Thesis Title Development of Green Analytical Technique Based on Micro-Flow for Water Analysis and Preparation of Nanosensors

Author Mr.Senee Kruanetr

Degree Doctor of Philosophy (Chemistry)

Thesis Advisory Committee

Associate Professor Dr. Saisunee Liawruangrath	Chairperson
Professor Dr. Gillian M Greenway	Member
Associate Professor Dr. Boonsom Liawruangrath	Member
Dr. Urai Tengjaroenkul	Member

ABSTRACT

A home-made selection valve and a controlled unit were designed and fabricated using inexpensive materials coupled with spectrophotometer to obtain a simple flow injection analysis (FIA) system. The computer software for controlling these home-made devices and displaying the signals were developed using Microsoft Visual Basic ™ and Microsoft® eMbedded Visual Tools 3.0. The fabricated FIA analyzer was used for analysis of Fe(III) in water samples based on the complexation reaction between Fe(III) and nitroso-R salt buffered pH 5 resulting in a colored complex with maximum absorption wavelength at 720 nm. The %RSD for 11 replicates determination of three iron(III) standards (0.1, 1.0 and 4.0 μg mL^{-1}) were 1.42, 1.29 and 1.01%, respectively. A linear calibration curve over the range of 0.10-4.0 μg mL^{-1} and correlation coefficient of 0.9997 were established. The detection

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

limit (3σ) was 0.011 μg mL^{-1}. The home-made FIA analyzer has been successfully applied to the determination of iron(III) in waters. Results obtained by both proposed FIA and AAS methods were in excellent agreement.

A simple, inexpensive and reagent less spectrophotometric micro-flow analysis (μFA) system was implemented on a polymethyl methacrylate (PMMA). A T-shaped micro channel and a T-junction micro coil channel on a PMMA chip was fabricated by laser ablation and topped with molded polydimethylsiloxane (PDMS) where a flow through cell was fixed inside. A home-made PMMA chip was integrated with the solution delivering devices and the optical components (as detector) which were precisely controlled and collected signal by using the computer software programmed in our laboratory. The fabricated μFA had been applied for determining iron and copper in water samples. It is based on measurement of the absorbance of the two metal-nitroso-R salt complexes at 720 and 495 nm for iron and copper respectively formed by the reaction between both ions and nitroso-R salt in an acetate buffer solution pH 5 and 7 respectively. The proposed μFA consumed a very small amount of reagent and sample, it released waste of less than 2.0 mL h^{-1}. The relative standard deviation (RSD) was less than 2 % (n=11) with the recovery in the range of 97 to 99. The linear ranges for the determination of iron and copper in water samples were over the range of 0.05- 4.0 and 0.1-3.0 μg mL^{-1} with the correlation coefficients (r^2) of 0.9994 and 0.9995, respectively. The limits of detection (3σ) for iron and copper were 0.021 and 0.047 μg mL^{-1} with sample throughputs of 40 and 30 h^{-1}, respectively.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

The development of novel sensors known as PEBBLE sensors (Probes Encapsulated by Biologically Localized Embedding) was also attempted. These sensors are nano-scale spherical devices consisting of sensor molecules entrapped in a chemically inert matrix. This protective coating eliminates interferences such as protein binding and/or organelle, which alter sensors response. It also protects the living cell from the toxic sensing molecules while they are used in the intracellular. The sensor molecules usually used in PEBBLEs are fluorescence dye. The fluorimetric technique is also used for detecting response. In this work, the PEBBLEs containing Mn(IV) based chemiluminescence detection were prepared by using the sol-gel method. The prepared PEBBLEs were then characterized via suitable techniques and tested with standard folic acid. It was found that the PEBBLEs containing Mn(IV) was prepared successfully, and the responses from the prepared PEBBLEs were obtained while tested with standard folic acid without using exciting light.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์แบบสะอาดโดยอาศัยไมโครโฟลสำหรับวิเคราะห์น้ำและการเตรียมนาโนเซ็นเซอร์

ผู้เขียน นายเสนีย์ เครือเนตร

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. สายสุนีย์ เหลี่ยวเรืองรัตน์	ประธานกรรมการ
ศาสตาจารย์ ดร. กิลเลียน เอ็ม กรีนเวย์	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. บุญสม เหลี่ยวเรืองรัตน์	กรรมการ
ดร. อุไร เต็งเจริญกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

