

การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าของ
ไรโบฟลาวินและไรโบฟลาวิน-5-ฟอสเฟต (FMN)
โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

ELECTROCHEMICAL DETECTION OF
RIBOFLAVIN AND RIBOFLAVIN-5-PHOSPHATE (FMN)
BY BORON-DOPED DIAMOND THIN-FILM ELECTRODE
COMPARED WITH GRAPHITE ELECTRODE

อัญชญา ปรีชาวรพันธ์
ANCHANA PREECHAWORAPUN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดำเนินการตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2546

ISBN 974-324-773-4

การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าของ
ไรโบฟลาวินและไรโบฟลาวิน-5'-ฟอสเฟต (FMN)
โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

ELECTROCHEMICAL DETECTION OF
RIBOFLAVIN AND RIBOFLAVIN-5'-PHOSPHATE (FMN)
BY BORON-DOPED DIAMOND THIN-FILM ELECTRODE
COMPARED WITH GRAPHITE ELECTRODE



อัญชญา ปรีชาวรพันธ์
ANCHANA PREECHAWORAPUN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 48933
วัน, เดือน, ปี 13 ส.ค. 2547

พ.ศ.2546
ISBN 974-324-773-4

.b.....
.i.....

**ELECTROCHEMICAL DETECTION OF
RIBOFLAVIN AND RIBOFLAVIN-5'-PHOSPHATE (FMN)
BY BORON-DOPED DIAMOND THIN-FILM ELECTRODE
COMPARED WITH GRAPHITE ELECTRODE**

ANCHANA PREECHAWORAPUN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2003

ISBN 974-324-773-4

COPYRIGHT 2003



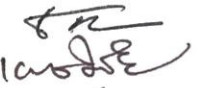
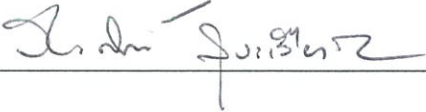
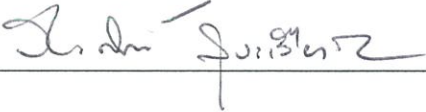
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าของไรโบฟลาวิน และไรโบฟลาวิน-5'-ฟอสเฟส (FMN) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์
ELECTROCHEMICAL DETECTION OF RIBOFLAVIN AND RIBOFLAVIN-5'-PHOSPHATE (FMN) BY BORON-DOPED DIAMOND THIN-FILM ELECTRODE COMPARED WITH GRAPHITE ELECTRODE

ชื่อนักศึกษา นางสาวอัญชญา ปรีชาวรพันธ์
รหัสประจำตัว 42065502
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา เคมี (เคมีวิเคราะห์)
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.สมศักดิ์ เชียร์ศิริกุล

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	
ผศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์	
รศ.สมศักดิ์ เชียร์ศิริกุล	
ผศ.ดร.เผชญิชัย ไชยสิทธิ์	
ผศ.ดร.วีระศักดิ์ สุระเรืองชัย	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 13 มิถุนายน 2546 เวลา 13.00-14.30 น.

สถานที่สอบ ณ อาคารจุฬารณวลัยลักษณ์ 2 ชั้น 3 ห้อง 307

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.บุญวัฒน์ อัฐ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....10.....เดือน.....มิถุนายน.....พ.ศ.....2546

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าของไรโบฟลาวินและไรโบฟลาวิน-5'-ฟอสเฟต (FMN) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์
นักศึกษา	นางสาวอัญญา ปรืชาวรพันธ์
รหัสประจำตัว	42065502
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมี (เคมีวิเคราะห์)
พ.ศ.	2546
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ. สมศักดิ์ เชียรศิริกุล

บทคัดย่อ

ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนในงานวิจัยนี้ได้มาจากการสังเคราะห์ด้วยวิธี CVD แบบลดความร้อนที่ความดันต่ำ ทำการเลือกปริมาณการเจือโบรอนต่อคาร์บอน (10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C) ขั้วไฟฟ้าที่ให้ผลของสัญญาณกระแส $K_3(Fe(CN)_6)$ ด้วยการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า พบว่าผลของปริมาณการเจือที่ให้สัญญาณกระแสสูงสุดคือ 1000 ppm ของ B/C นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีไฟฟ้าของไรโบฟลาวินและไรโบฟลาวิน-5'-ฟอสเฟต (FMN) ใน 0.05 M และ 0.1 M H_2SO_4 ตามลำดับ ผลที่ได้จากการวิเคราะห์จะนำมาเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ในสภาวะเดียวกัน พบว่ารากที่สองของอัตราการสแกน (0.01 ถึง 1 Vs^{-1}) จะมีความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงกับกระแสปฏิบัติรีดอกซ์ของ 50 μM ไรโบฟลาวินและ FMN แสดงให้เห็นว่ากระแสที่เกิดปฏิกิริยานั้นควบคุมโดยกระบวนการแพร่ สัดส่วน S/b ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C ที่ได้จากเทคนิคแอมเปโรเมทรีจะสูงกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ประมาณ 7-10 เท่า จากการตรวจวัดโดยเทคนิคแอมเปโรเมทรีจะได้ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของไรโบฟลาวินจะอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 274 μM (ขีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 0.1200 μM ; $R^2 = 0.9996$) และอยู่ในช่วง 3 ถึง 224 μM (ขีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 1.2162 μM ; $R^2 = 0.9973$) ที่ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนและขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ตามลำดับ สำหรับใน FMN ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงจะอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 1904 μM (ขีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 0.1364 μM ; $R^2 = 0.9991$) และอยู่ในช่วง 3 ถึง 1568 μM (ขีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 2.9571 μM ; $R^2 = 0.9984$) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนและขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ตามลำดับ

Thesis Title	Electrochemical Detection of Riboflavin and Riboflavin-5'-Phosphate (FMN) by Boron-Doped Diamond Thin-Film Electrode Compared with Graphite Electrode
Student	Miss. Anchana Preechaworapun
Student ID.	42065502
Degree	Master of Science
Programme	Chemistry
Year	2003
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Suwan Chaiyasith
Thesis Co-advisor	Assoc. Prof. Somsak Cheersirikul

