  $\mu\text{L/s}$  ตามลำดับ ได้ผลดังรูปที่ 27 และกราฟแสดงความสัมพันธ์ของอัตราการไหลของสารละลายกับค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เป็นดังรูปที่ 28



รูปที่ 27 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M เมื่อใช้อัตราการไหลในขั้นตอนการเกาะติดต่างๆ (ใช้สารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ปริมาตร 900  $\mu\text{L}$  ระยะเวลาในการเกาะติด 180 วินาที ที่ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด -0.5 V)



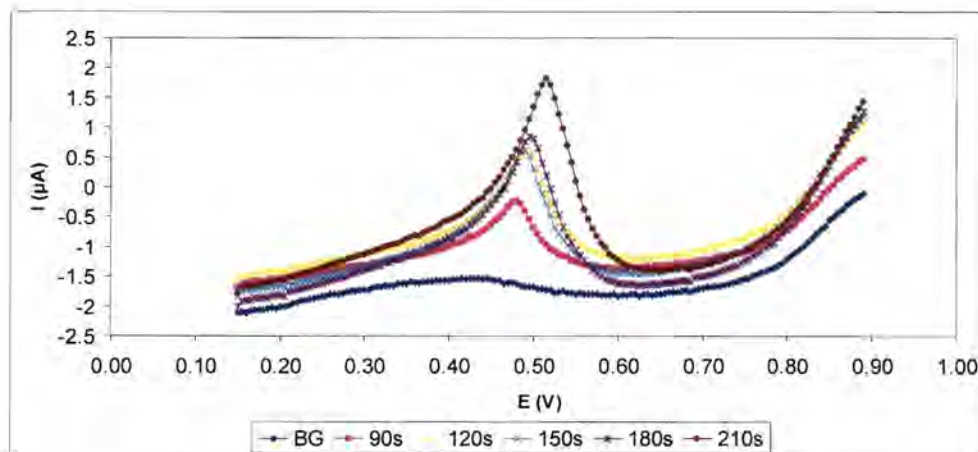
รูปที่ 28 ผลของอัตราการไหลของสารละลายต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้

จากการทดลองพบว่า อัตราการไหล 15  $\mu\text{L/s}$  ให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าสูงที่สุด แม้ว่าที่อัตราการไหล 25  $\mu\text{L/s}$  จะให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าค่อนข้างสูง แต่ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้มีค่ามาก นอกจากนี้ การใช้อัตราการไหลสูงยังทำให้ต้องใช้สารละลายตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้อัตราการไหลของสารละลายเป็น 15  $\mu\text{L/s}$  เพื่อให้การวิเคราะห์ปรอทมีประสิทธิภาพ (sensitivity) และความเที่ยง (precision) สูง

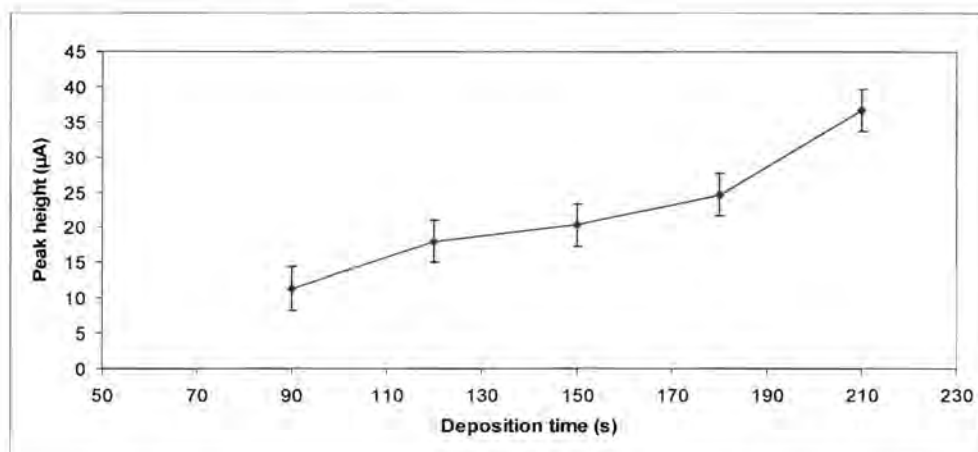
#### 2.4.7 การระยะเวลาการเกาะติดที่เหมาะสม

ทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทในสารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M ด้วยเทคนิคซีควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทองที่เตรียมโดยใช้สารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ปริมาตร 900  $\mu\text{L}$  อัตราการไหล 15  $\mu\text{L/s}$  ที่ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด -0.5 V โดยใช้ระยะเวลาในการเกาะติด (deposition time) ทองและปรอท ต่างๆ คือ 90, 120, 150, 180 และ 210 วินาที ตามลำดับ ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 29 และกราฟแสดงความสัมพันธ์ของระยะเวลาการเกาะติดกับสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เป็นดังรูปที่ 30





รูปที่ 29 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M เมื่อใช้ระยะเวลาในการเกาะติดต่างๆ (ใช้สารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ปริมาตร 900  $\mu\text{L}$  อัตราการไหล 15  $\mu\text{L/s}$  ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด -0.5 V)



รูปที่ 30 ผลของระยะเวลาการเกาะติดต่อค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้

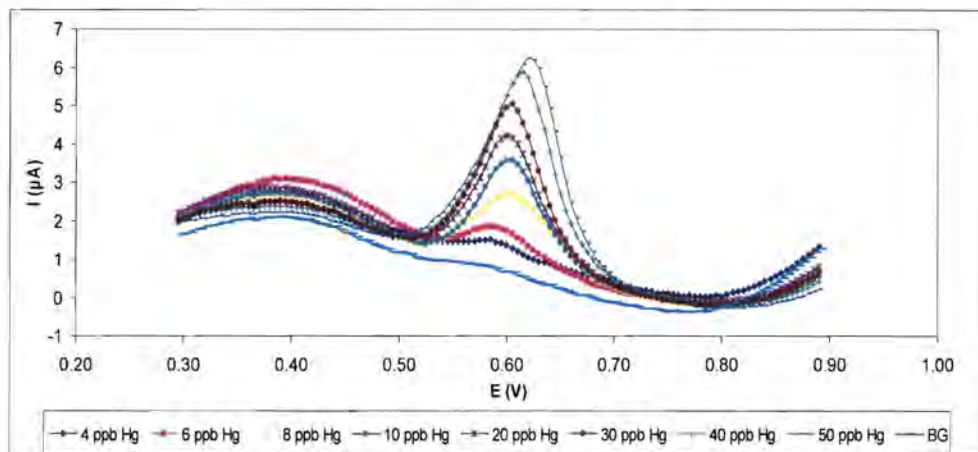
จากการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการเกาะติดจาก 90 - 210 วินาที สัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เพิ่มขึ้นตามลำดับ ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ระยะเวลาในการเกาะติด 180 วินาที เพื่อให้การวิเคราะห์ปรอทมีประสิทธิภาพไวสูงและทำได้อย่างรวดเร็ว