ทำการออกแบบและประดิษฐ์ซีเล็กชันวาล์วและหน่วยควบคุมแบบทำเองจากวัสดุราคาถูกต่อเชื่อมกับเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เพื่อประกอบเป็นระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซีสอย่างง่าย (เอฟ ไอ เอ) ได้เขียนซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์ขึ้นมาใช้เอง ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟต์วิสชวลเบซิก และไมโครซอฟต์เอ็มเบดวิสชวลทูล 3.0 เพื่อควบคุมเครื่องมือที่สร้างขึ้นนี้ และใช้เป็นตัวแสดงสัญญาณที่ได้ เครื่อง เอฟ ไอ เอ ที่ประกอบขึ้นใช้สำหรับวิเคราะห์หาเหล็ก (III) ในตัวอย่างน้ำ อาศัยปฏิกิริยาการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก (III) และไนโตรโซ-อาร์ ซอลท์ โดยปรับพีเอชด้วยบัฟเฟอร์พีเอช 5 แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 720 นาโนเมตร ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์สำหรับการหาปริมาณสารมาตรฐานเหล็ก (III) สามความเข้มข้น (0.1, 1.0 and 4.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) วัดจำนวน 11 ครั้ง เท่ากับ 1.42, 1.29 and 1.01% ตามลำดับ ได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วง 0.10-4.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9997 ขีดจำกัดต่ำสุดของการวัด (3σ) เท่ากับ 0.011 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เครื่อง เอฟ ไอ เอ ที่ประกอบขึ้นสำหรับประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก (III)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในน้ำตัวอย่างได้เป็นผลสำเร็จ ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้งวิธีเอฟ ไอ เอ และ เอ เอ เอส มีความสอดคล้องกันเป็นอย่างดี

ได้ประดิษฐ์ระบบสเปกโทรโฟโตเมทริกไมโครโฟล (μFA) อย่างง่าย ราคาถูก และใช้สารเคมีน้อย บนแผ่นโพลีเมทิลเมธาครีเลท (พี เอ็ม เอ็ม เอ) ได้ประดิษฐ์ร่องเล็กๆขนาดไมโครเมตรรูปตัวทีและร่องเล็กๆ ขนาดไมโครเมตรรูปร่างเป็นขดต่อจากจุดเชื่อมต่อรูปตัวทีบนแผ่น พี เอ็ม เอ็ม เอ โดยวิธีการยิงด้วยแสงเลเซอร์ และปิดผิวด้านบนด้วยโพลีไดเมธิลไซลอกเซน (พี ดี เอ็ม เอส)โมลด์ ซึ่งมีโฟลธรูเชลล์อยู่ข้างใน ได้ประกอบพี เอ็ม เอ็ม เอ ชิฟ ที่ประดิษฐ์ขึ้นเข้ากับระบบเครื่องนำส่งสารละลาย และระบบการจัดการแสง (เครื่องตรวจวัด) โดยการใช้ซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์ที่เขียนขึ้นใช้เองในห้องปฏิบัติการ เพื่อควบคุมและจัดเก็บสัญญาณด้วยความเที่ยงตรง ได้ประยุกต์ใช้เครื่อง μFA ที่ได้สร้างขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงในตัวอย่างน้ำ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะทั้งสองกับไนโตรโซ-อาร์ ซอลท์ ในสารละลายอะซิเตดบัฟเฟอร์ พีเอช 5 และ 7 ที่ความยาวคลื่น 720 และ 495 นาโนเมตร สำหรับเหล็กและทองแดงตามลำดับ เครื่อง μFA ที่สร้างขึ้นใช้ปริมาณรีเอเจนต์และสารตัวอย่างน้อยมาก นอกจากนี้ยังปลดปล่อยของเสียออกมาน้อยกว่า 2.0 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (อาร์ เอส ดี) น้อยกว่า 2% (n=11) และค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 97 to 99 ช่วงการวิเคราะห์ที่เป็นเส้นตรงสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและทองแดงในตัวอย่างน้ำอยู่ในช่วง 0.05- 4.0 และ 0.1-3.0 มิลลิลกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9994 และ 0.9995 ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวัด (3σ) สำหรับเหล็กและทองแดงเท่ากับ 0.021 และ 0.047 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวน 40 และ 30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ตามลำดับ

เซ็นเซอร์พีอีบีบีแอลอี (Probes Encapsulated by Biologically Localized Embedding) คือเครื่องมือทรงกลมขนาดนาโนที่ประกอบไปด้วยโมเลกุลของเซ็นเซอร์บรรจุอยู่ด้านในที่หุ้มด้วยสารที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมี ตัวสารที่ห่อหุ้มนี้ใช้ป้องกันหรือกำจัดสารรบกวนประเภทโปรตีนหรือออร์แกนแลต่างๆที่อาจจะรบกวนสัญญาณของโมเลกุลเซ็นเซอร์ได้ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันเซลล์ที่มีชีวิตจากโมเลกุลเซ็นเซอร์ที่เป็นพิษได้ด้วย โมเลกุลเซ็นเซอร์ที่ใช้ในพีอีบีบีแอลอีส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกเรืองแสงฟลูออเรสเซ็นต์ได้ และสัญญาณที่เกิดขึ้นจะตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออริมิเตอร์ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการเตรียมพีอีบีบีแอลอีด้วยวิธีโซลเจลที่บรรจุ Mn(IV) อาศัยหลักการตรวจวัดการเรืองแสงเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาเคมี จากนั้นได้ทำการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิเคราะห์คุณลักษณะของพีอีบีบีแอลอีที่ได้เตรียมขึ้น และทดสอบโดยการวิเคราะห์ด้วยสารละลายมาตรฐานกรดโฟลิก พบว่าการเตรียมพีอีบีบีแอลอีประสบผมสำเร็จและมีสัญญาณเกิดขึ้นจากการทดสอบวิเคราะห์กับสารมาตรฐานกรดโฟลิกโดยปราศจากการใช้แสงช่วยกระตุ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved