



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
“Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”

การพัฒนาระบบการไหลอัตโนมัติร่วมกับการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง
เพื่อการเตรียมตัวอย่างและตรวจวัดปริมาณไทโอไซยาเนตในปัสสาวะแบบออนไลน์

Development of Automated Flow System with Solid Phase Extraction for
On-line Pretreatment and Monitoring of Thiocyanate in Human Urine

นิรมล จิตต์สมหมาย¹, ดร.จิรายุ สิตานุรักษ์², รศ.ดร.ดวงใจ นาคะปรีชา²
รศ.ดร.ประพิณ วิไลรัตน์³, ผศ.ดร.กาญจนา อูไรสินธุ์²

¹นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

²สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

³ศูนย์ตรวจสอบสารต้องห้ามในนักกีฬา มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

ระดับไทโอไซยาเนต (SCN⁻) ในตัวอย่างทางชีวภาพได้ถูกนำมาใช้เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ของระดับการได้รับไซยาไนด์ (CN⁻) เข้าสู่ร่างกาย งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณไทโอไซยาเนตในตัวอย่างปัสสาวะโดยใช้ระบบการไหลควบคู่กับการเตรียมตัวอย่างแบบออนไลน์ ภายในระบบดังกล่าวประกอบด้วยคอลัมน์แก้วขนาดเล็กที่ภายในบรรจุด้วยตัวดูดซับของแข็งคือ strong anion exchange (SAX) resin การวิเคราะห์ไทโอไซยาเนตสามารถทำได้โดยผ่านตัวอย่างปัสสาวะเข้าสู่ระบบและไหลผ่านคอลัมน์ ไทโอไซยาเนตจะถูกดูดซับไว้ภายในคอลัมน์ จากนั้นไทโอไซยาเนตจะถูกชะออกจากคอลัมน์โดยใช้ 1 M NaNO₃ และตรวจวัดหาปริมาณไทโอไซยาเนตโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างไทโอไซยาเนตและไอร์ออน (III) ให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงซึ่งตรวจวัดได้โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรีที่ความยาวคลื่น 460 nm วิธีการวิเคราะห์นี้ให้ความเป็นเส้นตรงถึง 11.6 ppm ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) ที่ 0.05 และ 0.08 ppm ตามลำดับ ระบบดังกล่าวได้ถูกนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไทโอไซยาเนตในปัสสาวะโดยมีค่าร้อยละการวิเคราะห์กลับคืนอยู่ในช่วงร้อยละ 86-94

คำสำคัญ การวิเคราะห์ไทโอไซยาเนตในปัสสาวะ, การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง, ระบบการไหล



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
“Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”

Abstract

Thiocyanate (SCN^-) level in human biological fluids is normally used as a representative for cyanide exposure. This work proposes an alternative method for analysis of urinary thiocyanate by using on-line pretreatment flow system. The system consisted of a homemade solid phase extraction (SPE) column packed with strong anion exchange (SAX) resin used for urine cleanup. The analysis was performed by loading of urine sample passing the column. Thiocyanate was retained on the column and subsequently eluted by 1 M NaNO_3 . The eluate was allowed to react with iron (III) to produce deep-blood red complex which spectrophotometrically detected at 460 nm. This proposed method provides linear range up to 11.6 ppm with limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) at 0.05 and 0.08 ppm, respectively. The developed system was applied to determine urinary thiocyanate, and recovery was found in range of 86-94%.

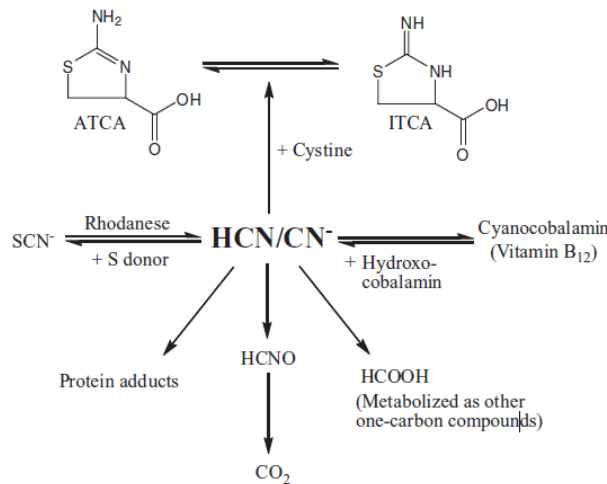
Keywords Urinary thiocyanate analysis, Solid phase extraction, Flow system