## 2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

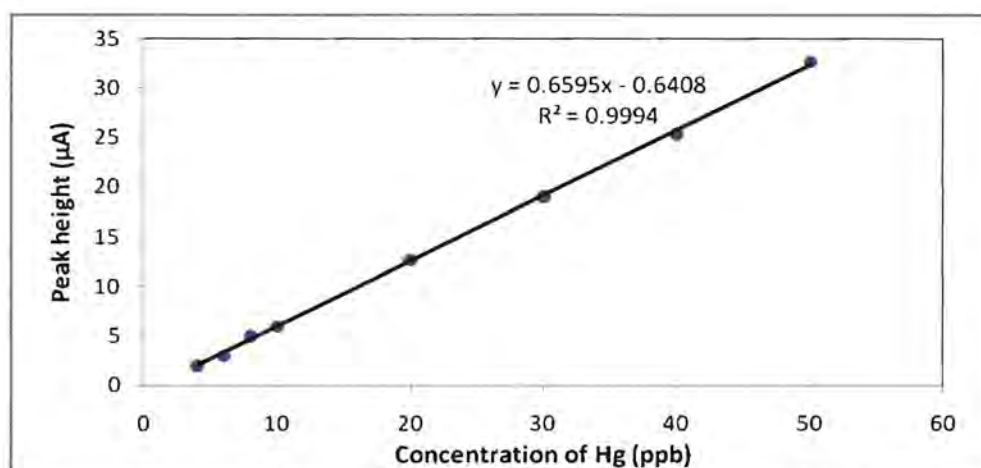
### 2.5.1 การสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) และหาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear range)

ทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทในสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้นต่างๆ กันในสารละลายกรดไนตริก 1 M ด้วยเทคนิคซีเควินเซลล์อินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทองที่เตรียมโดยใช้สารละลายมาตรฐานทอง 3 ppm ปริมาตร 900  $\mu\text{L}$  อัตราการไหล 15  $\mu\text{L/s}$  ที่ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด -0.5 V ระยะเวลาในการเกาะติดทอง

และปรอท 180 วินาที ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 31 และกราฟเทียบมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปรอทกับสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่วัดได้เป็นดังรูปที่ 32



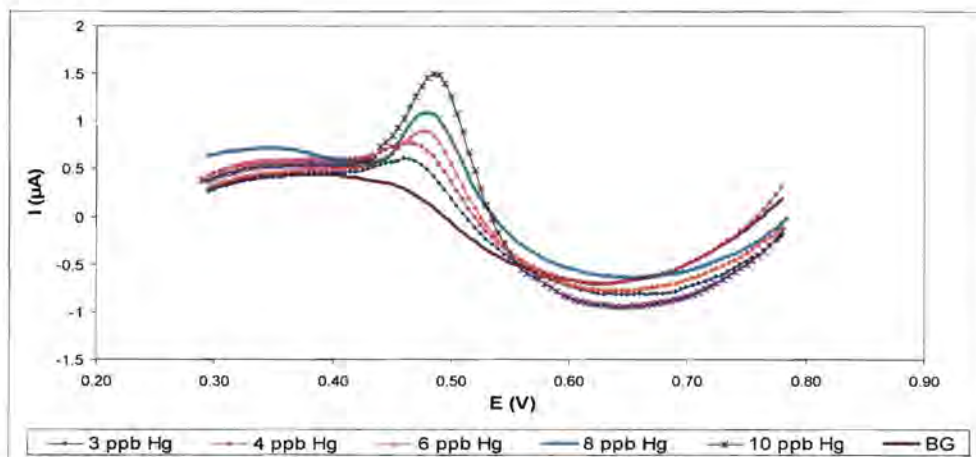
รูปที่ 31 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทเข้มข้น 4 – 50 ppb ที่ภาวะการทดลองที่เหมาะสม



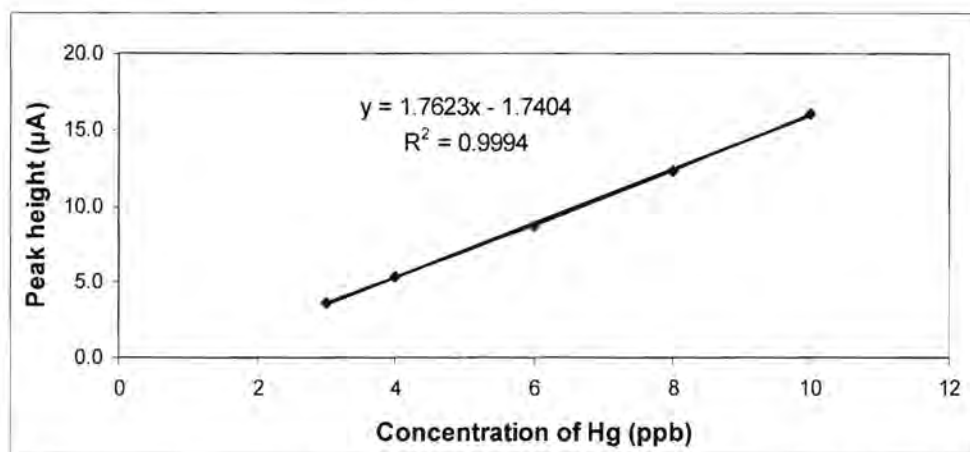
รูปที่ 32 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในช่วงความเข้มข้น 4 – 50 ppb

เมื่อพิจารณากราฟเทียบมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณปรอท พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรง (linear range) ในช่วงความเข้มข้น 4 – 50 ppb ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9994 และความชันของกราฟเส้นตรงมีค่าเป็น 0.6595  $\mu\text{A/ppb}$

นอกจากนี้ ได้ทดลองเพิ่มระยะเวลาการเกาะติดจาก 180 วินาที เป็น 300 วินาที เพื่อเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ โดยทดลองหากราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทที่ภาวะการทดลองที่เหมาะสม แต่ใช้ระยะเวลาการเกาะติดเป็น 300 วินาที ได้ผลดังรูปที่ 33 และกราฟเทียบมาตรฐานที่ได้แสดงในรูปที่ 34



รูปที่ 33 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทเข้มข้น 3 – 10 ppb ที่ภาวะการทดลองที่เหมาะสม โดยใช้ระยะเวลาการเกาะติด 300 วินาที



รูปที่ 34 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในช่วงความเข้มข้น 3 – 10 ppb

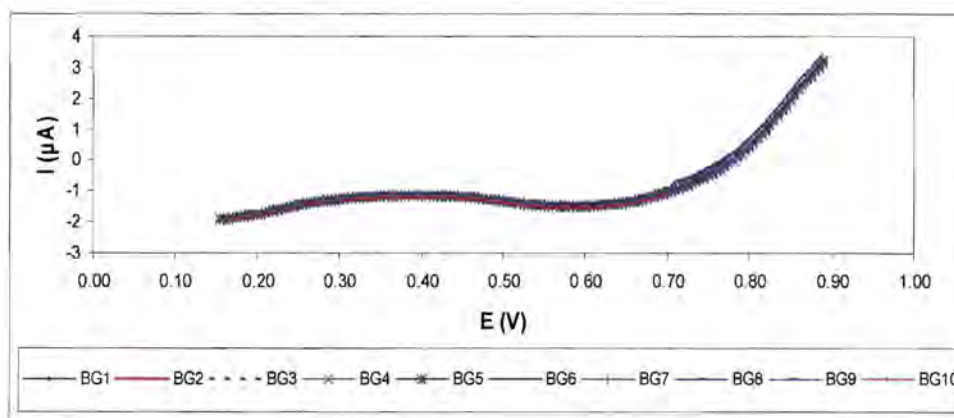
จากผลการทดลองเพิ่มระยะเวลาการเกาะติดเป็น 300 วินาที ทำให้สามารถตรวจวัดสัญญาณกระแสไฟฟ้าได้จนถึงความเข้มข้น 3 ppb กราฟเทียบมาตรฐานที่ได้เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 3 – 10 ppb มีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9994 และความชันของกราฟเส้นตรงมีค่าเป็น 1.7623  $\mu\text{A/ppb}$

### 2.5.2 การหาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

งานวิจัยนี้ได้ทดลองหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 2 วิธี วิธีแรกหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดได้จากการตรวจวัดปรอทที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ให้สัญญาณของโลหะ โดยการลดความเข้มข้นของโลหะปรอทลงเรื่อยๆ จนกระทั่งเครื่องมือไม่สามารถทำการตรวจวัดได้ พบว่าสามารถตรวจวัดปรอทได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 4 ppb

วิธีที่สอง หาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดจากความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปรอทที่ให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าเป็น 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) ของสัญญาณกระแสไฟฟ้าของแบล็ก โดยวิเคราะห์แบล็กด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจ็คชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี ที่ภาวะเหมาะสมซ้ำ 10 ครั้ง โวลแทมโมแกรมที่ได้แสดงในรูปที่ 35 วัดค่ากระแสไฟฟ้าที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าของฟีกปรอท และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ได้ผลดังตารางที่ 3





รูปที่ 35 โวลแทมโมแกรมของแบล่งก์จากการตรวจวัดซ้ำ 10 ครั้ง

### ตารางที่ 3 ผลการวัดสัญญาณที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าของฟีกปรอท

ครั้งที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
กระแสไฟฟ้า (µA)	-1.388	-1.386	-1.374	-1.379	-1.365	-1.328	-1.394	-1.396	-1.397	-1.408
SD	0.023									
3SD	0.069									
10SD	0.226									

นำค่าสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณได้ (หน่วยเป็นไมโครแอมแปร์) มาเทียบเป็นค่าความเข้มข้นด้วยสมการของกราฟเทียบมาตรฐาน (รูปที่ 2.18) พบว่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดปรอทของวิธีวิเคราะห์นี้เป็น 0.84 ppb

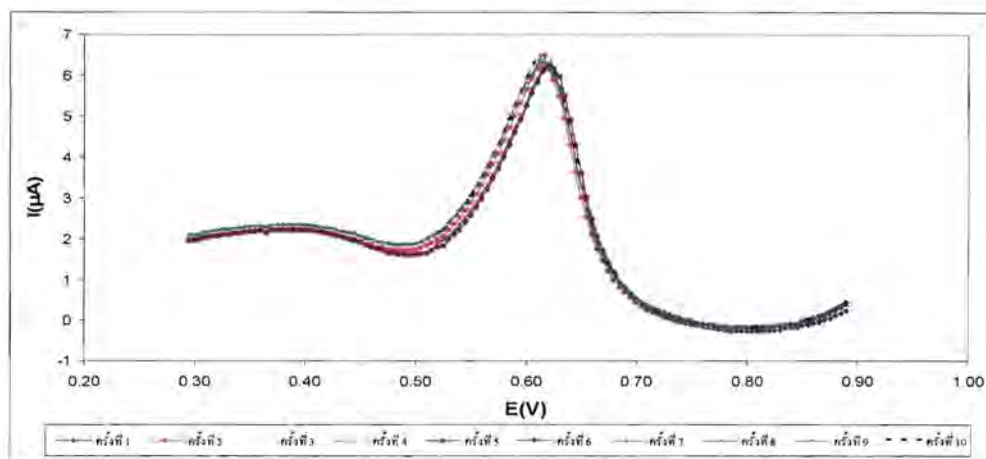
#### 2.5.3 การหาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of Quantitative, LOQ)

ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณหาได้จากความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปรอทที่ให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าเป็นสิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบล่งก์ โดยการตรวจวัดแบล่งก์ด้วยเทคนิคซีควีนเซียลอินเจกชัน/แอนดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรีที่ภาวะเหมาะสมซ้ำ 10 ครั้ง วัดค่ากระแสไฟฟ้าที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าของฟีกปรอท และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน นำค่า 10 ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณได้ (หน่วยเป็นไมโครแอมแปร์) มาเทียบเป็นค่าความเข้มข้นด้วยสมการของกราฟเทียบมาตรฐาน (รูปที่ 32) พบว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยวิธีวิเคราะห์นี้เป็น 1.08 ppb

#### 2.5.4 การหาความเที่ยงของการวิเคราะห์ (Reproducibility)

ทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณปรอทในสารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ในสารละลายกรดไนตริก 1 M ด้วยเทคนิคซีควีนเซียลอินเจกชัน/แอนดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทองที่ภาวะเหมาะสมซ้ำ 10 ครั้ง โวลแทมโมแกรมที่ได้แสดงในรูปที่ 36 วัดความสูงของฟีก แล้วคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) ของสัญญาณกระแสไฟฟ้า ได้ผลดังตารางที่ 4





รูปที่ 36 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ซ้ำ 10 ครั้ง

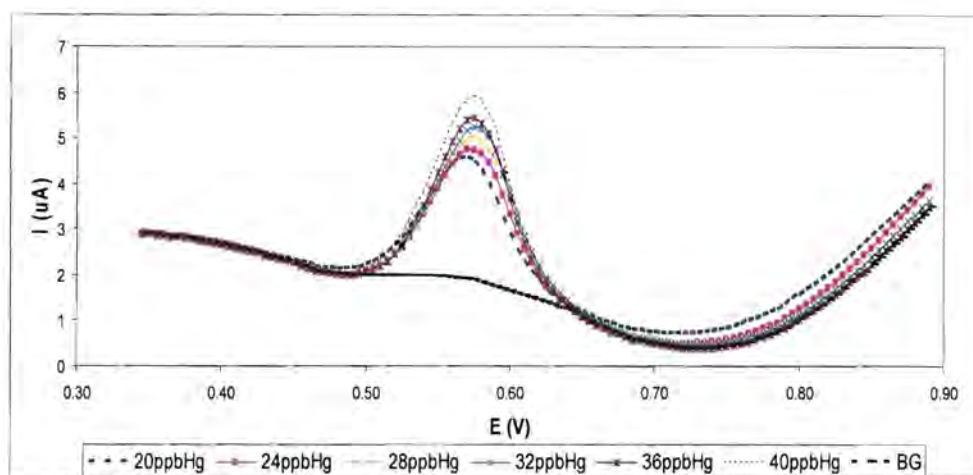
ตารางที่ 4 ความสูงของพีคปรอทจากโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 50 ppb ซ้ำ 10 ครั้ง