ABSTRACT

In this research, boron-doped diamond thin film was synthesized on a *N*-Si substrate by low pressure hot-filament CVD. Effects of boron concentration per carbon (10, 100 and 1000 ppm of B/C) in diamond thin film are average. The highest response current of electrochemical determine of $K_3(Fe(CN)_6)$ was 1000 ppm of B/C. The best doping ratio, 1000 ppm of B/C (BDD) was selected for electroanalysis of riboflavin and riboflavin-5'-phosphate (FMN) in electrolyte 0.05 M and 0.1 M H_2SO_4 , respectively. The potential sweep rate of riboflavin and FMN redox reaction (peak current for 50 μM riboflavin and FMN linearly proportional to $v^{1/2}$, with the range of 0.01 to 1 Vs^{-1}) indicates that the redox current is diffusion controlled with the BDD surface. BDD electrode provided highly stable and reproducible for determination of riboflavin and FMN. Amperometric signal-to-background (S/b) ratio obtained from the diamond electrode has been higher than those obtained from the graphite electrode. Linear dynamic range of riboflavin from 0.5 μM to 274 μM (detection limit of 0.1200 μM ; $R^2 = 0.9996$) and from 3 μM to 224 μM (detection limit of 1.2162 μM ; $R^2 = 0.9973$) were obtained from amperometric detection of BDD electrode and graphite electrode. For FMN, linear dynamic range from 0.5 μM to 1904 μM (detection limit of 0.1364 μM ; $R^2 = 0.9991$) and from 3 μM to 1568 μM (detection limit of 2.9571 μM ; $R^2 = 0.9984$) were obtained from amperometric detection of BDD electrode and graphite electrode, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดีด้วยคำแนะนำ และคำปรึกษาเกี่ยวกับหลักการทางเคมีไฟฟ้า กระบวนการสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชร รวมถึงแนวทางและวิธีการแก้ปัญหาจาก ผศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ และ รศ. สมศักดิ์ เชียร์ศิริกุล อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม

ขอขอบพระคุณ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. เจริญชัย ไชยสิทธิ์ และ ผศ.ดร. วีระศักดิ์ สุระเรืองชัย ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ายิ่งในการเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้คำแนะนำทางการแก้ไขปัญหา และตรวจสอบข้อมูลต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เป็นไปอย่างถูกต้อง

ขอขอบคุณ คุณเอกราช รัตนอุดมพิสุทธิ์ และพี่ ๆ ทุกคนที่ศูนย์วิจัยอิเล็กทรอนิกส์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่คอยช่วยเหลือและให้คำแนะนำในวิธีการสร้างฟิล์มบางเพชร

ขอขอบคุณ คุณชานินทร์ แดงกาวรัมย์ คุณเกษศิรินทร์ สนอ่วม คุณธัญธร แดงกาวรัมย์ คุณกฤตดา บัวอินทร์ และคุณศิริลักษณ์ เกิดศิริ ที่ช่วยตรวจสอบคำผิดในการเขียนวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณเพื่อนและรุ่นน้องนักศึกษาปริญญาโทสาขาเคมีวิเคราะห์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และคณาจารย์ ตลอดจนนักศึกษามหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ให้กำลังใจตลอดจนความช่วยเหลือจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวที่เคารพรักยิ่ง ที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนต่อผู้วิจัยตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอบอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

อัญชญา ปรีชาวรพันธ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญรูป.....	XI
รายการคำย่อและสัญลักษณ์.....	XXI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย และแรงจูงใจในการทำวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ไรโบฟลาวิน (Riboflavin).....	4
2.2 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่ใช้ในงานวิจัย (Electrochemistry).....	13
2.3 คาร์บอน (Carbon).....	21
2.4 เทคนิคการสังเคราะห์ฟิล์มบางเพชร (Diamond Thin Film).....	23
2.5 คุณสมบัติของฟิล์มเพชรที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ทางเคมีไฟฟ้า.....	25
2.6 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของไรโบฟลาวินและ FMN.....	27
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	29
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	23
3.1 สารเคมี และเครื่องมืออุปกรณ์.....	34
3.1.1 สารเคมี.....	34
3.1.1.1 การสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน.....	34
3.1.1.2 การตรวจวัดไรโบฟลาวินและ FMN ทางเคมีไฟฟ้า.....	34

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.1.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์.....	35
3.1.2.1 การสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน.....	35
3.1.2.2 การตรวจวัดโรโบฟลาวินและ FMN ทางเคมีไฟฟ้า.....	37
3.2 วิธีดำเนินงาน.....	37
3.2.1 การเตรียมสารเคมี.....	37
3.2.2 การสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน.....	39
3.2.3 การล้างขั้วไฟฟ้าทำงาน.....	40
3.2.2 เปรียบเทียบสัญญาณกระแสที่ได้ของ $K_3(Fe(CN)_6)$ ที่มีผลต่อ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรโบรอน 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C.....	40
3.2.3 เปรียบเทียบสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าระหว่างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชร เจือโบรอนที่เลือกกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์	41
1.) หาช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ.....	41
2.) หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์โรโบฟลาวินและ FMN.....	41
3.) ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าในการวิเคราะห์โรโบฟลาวิน และ FMN	43
4.) ตรวจวัดโรโบฟลาวินในยาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่มีขายตามท้อง ตลาด.....	44
บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล.....	45
4.1 การเตรียมขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน.....	45
4.1.1 คุณภาพของการสร้างฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน.....	45
4.1.2 ประกอบขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน	48
4.2 การเลือกขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่ดีที่สุด โดยเปรียบเทียบ สัญญาณกระแสจากสารละลาย $K_3(Fe(CN)_6)$	48

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3	เปรียบเทียบสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าระหว่างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน กับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์.....	51
4.3.1	ช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ	51
4.3.2	สภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัด โรโบฟลาวินและ FMN.....	53
	1.) ชนิดของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม.....	53
	2.) เลือกความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม.....	59
	3.) อัตราสแกนที่เหมาะสม.....	64
	4.) อัตราการกวาดสารละลาย.....	76
4.3.3	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน กับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์.....	82
	1.) เสถียรภาพ.....	82
	2.) การทำซ้ำ.....	86
	3.) ช่วงของความสัมพัทธ์ที่เป็นเส้นตรง.....	90
	4.) ขีดจำกัดในการตรวจวัด.....	96
4.3.4	ผลการตรวจวัด โรโบฟลาวินจากยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง.....	96
บทที่ 5	สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	97
5.1	สรุปผลงานวิจัย.....	97
5.2	ข้อเสนอแนะ.....	98
บรรณานุกรม.....		99
ภาคผนวก.....		102
	ภาคผนวก ก. ผลการทดลอง.....	102
	ภาคผนวก ข. การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด.....	130
	ภาคผนวก ค. การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน.....	138
ประวัติผู้เขียน.....		141

