รายงานสหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์

การวิเคราะห์ส่วนประกอบของเครื่องดื่มโดยใช้เทคนิค ฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคปี

Fluorescence Spectroscopy in Analysis of Beverages

นางสาวภัทรณิช สโมสรสุข

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษาที่2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงงานสหกิจศึกษา การวิเคราะห์ส่วนประกอบของเครื่องดื่มโดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคปี

ชื่อ-สกุล นักศึกษา นางสาวภัทรณิช สโมสรสุข

คณะ วิศวกรรมศาสตร์ ภาควิชา วิศวกรรมเคมี

ชื่อ-สกุล อาจารย์นิเทศ ผศ.ดร.วลัยรัตน์ จันทรอัมพร

ชื่อ-สกุล ผู้นิเทศงาน นายฉัตรชัย จันทสาโร

สถานประกอบการ บริษัท ฮอริบา ประเทศไทย จำกัด

บทคัดย่อ

ปัจจุบันการตรวจคุณภาพเครื่องดื่มสามารถทำได้หลากหลายวิธี ในการศึกษาครั้งนี้จะใช้เทคนิค Excitation-Emission Metrix (EEM) ซึ่งเป็นหนึ่งในเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคปี เพื่อตรวจหาสารในเครื่องดื่ม 4 ประเภทได้แก่ น้ำดื่ม น้ำอัดลม น้ำชาเขียว และน้ำชาเก็กฮวย รวมถึงหาสเปกตรัมที่เป็นเอกลักษณ์ของเครื่องดื่มโดยเลือกเครื่องดื่มที่พบได้ง่ายและเป็นที่นิยม หลังจากได้นำเครื่องดื่มไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ของบริษัท ฮอริบา จำกัด แล้วจะได้แผ่นภาพ EEM ออกมาและเมื่อนำแผ่นภาพนี้ไปวิเคราะจะพบว่ามีสารหลากหลายชนิดที่พบในเครื่องดื่มได้แก่ Humic, Tyrosine, Tryptophan, Catechin และ Vitamin E โดยน้ำดื่มจะพบ Tyrosine เป็นหลัก น้ำอัดลมที่มีสีจะพบ Tryptophan เป็นหลัก และน้ำชาจะพบ Catechin นอกจากนี้ยังทราบได้ว่าเครื่องดื่มแต่ละชนิดจะมีจุดยอดจำเพาะที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ ได้แก่ น้ำดื่มและน้ำอัดลมไม่ผสมสีจะมีจุดยอดจำเพาะที่มีความยาวคลื่นอยู่ที่ 270/290 nm (Excitation(nm)/Emission(nm)) น้ำอัดลมที่ผสมสีจะจุดยอดจำเพาะที่ความยาวคลื่นที่ 275/340 nmและน้ำชาจะมีจุดยอดจำเพาะที่ความยาวคลื่น 275/325 nm

คำสำคัญ: เทคนิค Excitation-Emission Metrix (EEM), เทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคปี, Humic, Tyrosine, Tryptophan, Catechin และ Vitamin E

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cooperative Title: Fluorescence Spectroscopy in Analysis of Beverages

Student intern name: Pattaranich Samosormsuk

Faculty: Engineering Department: Chemical Engineering

Advisor name: Assist. Prof. Dr. Walairat Chandraambhorn

Mentor name: Chutchai Juntasaro

Company: Horiba (Thailand) Limited.

Abstract

Nowadays, beverage quality testing can be done in many ways. In this study, Excitation-Emission Metrix (EEM) technique, one of the fluorescence spectroscopy techniques, was used to detect substances in 4 types of beverages, such as drinking water, soft drinks, green tea and chrysanthemum tea. Moreover, fluorescence spectroscopy also uses for finding a unique spectrum of beverages. This study started from choosing beverages that are easily found and popular. After taking the beverage from analysis by using a fluorescent spectrometer from Horiba Company, the EEM would be released. After analysis some substances were found in beverages such as Humic, Tyrosine, Tryptophan, Catechin and Vitamin E. Tyrosine is found mainly drinking water in. Tryptophan are found mainly in soft drinks with color and Catechin is found in tea. It is also known that each drink contains peak for various wavelengths, for example drinking water and non-colored carbonated water, there is a specific vertex with a wavelength of 270/290 nm (Excitation (nm) / Emission (nm)). The colored soft drinks will peak at a specific wavelength at 275/340 nm, and the tea will have a specific peak at a wavelength 275/325 nm

Keywords: Excitation-Emission Metrix (EEM), the fluorescent spectroscopy techniques, Humic, Tyrosine, Tryptophan, Catechin and Vitamin E

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ในรายงานสหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์นี้ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วลัยรัตน์ จันทรอัมพร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการสหกิจ ผู้ให้คำปรึกษา แนวทางการดำเนินงาน คำแนะนำตลอดการฝึกงานสหกิจครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณ บริษัท ฮอริบา ประเทศไทยจำกัด ที่ให้การสนับสนุนในการฝึกงานโครงการสหกิจครั้งนี้ ขอขอบพระคุณผู้ดูแลการฝึกงานและให้ความรู้ตลอดทั้งโครงการสหกิจ คุณฉัตรชัย จันทสาโร ตำแหน่งงาน country leaders scientific ของบริษัท ฮอริบา ประเทศไทย จำกัด และขอขอบคุณคุณ Pisispat nimnua พนักงานของบริษัท ฮอริบา ประเทศไทย จำกัด ที่ให้การช่วยเหลือการให้ความรู้และการวิเคราะห์ผลจากการใช้เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์

นอกจากนี้ขอพระขอบคุณมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร และมหาวิทยาลัยมหิดลที่ให้ความอนุเคราะห์ในการให้เข้าไปใช้เครื่องมือวิจัยทางวิทยาศาสตร์ตลอดจนความรู้และฝึกการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์เพื่องานวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบุคคลที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการจัดทำโครงการสหกิจครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วง ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ เหล่าคณาจารย์ เพื่อนทุกคน และอีกหลายท่านที่มิได้กล่าวถึงในที่นี้ ที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้การทำวิจัยสำเร็จไปได้ด้วยดี

ภัทรณิช สโมสรสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ i

Abstract ii

กิตติกรรมประกาศ iii

สารบัญ iv

สารบัญรูปภาพ vi

สารบัญตาราง vii

บทที่ 1 1

บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1

1.2 วัตถุประสงค์ 1

1.3 ขอบเขตการวิจัย 1

1.4. ประโยชน์ที่ได้รับ 2

บทที่ 2 3

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 Fluorescence Spectrometer 3

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 8

บทที่ 3 10

วิธีทำการทดลอง 10

3.1 ขั้นตอนการเตรียมเครื่องดื่มตัวอย่าง 10

3.2 ขั้นตอนการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ 11

บทที่ 4 12

ผลการทดลอง และ วิเคราะห์ผลการทดลอง 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 16
สรุป 16
ภาคผนวก 17
ผลการทดลอง 17
เอกสารอ้างอิง 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 เครื่อง Duetta Fluorescence and Absorbance Spectrometer
จากบริษัท ฮอริบา จำกัด.....7
รูปที่ 3.1 ตัวอย่างน้ำ.....10
รูปที่ 3.2 โปรแกรม ExSpec.....11
รูปที่ 3.3 แถบเครื่องมือในโปรแกรม ExSpec.....11
รูปที่ 3.4 แผ่นภาพ EEM ที่ได้ระหว่างการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม ExSpec.....11
รูปที่ 4.1 แผ่นภาพ EEM ของ Water C จากเครื่อง Fluoromax 4 “”.....12
แผ่นภาพ EEM ของ Water C จากเครื่อง Duetta Fluorescence and Absorbance
Spectrometer.....12
รูปที่ 4.3 แผ่นภาพ EEM ของน้ำชาเขียวแต่ละชนิด.....15
รูปที่ 4.4 แผ่นภาพ EEM ของน้ำชาเก็กฮวยแต่ละชนิด.....15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงส่วนประกอบของเครื่องดื่มที่อ่านได้จากฉลากสินค้า.....10
ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงความยาวคลื่นของจุดยอดของกราฟ
ที่ปรากฏของเครื่องดื่มแต่ละชนิด 13
ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงความยาวคลื่นของเครื่องดื่มแต่ละชนิด
และสารที่คาดว่าจะพบ.....14
ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าสเปกตรัมที่เกี่ยวของกับผลการทดลอง.....14
ตารางที่ 5.1 ตารางสรุปความยาวคลื่นที่จุดยอด
และสารที่คาดว่าจะพบในน้ำดื่มแต่ละชนิด.....16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