ครั้งที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ความสูงของพีค ( $\mu\text{A}$ )	55.0	56.0	57.0	56.0	55.0	56.0	55.0	55.0	56.0	56.0
RSD (%)	1.2									

จากการทดลองพบว่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสัญญาณกระแสไฟฟ้าของปรอทที่ตรวจวัดซ้ำ 10 ครั้ง มีค่า 1.2 % แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเที่ยงสูง สามารถนำไปประยุกต์ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงได้

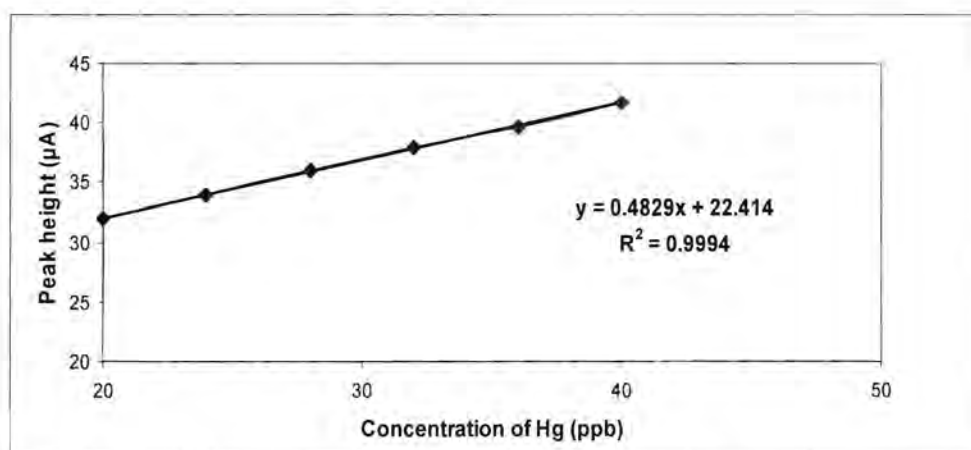
## 2.6 การวิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม

ในงานวิจัยนี้ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่มด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition method) คือเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยเติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนลงในน้ำดื่มตัวอย่าง ทำให้สารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นของปรอทที่เติมเป็น 20, 24, 28, 32, 36 และ 40 ppb เมื่อนำไปวิเคราะห์ได้โวลแทมโมแกรมดังรูปที่ 37



รูปที่ 37 โวลแทมโมแกรมจากการวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างน้ำดื่มด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition method)

เมื่อวัดความสูงของพีคจากโวลแทมโมแกรมและเขียนกราฟการเติมสารมาตรฐาน (standard addition curve) ของปรอทได้ดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 38 กราฟการเติมสารมาตรฐานปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม (standard addition curve)

กราฟการเติมสารมาตรฐานปรอทที่ได้เป็นเส้นตรง มีค่า  $R^2$  เป็น 0.9994 เมื่อนำความสูงของพีคเฉลี่ยแทนค่าในสมการเส้นตรง จะได้ค่าความเข้มข้นของปรอทในสารละลาย และคำนวณหาการได้กลับคืน (recovery) ได้ 99.25 – 100.9 % (ตารางที่ 5) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) 0 – 1.4 % แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ปรอทที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างจริงได้โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงสูง

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นของปรอทที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างน้ำดื่มที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอท

ขวดที่	ความเข้มข้นปรอทที่เติม (ppb)	ความเข้มข้นปรอทที่ วิเคราะห์ได้ (ppb)	%recovery	%RSD
1	ND	-	-	-
2	20	19.85	99.25	0.0
3	24	23.99	99.96	0.0
4	28	28.13	100.5	0.0
5	32	32.28	100.9	0.0
6	36	35.80	99.44	1.5
7	40	39.94	99.85	1.4

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปรอทในปริมาณน้อยมากด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโติกสทริปปิงโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทอง แผนภาพของระบบที่ใช้แสดงในรูปที่ 2.1 จากการทดลองหาภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 6 ภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปรอทปริมาณด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโติกสทริปปิงโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนฟิล์มทอง

ภาวะที่ศึกษา	ภาวะที่เหมาะสมที่สุด
1. ชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์	HNO <sub>3</sub>
2. ความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์	1 M
3. ศักย์ไฟฟ้าสำหรับการเกาะติด	-0.5 V
4. ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานทอง	900 µL
5. ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานทอง	3 ppm
6. อัตราการไหลของสารละลาย	15 µL/s
7. ระยะเวลาการเกาะติดทองและปรอท	180 s

สรุปลำดับขั้น (step sequence) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโติกสทริปปิงโวลแทมเมตรี ได้ดังตารางที่ 2.1 จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ที่ภาวะการทดลองที่เหมาะสม พบว่าให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของปรอทกับสัญญาณกระแสไฟฟ้า ในช่วงความเข้มข้น 4 – 50 ppb โดยขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (S/N = 3) มีค่าเป็น 0.84 ppb ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (S/N = 10) เท่ากับ 1.08 ppb และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสัญญาณกระแสไฟฟ้าจากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานปรอทเข้มข้น 50 ppb (n = 10) มีค่าร้อยละ 1.2 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีสภาพไวสูง ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณต่ำ และมีความเที่ยงสูง นอกจากนี้ ถ้าเพิ่มระยะเวลาการเกาะติดเป็น 300 วินาที จะให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของปรอทกับสัญญาณกระแสไฟฟ้า ในช่วงความเข้มข้น 3 – 10 ppb

วิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอทที่พัฒนาขึ้นสามารถประยุกต์ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่มด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition method) โดยมีการได้กลับคืนในช่วง 99.25 – 100.9% และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 0 – 1.4 % แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ปรอทที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่มได้โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงสูง

### ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

1. ปรับปรุงให้สามารถวิเคราะห์ปรอทได้ในระดับต่ำกว่า 1 ppb โดยการปรับเปลี่ยนพารามิเตอร์อื่นๆ ให้มีความเหมาะสมในการตรวจวัดมากขึ้น เช่น แอมพลิจูด (amplitude) ศักย์ไฟฟ้าในแต่ละขั้น (step potential) ความถี่ (frequency)

2. ในการวิเคราะห์ปรอทปริมาณน้อยมาก เพื่อให้ได้ผลของสัญญาณของการตรวจวัดที่ดี อาจต้องมีวิธีเพิ่มความเข้มข้นของปรอทก่อนที่จะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคซีเควินเซียลอินเจกชัน/แอนโอดิกสทริปปิงโวลแทมเมตรี หรือการปรับระยะเวลาการเกาะติด การปรับปริมาตรของสารละลายที่ทำการวิเคราะห์มากขึ้น

3. ดัดแปรขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนเพื่อให้มีสภาพไวในการตรวจวัดมากขึ้น เช่น การผสมสารบางชนิดลงในหมึกคาร์บอน

4. ประยุกต์วิธีที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์ตัวอย่างชนิดอื่น เช่น อาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง ฯลฯ

### บรรณานุกรม (Bibliography)

1. Tesarova, E.; Baldrianova, L.; Hocevar, S. B.; Svancara, I.; Vytras, K.; Ogorevc, B. Anodic stripping voltammetric measurement of trace heavy metals at antimony film carbon paste electrode. *Electrochim. Acta.* 2009, 54, 1506-1510
2. Hu, X.; Wang, Y.; Liu, Z.; Cao, J.; Wang, F.; Xu, Q.; Yang, C. On-line coupling of sequential injection lab-on-valve to differential pulse anodic stripping voltammetry for determination of Pb in water samples. *Talanta.* 2009, 77, 1203-1207.
3. Okcu, F.; Ertas, H.; Ertas, F. N. Determination of mercury in table salt samples by on-line medium exchange anodic stripping voltammetry. *Talanta.* 2008, 75, 442-446.
4. Abollino, O.; Giacomono, A.; Malandrino, M.; Mentasti, E. Parameters affecting the determination of mercury by anodic stripping voltammetry using a gold electrode. *Talanta.* 2008, 75, 266-273.
5. Jin, L.; Xian, Y.; Shi, G.; Xing, S.; Zeng, L.; Xu, H. Microwave-radiated synthesis of gold nanoparticles/carbon nanotubes composites and its application to voltammetric detection of trace mercury(II). *Electrochem. Commun.* 2008, 10, 1839-1843.
6. Korolczuk, M.; Rutyna, I. New methodology for anodic stripping voltammetric determination of methylmercury. *Electrochem. Commun.* 2008, 10, 1024-1026.
7. Compton, R. G.; Ward Jones, S. E. W.; Zheng, S. H.; Jeffrey, C. A.; Seretis, S.; Morin, S. Stripping voltammetry of bismuth at Au(111): Mathematical modelling and numerical simulation. *J. Electroanal. Chem.* 2008, 616, 38-44.
8. Kang, S. G.; Hwang, G. H.; Han, W. K.; Park, J. S. Determination of trace metals by anodic stripping voltammetry using a bismuth-modified carbon nanotube electrode. *Talanta.* 2008, 76, 301-308.
9. Xu, H.; Zeng, L.; Huang, D.; Xian, Y.; Jin, L. A Nafion-coated bismuth film electrode for the determination of heavy metals in vegetable using differential pulse anodic stripping voltammetry: An alternative to mercury-based electrodes. *Food Chem.* 2008, 109, 834-839.



10. Svegl, I. G.; Bele, M.; Ogorevc, B. Carbon black nanoparticles film electrode prepared by using substrate-induced deposition approach. *Anal. Chim. Acta.* 2008, 628, 173-180.
11. Kadar, M.; Torma, F.; Tatar, A.; Toth, K. Nafion/2,2 bipyridyl-modified bismuth film electrode for anodic stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta.* 2008, 619, 173-182.
12. Economou, A.; Voulgaropoulos, A. Online stripping voltammetry of trace metals at a flow-through bismuth-film electrode by means of a hybrid flow-injection/sequential-injection system. *Talanta.* 2008, 71, 758-765.
13. Arcos Martinez, M. J.; Alonso-Lomillo, M. A.; Renedo, D. O. Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications. *Talanta.* 2007, 73, 202-219.
14. Economou, A.; Kefala, G. Polymer-coated bismuth film electrodes for the determination of trace metals by sequential-injection analysis/anodic stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta.* 2006, 576, 283-289.
15. Liawruangrath, S.; Masawat, P.; Slater, J. M. Flow injection measurement of lead using mercury-free disposable gold-sputtered screen-printed carbon electrodes (SPCE). *Sens. Actuator B.* 2003, 91, 52-59.



### โครงการวิจัยที่ 3

การพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าสำหรับการประยุกต์ใช้ในเชิงวิเคราะห์

**Development of Electrochemical Catalysts for Analytical Application)**

#### โครงการวิจัย

การพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าสำหรับการประยุกต์ใช้ในเชิงวิเคราะห์  
(Development of Electrochemical Catalysts for Analytical Application)

#### ชุดโครงการวิจัย

นวัตกรรมในระบบการตรวจวิเคราะห์เชิงเคมีไฟฟ้าและ/หรือเชิงแสง  
(Innovations in Electrochemical and/or Optical Analytical System)

โดย

ดร. ปาริฉัตร วนลาภพัฒนา

นางสาวนภาพร วรรณภาพรม

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาขั้วไฟฟ้าดัดแปรด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบแมโครไซคลิกที่เกิดจากกระบวนการอิเล็กโทรพอลิเมอไรเซชันสำหรับการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของแอลดีไฮด์ แต่ผลการทดลองโดยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีแสดงให้เห็นว่า ขั้วไฟฟ้างกล่าวไม่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของแอลดีไฮด์ ซึ่งได้ทดลองในเบื้องต้นตามข้อมูลการสืบค้นเพิ่มเติมพบว่าตัวทำละลายและภาวะของการทดลองอื่นๆ ส่งผลต่อคุณสมบัติการเร่งปฏิกิริยาของฟิล์มสารประกอบแมโครไซคลิก ดังนั้น จะดำเนินการหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมฟิล์มและการออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของแอลดีไฮด์ต่อไป

### Abstract

This research has successfully developed the electrodes modified with electropolymerized macrocyclic complex-based films. Unfortunately, cyclic voltammetric results demonstrated that the electrodes modified with macrocyclic complex-based films did not respond to aldehyde electrooxidation. Supported by additional literature reviews, preliminary work revealed that solvent and other conditions can affect the electrocatalytic properties of macrocyclic complex-based films. Hence, optimizing the conditions for preparing the films as well as conditions for the electrooxidation of aldehydes will be further investigated.