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณไรโบฟลาวินในอาหาร.....	5
2.2 ฟลาโวโปรตีนชนิดต่าง ๆ ที่มี FMN หรือ FAD เป็นโคเอนไซม์.....	10
2.3 ค่าความต้องการไรโบฟลาวินจากแหล่งต่าง ๆ (mg วัน ⁻¹).....	13
3.1 แสดงปริมาตรการเปิด stock solution B/C 10000 ppm ให้เจือจางเป็น 10 100 และ 1000 ppm.....	37
3.2 แสดงปริมาณการชั่งสารต่างๆ เพื่อนำไปเตรียมเป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์.....	38
4.1 ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันและ รีดักชันของ 1 mM $K_3(Fe(CN)_6)$ ใน 0.1 M KCl จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนในอัตราส่วนต่าง ๆ และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....	50
4.2 แสดงค่าของปริมาณเชิงพื้นที่ผิวที่คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีกไซคลิกโวลแทมโมแกรม ของ 1 mM $K_3(Fe(CN)_6)$ ใน 0.1 M KCl โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน ในอัตราส่วนต่าง ๆ และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....	51
4.3 ช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในของอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl	52
4.4 ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยารีดักชันของ 1 mM ไรโบฟลาวินในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม โดยใช้ ขั้วไฟฟ้า ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....	54
4.5 ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยารีดักชันของ 1 mM FMN ในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม โดยใช้ขั้วไฟฟ้า ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบ กับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....	57
4.6 ความหนาแน่นของความหนาแน่นของกระแสที่ได้ต่อกระแสพื้น (S/b) จากไซคลิก โวลแทมโมแกรม 50 μ M ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....	60

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.7	ความหนาแน่นของกระแสที่ได้ต่อกระแสพื้น (S/b) จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชร เจือโบรอน และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....63
4.8	ความหนาแน่นของกระแสปฏิริยารีดักชัน (ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl) ของ 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิค แอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวาดสารละลายต่าง ๆ กัน (b = ความหนาแน่นของกระแสพื้น, S = ความหนาแน่นของกระแสที่ได้).....76
4.9	กระแสปฏิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวาดสารละลายต่าง ๆ (b = ความหนาแน่นของกระแสพื้น, S = ความหนาแน่นของกระแสที่ได้).....79
4.10	ผลจากการคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด ไรโบฟลาวิน และ FMN.....96
4.11	ผลการตรวจวัด ไรโบฟลาวินจากยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง.....96
ก.1	ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิริยารีดักชันและรีดักชันของ 50 μM ไรโบฟลาวิน ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/Cเทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....106
ก.2	ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิริยารีดักชันและรีดักชันของ 50 μM ไรโบฟลาวินในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....106
ก.3	ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิริยารีดักชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl107
ก.4	ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิริยารีดักชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....107

- ก.5 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM โรโบฟลาวิน ใน 0.05 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ กัน โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....108
- ก.6 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ กัน โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....109
- ก.7 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl110
- ก.8 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....111
- ก.9 ค่าของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้ากับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....114
- ก.10 ค่าของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้ากับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM โรโบฟลาวิน ใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....115
- ก.11 ค่าของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้ากับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....116
- ก.12 ค่าของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้ากับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....117

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ก.13	
ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่ทำการตรวจวัดซ้ำจำนวน 30 ครั้งในสารละลายเดียวกันด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....	118
ก.14	
ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่ทำการตรวจวัดซ้ำจำนวน 30 ครั้งในสารละลายเดียวกันด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....	119
ก.15	
ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่ทำการตรวจวัดซ้ำจำนวน 30 ครั้งในสารละลายเดียวกันด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....	121
ก.16	
ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่ทำการตรวจวัดซ้ำจำนวน 30 ครั้งในสารละลายเดียวกันด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....	122
ก.17	
ความหนาแน่นของกระแสรีดักชันที่ -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 และ S/b จากเทคนิคแอมเปอโรเมทรี ที่อัตราการกววน 3000 rpm (S = ความหนาแน่นของกระแสที่ได้ และ b = ความหนาแน่นของกระแสพื้น)..	125
ก.18	
ความหนาแน่นของกระแสรีดักชันที่ -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 และ S/b จากเทคนิคแอมเปอโรเมทรี ที่อัตราการกววน 3000 rpm (S = ความหนาแน่นของกระแสที่ได้ และ b = ความหนาแน่นของกระแสพื้น).....	127
ข.1	
ความหนาแน่นของกระแสของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ สำหรับการคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัด ไโรโบฟลาวิน.....	132
ข.2	
ค่าความหนาแน่นของกระแสพื้นของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C สำหรับการคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัด ไโรโบฟลาวิน.....	132

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข.3 ความหนาแน่นของกระแสของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ สำหรับการคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัด FMN.....	135
ข.4 ค่าความหนาแน่นของกระแสพื้นของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C สำหรับการคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัด FMN.....	135
ค.1 สรุปผลของการคำนวณหาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่ 1.....	139
ค.2 สรุปผลของการคำนวณหาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่ 2.....	140