บทนำ

ไทโอไซยาเนต (SCN^-) เป็นสารประกอบชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในร่างกายมนุษย์ โดยมีแหล่งที่มาจากอาหาร เช่น นม ซีส และผักบางชนิด เช่น เทอร์นิพ (turnip), เคล (kale) และ กะหล่ำปลี (cabbage) นอกจากนี้ไทโอไซยาเนตในร่างกายยังพบได้เนื่องมาจากสาเหตุการรับสารพิษไซยาไนด์ (CN^-) เข้าสู่ร่างกาย โดยในชีวิตประจำวันมนุษย์สามารถรับไซยาไนด์ได้จากหลายแหล่ง เช่น อาหาร (มันสำปะหลัง อัลมอนด์ และ หน่อไม้) หรือการสูดดมควันที่เกิดจากการเผาไหม้ของพลาสติก หรือควันทูบหรี่ เป็นต้น เมื่อร่างกายได้รับไซยาไนด์แล้วจะเกิดการขจัดสารพิษผ่านกระบวนการหลักคือการเปลี่ยนไซยาไนด์ให้อยู่ในรูปของไทโอไซยาเนตด้วยเอนไซม์โรดานีส (rhodanese) ดังแสดงในภาพที่ 1 ไทโอไซยาเนตที่เกิดขึ้นจะถูกขับออกจากร่างกายผ่านทางของเหลวทางชีวภาพ ได้แก่ เลือด น้ำลาย และปัสสาวะ ด้วยเหตุนี้ไทโอไซยาเนตจึงสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ของการได้รับไซยาไนด์เข้าสู่ร่างกายได้ โดยระดับไทโอไซยาเนตในปัสสาวะของกลุ่มคนทั่วไปคือ 0.8-20.9 ppm [1]



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
 “Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”



ภาพที่ 1 กระบวนการสลายตัวของไซยาไนด์ที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย [1]

ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีที่หลากหลายสำหรับการตรวจวัดไทโอไซยาเนตในตัวอย่างชีวภาพ เช่น เทคนิคทางโครมาโทกราฟี (chromatography) เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemistry) และ สเปกโทรโฟโตเมตรี (spectrophotometry) ในงานวิจัยนี้สนใจการนำเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีมาใช้ในการวิเคราะห์ไทโอไซยาเนตในปัสสาวะ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความง่าย รวดเร็ว และมีเครื่องมือรองรับในห้องปฏิบัติการทั่วไป โดยการวิเคราะห์ดังกล่าวจำเป็นต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อขจัดสารรบกวน ซึ่งในการวิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะมีการใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยการตกตะกอนโปรตีน [2, 3] การปั่นเหวี่ยงร่วมกับการใช้เยื่อพอลิเมอร์ [4] และ การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง [5] แต่อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวยังคงเป็นวิธีที่ไม่สะดวกและใช้เวลานาน

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ออกแบบและพัฒนาระบบการไหลเพื่อใช้ในการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ไทโอไซยาเนตในตัวอย่างปัสสาวะแบบออนไลน์ โดยใช้การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง และใช้การตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีโดยวัดสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงของไอร์ออน (III) กับไทโอไซยาเนตที่สามารถตรวจติดตามจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 460 nm

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อออกแบบและพัฒนาระบบการไหลควบคู่กับการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งแบบออนไลน์สำหรับการตรวจวัดปริมาณไทโอไซยาเนตในตัวอย่างปัสสาวะ

ขอบเขตการวิจัย

1. ออกแบบระบบตรวจวัด
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ
 - 2.1. ปริมาตรและอัตราไหลของตัวอย่าง
 - 2.2. ความเข้มข้นและอัตราไหลของตัวชะ



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
 “Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”

- 2.3. ความเข้มข้นและอัตราไหลของตัวทำปฏิกิริยา
3. ศึกษาความสามารถในการวิเคราะห์
 - 3.1. ช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ
 - 3.2. ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ)
 - 3.3. ความสามารถในการใช้ซ้ำของ SAX column
 - 3.4. ความเร็วในการวิเคราะห์
4. วิเคราะห์ในตัวอย่างจริง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานนี้เป็นสารเคมีเกรดสำหรับวิเคราะห์ (analytical grade) และใช้น้ำปราศจากไอออน (deionized water) ในการเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