บริษัท ฮอริบา (ประเทศไทย) จำกัด เป็นบริษัทผู้ผลิตและนำเข้าเครื่องมือวิเคราะห์ทางด้านวิทยาศาสตร์ที่หลากหลายรวมถึงเครื่องมือทางการแพทย์และเครื่องมือที่ใช้ในอุตสาหกรรม โดยมีสำนักงานภาคตะวันออกในประเทศไทยอยู่ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยในส่วนของสำนักงานนี้จะเป็นผู้ดูแลลูกค้าและให้บริการในส่วนของการซ่อมบำรุง ร่วมถึงงานด้านการวิจัย ภายในภูมิภาคใกล้เคียง

ในปัจจุบันมีหลายเทคนิคที่ใช้สำหรับการตรวจสอบคุณภาพเครื่องดื่มและน้ำ โดยใช้เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์เช่น เทคนิค คอนเวนชั่นนอล ฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคปี โดยเทคนิคนี้จะใช้กระตุ้นทีละความยาวคลื่น โดยเทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่ายแต่มีข้อจำกัดเล็กน้อยเนื่องจากการจะใช้เทคนิคนี้ต้องทราบความยาวคลื่นที่จะนำไปกระตุ้นสิ่งที่ต้องการตรวจสอบ เทคนิค Excitation-Emission Matrices โดยเทคนิคนี้จะสแกนได้หลายความยาวคลื่นพร้อมกัน ทำให้เห็นภาพได้ชัดเจนและสามารถนำไปใช้เป็นหนึ่งในคุณสมบัติจำเพาะของสารนั้น ๆ ได้ นอกจากนี้ยังสามารถนำแผ่นภาพ EEM ที่ได้ไปวิเคราะห์หาส่วนประกอบได้ แต่เทคนิคนี้จะใช้เวลาในการวิเคราะห์ค่อนข้างมาก

ในการศึกษาครั้งนี้จะนำเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ของบริษัท ฮอริบา จำกัด มาใช้ โดยเครื่องมือนี้ได้รับการพัฒนาให้มีความเร็วในการวิเคราะห์มากขึ้น รวมถึงมีการผลิตโปรแกรมสำเร็จรูปเพื่อความสะดวกในการนำไปใช้งานโดยมีการเปรียบเทียบระหว่างเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์สองรุ่น

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจหาสารในเครื่องแต่ละประเภทโดยใช้เครื่องตรวจวัดแสงฟลออเรสเซนต์ โดยแบ่งเครื่องดื่มออกเป็น 4 ประเภท คือ น้ำดื่ม น้ำอัดลม น้ำชาเขียว และน้ำชาเก็กฮวย

เพื่อเป็นตัวอย่างการนำเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ และแผ่นภาพ EEM ไปประยุกต์ใช้รวมถึงเปรียบเทียบความสามารถในการวัดของเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์สองรุ่น

1.3 ขอบเขตการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นการเปรียบเทียบแผ่นภาพ EEM ที่ได้จากเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ทั้งสองรุ่นและเป็นการหาแผ่นภาพ EEM ที่เป็นลักษณะเฉพาะของเครื่องดื่มแต่ละชนิดโดยวัดที่อุณกหภูมิห้อง

1.4. ประโยชน์ที่ได้รับ

เนื่องจากการใช้เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ และการนำแผ่นภาพ EEM มาใช้นั้นยังไม่เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทย ผลการศึกษาในครั้งนี้จะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาและนำเครื่องมือชนิดนี้ไปใช้เพิ่มเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 Fluorescence Spectrometer

เครื่อง Fluorescence Spectrometer ใช้สำหรับวัดค่าการเรืองแสงของสารในรูปแบบต่าง ๆ โดยอาศัยการกระตุ้นจากแหล่งกำเนิดแสง หรือปฏิกิริยาเคมี เหมาะสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยสามารถหาได้ทั้งเชิงปริมาณโดยตรง (Direct method) และโดยอ้อม (Indirect method) สามารถวิเคราะห์สารอินทรีย์และอนินทรีย์ได้ วิธีนี้มีสภาพไวสูง มีความเที่ยง ความแม่นสูง เหมาะสำหรับงานวิเคราะห์สารปริมาณน้อย (Trace analysis)

แหล่งกำเนิดแสงของฟลูออเรสเซนต์มีลักษณะคล้าย ๆ กับ ยูวี วิสิเบิล โดยผ่านโมโนโครมาเตอร์เพื่อเลือกความยาวคลื่นที่ต้องการในการกระตุ้น (Excitation) ก่อนส่งไปยังตัวอย่าง และวัดแสงที่ได้จากการปลดปล่อยจากสารตัวอย่าง (Emission) ซึ่งต้องตั้งอยู่ในตำแหน่ง 90° และเข้าสู่ตัวตรวจวัดซึ่งมีการขยายสัญญาณให้สูงขึ้นเนื่องจากความเข้มแสงของ การเรืองแสงจะต่ำมาก

2.1.1 หลักการวัด

ฟลูออเรสเซนต์สเปคโตรสโคปี (fluorescence spectroscopy) เป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์สารจากความสามารถในการดูดกลืนรังสีแล้วถูกกระตุ้น โดยโมเลกุลจากสถานะพื้นที่ถูกกระตุ้นไปยังระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้นจะมีความไม่เสถียร จึงเกิดการปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปแบบของโฟตอนเพื่อกลับสู่สถานะพื้น โฟตอนที่ถูกปลดปล่อยออกมาทำให้เกิดสเปกตรัมในช่วงฟลูออเรสเซนต์ที่ค่าพลังงานจำเพาะของแต่ละสาร

2.1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนต์

เนื่องจากเครื่องฟลูออเรสเซนต์ สเปกโตรมิเตอร์ เป็นเครื่องที่วัดความเข้มข้นของแสงที่สารสามารถดูดกลืนและเปล่งแสงออกมา จากนั้นจึงนำค่าความเข้มแสงที่ได้ไปใช้ในการวิเคราะห์ ดังนั้นค่าความเข้มของแสงจึงเป็นสิ่งสำคัญ ความเข้มของแสงที่วัดได้นั้นเกิดจากความเข้มของสารเป็นหลัก แต่ก็อาจจะเกิดความคลาดเคลื่อนได้จากปัจจัยอื่น ๆ ดังนี้

- ออกซิเจน ออกซิเจนในสารละลายจะส่งผลให้การเปล่งแสงของสารลดลง
- อุณหภูมิ อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้อิเล็กตรอนเกิดการชนกันมากขึ้น ทำให้เกิดการถ่ายเทพลังงาน จึงส่งผลให้แสงฟลูออเรสเซนต์ที่เปล่งออกมามีความเข้มข้นที่ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