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	สูตรโครงสร้างของไรโบฟลาวิน.....4
2.2	Oxidized และ Reduced form ของ FAD หรือ FMN.....8
2.3	แสดงสภาวะการขาด ไรโบฟลาวิน (ก) บริเวณมุมปาก และริมฝีปาก (ข) บริเวณอุ้งอ้นทะ11
2.4	แสดงขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl.....14
2.5	ช่วงศักย์ของขั้วไฟฟ้าใช้งานในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยชนิดต่าง ๆ.....16
2.6	โวลเทจโปรแกรมของไซคลิกโวลแทมเมตรี.....16
2.7	ไซคลิกโวลแทมโมแกรม.....17
2.8	แสดงถึงชั้นความหนาของการแพร่ (δ) ในสารละลายที่มีการกวน.....20
2.9	รูปแบบจำลองโครงสร้างเพชร.....21
2.10	ระนาบของโครงสร้างผลึก cubic.....22
2.11	แบบจำลองการเรียงตัวของพันธะ โควาเลนต์แบบ sp^2 ของกราฟไฟต์.....23
2.12	แผนภาพระบบ Hot filament CVD method.....24
2.13	(ก) โครงสร้างอย่างง่ายของอะตอมสารเจือชนิดพี และ (ข) ลักษณะการเกาะกันระหว่างอะตอมของสารเจือชนิดพี และอะตอมสารกึ่งตัวนำ.....26
2.14	ลักษณะ โครงสร้างแถบพลังงานของสารกึ่งตัวนำชนิดพีเมื่อ (ก) สภาวะปกติ และ (ข) เมื่อได้รับพลังงานที่มากเพียงพอ.....26
2.15	สูตรโครงสร้างของไรโบฟลาวินและ FMN.....28
2.16	แสดงปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้น.....28
3.1	สรุปขั้นตอนการสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน.....33
3.2	แสดงส่วนประกอบของอุปกรณ์ชุดกักขังลิแกนด์ด้วยสาร EPD (แบบเปียก).....36
3.3	ส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน; ก. ลวดเงิน, ข. แท่งเทพลอน ค. นอตตัวเมีย และ ง. ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนขนาด $3 \times 3 \text{ mm}^2$36
3.4	แผนภาพองค์ประกอบของเครื่อง Hot filament แบบความดันต่ำ.....39
4.1	(ก) ภาพถ่ายผิวหน้าของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนจากกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า (ข) แสดงระนาบของฟิล์มบางเพชร (111) และ (100).....45
4.2	ภาพถ่ายภาคตัดขวางของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนจากเครื่อง SEM ด้วยกำลังขยาย 2000 เท่า.....46

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.3	Raman spectrum ที่ได้จากเครื่อง Raman spectrometer ของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C.....47
4.4	ลักษณะของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนหลังจากประกอบเสร็จ.....48
4.5	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM $K_3(Fe(CN)_6)$ ใน 0.1 M KCl ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm ²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl49
4.6	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM $K_3(Fe(CN)_6)$ ใน 0.1 M KCl ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C และ ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์(พื้นที่ผิวหน้า 9 mm ² และ 3.465 mm ² ตามลำดับ) เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (b = กระแสพื้น).....49
4.7	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM โรโบฟลาวินในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm ²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl53
4.8	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM โรโบฟลาวินในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm ²) เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....53
4.9	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM FMN ในอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm ²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....56
4.10	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM FMN ในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm ²) เทียบกับขั้วไฟฟ้าAg/AgCl....56
4.11	ไซคลิกโวลแทมโมแกรม 50 μ M โรโบฟลาวินในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้น ต่างๆ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm ²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl59
4.12	ไซคลิกโวลแทมโมแกรม 50 μ M โรโบฟลาวินในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้น ต่าง ๆ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm ²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl59

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.13	ไซคลิกโวลแทมโมแกรม 50 μM FMN ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl61
4.14	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl62
4.15	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl64
4.16	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....65
4.17	ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....65
4.18	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยารีดักชันของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl66
4.19	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....67
4.20	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....68
4.21	ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....68

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.22	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของ กระแสปฏิริยารีดักชันของ 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า กราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl69
4.23	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....70
4.24	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....71
4.25	ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแส ปฏิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....71
4.26	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของ กระแสปฏิริยารีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl72
4.27	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกน ต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....73
4.28	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....74
4.29	ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแส ปฏิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า กราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....74
4.30	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของ กระแสปฏิริยารีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl75

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.31	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการกวนสารละลายกับความหนาแน่นของกระแส ปฏิกิริยารีดักชันของ ไรโบฟลาวินความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.05 M H_2SO_4 จากเทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ77
4.32	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการกวนสารละลายกับ S/B ของปฏิกิริยารีดักชัน 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ77
4.33	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการกวนสารละลายกับความหนาแน่นของ กระแสปฏิกิริยารีดักชัน 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรี ให้อัตราการกวน สารละลายต่าง ๆ.....80
4.34	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการกวนสารละลายกับ S/b ของปฏิกิริยารีดักชัน 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ให้อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ80
4.35	กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิก โวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้า ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....82
4.36	กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิก โวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....83
4.37	กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิก โวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชร เจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....84
4.38	กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิก โวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์).....85

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.39	กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 30 ครั้ง).....86
4.40	กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 30 ครั้ง)87
4.41	กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 30 ครั้ง).....88
4.42	กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 30 ครั้ง).....89
4.43	ความสัมพันธ์ความเข้มข้นกับความหนาแน่นของกระแสที่วัดได้จากปฏิริยารีดักชันของไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่ -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรี อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm.....90
4.44	ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C91
4.45	ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าไฟฟ้ากราไฟต์.....91
4.46	ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับ S/b ในปฏิริยารีดักชันที่ -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของไโรโบฟลาวิน92
4.47	ความสัมพันธ์ความเข้มข้นกับความหนาแน่นของกระแสที่วัดได้จากปฏิริยารีดักชันของ FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่ -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรี93
4.48	ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของ FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C94

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.49	ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของ FMN ใน 0.1 M H ₂ SO ₄ โดยใช้ ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์94
4.50	ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับ S/b ในปฏิกิริยารีดักชันที่ -0.13 V เทียบกับ Ag/AgCl ของ FMN95
ก.1	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M KCl ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm ² ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....102
ก.2	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M NaCl ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm ² ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....103
ก.3	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M H ₂ SO ₄ ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm ² ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl103
ก.4	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M K ₂ SO ₄ ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm ² ตามลำดับ) เทียบกับ Ag/AgCl.....104
ก.5	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M Na ₂ SO ₄ ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm ² ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl104
ก.6	ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M NaOH ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm ² ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl.....105
ก.7	กระแสปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ โรโบฟลาวินความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.05 M H ₂ SO ₄ โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมตรี ที่อัตราการกวาดสารละลายต่าง ๆ และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm ²).....112

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ก.8 กระแสปฏิกริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของโรโบฟลาวินความเข้มข้นสุทธิ $50 \mu\text{M}$ ใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ กัน และใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2).....	112
ก.9 กระแสปฏิกริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ FMN ความเข้มข้นสุทธิ $50 \mu\text{M}$ ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ กัน และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2).....	113
ก.10 กระแสปฏิกริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ FMN ความเข้มข้นสุทธิ $50 \mu\text{M}$ ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ กัน และใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2).....	113
ก.11 การตรวจวัดปฏิกริยารีดักชันของโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่ -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2).....	124
ก.12 การตรวจวัดปฏิกริยารีดักชันของโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่ -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2).....	124
ก.13 การตรวจวัดปฏิกริยารีดักชันของ FMN ใน 0.1M H_2SO_4 ที่ -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2).....	126
ก.14 การตรวจวัดปฏิกริยารีดักชันของ FMN ใน 0.1M H_2SO_4 ที่ -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2).....	126
ค.1 กราฟการเติมสารมาตรฐานของยาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่ 1 ตรวจวัดโดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรี และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์.....	138