เตรียมสารละลายไทโอไซยาเนตที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1000 ppm ด้วยการละลายโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต (KSCN, Merck, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน) 0.8366 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 mL สารละลายมาตรฐานไทโอไซยาเนตสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานสามารถเตรียมได้โดยเจือจางสารละลายไทโอไซยาเนตเข้มข้น 1000 ppm ด้วยสัดส่วนที่เหมาะสม

สารละลายไอร์ออน (III) เข้มข้น 0.15 M ใน 1 M กรดไนตริกเตรียมได้โดยละลายไอร์ออน (III) ไนเตรต ((FeNO₃)₃·9H₂O, Ajax, ประเทศนิวซีแลนด์) 30.3 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน และเติมกรดไนตริกเข้มข้น 32 mL ลงในสารละลาย หลังจากนั้นทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนโดยใช้ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 mL

สารละลายโซเดียมไนเตรดเข้มข้น 1 M สามารถเตรียมได้จากการละลายโซเดียมไนเตรด (NaNO₃, Ajax, ประเทศนิวซีแลนด์) ในน้ำปราศจากไอออน 500 mL และกรองด้วยเยื่อเซลลูโลสอะซิเตทขนาด 0.45 μm (Sartorius, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน)

ตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 5 ตัวอย่างได้รับจากอาสาสมัคร ซึ่งตัวอย่างเหล่านี้สามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณไทโอไซยาเนตด้วยระบบที่พัฒนาขึ้นได้โดยตรง โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างใดๆ

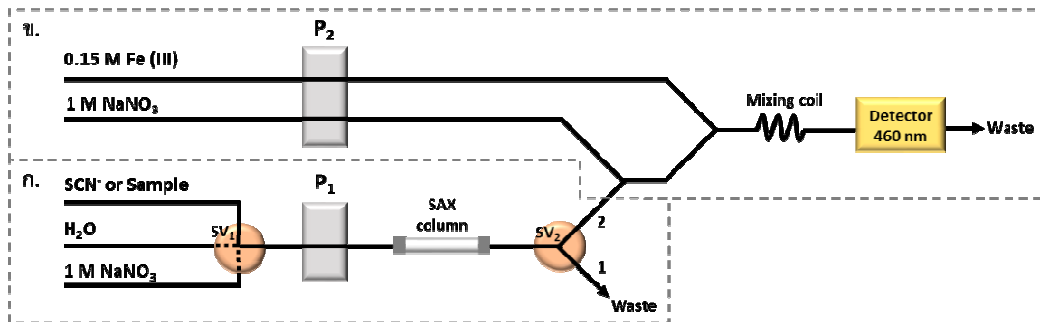
2. ระบบการวิเคราะห์แบบไหล

ภาพที่ 2 แสดงระบบการไหลซึ่งประกอบด้วยท่อ PTFE (1.0 mm i.d, VICI, สมาพันธรัฐสวิส) และ Peristaltic pump คือ P₁ และ P₂ (Ismatec/ISM827, สมาพันธรัฐสวิส) ทำหน้าที่ควบคุมการไหลของสารละลายในระบบ ส่วนเตรียมตัวอย่าง (ก.) ประกอบด้วย Selection valve (SV₁) ทำหน้าที่เลือกสารที่ต้องการเข้าสู่ระบบและไหลผ่านเข้าสู่ SAX column และ SV₂ ทำหน้าที่ควบคุมทิศทางการไหลเพื่อปล่อยสารผ่านออกจากระบบ (ตำแหน่งที่ 1) หรือนำสารเข้าสู่ส่วนตรวจวัด (ตำแหน่งที่ 2) ส่วนตรวจวัด (ข.) ประกอบด้วยกระแสดของตัวชะ (1 M NaNO₃) เพื่อลดสัญญาณรบกวนจากปรากฏการณ์ชลิเริน (Schlieren effect) กระแสดของตัวทำปฏิกิริยา (0.15 M Fe (III)) และท่อผสม (mixing coil) ซึ่งผลึกภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะถูก



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
 “Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”

ติดตามโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Perkin Elmer, Model Lamda, CT, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่ความยาวคลื่น 460 nm