○ ความหนืดของสารละลาย สารละลายที่มีความหนืดมากจะทำให้อิเล็กตรอนชนกันได้น้อยลงจึงส่งผลให้ความเข้มแสงเข้มมากขึ้น

○ พีเอช จะมีผลกับสารประกอบบางชนิดเช่นสารอะโรมาติก

○ โครงสร้างของสารเปล่งแสง จากการศึกษาพบว่า สารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนเปล่งแสงที่มีความเข้มมากกว่าสารที่มีโครงสร้างแบบอะลิฟาติกและอะลิไซคลิกคาร์บอนิลที่มีพันธะคู่

○ การดูดกลืนแสงของสารเปล่งแสง เมื่อแสงที่ปล่อยออกมาจากสารมีความยาวคลื่นใกล้เคียงกับแสงที่ตกกระทบ ทำให้อะตอมของสารเปล่งแสงดูดกลืนแสงบางส่วน

○ การกระเจิงของแสง แสงกระเจิงเป็นแสงรบกวนที่เกิดขึ้นได้จากสีชีวโมเลกุลขนาดใหญ่หรือจากความขุ่น ซึ่งสามารถลดทอนได้จากการกรองแสงที่เหมาะสม โดยแสงรบกวนที่พบมากแบ่งได้เป็น 5 ประเภทหลักได้แก่

- Rayleigh scattering เกิดขึ้นเมื่อ อะตอมที่ได้รับการกระตุ้นรับและปลดปล่อยพลังงานโดยไม่มีการสูญเสีย ทำให้ความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืนและคายมีค่าเท่ากัน
- Raman scattering เกิดเนื่องจากโมเลกุลที่ได้รับพลังงานสูญเสียพลังงานขณะตกกลับไปยังสถานะพื้นทำให้แสงฟลูออเรสเซนต์มีความยาวคลื่นมากกว่าแสงตกกระทบ
- แสงตกกระทบทุติยภูมิ เป็นแสงที่มีความยาวคลื่นเป็น 2 เท่าของคลื่นตกกระทบ ดังนั้นในกรณีที่คลื่นแสงฟลูออเรสเซนต์ห่างจากคลื่นตกกระทบมากอาจเกิดการรบกวนได้
- การกระเจิงแสงของสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ สารชีวโมเลกุลจำพวกโปรตีนจะกระเจิงแสงฟลูออเรสเซนต์ทำให้การวิเคราะห์ที่ได้มีความคลาดเคลื่อน
- การกระเจิงแสงเนื่องจากความขุ่น สารแขวนลอยสามารถสะท้อนแสงได้ทำให้ความเข้มแสงที่ออกมามีมากกว่าความเป็นจริง

○ สารประกอบฟลูออเรสเซนต์มีความเข้มข้นสูงเกินไป ความเข้มข้นที่สูงมากเกินไปนี้จะทำให้แสงส่องตกกระทบไม่ทั่วถึง

○ แสงรบกวนจากคิวเวทท์ กรณีนี้อาจเกิดจากการล้างคิวเวทท์ไม่สะอาดก่อนใช้งาน หรือในเนื้อของคิวเวทท์มีสารเจือปนอยู่

○ แสงรบกวนจากสารรบกวน เกิดจากสารรบกวนที่ละลายอยู่ในสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

○ การสลายตัวของสารตัวอย่าง เนื่องจากสารตัวอย่างบางประเภทอาจไวต่อการถูกทำลายจากแสง ทำให้วัดค่าได้ต่ำกว่าความเป็นจริง ดังนั้นควรจะเก็บสารดังกล่าวไว้ในที่มืดและควรวัดความเข้มแสงอย่างรวดเร็ว

○ การถ่ายเทพลังงาน เกิดจากโมเลกุลของสารฟลูออเรสเซนต์สูญเสียพลังงานให้กับโมเลกุลของสารอื่น ๆ ที่อยู่ในสารละลาย ทำให้ความเข้มแสงลดลง

2.1.3 ชนิดของเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์

โดยทั่วไปแล้วจะแบ่งชนิดของเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ตามระบบทางเดินแสงได้ 2 ชนิดคือ

1.ชนิดลำแสงเดี่ยว พบในเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ชนิดที่ใช้ตัวกรอง แสงเป็นตัวแยกแสง ในการวัดความเข้มของแสงจะใช้ลำแสงเดียวกันสำหรับวัดสารอ้างอิง สารมาตรฐานและสารตัวอย่าง นิยมวางสารตัวอย่างและตัวไวแสงเป็นมุมฉาก เพื่อลดการรบกวนจากแสง ที่ไม่ต้องการโดยตัวกรองแสงตกกระทบจะดูดกลืนแสงในย่านที่มองเห็นได้และตัวกรองแสงปล่อยออกจะดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต

2.ชนิดสำแสงแยก สร้างขึ้นเพื่อลดความผิดพลาดเนื่องจากความไม่คงที่ของแสงตกกระทบ โดยการแยกลำแสงตกกระทบส่วนหนึ่งให้ส่องไปยังตัวไวแสงอ้างอิงอยู่ตลอดเวลาที่วัดความเข้มแสงดังนั้นสัญญาณไฟฟ้าที่วัดได้จากตัวไวแสงจะถูกเปรียบเทียบกับสัญญาณไฟฟ้าที่วัดได้จากตัวไวแสงอ้างอิง จากนั้นขยายให้เหมาะสมสำหรับการอ่านค่าครั้งต่อไป ดังนั้นความแม่นยำในการวัดความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนต์จึงมากขึ้น ระบบนี้นิยมใช้ เกรตติง 2 อันเป็นตัวแยกแสง โดยเกรตติงตัวแรกจะทำหน้าที่กำหนดความยาวคลื่นแสงที่ตกกระทบ ส่วนเกรตติงตัวที่สองจะทำหน้าที่เลือกแสงที่เปล่งออกมาให้ตกกระทบตัวไวแสง เกรตติงสามารถ แยกความยาวคลื่นแสงได้ละเอียดและต่อเนื่อง จึงสามารถประยุกต์ใช้งานและเพิ่มประสิทธิภาพใน การวิเคราะห์ปริมาณสารได้ดีกว่าการใช้ตัวกรองแสง

2.1.4 ข้อควรปฏิบัติในการใช้งาน

เพื่อความถูกต้องในการวัดความเข้มแสง และเพื่อความปลอดภัยจึงควรปฏิบัติตามข้อกำหนดดังนี้

1. ติดตั้งเครื่องมือในสถานที่ที่มีอุณหภูมิคงที่ ปราศจากการสั่นสะเทือน

2. ก่อนใช้งานควรเปิดหลอดไฟกำเนิดแสงไว้เพื่อให้หลอดไฟพร้อมต่อการใช้งาน และห้ามมองแสงจากหลอดไฟแสงโดยตรง เพราะแสงอัลตราไวโอเลตอาจทำลายกระจกตาได้

3. ควรใช้คิวเวทท์ที่ไม่มีสาร เปล่งแสงเจือปนในเนื้อคิวเวทท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ใช้สารเคมีที่มีความบริสุทธิ์สูงและปราศจากการเจือปนจากสารเปล่งแสงอื่น ๆ

5. ควรเก็บสารมาตรฐานไว้ในลักษณะของสารละลายที่มีความเข้มข้นสูง และเมื่อต้องการใช้ งานจึงนำมาเจือจางด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อป้องกันสารมาตรฐานถูกทำลายในขณะเก็บไว้

6. สารตัวอย่างและสารมาตรฐาน ควรมีค่าพีเอช และมีอุณหภูมิเท่า ๆ กัน เพื่อลดอิทธิพลของพีเอช และอุณหภูมิที่อาจทำให้ค่าเปลี่ยนแปลง