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ค.2	
กราฟการเติมสารมาตรฐานของยาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่ 2 ตรวจวัด โดยใช้เทคนิค แอมเปอโรเมทรี และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์.....	140

รายการคำย่อและสัญลักษณ์

A	แอมแปร์
A	พื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (cm^2)
Ag/AgCl	ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์
B/C	ปริมาณการเจือสาร โบรอนต่อคาร์บอน
C	คูดอมป์
C	ความเข้มข้นของสารในสารละลายบัลค์
CV	ไซคลิกโวลแทมเมทรี
CV	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน
C.E.	ขั้วไฟฟ้าช่วย
D	สัมประสิทธิ์การแพร่ของสาร ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)
E	ศักย์ไฟฟ้า (V)
$E_{p,a}$	ตำแหน่งศักย์พีคที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (V)
$E_{p,c}$	ตำแหน่งศักย์พีคที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชัน (V)
FMN	ไรโบฟลาวิน-5'-ฟอสเฟต
F	ค่าคงที่ฟาราเดย์ (96487 C mol^{-1})
g	กรัม
i_p	กระแสพีค (A)
$i_{p,a}$	กระแสพีคที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (A)
$I_{p,c}$	กระแสพีคที่เกิดจากปฏิกิริยารีดักชัน (A)
KCl	โพแทสเซียมคลอไรด์
l	ลิตร
M	โมลาร์
mM	มิลลิโมลาร์
ml	มิลลิลิตร
mol	โมล
mV s^{-1}	มิลลิโวลต์ต่อวินาที
n	จำนวนของอิเล็กตรอนในปฏิกิริยา
ppm	หนึ่งในล้านในล้านส่วน
rpm	อัตราการหมุน (Round min^{-1})

รายการคำย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

RSD	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
R.E.	ข้อผิดพลาดอ้างอิง
SD	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
S/b	ความหนาแน่นของกระแสที่ได้ต่อความหนาแน่นของกระแสพื้น
SCE	ข้อผิดพลาดอ้างอิงคาโธดอิมิตัว
T	อุณหภูมิ (K)
V	โวลต์
v	อัตราการสแกน ($V s^{-1}$)
W.E.	ข้อผิดพลาดใช้งาน
α	สัมประสิทธิ์ในการแลกเปลี่ยนประจุ
δ	ความหนาของชั้นการแพร่ (cm)
Γ	ปริมาณฟิล์มเชิงพื้นที่ผิว ($mol cm^{-2}$)
μA	ไมโครแอมแปร์
μM	ไมโครโมลาร์

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย และแรงจูงใจในการทำวิจัย

ไรโบฟลาวิน (Riboflavin) หรือวิตามินบีสองเป็นวิตามินชนิดแรกที่ทราบว่ามีบทบาทเป็นโคเอนไซม์โดยฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ (Flavin mononucleotide หรือ Riboflavin-5'-phosphate; FMN) ซึ่งมีไรโบฟลาวินเป็นส่วนประกอบพบในปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันต่าง ๆ ตลอดจนในขบวนการเมแทบอลิซึมที่ต้องใช้ FMN และฟลาวินอดีนินไดนิวคลีโอไทด์ (Flavin adenine dinucleotide; FAD) เป็นตัวช่วยขนส่งอิเล็กตรอน การขาดไรโบฟลาวินจะมีความผิดปกติที่นัยสำคัญที่ปาก ลิ้น และที่ผิวหนัง ดังนั้นไรโบฟลาวินจึงมีความสำคัญทางด้านการแพทย์และเป็นส่วนผสมในยาทางด้านเภสัชกรรม

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไรโบฟลาวินที่ผ่านมาจะทำโดยใช้เครื่องฟลูออริเมเตอร์ (Fluorimeter), เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography; HPLC), เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (Perez-Ruiz *et. al.* 1994) และเครื่องโวลแทมเมตรีแบบแอดซอร์ปทีฟสทริปปิง (Adsorptive stripping voltammeter) (Wang *et. al.* 1985) แต่ละวิธีก็มีข้อดี-ข้อเสียต่างกันไปดังนี้คือเครื่องฟลูออริเมเตอร์, HPLC และเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เป็นเครื่องมือที่มีราคาแพงต้องอาศัยความชำนาญในการใช้งาน และต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก แต่ก็มีข้อดีคือมีขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ต่ำ ส่วนเครื่องโวลแทมเมตรีแบบแอดซอร์ปทีฟสทริปปิงเป็นการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าที่ให้ขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ต่ำ แต่ต้องใช้ขั้วไฟฟ้าปรอทซึ่งเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ต่อมามีการนำเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามาใช้สำหรับตรวจวัดไรโบฟลาวินโดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน (Glassy carbon electrode) (Shiu and Shi. 2000) พบว่ามีขีดในการตรวจวัดที่ต่ำ และมีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไรโบฟลาวินเป็นอย่างดี แต่มีข้อเสียคือโมเลกุลของไรโบฟลาวินเกิดการดูดซับที่บริเวณพื้นผิวของขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน ดังนั้นการวิจัยนี้จึงนำขั้วไฟฟ้าฟิล์มเพชรเจือโบรอนที่ผลิตขึ้นเองจากเอทานอลและแก๊สไฮโดรเจน สังเคราะห์โดยอาศัยเทคนิค CVD (Chemical vapor deposition) แบบไส้ความร้อนที่ความดันต่ำมาใช้ร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดไรโบฟลาวิน

คุณสมบัติของเพชรที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ทางเคมีไฟฟ้าคือมีความแข็ง มีความนำความร้อนสูง ทนต่อการกัดกร่อน และทนต่อสารเคมี สามารถนำไฟฟ้าได้โดยการผ่านการเจือสาร เช่น โบรอน (เพชรปกติจะเป็นฉนวนความต้านทาน $> 10^{12} \Omega\text{cm}$ เมื่อผ่านการเจือโบรอนฟิล์มเพชร