ภาพที่ 2 ระบบการไหลสำหรับการตรวจวัดไทโอไซยาเนตในปัสสาวะ แบ่งเป็น 2 ส่วนคือ ก.) ส่วนเตรียมตัวอย่าง และ ข.) ส่วนตรวจวัด โดย P₁ และ P₂ คือ Peristaltic pump และ SV₁ และ SV₂ คือ selection valve

3. SAX column

ในงานวิจัยนี้ คอลัมน์ที่ใช้สำหรับการเตรียมตัวอย่างได้ถูกเตรียมขึ้นโดยการบรรจุ Strong anion exchange resin (75-150 μm SAX, Alltech, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ปริมาณ 25 มิลลิกรัม ลงในท่อแก้วขนาดเล็กที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในขนาด 1.6 มิลลิเมตร และ ความยาว 20 มิลลิเมตร ซึ่งปลายทั้งสองข้างของคอลัมน์ถูกปิดด้วยสำลี ในการใช้คอลัมน์ครั้งแรกคอลัมน์จำเป็นต้องถูกปรับสภาพ (Conditioning) โดยการผ่านตัวชะคือ

1 M โซเดียมไนเตรตเป็นเวลา 15 นาที และล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนเป็นเวลา 5 นาที

4. การปฏิบัติการของระบบ

ลำดับการปฏิบัติการของระบบแสดงในตารางที่ 1 เมื่อทำการปรับสภาพคอลัมน์ (Conditioning) แล้ว สารมาตรฐานไทโอไซยาเนตหรือตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบ (Loading) ไทโอไซยาเนตจะถูกสกัดออกจากตัวอย่างและถูกดูดซับไว้ในคอลัมน์ ในขณะที่สารอื่นๆที่ไม่ถูกดูดซับจะถูกปล่อยไหลออกจากระบบ สารที่ตกค้างอยู่ในท่อจะถูกล้างออกด้วยน้ำ (Washing) หลังจากนั้นไทโอไซยาเนตที่ถูกดูดซับอยู่บนคอลัมน์จะถูกชะออกโดยใช้โซเดียมไนเตรตเข้มข้น 1 M (Eluting) และสารที่ถูกชะออกจากคอลัมน์จะถูกเลือกให้ไหลผ่านไปยังส่วนตรวจวัดซึ่งไทโอไซยาเนตจะทำปฏิกิริยากับไอร์ออน (III) เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงตรวจวัดโดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 460 nm เมื่อเสร็จสิ้นการตรวจวัดส่วนเตรียมตัวอย่างจะถูกล้างด้วยน้ำ (Washing) เพื่อเตรียมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างถัดไป



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
 “Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”

ตารางที่ 1 แสดงการปฏิบัติการของระบบการไหลในภาพที่ 2

ลำดับ	ขั้นตอน	P ₁	P ₂	SV ₁	SV ₂	เวลา (นาที)	รายละเอียด
1	Conditioning	เปิด เปิด	ปิด ปิด	1 M NaNO ₃ H ₂ O	1 1	15:00 5:00	เตรียม SAX คอลัมน์ให้พร้อม สำหรับการใช้งาน (ขั้นตอนนี้ทำ เฉพาะการใช้งานคอลัมน์ครั้งแรก เท่านั้น)
2	Loading	เปิด	ปิด	SCN ⁻ หรือ Sample	1	2:00	ผ่านตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์
3	Washing	เปิด	ปิด	H ₂ O	1	0:30	ล้างสารตกค้างอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการ ออกจากระบบ
4	Eluting	เปิด	เปิด	1 M NaNO ₃	2	3:00	ชะไทโอไฮยาเนตที่ถูกกักด้วย NaNO ₃ และปล่อยให้สารที่ถูกชะ ไหลเข้าสู่ส่วนตรวจวัด
5	Washing	เปิด	ปิด	H ₂ O	1	0:30	ล้างระบบเพื่อเตรียมสำหรับตัวอย่าง ถัดไป