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

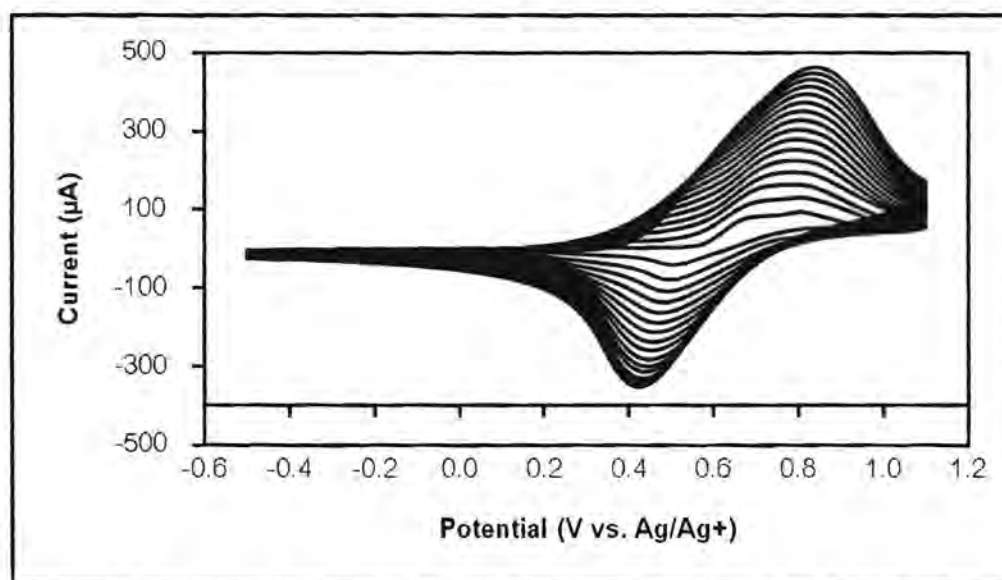
ปัจจุบันมีสารอินทรีย์ขนาดเล็กที่เป็นองค์ประกอบและที่เป็นพิษ เช่น แอลกอฮอล์ และแอลดีไฮด์ เป็นต้น ปนเปื้อนและ/หรือตกค้างในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นอาหาร เครื่องดื่ม หรือเครื่องสำอาง ทำให้การตรวจวัดสารอินทรีย์นี้มีความสำคัญอย่างยิ่ง การตรวจวัดสารอินทรีย์ดังกล่าวมักใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี ซึ่งต้องใช้เครื่องมือขนาดใหญ่ ราคาแพง และมีขั้นตอนการวิเคราะห์ยุ่งยาก ดังนั้นจึงได้มีการวิจัยต่างๆ พยายามพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารอินทรีย์ขนาดเล็กด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าขึ้น เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่แม่นยำ รวดเร็ว ประหยัด และใช้เครื่องมือขนาดเล็ก อย่างไรก็ตาม การตรวจวัดสารอินทรีย์ด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้านั้นมักถูกจำกัดด้วยการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นได้ช้าบนขั้วไฟฟ้าเปล่าและปัญหาการเกิด electrode fouling ที่ผิวหน้าขั้ว<sup>1</sup> ซึ่งในรายงานก่อนหน้านี้อาจได้แสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าที่มีดัดแปรด้วยสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิก เช่น cyclam porphyrin เป็นต้น สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอินทรีย์ชนิดต่างๆได้ จากการศึกษเบื้องต้นพบว่า ขั้วที่ดัดแปรด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์และแอลดีไฮด์ แต่ยังมีรายงานน้อยมากเกี่ยวกับการใช้ขั้วไฟฟ้าดัดแปรกลุ่มนี้กับแอลดีไฮด์ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของแอลดีไฮด์โดยฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิก เพื่อประโยชน์ด้านการวิเคราะห์ก่อนที่จะศึกษาฟิล์มประเภทนี้กับสารอินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ต่อไป

## การทดลอง

## 2.1 การเตรียมฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิก

นำขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (glassy carbon หรือ GC) มาสแกนในสารละลายของสารประกอบแมโครไซคลิกโดยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry หรือ CV) เพื่อให้เกิดฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกบนขั้ว GC

รูปที่ 1 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการเกิดพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกผ่านกระบวนการอิเล็กโทรพอลิเมอไรเซชัน (electropolymerization) พบว่าตรวจวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากกระบวนการดังกล่าวได้ ซึ่งกระแสไฟฟ้าจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบการสแกนเพิ่มขึ้น แสดงถึงการเกิดฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกบนขั้วไฟฟ้า GC



รูปที่ 39 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการเกิดฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกบนขั้ว GC

## 2.2 การเกิดออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของแอลดีไฮด์ชนิดต่าง ๆ

เมื่อนำขั้วไฟฟ้า GC ที่ตัดแปรด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกมาทดสอบประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอินทรีย์ขนาดเล็ก เช่น เบนซัลดีไฮด์ (benzaldehyde) และ เฟอร์ลดีไฮด์ (furaldehyde) เป็นต้น โดยเทคนิค CV พบว่า ขั้วไฟฟ้า GC ที่ตัดแปรฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกยังขาดประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลดีไฮด์ดังกล่าว

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สามารถสร้างฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิกบนขั้วไฟฟ้า GC ผ่านกระบวนการอิเล็กโทรพอลิเมอร์ไรเซชัน แต่ฟิล์มดัดแปรนี้ไม่มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของสารอินทรีย์ขนาดเล็กประเภทแอลดีไฮด์ได้ ซึ่งอาจเกิดจากลักษณะของฟิล์มและภาวะในการเร่งปฏิกิริยาที่ไม่เหมาะสม

### ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับ

- (1) ภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมฟิล์มพอลิเมอร์บนขั้วไฟฟ้าเพื่อการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของสารอินทรีย์ขนาดเล็ก
- (2) ภาวะที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอินทรีย์ขนาดเล็กโดยขั้วไฟฟ้าดัดแปรด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิก

พบว่า ภาวะในการเตรียมฟิล์มและภาวะการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอินทรีย์ขนาดเล็ก เช่น ชนิดของสารประกอบแมโครไซคลิก ตัวทำละลาย เป็นต้น ส่งผลสำคัญต่อประสิทธิภาพการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอินทรีย์ขนาดเล็ก ดังนั้น งานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมต่อการเตรียมฟิล์มของสารประกอบแมโครไซคลิกที่ตอบสนองต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของแอลดีไฮด์

จากการศึกษาเบื้องต้นเรื่องผลของตัวทำละลายต่อการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของแอลดีไฮด์ พบว่าเมื่อเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายในการสร้างฟิล์มพอลิเมอร์ของสารประกอบเชิงซ้อนแมโครไซคลิก ฟิล์มที่สร้างในตัวทำละลายบางชนิดมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของแอลดีไฮด์ได้ ทำให้งานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเชิงไฟฟ้าของแอลดีไฮด์ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณในตัวทำละลายดังกล่าวต่อไป

### บรรณานุกรม (Bibliography)

1. J. Manriquez, J. L. Bravo, S. Gutierrez-Granados, S. Sucar Succar, C. Bied-Charreton, A. Alatorre Ordaz, F. Bedioui, *Anal. Chim. Acta*, **378** (1999) 159.