7. ไม่ควรให้มีฟองอากาศในสารละลาย

8. ควรเก็บน้ำยาต่าง ๆ ไว้ในขวดแก้วชนิดบอโรซิลิเคท หรือขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทีลีนที่มีฝาปิดสนิท

9. หลังจากวัดความเข้มของแสงเสร็จแล้ว ควรล้างคิวเวทท์ทันที เพื่อป้องกันสารตกค้างในคิวเวทท์ซึ่งอาจจะทำให้มีผลต่อการวัดสารในครั้งต่อไป

10. เลือกขนาดและชนิดของคิวเวทท์ให้เหมาะสมกับช่วงและสารที่ต้องการ

2.1.5 ปัญหาที่อาจจะพบและสาเหตุของปัญหา

เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์อาจเกิดความผิดพลาดได้จากหลายสาเหตุ ปัญหาที่พบบ่อยมักจะเกิดขึ้นจากการปนเปื้อนของขั้นตอนการเตรียมสาร แต่ก็อาจจะเกิดปัญหาอื่น ๆ ได้เช่น

แสงจากหลอดไฟมีความเข้มไม่คงที่ สาเหตุอาจเกิดจากอุณหภูมิที่ต่ำเกินไป กระแสไฟฟ้าไม่เพียงพอ หรือหลอดไฟฟ้าเสื่อม

ค่าที่วัดได้ต่ำกว่าที่ควรจะเป็น สาเหตุอาจเกิดจาก มีสารเจือปนในตัวอย่าง สารตัวอย่างมีความเข้มข้นมากเกินไป ความเข้มข้นของสารมาตรฐานไม่ถูกต้อง ฯลฯ

และหากค่าที่วัดได้สูงกว่าที่ควรจะเป็น สาเหตุอาจจะเกิดจากมีแสงรบกวน มีสารเปล่งแสงเจือปนอยู่ในสารตัวอย่าง ตัวกรองแสงทั้งสองมีความกว้างที่ซ้อนทับกัน รวมถึงสารมาตรฐานที่มีค่าไม่ถูกต้องด้วย

2.1.6 ความสามารถในการวิเคราะห์ทดสอบ

1. วิเคราะห์ตัวอย่างในรูปของเหลวและของแข็ง

2. วิเคราะห์หาค่า excitation, emission, ค่าคงที่ของ wavelength synchronous และ การสแกนหาค่าคงที่ของพลังงาน synchronous spectral

3. สามารถวิเคราะห์ได้ในหลายรูปแบบเช่น การดูดกลืนแสง การคายแสง ไคเนติก EEM เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สามารถสแกนค่า excitation และ emission ในรูป 3 มิติได้

5. สามารถสแกนค่า synchronous และ kinetic ในรูป 3 มิติได้

2.1.7 การประยุกต์ใช้

- การศึกษาทางพิษวิทยา
- การศึกษาทางการแพทย์
- การศึกษาปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสารตั้งต้น
- การวิเคราะห์วิตามิน และสารอาหาร
- การวิเคราะห์สารอินทรีย์
- พลาสติก
- ยางสังเคราะห์และยางธรรมชาติ

2.1.8 ตัวอย่างเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยนี้

รูปที่ 2.1 เครื่อง Duetta Fluorescence and Absorbance Spectrometer จากบริษัท ฮอริบา จำกัด

ข้อมูลจำเพาะของเครื่อง

1.สามารถใช้ได้ทั้งโหมดดูดกลืนแสงและฟลูออเรสเซนต์

2.ช่วงรับแสงฟลูออเรสเซนต์ของตัววัดแสงอยู่ที่ 250-1,100 nm

3.ช่วงรับแสงดูดกลืนของตัววัดแสงอยู่ที่ 250-1000 nm

4.ใช้ได้กับคอมพิวเตอร์วินโดว์ 7 ขึ้นไป

5.ใช้โปรแกรม ExSpec ซึ่งเป็นโปรแกรมเฉพาะที่บริษัท ฮอริบา จำกัด พัฒนาขึ้นมาซึ่งจะมีความเร็วที่มากขึ้น และมีความสะดวกต่อการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.9 เทคนิคการวัดแสงฟลูออเรสเซนต์

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เทคนิค Excitation-Emission Matrices (EEM) ในการวิเคราะห์ซึ่งในส่วนมากเทคนิคนี้จะนำไปใช้วิเคราะห์สารอินทรีย์(Dissolved Organic Matter, DOM)ในน้ำ

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Simultaneous determination of caffeine, caramel and riboflavin in cola-type and energy drinks by synchronous fluorescence technique coupled with partial least squares

เนื้อหาในงานวิจัย งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการหลายตัวแปรสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนและคาราเมลคลาส IV อย่างรวดเร็วในเครื่องดื่มประเภทโคล่าและคาเฟอีน, คาร์เมลคลาส III และไรโบฟลาวินในเครื่องดื่มให้พลังงาน สเปคตรัมเรืองแสงแบบซิงโครนัสถูกบันทึกที่ความยาวคลื่นคงที่ 90 นาโนเมตรจาก 200 ถึง 500 นาโนเมตร ค่าอ้างอิงของความเข้มข้นของการวิเคราะห์โดยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พร้อมการตรวจจับการเรืองแสงรวมกับวิธีการเติมมาตรฐานถูกใช้เพื่อสร้างแบบจำลองกำลังสองน้อยที่สุด (PLS) บางส่วน ค่าสัมประสิทธิ์สูงของสารยับยั้ง (> 0.99) ได้รับในช่วง 0.2-4.2, 0.25-5.25, 0.4-10.0 และ 0.007-0.054 mg L-1 สำหรับคาเฟอีน, คาราเมลคลาส III, คาราเมลคลาส IV และริบฟลาวินตามลำดับ ใช้แบบจำลอง PLS เพื่อกำหนดความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ในตัวอย่างเครื่องดื่มต่าง ๆ วิธีนี้ให้ผลลัพธ์ที่เปรียบเทียบได้กับวิธีที่พบโดยใช้วิธี HPLC

Explorative study of apple juice fluorescence in relation to antioxidant properties

เนื้อหาในงานวิจัย ในงานวิจัยนี้ผู้ทำการทดลองใช้วิธี EEM ทดสอบกับน้ำแอปเปิ้ล โดยกำหนดให้ ค่าแสงกระตุ้น/ค่าแสงที่คายออกมาเป็น270/315 nm (310, 370) / 455 nm และ 430 / (550, 680) nm ตามลำดับ และวิเคราะห์การถดถอยของฟลูออเรสเซนต์สเปกตรัม จากนั้นจัดเรียงเป็นอาร์เรย์สามทางโดยใช้วิธีการถดถอย N กำลังสองน้อยที่สุด (NPLS1 และ NPLS2) และการวิเคราะห์สเปกตรัมที่แผ่ออกโดยวิธีกำลังสองน้อยที่สุด (PLS1 และ PLS2) คุณสมบัติการเรืองแสงและสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำผลไม้ แบบจำลองสำหรับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดได้รับโดยใช้วิธี NPLS1 กับ EEM พารามิเตอร์แบบจำลองมีดังนี้: Ray-0.802, RPD = 2.3 สำหรับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและ Rv = 0.808 และ RPD = 2.3 สำหรับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด ผลลัพธ์เหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้ฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคปีสำหรับตรวจคัดกรองน้ำแอปเปิ้ลสำหรับคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสืบหาแหล่งที่มาของสารอินทรีย์ละลายน้ำบริเวณอ่าวประดู่และบริเวณใกล้เคียง นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง โดยเทคนิค 3D EEM Fluorescence Spectroscopy เนื้อหาในงานวิจัย ในงานวิจัยนี้ได้นำเทคนิค EEM ฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคปีมาใช้วิเคราะห์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสารของอินทรีย์ในแหล่งน้ำบริเวณนิคมอุตสาหกรรม โดยการเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณผิวดินจากต้นน้ำและเก็บน้ำผิวดินจากปลายน้ำนำไปตรวจวัดโดยแสดงออกมาเป็นแผนภาพ EEM น้ำที่มาจากบริเวณแหล่งรองรับการระบายน้ำจากนิคมอุตสาหกรรมมีสารปนเปื้อมากกว่าน้ำจากแหล่งอื่นอ่ายงเห็นได้ชัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีทำการทดลอง

ในการทดลองนี้จะแบ่งขั้นตอนออกเป็น 2 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนการเตรียมเครื่องดื่มตัวอย่าง และขั้นตอนการใช้เครื่องมือวิเคราะห์

3.1 ขั้นตอนการเตรียมเครื่องดื่มตัวอย่าง

1. เลือกประเภทเครื่องดื่มที่หาพบได้ตามร้านสะดวกซื้อ
2. แยกประเภทเครื่องดื่มได้ 4 ประเภท น้ำดื่ม น้ำอัดลม น้ำชาเขียว และน้ำชาเก็กฮวย โดยในน้ำแต่ละประเภทจะมีส่วนประกอบระบุไว้ในฉลากสินค้าโดย

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงส่วนประกอบของเครื่องดื่มที่อ่านได้จากฉลากสินค้า

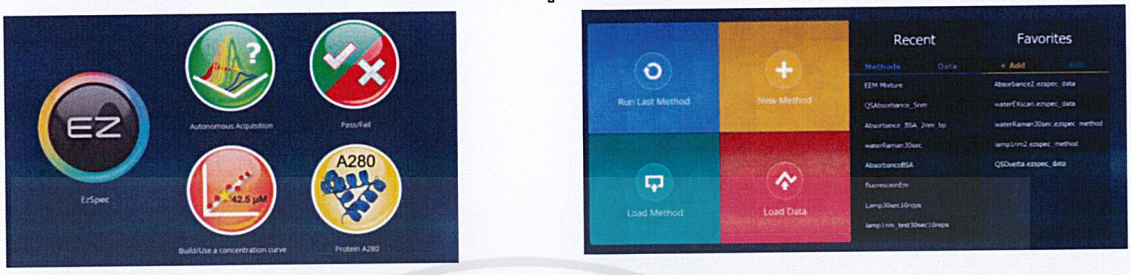
Type of beverages		Ingredients
Water		Water
Soft drink	Cola type	Sugar, Carbon dioxide, Caffeine, Food additives (color and flavor)
	Sparkling type	Water, Carbon dioxide
Green tea		Tea, Sugar, Caffeine
Chrysanthemum tea		Chrysanthemum tea, Sugar, Caffeine

รูปที่ 3.1 ตัวอย่างน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ขั้นตอนการใช้เครื่องมือวิเคราะห์

1. ทำความสะอาดคิวเวทท์ที่จะใช้ในการตรวจ
2. เปิดเครื่องวิเคราะห์และโปรแกรมที่ใช้กับเครื่องฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคมิเตอร์โดย ในการทดลองครั้งนี้ใช้เป็นโปรแกรมสำเร็จรูปจากบริษัท ฮอริบา จำกัด ชื่อว่า ExSpec

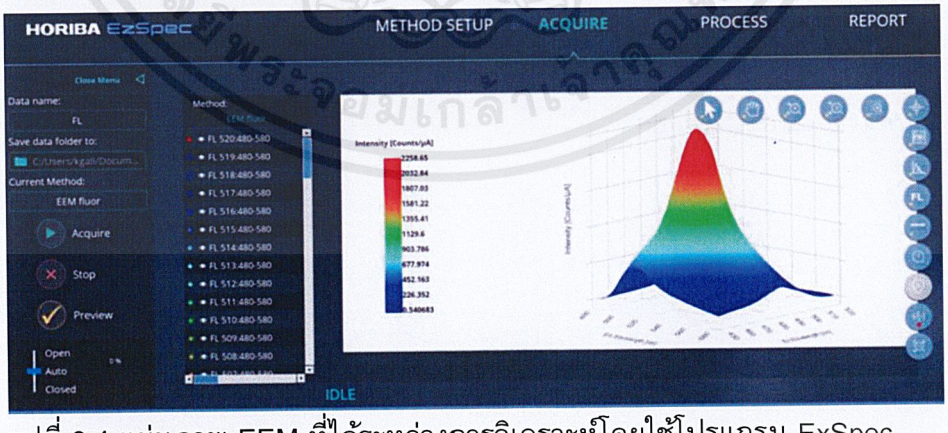


รูปที่ 3.2 โปรแกรม ExSpec

3. เลือกโหมดการวัดที่ฟลูออเรสเซนต์ EEM

รูปที่ 3.3 แถบเครื่องมือในโปรแกรม ExSpec

4. ตั้งค่าความโปรแกรมการวัดโดยให้ความยาวคลื่นที่ตกกระทบตั้งแต่ 250-600 นาโนเมตร และรับคลื่นตั้งแต่ 250-550 นาโนเมตร
5. ใส่ตัวอย่างน้ำดื่มลงในคิวเวทท์โดยใช้หลอดหยดประมาณ 1 ใน 3 ของคิวเวทท์โดยไม่ให้เกิดฟอง
6. ใส่คิวเวทท์ลงในเครื่องและเริ่มทำการวิเคราะห์
7. ผลที่ได้จะเป็นภาพ EEM (Emission-Excitation Metrix)

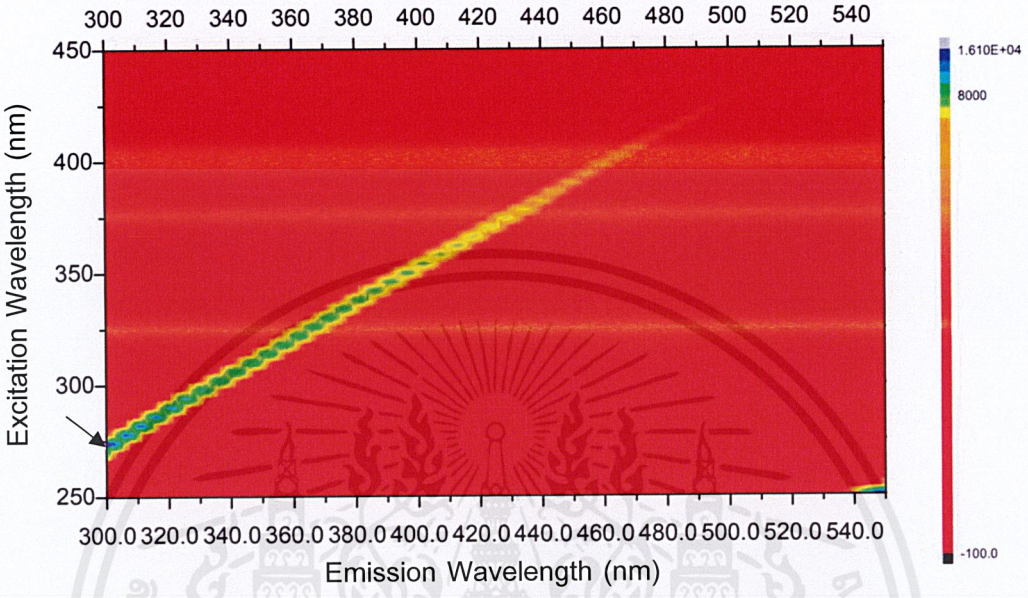


รูปที่ 3.4 แผ่นภาพ EEM ที่ได้ระหว่างการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม ExSpec