ผลการวิจัย

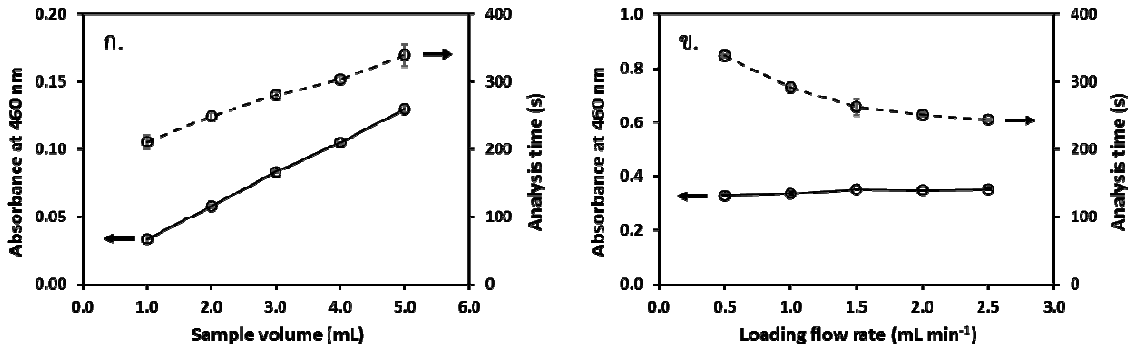
1. สภาพที่เหมาะสมของระบบ

1.1. ปริมาตรและอัตราการไหลของตัวอย่าง

ปริมาตรและอัตราการไหลของตัวอย่างที่ผ่านเข้าสู่ระบบเป็นตัวแปรที่สำคัญที่ส่งผลต่อความไว (Sensitivity) และเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ การทดลองนี้ได้ทำการศึกษาปริมาตรของตัวอย่างโดยใช้สารมาตรฐานไทโอไฮยาเนตที่ความเข้มข้น 1 ppm เป็นตัวแทนความเข้มข้นต่ำสุดของไทโอไฮยาเนตที่ตรวจพบในปัสสาวะ โดยผ่านสารละลายมาตรฐานนี้เข้าสู่ระบบด้วยปริมาตรที่แตกต่างกันในช่วง 1.0 mL ถึง 5.0 mL จากผลการทดลองในภาพ 3ก. พบว่าเมื่อใช้ปริมาตรของตัวอย่างเพิ่มขึ้นจะต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์มากขึ้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาตรของตัวอย่างส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นและเหมาะสมกับการวิเคราะห์ไทโอไฮยาเนตในระดับความเข้มข้นต่ำ ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ปริมาตรของตัวอย่างที่ 5.0 mL เนื่องจากให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดและเพียงพอต่อการวิเคราะห์ไทโอไฮยาเนตในตัวอย่างจริง และในการทดลองนี้ ได้ทำการศึกษาอัตราการไหลของตัวอย่าง โดยใช้สารมาตรฐานไทโอไฮยาเนตความเข้มข้น 10 ppm ปริมาตร 1.0 mL จากผลการทดลองพบว่าอัตราการไหลของตัวอย่างที่แตกต่างกันให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกันดังแสดงในภาพ 3ข. แสดงว่าการผ่านตัวอย่างเข้าสู่ระบบด้วยความเร็วที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของ SAX ในการจับกับไทโอไฮยาเนต ดังนั้นจึงได้เลือกอัตราการไหลที่ 2.5 mL min⁻¹ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป



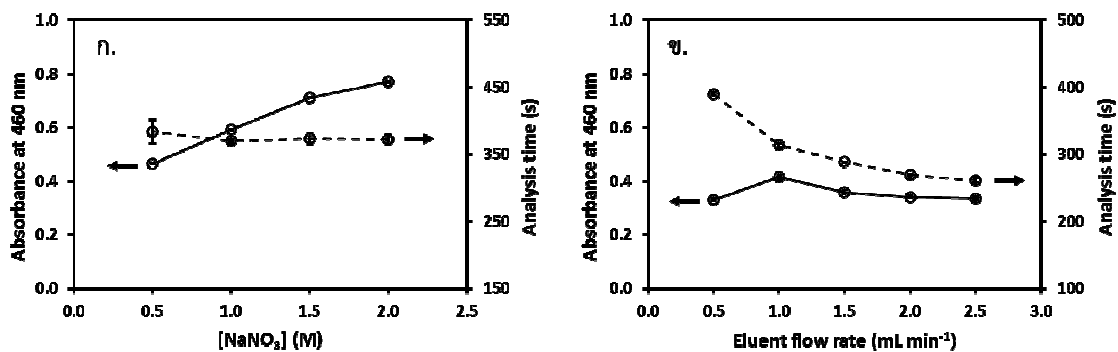
การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
 “Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”