จะมีความต้านทานลดต่ำลงถึง 0.01 Ωcm ส่งผลให้สามารถนำมาใช้เป็นขั้วทางเคมีไฟฟ้าได้) วิธีการก่อตัวของฟิล์มเพชรมีความจำเพาะทำให้รูปแบบของขั้วไฟฟ้านั้นเหมือนกัน และโครงสร้างภายในไม่เปลี่ยนแปลงแม้จะทำการวิเคราะห์ที่ค่าศักย์ไฟฟ้าสูง

ข้อดีของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน คือมีช่วงของศักย์ไฟฟ้าใช้งานทางเคมีไฟฟ้ากว้างเมื่ออยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำ เช่น -1.5 ถึง +1.2 V เทียบกับ SCE ใน KCl (Bouamrane *et. al.* 1996) มีชั้นความจุของประจุไฟฟ้า (Double-layer capacitance) ต่ำ เนื่องจากคุณสมบัติของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนมีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำชนิดพี ดังนั้นเมื่อมีพลังงานเข้าไปกระตุ้นเพียงพอจะทำให้เกิดโฮล (Hole) ที่ขาดอิเล็กตรอนอยู่บริเวณของแถบวาเลนซ์ ทำให้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเกิดโฮลตรงบริเวณใกล้กับ Fermi level ต่ำดังนั้นจึงมีไอออนของอิเล็กโทรไลต์ช่วยที่จะมาดุลประจุสะสมที่บริเวณผิวของขั้วไฟฟ้าน้อย ทำให้ชั้นความจุของประจุไฟฟ้าที่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าต่ำ (Alhashem *et. al.* 1995) ทำให้มีกระแสพื้น (Background current) ทางไซคลิกโวลแทมเมตรีที่ต่ำ (ต่ำกว่าขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนมาก) ส่งผลให้สัดส่วนของสัญญาณต่อกระแสพื้น (Signal-to-background; S/b) นั้นสูง ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนยังมีความเสถียรทางเคมีไฟฟ้าสูง ทนต่อการเสียดสภาพได้เป็นอย่างดีเมื่อมีสิ่งสกปรกเจือปน ไม่ถูกรบกวนจากออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลาย และไม่ดูดซับ โมเลกุลที่มีขั้วเนื่องจากอะตอมของคาร์บอนที่พื้นผิวของโครงสร้างเชื่อมต่อกับอะตอมของไฮโดรเจน (Terminated by hydrogen) ในขณะที่ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนและขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ที่พื้นผิวจะมีขั้วเพราะอะตอมของคาร์บอนที่พื้นผิวของโครงสร้างเชื่อมต่อกับอะตอมของออกซิเจน (Terminated by oxygen) ดังนั้นจะดูดซับ โมเลกุลที่มีขั้วได้ (Xu *et. al.* 1998)

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนมาเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานสำหรับตรวจวัดไรโบฟลาวินและ FMN ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ เพื่อลดปัญหาการดูดซับ โมเลกุลของไรโบฟลาวินที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า โดยจะนำมาเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 สร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน (Boron-doped diamond thin-film electrode)
- 1.2.2 นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนที่สร้างได้ไปตรวจวัด ไรโบฟลาวินและ FMN ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า
- 1.2.3 ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่สร้างได้กับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์สำหรับตรวจวัด ไรโบฟลาวินและ FMN
- 1.2.4 ตรวจวัด ไรโบฟลาวินในยาเม็ดวิตามินที่เป็นตัวอย่างจริง

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

1.3.1 การเตรียมขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10, 100, และ 1000 ppm ของอัตราส่วนโบรอนต่อคาร์บอน (B/C)

- 1.) สร้างฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10, 100, และ 1000 ppm ของ B/C ให้ได้ขนาด $3 \times 3 \text{ mm}^2$
- 2.) ประกอบขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10, 100, และ 1000 ppm ของ B/C

1.3.2 เปรียบเทียบสัญญาณกระแสที่ได้ของโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต (Potassium hexacyanoferrate, $K_3(Fe(CN)_6)$) ที่มีผลต่อขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10, 100, และ 1000 ppm ของ B/C โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

1.3.3 เปรียบเทียบสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าระหว่างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่เลือกจาก 1.3.2 กับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

- 1.) หาช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ จากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี
- 2.) หาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดโรโบฟลาวินและ FMN โดยศึกษา
 - 2.1) ชนิดของอิเล็กโทรไลต์
 - 2.2) อัตราการสแกน
 - 2.3) ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์
 - 2.4) อัตราการคนสารละลาย
- 3.) ศึกษาประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าในการตรวจวัดโรโบฟลาวินและ FMN โดยศึกษา
 - 3.1) เสถียรภาพของขั้วไฟฟ้า (Stability)
 - 3.2) การทำซ้ำ (Reproducibility)
 - 3.3) ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (Linear range)
 - 3.4) จี๊ดจำกัดในการตรวจวัด (Detection limit)
- 4.) ตรวจวัดโรโบฟลาวินในยาเม็ดวิตามินที่เป็นตัวอย่างจริง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

การตรวจวัดโรโบฟลาวินและ FMN จากขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนจะให้ S/b ที่สูงกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ และไม่มีการดูดซับโมเลกุลของโรโบฟลาวิน และ FMN บนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

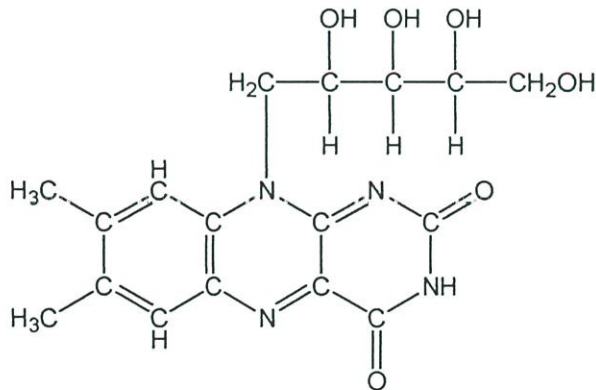
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไรโบฟลาวิน (Riboflavin)