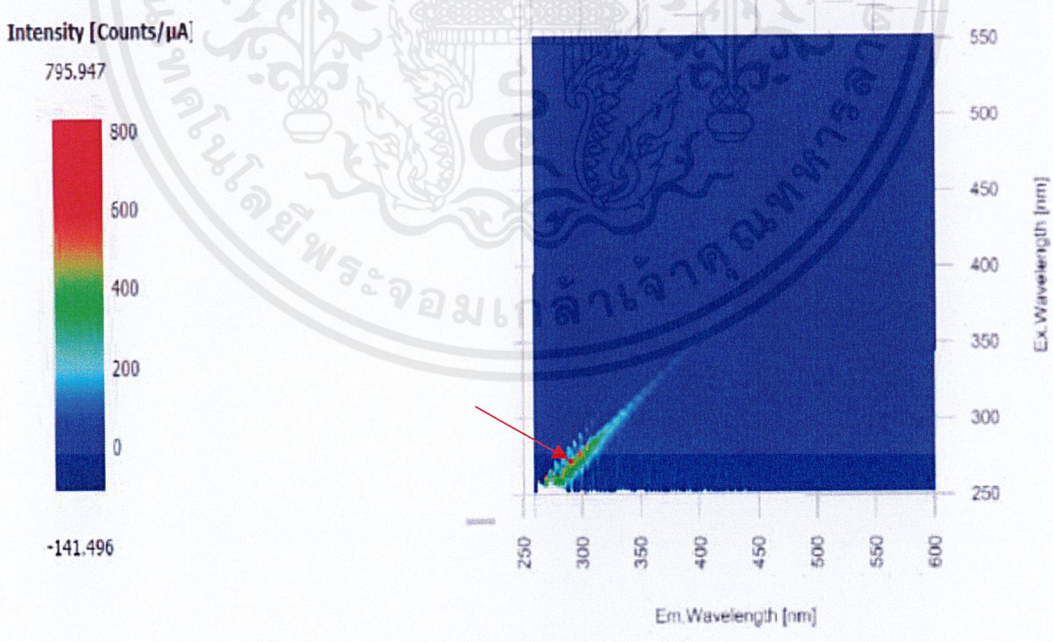
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง และ วิเคราะห์ผลการทดลอง



ภาพที่ 4.1 แผ่นภาพ EEM ของ Water C จากเครื่อง Fluoromax 4



ภาพที่ 4.2 แผ่นภาพ EEM ของ Water C
จากเครื่อง Duetta Fluorescence and Absorbance Spectrometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อสังเกตจากภาพที่ 4.1 และ 4.2 จะพบว่าภาพที่ 4.1 จะมีความชัดและละเอียดมากกว่าภาพที่ 4.2 เมื่อสังเกตที่จุดที่มีสีเข้มที่สุด นั่นคือจุดที่ทำการอ่านค่า(บริเวณหัวลูกศร)จะพบว่า ค่าที่อ่านได้มีความใกล้เคียงกันซึ่งในกรณีนี้ก็คือ ที่ภาพ 4.1 จะอ่านค่าได้ที่ความยาวคลื่นดูดกลืน / ความยาวคลื่อคาย = -275/300 และในภาพที่ 4.2 จะอ่านค่าได้ที่ 275/290

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงความยาวคลื่นของจุดยอดของกราฟที่ปรากฏของเครื่องดื่มแต่ละชนิด

TYPE OF BEVERAGES	WAVELENGTH AT PEAK (EXCITATION(NM)/EMISSION(NM))				
	260/340	270/290	275/315	280/340	290/340
WATER A		×			×
WATER B		×			
WATER C		×			
WATER D		×			×
WATER E		×			
COLA A				×	
COLA B				×	
COLA C				×	
SPARKING WATER		×			
GREEN TEA A			×		
GREEN TEA B	×		×		×
GREEN TEA C	×		×		
GREEN TEA D	×				
TEA A		×	×		×
TEA B		×	×		

× คือ ตรวจพบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงความยาวคลื่นของเครื่องดื่มแต่ละชนิดและสารที่คาดว่าจะพบ

	ความยาวคลื่นของของเครื่องดื่มแต่ละชนิดแสดงในรูปของ Excitation(nm)/Emission(nm)	**สารที่คาดว่าจะพบ**
น้ำดื่ม	314/408, 359/443, 389/508 และ 290/351	Humic และ Tryptophan ในรูปแบบของสารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ในน้ำ (Dissolve Organic Matter, DOM)[2]
น้ำอัดลม	288,331 โดยที่ $\Delta\lambda$=90 (ในการวัดได้ใช้วิธีการวิเคราะห์แบบซิงโครนัส ฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรสโคปี	คาเฟอีน และ น้ำตาล (Caramel class IV)[8]
น้ำชา	400/520, 600	Anthocyanins, Catechins, Theaflavins และ Thearubigins, Chlorophyll[4]

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าสเปกตรัมที่เกี่ยวของกับผลการทดลอง

Wavelength at peak in Excitation(nm)/ Emission(nm)	***Wavelength from reference Excitation(nm)/ Emission(nm)***	***Expect substances***
260/340	260/280-460	Humic[2],[5],[10]
	250/348	Phenanthrene[5],[10]
270/290	275/300-310	Tyrosine[5],[10]
275/315	275/300-310	Tyrosine[5],[10]
	279/317	Catechin[4],[5],[10]
280/340	275/340	Tryptophan[5],[10]
	280/355	Malvidin3-0-β-glucoside[5],[10]
290/340	280/355	Malvidin3-0-β-glucoside[5],[10]
	298/326	Vitamin E[5],[10]

จากผลการทดลองจะพบว่าในกลุ่มของน้ำเปล่านั้นจะมีจุดยอด (Excitation/Emission(nm)) ที่ 270/290 เป็นหลัก รวมถึง Sparking Water และน้ำชาเก็กฮวย ก็มีจุดยอดอยู่ที่เดียวกัน และเมื่อดูจากตารางแสดงค่าสเปกตรัมที่เกี่ยวของกับผลการทดลอง (ตารางที่4.3) จะพบว่าสารที่พบมีแนวโน้มความเป็นไปได้คือสาร Tyrosine โดยสารตัวนี้เป็นกรดอมิโนชนิดหนึ่งซึ่ง เป็นสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในอาหารทะเล ผักและผลไม้ รวมถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นกรดอมิโนที่พบมาในน้ำธรรมชาติ และจากภาพ EEM ที่แสดงจะพบว่าความสูงของจุดยอดจุดนี้มีน้อยมาก แสดงให้เห็นว่าน้ำมีสารTyrosine ปนเปื้อนในปริมาณน้อย

ในส่วนของน้ำอัดลมจะพบว่าน้ำอัดลมจะมีจุดยอดที่ความยาวคลื่นที่เดียวกันคือ 280/340 ซึ่งเมื่อดูจากตารางสารอ้างอิงจะพบว่าสารที่เป็นไปได้คือ Tryptophan หรือ Malvidin 3-0-β-glucoside ซึ่ง Tryptophan เป็นกรดอมิโนชนิดหนึ่งที่พบมาในสารอาหารธรรมชาติที่โปรตีนสูง ในส่วนของ Malvidin 3-0-β-glucosideจะถูกพบในผิวของผลไม้ที่มีสีแดง ในส่วนของ Tryptophan นั้นยังสามารถพบในรงควัตถุสีน้ำตาลได้อีกด้วย ดังนั้นน้ำอัดลมที่ระบุว่าแต่งสีธรรมชาติจึงมีโอกาศที่จะมีกรดอมิโนชนิดนี้จะเจือปนเข้าไปได้