ภาพที่ 3 ก.) แสดงผลของปริมาตรตัวอย่างที่เข้าสู่ระบบในช่วง 1.0 mL ถึง 5.0 mL ข.) แสดงผลของอัตราการไหลในการนำตัวอย่างเข้าสู่ระบบในช่วง 0.5 mL min⁻¹ ถึง 2.5 mL min⁻¹ ต่อค่าการดูดกลืนแสง

1.2. ความเข้มข้นและอัตราการไหลของตัวชะ

ในการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของโซเดียมไนเตรตที่ใช้เป็นตัวชะไทโอไซยานเนตออกจากคอลัมน์ ได้ทำการศึกษาโดยผ่านสารมาตรฐานไทโอไซยานเนตความเข้มข้น 5 ppm เข้าสู่คอลัมน์และชะออกด้วยโซเดียมไนเตรตที่ความเข้มข้นแตกต่างกันตั้งแต่ 0.5 M ถึง 2 M จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของไนเตรตที่สูงขึ้นส่งผลให้ไทโอไซยานเนตถูกชะออกมาได้เร็วขึ้นและให้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มากขึ้นดังแสดงในภาพ 4ก. อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ไนเตรตที่ความเข้มข้นสูงจะทำให้เกิด blank signal ที่สูงด้วยเช่นกัน ดังนั้นจึงเลือกโซเดียมไนเตรดความเข้มข้น 1 M เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไทโอไซยานเนต จากนั้นได้ทำการทดสอบอิทธิพลของอัตราเร็วในการชะสารออกจากคอลัมน์โดยใช้สารมาตรฐานไทโอไซยานเนตเข้มข้น 3 ppm พบว่าความเร็วในการชะที่สูงขึ้นให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ไม่แตกต่างกันมากนักแต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่น้อยลงมาก (ภาพ 4ข.) ดังนั้นเพื่อเพิ่มความเร็วในการวิเคราะห์ ผู้ทดลองจึงเลือกใช้อัตราการไหลของตัวชะที่ 2.5 mL min⁻¹



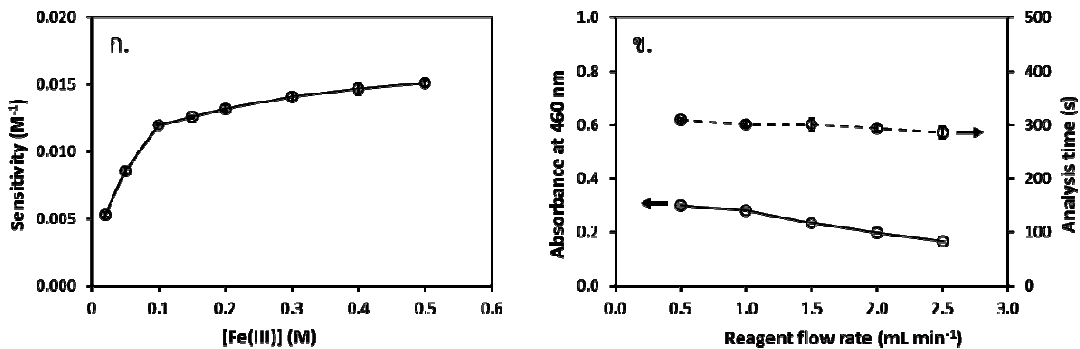
ภาพที่ 4 ก.) แสดงผลของความเข้มข้นโซเดียมไนเตรตในช่วง 0.5 M ถึง 2 M ข.) แสดงผลของอัตราไหลในการชะสารออกจากคอลัมน์ในช่วง 0.5 mL min⁻¹ ถึง 2.5 mL min⁻¹ ต่อค่าการดูดกลืนแสง



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
 “Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”