2.1.1 สูตรเคมีและคุณสมบัติ

ไรโบฟลาวินประกอบด้วยฟลาวินหรือวงไอโซแอลโลซาซีน (Isoalloxazine ring) ต่ออยู่กับ Ribityl chain รวมเรียกว่า 7,8-Dimethyl-10-(1'-*d*-ribityl) isoalloxazine หรืออีกนัยหนึ่งคือ สารอนุพันธ์ของ Isoalloxazine ที่มีสายข้างเป็น Ribitol (รูปที่ 2.1) มีน้ำหนักโมเลกุล 376 เป็นผลึกรูปเข็มสีเหลือง เมื่อปนธาตุโบรอนจะละลายน้ำได้ดีขึ้น ทนต่อความร้อนและกรด เสื่อมสภาพได้ง่ายเมื่อถูกค่าง แสงสว่างและแสงอัลตราไวโอเลต ไรโบฟลาวินเมื่อถูกแสงสว่างในภาวะที่เป็นกลางจะทำให้ Ribose chain แตกออกแล้วเปลี่ยนไปเป็น Lumichrome ซึ่งให้แสง Greenish-yellow fluorescence ซึ่งจะช่วยให้สูญเสียความเป็นวิตามินไป (อภัสตรา ษมิตท์. 2537 ; Machlin. 1991)



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของไรโบฟลาวิน

2.1.2 แหล่งกำเนิด

พบในอาหารทั่ว ๆ ไปแต่มีปริมาณไม่มากนัก อาหารที่นับว่าพอมีมากคือไข่ (0.47 mg/100 g) นม (2.0 mg/L) ตับ ไต (2.0-4.0 mg/100 g) เนยแข็ง (0.25-0.80 mg/100 g) และในผักใบเขียว (0.03-0.3 mg/100 g) ใน Yeast extract มีมาก (11.0 mg/100 g) สามารถสรุปปริมาณไรโบฟลาวินในอาหารต่าง ๆ ในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณไรโบฟลาวินในอาหาร

Food	Riboflavin (mg/100 g)	Riboflavin (mg)
<i>Milk and dairy products</i>		
Milk	0.17	0.41 /(1 cup)
Yogurt	0.16	0.39 /(1 cup)
Skim milk	0.18	0.44 /(1 cup)
Cheddar cheese	0.46	0.13 /(1 ounce)
Cottage cheese(creamed)	0.25	0.61 /(1 cup)
Cottage cheese(uncreamed)	0.28	0.56 /(1 cup)
American cheese	0.43	0.12 /(1 ounce)
Ice cream	0.21	0.28 /(1 cup)
<i>Meats</i>		
Liver	3.5	2.37 /(2 ounces)
Beef (cooked)	0.24	0.18 /(3 ounces)
Hamburger (broiled)	0.24	0.20 /(3 ounces)
Chicken (cooked, flesh only)	0.19	0.16 /(3 ounces)
Lamb (cooked)	0.22	0.25 /(4 ounces)
Pork (cooked)	0.27	0.18 /(2.3 ounces)
Ham (cured and roasted)	0.19	0.16 /(3 ounces)
Veal (roast)	0.31	0.26 /(3 ounces)
Eggs (large)	0.30	0.15 /(1 egg)
<i>Fish and Seafood</i>		
Bluefish	0.09	0.08 /(3 ounces)
Salmon (canned)	0.19	0.16 /(3 ounces)
Shad (baked)	0.26	0.22 /(3 ounces)
Sardines (canned)	0.20	0.27 /(3 ounces)
Tuna (canned)	0.12	0.10 /(3 ounces)

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

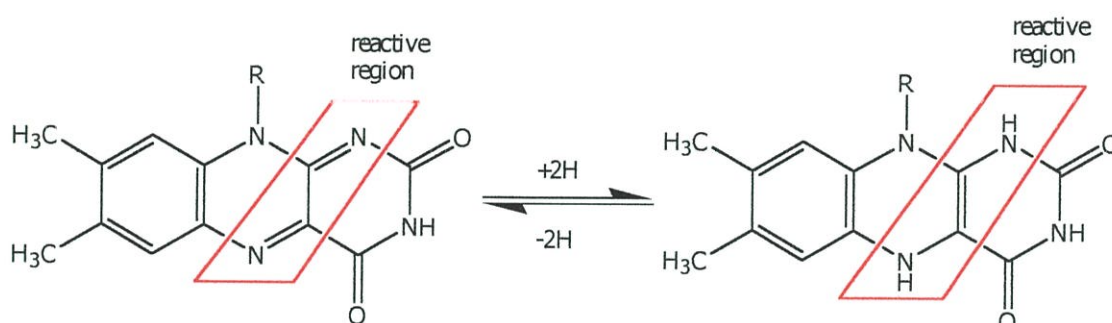
Food	Riboflavin (mg/100 g)	Riboflavin (mg)
Swordfish (broiled)	0.05	0.04 /(3 ounces)
Clams (raw)	0.18	0.15 /(3 ounces)
Oysters (raw)	0.18	0.43 /(1 cup)
<i>Vegetables</i>		
Asparagus (cooked)	0.18	0.11 /(4 spears)
Beets (cooked)	0.04	0.04 /(2 beets)
Beet greens (cooked)	0.15	0.22 /(1 cup)
Broccoli (cooked)	0.20	0.36 /(1 stalk)
Cabbage (raw)	0.06	0.04 /(1 cup)
Cabbage (cooked)	0.06	0.03 /(1 cup)
Carrots (cooked)	0.06	0.03 /(1 carrot)
Cauliflower (cooked)	0.08	0.10 /(1 cup)
Collards (cooked)	0.19	0.37 /(1 cup)
Corn (cooked)	0.06	0.08 /(1 ear)
Lima beans (cooked)	0.10	0.17 /(1 cup)
Potatoes (baked)	0.04	0.04 /(1 potato, medium)
Spinach	0.14	0.25 /(1 cup)
Tomato	0.04	0.07 /(1 tomato, medium)
Turnip greens (cooked)	0.23	0.33 /(1 cup)
<i>Fruit</i>		
Apple	0.01	0.02 /(1 apple)
Avocado	0.15	0.4354 /(1 avocado)
Banana	0.04	0.07 /(1 banana, medium)
Cantaloupe	0.02	0.06 /(1/2 cantaloupe)
Orange	0.03	0.05 /(1 orange)
Peaches	0.04	0.05 /(1 peach, medium)