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อหัวหน้าโครงการ

(ภาษาไทย) ดร.อรวรรณ ชัยลภากุล ตำแหน่งทางวิชาการ รองศาสตราจารย์

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Orawan Chailapakul

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 02-218-7615

ที่อยู่ปัจจุบัน 254 ถนนพญาไท แขวงพญาไท เขตปทุมวัน จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10330

โทรศัพท์ 081-6449734

## ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
Ph.D.	Analytical Chemistry	The university of New Mexico, USA	2537
วท.ม.	เคมีวิเคราะห์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2528
วท.บ.	เคมี	มหาวิทยาลัยมหิดล	2524

## ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง 3 ปี

1. Dungchai, W., **Chailapakul, O.**, and Henry, C. S., "A low-cost, simple, and rapid fabrication method for paper-based microfluidics using wax screen-printing", *Analyst*, 2011, 136, 77-82.
2. Siangproh, W., Rattanarat, P., and **Chailapakul, O.**, "Reverse-phase liquid chromatographic determination of alpha-lipoic acid in dietary supplements using a boron-doped diamond electrode", *J. Chromatogr. A*, 2010, 1217, 7699-7705.
3. Pinwattana, K., Wang, J., Lin, C. T., Wu, H., Du, D., Lin, Y. H., and **Chailapakul, O.**, "CdSe/ZnS quantum dots based electrochemical immunoassay for the detection of phosphorylated bovine serum albumin " *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 26, 1109-1113.
4. Dungchai, W., **Chailapakul, O.**, and Henry, C. S., "Use of multiple colorimetric indicators for paper-based microfluidic devices", *Anal. Chim. Acta*, 2010, 674, 227-233.
5. Injang, U., Noyrod, P., Siangproh, W., Dungchai, W., Motomizu, S., and **Chailapakul, O.**, "Determination of trace heavy metals in herbs by sequential injection analysis-anodic stripping voltammetry using screen-printed carbon nanotubes electrodes", *Anal. Chim. Acta*, 2010, 668, 54-60.
6. Kukusamude, C., Santalad, A., Boonchiangma, S., Burakham, R., Srijaranai, S., **Chailapakul, O.**, "Mixed micelle-cloud point extraction for the analysis of penicillin residues in bovine milk by high performance liquid chromatography", *Talanta*, 2010, 81, 486-492.

7. Apilux, A., Dungchai, W., Siangproh, W., Praphairaksit, N., Henry, C. S., and **Chailapakul, O.**, "Lab-on-paper with Dual Electrochemical/Colorimetric Detection for Simultaneous Determination of Gold and Iron", *Anal. Chem.*, 2010, 82, 1727-1732.
8. Tantavichet, N., Damronglerd, S., and **Chailapakul, O.**, "Influence of the interaction between chloride and thiourea on copper electrodeposition", *Electrochim. Acta*, 2010, 55, 240-249.
9. Sangjarusvichai, H., Dungchai, W., Siangproh, W., and **Chailapakul, O.**, "Rapid separation and highly sensitive detection methodology for sulfonamides in shrimp using a monolithic column coupled with BDD amperometric detection", *Talanta*, 2010, 79, 1036-1041.
10. Laiwattanapaisal, W., Kunanuvat, U., Intharachuti, W., Chinvongamorn, C., Hannongbua, S., and **Chailapakul, O.**, "Simple sequential injection analysis system for rapid determination of microalbuminuria", *Talanta*, 2010, 79, 1104-1110.
11. Siangproh, W., Teshima, N., Sakai, T., Katoh, S., and **Chailapakul, O.**, "Alternative method for measurement of albumin/creatinine ratio using spectrophotometric Sequential Injection analysis", *Talanta*, 2010, 79, 1111-1117.
12. Dungchai, W., **Chailapakul, O.**, and Henry, C. S., "Electrochemical Detection for Paper-Based Microfluidics", *Anal. Chem.* 2010, 81, 5821-5826.
13. Laiwattanapaisal, W., Yakovleva, J., Bengtsson, M., Laurell, T., Wiyakrutta, S., Meevootisom, V., **Chailapakul, O.**, and Emneus, J., "On-chip microfluidic systems for determination of L-glutamate based on enzymatic recycling of substrate", *Biomicrofluidics*, 2009, 3, 014104.
14. Wonsawat, W., Kraiya, C., Chuanuwatanakul, S., **Chailapakul, O.**, and Motomizu, S., "Electrochemical Characterization of Carbon Electrode in  $\mu$ -Flow Sensor by On-Line Automated Flow System", *J. Flow Injection Anal.*, 2009, 26, 43-47.
15. Dungchai, W., Siangproh, W., Chaicumpa, W., Tongtawe, P., and **Chailapakul, O.**, "Salmonella typhi determination using voltammetric amplification of nanoparticles: A highly sensitive strategy for metalloimmunoassay based on a copper-enhanced gold label", *Talanta*, 2008, 77, 727-732.
16. Boonsong, K., Caulum, M. M., Dressen, B. M., **Chailapakul, O.**, Cropek, D. M., and Henry, C. S., "Influence of polymer structure on electroosmotic flow and separation efficiency in successive multiple ionic layer coatings for microchip electrophoresis", *Electrophoresis*, 2008, 29, 3128-3134.
17. Siriwattanarungsee, S., Sukontason, K. L., Olson, J. K., **Chailapakul, O.**, and Sukontason, K., "Efficacy of neem extract against the blowfly and housefly", *Parasitol Res*, 2008, 103, 535-544.

18. Preechaworapun, A., Dai, Z., Xiang, Y., **Chailapakul, O.**, and Wang, J., "Investigation of the enzyme hydrolysis products of the substrates of alkaline phosphatase in electrochemical immunosensing", *Talanta*, 2008, 76, 424-431.
19. Chuanuwatanakul, S., Duangchai, W., **Chailapakul, O.**, and Motomizu, S., "Determination of Trace Heavy Metals by Sequential Injection-Anodic Stripping Voltammetry Using Bismuth Film Screen-Printed Carbon Electrode", *Anal. Sci.*, 2008, 24, 589-594.
20. **Chailapakul, O.**, Wonsawat, W., Siangproh, W., Grudpan, G., Zhao, Y., and Zhu, Z., "Analysis of Sudan I, Sudan II, Sudan III, and Sudan IV in Food by HPLC with Electrochemical Detection: Comparison of Glassy Carbon Electrode with Carbon Nanotube-Ionic Liquid Gel Modified Electrode", *Food Chem.*, 2008, 109, 876-882.
21. Chuanuwatanakul, S., **Chailapakul, O.**, and Motomizu, S., "Electrochemical Analysis of Chloramphenicol Using Boron-Doped Diamond Electrode Applied to a Flow-Injection System", *Anal. Sci.*, 2008, 24, 493-498.
22. Chinwongamorn, C., Pinwattana, K., Praphairaksit, N., Imato, T., and **Chailapakul, O.**, "Amperometric determination of sulfite by gas diffusion-sequential injection with boron-doped diamond electrode", *Sensors*, 8, 2008, 1846-1857.
23. Preechaworapun, A., Ivandini, T. A., Suzuki, A., Fujishima, A., **Chailapakul, O.**, and Einaga, Y., "Development of Amperometric Immunosensor Using Boron-Doped Diamond with Poly(*o*-aminobenzoic acid)", *Anal. Chem.*, 2008, 80, 2077-2083.
24. **Chailapakul, O.**, Korsrisakul, S., Siangproh, W., and Grudpan, K., "Fast and simultaneous detection of heavy metals using a simple and reliable microchip-electrochemistry route: An alternative approach to food analysis", *Talanta*, 2008, 74, 683-689.
25. Chuanuwatanakul, S., Punrat, E., Panchompoo, J., **Chailapakul, O.**, and Motomizu, S., "On-line Preconcentration and Determination of Trace Heavy Metals by Sequential Injection-Anodic Stripping Voltammetry Using Bismuth Film Screen-printed Carbon Electrode", *J. Flow Injection Anal.*, 2008, 25, 49-52.

#### สัดส่วนเวลาของภาระงานทั้งหมด (คิดเป็นร้อยละ)

- |                           |     |
|---------------------------|-----|
| 1. งานการเรียนการสอน      | 50% |
| 2. งานวิจัย               | 30% |
| 3. งานบริหาร              | 5%  |
| 4. งานกิจการนิสิต         | 5%  |
| 5. อื่น ๆ (บริการวิชาการ) | 10% |

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อผู้ร่วมในหน่วยฯ  
(ภาษาไทย) ดร.สุชาดา จุณวัฒน์กุล ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วย  
ศาสตราจารย์

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Suchada Chuanuwatanakul  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 02-218-7614  
ที่อยู่ปัจจุบัน 610 ซอยปรีดี พนมยงค์ 42 ถนนสุขุมวิท 71 เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110 โทรศัพท์ 02-713-0817

## ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
Ph.D.	Analytical Chemistry	Okayama University, Japan	2550
วท.ม.	เคมีวิเคราะห์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2524
วท.บ.	เคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2521

## ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง 3 ปี

1. Wonsawat, W., Kraiya, C., **Chuanuwatanakul, S.**, Chailapakul, O., and Motomizu, S., "Electrochemical Characterization of Carbon Electrode in  $\mu$ -Flow Sensor by On-Line Automated Flow System", *J. Flow Injection Anal.*, 2009, 26, 43–47.
2. Chuanuwatanakul, S., Duangchai, W., **Chailapakul, O.**, and Motomizu, S., "Determination of Trace Heavy Metals by Sequential Injection-Anodic Stripping Voltammetry Using Bismuth Film Screen-Printed Carbon Electrode", *Anal. Sci.*, 2008, 24, 589–594.
3. Chuanuwatanakul, S., **Chailapakul, O.**, and Motomizu, S., "Electrochemical Analysis of Chloramphenicol Using Boron-Doped Diamond Electrode Applied to a Flow-Injection System", *Anal. Sci.*, 2008, 24, 493–498.
4. Chuanuwatanakul, S., Punrat, E., Panchompoo, J., **Chailapakul, O.**, and Motomizu, S., "On-line Preconcentration and Determination of Trace Heavy Metals by Sequential Injection-Anodic Stripping Voltammetry Using Bismuth Film Screen-printed Carbon Electrode", *J. Flow Injection Anal.*, 2008, 25, 49–52.

## สัดส่วนเวลาของภาระงานทั้งหมด (คิดเป็นร้อยละ)

- |                              |      |
|------------------------------|------|
| 1. งานการเรียนการสอน         | 50 % |
| 2. งานวิจัย                  | 20 % |
| 3. งานบริหาร                 | 10 % |
| 4. งานกิจการนิสิต            | 10 % |
| 5. อื่น ๆ (งานบริการวิชาการ) | 10 % |

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อผู้ร่วมในหน่วยฯ

(ภาษาไทย) ดร. ปาริฉัตร วนลาภพัฒนา ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Parichatr Vanalabhpata

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2187-7596

ที่อยู่ปัจจุบัน 3 สวนแหลมทอง ซ. 1 ถ. พัฒนาการ 28 สวนหลวง กรุงเทพฯ 10250

## ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
วท.บ.	เคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2541
Ph.D.	Analytical Chemistry	Indiana University, USA	2548

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ย้อนหลัง ๓ ปี (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่ตีพิมพ์)

1. Shin, T. H., **Vanalabhpata, P.**, and Ishihara, T., "Oxide Composite of Ce(Mn,Fe)O<sub>2</sub> and La(Sr)Fe(Mn)O<sub>3</sub> for Anode of Intermediate Temperature Solid Oxide Fuel Cells Using LaGaO<sub>3</sub> Electrolyte" *J. Electrochem. Soc.*, 2010, 157, B1896–B1901.
2. Ishihara, T., Shin, T. H., **Vanalabhpata, P.**, Yonemoto, K., and Matsuka, M., "Ce<sub>0.6</sub>(Mn<sub>0.3</sub>Fe<sub>0.1</sub>)O<sub>2</sub> as an Oxidation-Tolerant Ceramic Anode for SOFCs Using LaGaO<sub>3</sub>-Based Oxide Electrolyte" *Electrochem. Solid-State Lett.*, 2010, 13, 95–97.
3. Ishihara, T., Shin, T. H., and **Vanalabhpata, P.**, "Composite Anode of Ce<sub>0.6</sub>Mn<sub>0.3</sub>Fe<sub>0.1</sub>O<sub>2</sub> and La<sub>0.6</sub>Sr<sub>0.4</sub>Fe<sub>0.9</sub>Mn<sub>0.1</sub>O<sub>3</sub> for Oxidation Tolerant SOFC," *ECS Trans.*, 2009, 25, 2223–2230.
4. Cheerapradit, R., Chailapakul, O., and **Vanalabhpata, P.**, "Electro-oxidation of Methanol by Multi-metal Catalysts Supported on Carbon Nanotubes," *ECS Trans.*, 2009, 19, 71–78.

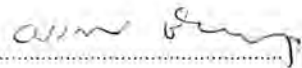
สัดส่วนเวลาของภาระงานทั้งหมด (คิดเป็นร้อยละ)

- |                           |     |
|---------------------------|-----|
| 1. งานการเรียนการสอน      | 40% |
| 2. งานวิจัย               | 30% |
| 3. งานบริหาร              | 10% |
| 4. งานกิจการนิสิต         | 10% |
| 5. อื่น ๆ (บริการวิชาการ) | 10% |

## รายงานการรับ-จ่ายเงิน

รายได้	ประมาณการ	งบที่เกิดขึ้นจริง
เงินอุดหนุนงบประมาณรายได้	220,000.00	220,000.00
รวมรายได้		
รายจ่าย (บาท)		
หมวดค่าจ้างชั่วคราว		
-	0.00	0.00
หมวดค่าตอบแทน		
-	0.00	0.00
หมวดค่าใช้สอย		
-	80,000.00	44,562.75
หมวดค่าวัสดุ		
-	140,000.00	175,437.25
หมวดค่าครุภัณฑ์ (ถ้ามี)		
-	0.00	0.00
รวมรายจ่าย	220,000.00	220,000.00
รายรับสูงกว่ารายจ่าย นำส่งส่วนกลางคลังจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (เอกสารแนบ)		0.00
ดอกเบีย (ถ้ามี)		0.00
รวมจำนวนเงินที่นำส่งส่วนการคลังทั้งสิ้น		0.00

ขอรับรองว่ารายงานการรับ-จ่ายเงินข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ



(รองศาสตราจารย์ ดร.อรรรณ ชัยลภากุล)

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

31 สิงหาคม 2554

หมายเหตุ : รายงานตลอดโครงการเมื่อสิ้นสุดโครงการ/ปิดโครงการ