1.3. ความเข้มข้นและอัตราการไหลของตัวทำปฏิกิริยา

อิทธิพลจากความเข้มข้นของไอร์ออน (III) ซึ่งเป็นตัวทำปฏิกิริยากับไทโอไซยาเนตต่อค่าความไวในการวิเคราะห์ที่ได้แสดงไว้ในภาพที่ 5ก. เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอร์ออน (III) จะให้ค่าความไวในการวิเคราะห์ที่สูงขึ้น โดยจะเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงตั้งแต่ 0.02 M ถึง 0.1 M และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 M เป็นต้นไป ในงานนี้จึงได้เลือกใช้ไอร์ออน (III) ความเข้มข้น 0.15 M เป็นตัวทำปฏิกิริยาในการทดลองต่อไป ภาพ 5ข. แสดงอิทธิพลจากการใช้อัตราการไหลของไอร์ออน (III) ที่ต่างกันสำหรับการวิเคราะห์สารมาตรฐานไทโอไซยาเนตเข้มข้น 3 ppm ซึ่งการเพิ่มอัตราการไหลส่งผลให้ค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มีแนวโน้มต่ำลงเนื่องจากเมื่ออัตราการไหลมากขึ้นจะเกิดการเจือจางภายในระบบจากปริมาตรของตัวทำปฏิกิริยาและตัวชะที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้อัตราการไหลที่มากขึ้นช่วยให้เวลาในการวิเคราะห์ที่ต่ำลงเล็กน้อย จึงเลือกอัตราการไหลที่ 1 mL min⁻¹ เป็นสภาวะที่เหมาะสมของระบบ



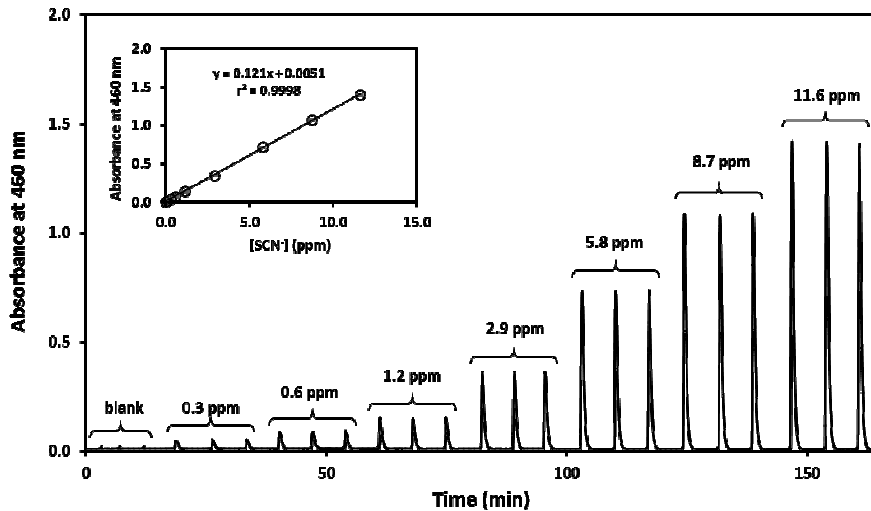
ภาพที่ 5 แสดงผลจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นและอัตราการไหลของตัวทำปฏิกิริยา โดยที่ ก.) แสดงความไวในการวิเคราะห์เทียบกับความเข้มข้นของไอร์ออน (III) ในช่วง 0.02 M ถึง 0.5 M ข.) แสดงค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับอัตราการไหลของตัวทำปฏิกิริยาในช่วง 0.5 mL min⁻¹ ถึง 2.5 mL min⁻¹

2. ความสามารถในการวิเคราะห์

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ระบบการวิเคราะห์นี้ให้ความเป็นเส้นตรงจากการวิเคราะห์ไทโอไซยาเนตในช่วง 0 ถึง 11.6 ppm โดยให้สมการเส้นตรงคือ $Abs = (121.00 \pm 0.71) \times 10^{-3} [SCN^-] - (5.13 \pm 4.02) \times 10^{-3}$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) คือ 0.9998 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) คือ 0.05 และ 0.08 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ SAX column ยังสามารถใช้ซ้ำได้มากกว่า 100 ครั้ง ซึ่งให้ความเที่ยงสูงคือ 1.82 (%RSD ของสารมาตรฐานไทโอไซยาเนตที่ความเข้มข้น 3 ppm, n=100) และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 10 ตัวอย่างในหนึ่งชั่วโมง กราฟมาตรฐานและสัญญาณที่ตรวจวัดได้ถูกแสดงในภาพที่ 6



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
 “Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”



ภาพที่ 6 สัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ไทโอไซยาเนตที่ความเข้มข้นต่างๆ (n=3) และกราฟมาตรฐาน

