FROM MACRO-BORE TO MICRO-BORE: METHOD DEVELOPMENT IN FLOW BASED ANALYSIS

MALIWAN AMATATONGCHAI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(ANALYTICAL CHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006

ISBN 974-04-7891-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

จากท่อขนาดแมคโครสู่ท่อไมโคร: การพัฒนาเทคนิคทางการวิเคราะห์ในระบบที่มีการไหล
(FROM MACRO-BORE TO MICRO-BORE: METHOD DEVELOPMENT IN FLOW-BASED ANALYSIS)

มะลิวรรณ อมตธงไชย 4536619 SCAC/D
ปร. ด. (เคมีวิเคราะห์)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ดวงใจ นาคะปรีชา, Ph.D. (Analytical Chemistry), ประพิณ วิไลรัตน์ Ph.D. (Physical Chemistry)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็นสองส่วนโดย ส่วนแรกเป็นการพัฒนาเทคนิคทางการวิเคราะห์ในท่อขนาดแมคโคร (ท่อการไหลขนาดมิลลิเมตร) ซึ่งจะเน้นการวิเคราะห์ไอโอไดด์ด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางแบบโบรอนโดบไดมอนด์ (บีดีดี) ทั้งในระบบโฟลอินเจคชันและ ไฮเปอร์ฟอร์มานซ์ลิดควิดโครมาโทกราฟี ในส่วนที่สองจะพัฒนาเทคนิคทางการวิเคราะห์ในท่อขนาดไมโคร (ท่อการไหลขนาดไมครอน)โดยเน้นการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหรือแอนตี้ออกซิแดนซ์ในระบบไมโครฟลูอิดิกโดยอาศัยปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนต์ของสารเปอร์ออกซีออกซาเลต

ในการศึกษาเบื้องต้นจะใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีเพื่อศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไอโอไดด์ ผลการทดลองพบว่าขั้วไฟฟ้าโบรอนโดปไดมอนด์ให้สัญญาณที่ดีกว่าขั้วกลาสซีคาร์บอน ค่ากระแสที่ได้จากปฏิกิริยาแปรผันแบบเป็นเส้นตรงกับรากที่สองของอัตราการเปลี่ยนศักย์ไฟฟ้า ในช่วงตั้งแต่ 0.01-0.30 Vs^{-1}, (r^2 = 0.998) ทำให้สรุปได้ว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบดิฟฟิวชั่นและไอโอไดด์ไม่ถูกดูดซับที่ขั้วไฟฟ้าโบรอนโดปไดมอนด์ ระบบโฟลอินเจคชั่น ที่ใช้ในการวัดแบบแอมเปอร์โรเมทรีที่ขั้วไฟฟ้าโบรอนโดปไดมอนด์นั้นจะเป็นแบบแชนเนลเดียว โดยระบบโฟลอินเจคชั่นนี้มีความรวดเร็วในการวิเคราะห์สูง (85 ตัวอย่างต่อชั่วโมง)ให้กราฟมาตรฐานที่เป็นเส้นตรงในช่วงกว้าง (0.8 ถึง 200 μM) มีความเที่ยงสูง (RSD = 2.2%) และมีขีดจำกัดในการวิเคราะห์ในระดับที่ต่ำ 0.01 μM (3σ of blank) ได้ทดสอบระบบนี้โดยการนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไอโอไดด์ในตัวอย่างยาเม็ดโพแทสเซียมไอโอไดด์ ซึ่งใช้ในกรณีฉุกเฉินทางนิวเคลียร์และเป็นตัวอย่างที่มีองค์ประกอบไม่ซับซ้อน พบว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจ ได้พัฒนาตัวตรวจวัดในระบบไฮเปอร์ฟอร์มานซ์ลิดควิดโครมาโทกราฟี โดยการนำขั้วไฟฟ้าโบรอนโดปไดมอนด์มาตัดให้มีขนาดที่พอดีและสามารถเข้ากับตัวโฟล์เซลล์ของระบบระบบไฮเปอร์ฟอร์มานซ์ลิดควิดโครมาโทกราฟีได้ โดยพบว่าขั้วไฟฟ้าโบรอนโดปไดมอนด์นี้สามารถใช้งานได้ดี เมื่อนำระบบที่พัฒนาขึ้นนี้มาทดสอบกับตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนขึ้น เช่นยาเม็ดวิตตะมินรวม ก็พบว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจเช่นกัน