ในส่วนของน้ำชานั้นจะมีจุดยอดร่วมกันที่ความยาวคลื่น 275/315 โดยที่ความยาวคลื่นนี้มีความเป็นไปได้ที่จะเป็น Tyrosine และ Catechin โดย Tyrosine นั้นเป็นกรดอมิโนชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในอาหารทะเลและผัก ในส่วนของ Catechin นั้นเป็นสารที่พบมากในใบชา มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นในกรณของความยาวคลื่นที่พบจึงมีแนวโน้มเป็นสาร Catechin

ความยาวคลื่น 260/340 ที่พบใน green tea B green tea C green tea D มีความเป็นไปได้ว่าจะเป็น Humic และ Phenathrene โดย Humic เป็นส่วนประกอบหลักของดิน และ Phenathrene เป็นสารที่พบในควันบุหรี่ ดังนั้นสารที่พบจึงมีแนวโน้มเป็นสาร Humic ซึ่งอาจปนเปื้อนมาในขั้นตอนการทำน้ำชา

ในส่วนของจุดยอดที่ความยาวคลื่น 290/340 ที่พบในน้ำดื่ม water A water D green tea B tea A มีความเป็นไปได้ที่จะเป็น Malvidin 3-0-β-glucoside หรือ Vitamin E โดย Malvidin 3-0-β-glucoside จะถูกพบในผิวของผลไม้ที่มีสีแดง ในส่วนของ Vitamin E นั้นเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะถูกเติมลงในน้ำชา ในส่วนของน้ำดื่มมีโอกาศที่จะปนเปื้อนได้ในขั้นตอนการเตรียมน้ำ ดั้งนั้นที่ความยาวคลื่นนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะเป็น Vitamin E

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุป

ตารางที่ 5.1 ตารางสรุปความยาวคลื่นที่จุดยอด และสารที่คาดว่าจะพบในน้ำดื่มแต่ละชนิด

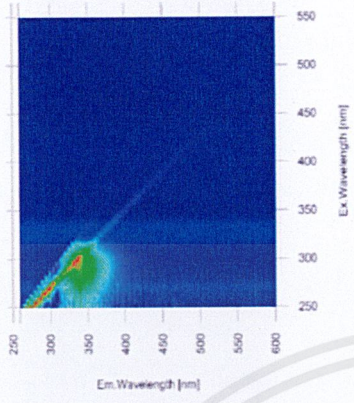
Type of Beverages	Wavelength at Peak Excitation(nm)/Emission(nm)	Expectation substances
Water A	270/290, 290/340	Tyrosine, Vitamin E
Water B	270/290	Tyrosine
Water C	270/290	Tyrosine
Water D	270/290, 290/340	Tyrosine, Vitamin E
Water E	270/290	Tyrosine
Cola A	280/340	Tryptophan
Cola B	280/340	Tryptophan
Cola C	280/340	Tryptophan
Sparking Water	270/290	Tyrosine
Green Tea A	275/315	Catechin
Green Tea B	260/340, 275/315, 290/340	Humic, Catechin, Vitamin E
Green Tea C	260/340, 275/315	Humic, Catechin
Green Tea D	260/340	Humic
Tea A	270/290, 275/315, 290/340	Tyrosine, Catechin, Vitamin E
Tea B	270/290, 275/315	Tyrosine, Catechin

จากผลการทดลองพบว่า ในน้ำดื่มและน้ำอัดลมไม่ผสมสีจะพบ Tyrosine เป็นหลัก เนื่องจากเป็นกรดอมิโนที่พบได้ตามธรรมชาติ โดยมี 2 แบรนด์ คือ Nestle และ Numtip มี Vitamin E ซึ่งคาดว่าน่าจะปนเปื้อนมาจากขั้นตอนการเตรียมน้ำ ในส่วนของน้ำอัดลมจะมี Tryptophan จากการแต่งสี น้ำชาจะมี Catechin มาจาใบชาเป็นสารประกอบหลักที่พบ โดยมีชาเขียว 3 ชนิด มีสาร Humic จากดินปนเปื้อนและชาเก็กฮวยมีสาร Tyrosine นอกจากนี้ ชาเขียว Green tea B และ ชาเก็กฮวย Tea A มี Vitamin E ผสมอยู่ด้วย และจากแผ่นภาพ EEM จะพบว่าเครื่องดื่มแต่ละชนิดมีจุดยอดที่เป็นลักษณธจำเพราะของตัวเองโดย น้ำดื่มและน้ำอัดลมไม่ผสมสีจะมีจุดยอดจำเพาะที่มีความยาวคลื่นอยู่ที่ 270/290 น้ำอัดลมที่ผสมสีจะจุดยอดจำเพาะที่ความยาวคลื่นที่ 275/340 และน้ำชาจะมีจุดยอดจำเพาะที่ความยาวคลื่น 275/325 nm

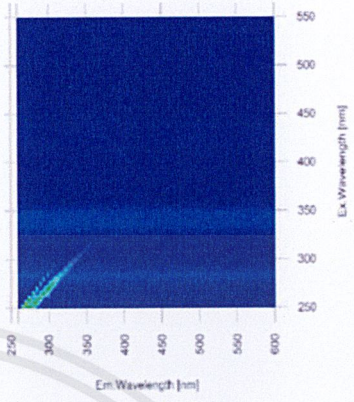
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