3. การวิเคราะห์ในตัวอย่างจริง

ระบบการไหลที่พัฒนาขึ้นได้ถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดปริมาณไทโอไซยาเนตในตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 5 ตัวอย่าง และได้ทำการศึกษาค่าการวิเคราะห์ที่กลับคืนของไทโอไซยาเนตโดยการเติมไทโอไซยาเนตเข้มข้น 5 ppm ลงในแต่ละตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 2 พบว่าค่าร้อยละการได้กลับคืนจากการเติมไทโอไซยาเนตอยู่ในช่วง 86-94 แสดงให้เห็นว่าสารรบกวนต่างๆที่อาจจะมีอยู่ในตัวอย่างปัสสาวะไม่รบกวนการวิเคราะห์ เมื่อใช้ระบบการไหลร่วมกับการใช้ตัวดูดซับของแข็งสำหรับการเตรียมตัวอย่าง

ตารางที่ 2 แสดงผลวิเคราะห์ไทโอไซยาเนตในตัวอย่างปัสสาวะโดยใช้ระบบการไหล

ตัวอย่าง	ไทโอไซยาเนตที่เติม (ppm)	ไทโอไซยาเนตที่พบ (ppm)	การได้กลับคืนของไทโอไซยาเนต (%)
ปัสสาวะ 1	0	1.02 ± 0.05	-
	5	5.17 ± 0.10	86
ปัสสาวะ 2	0	0.78 ± 0.01	-
	5	5.33 ± 0.01	94
ปัสสาวะ 3	0	0.87 ± 0.05	-
	5	5.27 ± 0.03	91
ปัสสาวะ 4	0	0.72 ± 0.02	-
	5	5.15 ± 0.04	92
ปัสสาวะ 5	0	0.55 ± 0.02	-
	5	4.93 ± 0.03	91



การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
“Research 4.0 Innovation and Development SSRU’s 80th Anniversary”

อภิปรายผลการวิจัย

ระบบการไหลอัตโนมัติร่วมกับการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งเพื่อการเตรียมตัวอย่างและตรวจวัดปริมาณไทโอไซยาเนตในปัสสาวะแบบออนไลน์ได้ถูกพัฒนาขึ้น การเตรียมตัวอย่างโดยใช้ SAX column ควบคู่กับระบบการไหลทำให้สามารถผ่านตัวอย่างปัสสาวะเข้าสู่ระบบได้โดยตรง ซึ่งช่วยลดความยุ่งยากและเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างได้ นอกจากนี้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีซึ่งใช้ปฏิกิริยาระหว่าง ไอร์ออน (III) และไทโอไซยาเนตมีหลักการที่ง่าย ใช้สารเคมีน้อย และไม่ทำให้เกิดสารพิษระหว่างการวิเคราะห์ ซึ่งวิธีนี้ให้ความสามารถในการวิเคราะห์ที่ดีและเพียงพอต่อการวิเคราะห์ไทโอไซยาเนตในตัวอย่างปัสสาวะ เมื่อศึกษาการได้กลับคืนของการเติมไทโอไซยาเนตในตัวอย่างจริงพบว่าค่าค่าร้อยละการได้กลับคืนจากการเติมไทโอไซยาเนตอยู่ในช่วง 86-94 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

ข้อเสนอแนะ

ระบบการวิเคราะห์ที่ถูกพัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้ตรวจวัดปริมาณไทโอไซยาเนตในปัสสาวะได้ และในอนาคตสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาเกี่ยวกับการได้รับไซยาไนด์ในกลุ่มตัวอย่างต่างๆ เช่น เปรียบเทียบปริมาณไทโอไซยาเนตระหว่างกลุ่มคนที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] Logue, B. A., Hinkens, D. M., Baskin, S. I., & Rockwood, G. A. (2010). The analysis of cyanide and its breakdown products in biological samples. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 40(2), 122-147.
- [2] Densen, P. M., Davidow, B., Bass, H. E., & Jones, E. W. (1967). A Chemical Test for Smoking Exposure. *Archives of Environmental Health*, 14(6), 865-874.
- [3] Chesley, L. C. (1941). The determination of thiocyanate in biological fluids. *Journal of Biological Chemistry*, 140(1), 135-141.
- [4] Zhang, J., Yang, C., Wang, X. L., & Yang, X. R. (2012). Colorimetric recognition and sensing of thiocyanate with a gold nanoparticle probe and its application to the determination of thiocyanate in human urine samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(7), 1971-1981.
- [5] Lundquist, P., Kagedal, B., & Nilsson, L. (1995). An improved method for determination of thiocyanate in plasma and urine. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 33(6), 343-349.