งานในส่วนที่สองนั้นได้พัฒนาเทคนิคในการประเมินหาปริมาณสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ที่มีความไวสูง รวดเร็วและใช้ปริมาณสารน้อย โดยใช้ปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนต์ของสารเปอร์ออกซีออกซาเลทในระบบไมโครฟลูอิดิก ได้ทดสอบการนำปฏิกิริยาเปอร์ออกซีออกซาเลทมาใช้ทั้งในระบบวิเคราะห์แบบ 2 และ 3- inlet microchip พบว่าการใช้อินเจ็คชั่นวาล์วร่วมกับ 2-inlet microchip มีข้อดีทั้งในแง่รวดเร็วและให้ผลการทดลองที่มีความเที่ยงสูง การฉีดสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ลงในกระแสของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะมีผลทำให้แสงเคมิลูมิเนสเซนต์ที่เกิดขึ้นลดลง และการลดลงของแสงจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ เมื่อนำระบบที่พัฒนาขึ้นมาทดสอบพบว่าความแรงของสารทดสอบเรียงลำดับจากมากไปน้อยคือ β-carotene(SA_{HP} of 3.27 x 10^{-3} μM^{-1}) , α-tocopherol (SA_{HP} of 2.36 x 10^{-3} μM^{-1}) และ quercetin (SA_{HP} of 0.31 x 10^{-3} μM^{-1}) ตามลำดับ ระบบที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพดี มีความไว และความเที่ยงสูง (RSD< 1.5%)

136 หน้า ISBN 974-04-7891-3

FROM MACRO-BORE TO MICRO-BORE: METHOD DEVELOPMENT IN FLOW-BASED ANALYSIS

MALIWAN AMATATONGCHAI 4536619 SCAC/D
Ph.D. (ANALYTICAL CHEMISTRY)
THESIS ADVISORS: DUANGJAI NACAPRICHA, Ph.D. (ANALYTICAL CHEMISTRY), PRAPIN WILAIRAT, Ph.D. (PHYSICAL CHEMISTRY)

ABSTRACT

This Ph.D. thesis consists of two main parts. In the first part, work was carried out in what may be considered as 'macro-bore flow analysis' (flow channel in millimeter range), viz. flow injection (FI) and high performance liquid chromatography (HPLC). The application of thin film boron doped-diamond (BDD) electrode was focused, particularly in the analysis of iodide ion. In the second part, downscaling of size, to what is usually known as lab-on-chip (or microchip) was carried out. This work is in the micro-bore or microfluidic format (micron size flow channel). Development of antioxidant assay based on peroxyoxalate chemiluminescence was carried out using this microchip.

Oxidation of iodide was first studied at BDD using cyclic voltammetry (CV). The BDD electrode provided a better sensitivity than glassy carbon electrode (GCE). The peak current of 1 mM iodide oxidation varied linearly (r^2 = 0.998) with the square root of the scan rate, from 0.01 to 0.30 Vs^{-1}. This result indicates that the reaction is a diffusion-controlled process with negligible adsorption on BDD surface. Amperometric detection with a flow-through electrochemical cell using the working diamond electrode was investigated. With this construction, analysis of samples is very rapid (85 samples h^{-1}). Wide dynamic range (0.8 to 200 μM) with good precision (RSD = 2.2%) and very low detection limit as 0.01 μM (3σ of blank), was obtained. Performance for simple sample matrices such as potassium iodide tablets (for nuclear emergency) was investigated. The BDD flow injection method proved to be valid for this type of samples. For the employment of BDD in high performance liquid chromatography (HPLC), the BDD was cut into thin disk with a diamond cutter to fit a commercial flow through cell. This electrode fulfills very well all requirements of the working electrode of an electrochemical detector. Performance of the BDD-HPLC was examined. The developed BDD-HPLC method was validated for iodide quantitation in samples containing complex matrices such as multi-vitamin tablets.

In the second part of this thesis, a new, sensitive, rapid and automated method using minute reagents and sample volumes was developed for screening of antioxidant capacity from plants. A microfluidic system, incorporating a peroxyoxalate chemiluminescence (PO-CL) detection, was developed as a new tool for measuring total antioxidant capacity. The implement of PO-CL reaction using 2-and 3-inlet microchips were investigated. In the 2-inlet microchip, sample injection was carried out using an injection valve, thereby enhancing reproducibility and response times. Antioxidant plug was injected into the hydrogen peroxide stream, resulting in an inhibition of the CL emission which can be quantified and correlated with antioxidant capacity. From the plant-food based antioxidants, β-carotene was found to be the most efficient hydrogen peroxide scavenger (SA_{HP} of 3.27 x 10^{-3} μM^{-1}), followed by α-tocopherol (SA_{HP} of 2.36 x 10^{-3} μM^{-1}) and quercetin (SA_{HP} of 0.31 x 10^{-3} μM^{-1}). The reported method is inherently simple and rapid, with excellent analytical performance in terms of sensitivity, dynamic range and precision, with RSD values typically below 1.5%.

KEY WORDS: BDD, IODIDE, AMPEROMETRY, MICROFLUIDIC DEVICES, TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY, PEROXYOXALATE CHEMILUMINESCENCE

136 P. ISBN 974-04-7891-3