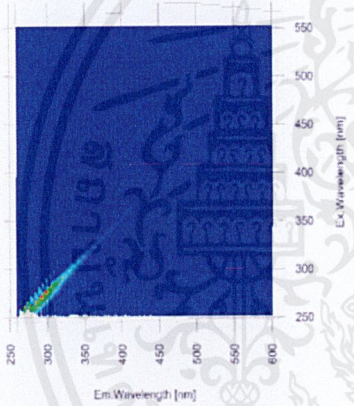
ผลการทดลอง



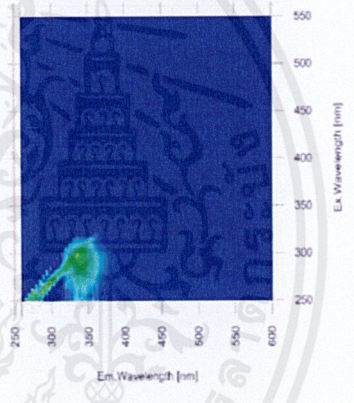
Water A



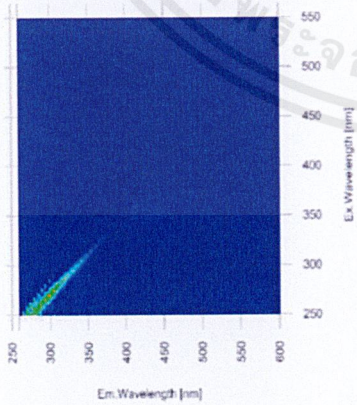
Water BI



Water C

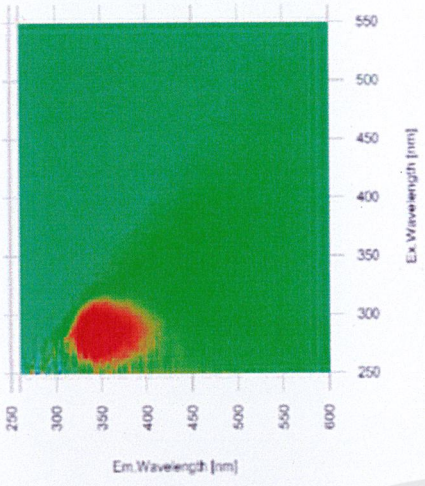


Water D

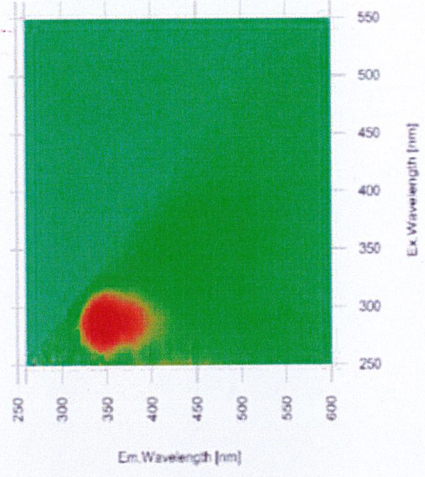


Water E

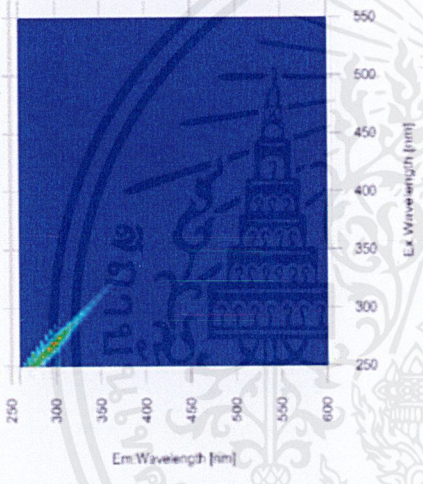
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



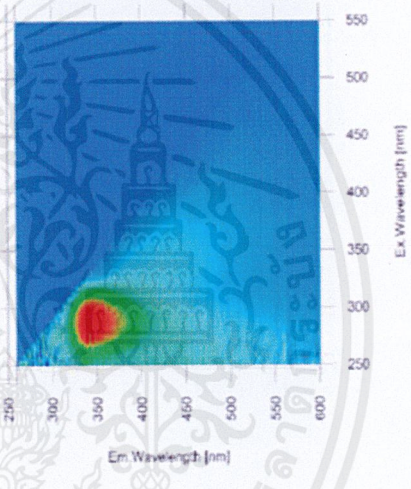
Cola A



Cola B

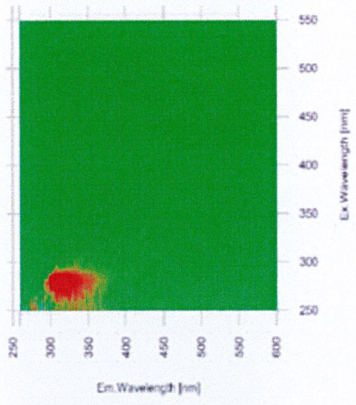


Sparkling Water

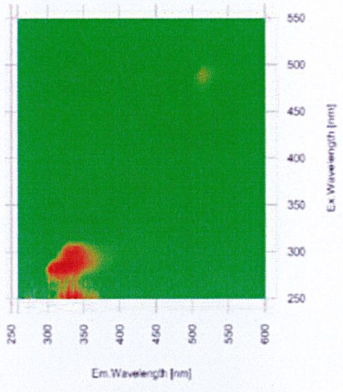


Cola C

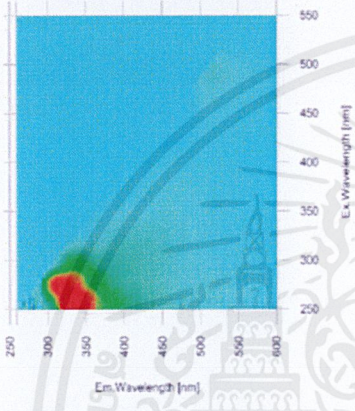
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



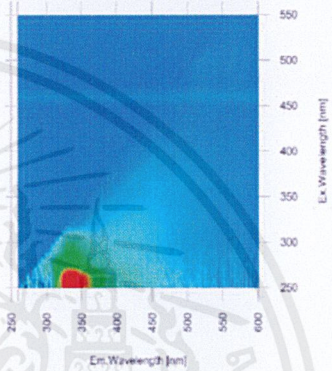
Green Tea A



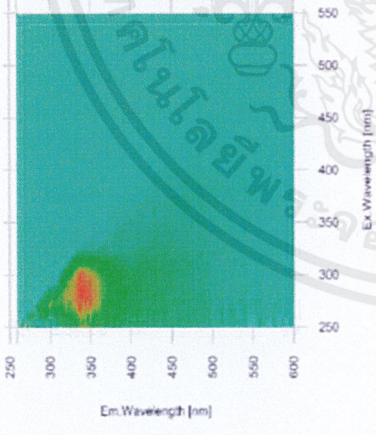
Green Tea B



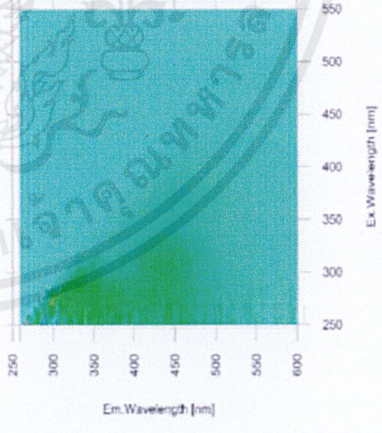
Green Tea C



Green Tea D



Tea A



Tea B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] Dong Y., Liu X., Mei L., Feng C., Yan C., He S.,2014. LED-induced Fluorescence system for tea classification and quality assessment. Journal of Food Engineering 137:95-100

[2] Heibati, M., Stedmon, C.A., Stenroth, K., Rauch, S., Toljander, J., Säve-Söderbergh, M., Murphy, K.R., 2017. Assessment of drinking water quality at the tap using fluorescence spectroscopy. Water Res. 125:1-10.

[3] Orzel J., Daszykowski M.,2014. A rapid validation of the antioxidant capacity of food commodities based on their fluorescence excitation emission spectra as applicable to coffee and peppermint extracts. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems

[4] Shan J., Wang X., Russel M., Zhao J., 2017. Rapid determination of flavonoids in green tea by synchronous fluorescence spectra coupled with chemometrics. An International Journal for Rapid Communication 50: Issue 9

[5] Sikorska E.,2019. Fluorescence spectroscopy and chemometrics in analysis of beverages. Quality Control in the Beverage Industry 17:161-203.

[6] TongHow Z., Busetti F., Linge KL., Kristiana I., Joll CA., Charrois JWA., 2014. Analysis of free amino acids in natural waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography 1370:135-146

[7] Włodarska K., Pawlak-Lemańska K., Khmelinskii I., Sikorska E., 2016. Explorative study of apple juice fluorescence in relation to antioxidant properties. Food Chemistry 210:593-599

[8] Žiak L.,Májek P.,Hrobonová K.,Čacho F.,Sádecká J., 2014. Simultaneous determination of caffeine, caramel and riboflavin in cola-type and energy drinks by synchronous fluorescence technique coupled with partial least squares. Food Chemistry 159:282-286

[9] ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2544. บทที่ 13 เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์. ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์ บัณาธิการ เครื่องมือวิทยาศาสตร์. หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา ขอนแก่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[10] ชนชนก อรุณเลิศ, สุภกิจ จิ๋วเจริญ, 2014. การสืบหาแหล่งที่มาของสารอินทรีย์ละลายน้ำบริเวณอ่าวประดู่และบริเวณใกล้เคียงนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยองโดยเทคนิค 3D EEM Fluorescence Spectroscopy. สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ

[11] นัดดา โปดำ., 2007. การใช้เทคนิคซินโครนัสฟลูออเรสเซนซ์ในการตรวจวัดสารอินทรีย์จากน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ปนในน้ำผิวดิน. วิทยานิพนธ์ (วท.ม.(การจัดการสิ่งแวดล้อม)) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้