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Food	Riboflavin (mg/100 g)	Riboflavin (mg)
Prunes (cooked)	0.07	0.18 /(1 cup)
Strawberry (raw)	0.07	0.10 /(1 cup)
Watermelon (raw)	0.01	0.13 /(1 wedge)
<i>Cereal grains</i>		
White bread, enriched	0.20	0.05 /(1 slice)
Whole wheat bread	0.11	0.03 /(1 slice)
Rye bread	0.08	0.02 /(1 slice)
Oatmeal (cooked)	0.02	0.05 /(1 cup)
Rice (unenriched, Cooked)	0.01	0.02 /(1 cup)
Rice (enriched, Cooked)	0.01	0.02 /(1 cup)
<i>Dried beans and nuts</i>		
Beans, navy (cooked)	0.07	0.13 /(1 cup)
Beans, red kidney (cooked)	0.04	0.11 /(1 cup)
Cow peas (cooked)	0.04	0.11 /(1 cup)
Split peas (cooked)	0.09	0.22 /(1 cup)
Peanuts (roasted)	0.09	0.22 /(1 cup)
Walnuts	0.11	0.14 /(1 cup)
<i>Snack foods</i>		
Brownies	0.10	0.02 /(1 brownie)
Candy, milk chocolate	0.36	0.10 /(1 ounce)
Pretzel	Trace	Trace
Pizza	0.16	0.12 /(1 slice)
Popcorn	0.17	0.01 /(1 cup)
<i>Beverages</i>		
Beer	0.03	0.11 /(a 12 ounce can)

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Food	Riboflavin (mg/100 g)	Riboflavin (mg)
Colas	0	0 /(a 12 ounce can)
Soda	0	0
Wine	0.02	0.02 /(1 glass)
Yeast (dry)	5.4	0.38 /(1 package)

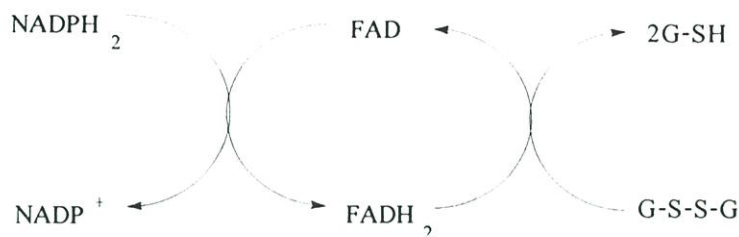


รูปที่ 2.2 Oxidized และ Reduced form ของ FAD หรือ FMN

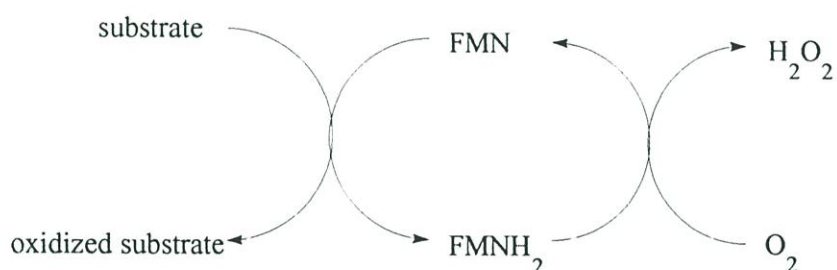
2.1.3 หน้าที่

ไรโบฟลาวินเป็นวิตามินชนิดแรกที่ทราบว่ามีบทบาทเป็นโคเอนไซม์กล่าวคือในปี ค.ศ. 1932 Warburg และ Christian แยกสารชนิดหนึ่งได้จากยีสต์เรียกว่า “Yellow enzyme” มีฤทธิ์ออกซิไดส์ NADPH ต่อมาภายหลังเมื่อรู้สูตรโครงสร้างของไรโบฟลาวินแล้ว จึงทราบว่า Yellow enzyme นี้มีกลุ่ม Prosthetic เป็น FMN ซึ่งมีไรโบฟลาวินเป็นส่วนประกอบพบในปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันต่าง ๆ ตลอดจนในกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ต้องใช้ FMN และ FAD เป็นตัวช่วยขนส่งอิเล็กตรอน ส่วนที่เป็น Reactive region ของไรโบฟลาวิน ดังแสดงในรูปที่ 2.2 FAD หรือ FMN ที่อยู่ในภาวะออกซิเดชันหรือรีดักชัน เกิดจากการเปลี่ยนที่ของไฮโดรเจน และพันธะคู่ที่อยู่ในโมเลกุลของไรโบฟลาวิน FAD หรือ NAD^+ จะทำหน้าที่รับไฮโดรเจนมาครั้งละ 2 อะตอม แต่ FAD จะแตกต่างไปจาก NAD^+ คือเมื่อรับไฮโดรเจนแล้วจะเปลี่ยนไปเป็น $FADH_2$ (รูปที่ 2.2) ทั้ง FMN และ FAD ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ของฟลาโวเอนไซม์หรือฟลาโวโปรตีนมากกว่า 100 ชนิด เช่นเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ Dehydrogenases และ Oxidases พวก Dehydrogenases ทำหน้าที่โดยส่งต่อไฮโดรเจนให้กับสารอื่นที่ไม่ใช่

ออกซิเจน เช่น Glutathione reductase (มี FAD เป็นโคเอนไซม์) รับไฮโดรเจนมาจาก NADPH_2 แล้วส่งต่อให้ Oxidized glutathione ดังนี้คือ



ส่วนพวก Oxidases จะส่งต่อไฮโดรเจนให้กับออกซิเจนแล้วเปลี่ยนเป็น H_2O_2 ดังนี้คือ



ฟลาโวเอนไซม์ หรือฟลาโวโปรตีนหลายชนิดที่มีโลหะพวก Fe, Mo หรือ Zn เป็นส่วนประกอบอยู่ในโมเลกุลของฟลาวิน และโลหะเหล่านี้ทำให้เอนไซม์มีบทบาทเกี่ยวกับการทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนได้ 1 หรือ 2 อิเล็กตรอนอีกด้วย

ฟลาโวโปรตีนมีหน้าที่สำคัญ และจำเป็นต่อเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน ไขมัน และการเปลี่ยนแปลงวิตามินบางชนิด เช่น Pyridoxine และ Folate ให้เป็นโคเอนไซม์ที่จะทำหน้าที่ต่อไปได้ ในตารางที่ 2.2 เป็นตัวอย่างของฟลาโวโปรตีนบางชนิดที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาต่าง ๆ

ตารางที่ 2.2 ฟลาโวโปรตีนชนิดต่างๆ ที่มี FMN หรือ FAD เป็นโคเอนไซม์

Type of reaction	Flavoprotein	Flavin involved
1-Electron transfers	Mitochondrial electron transfer-flavoprotein (ETF)	FAD
	Ubiquinone reductase ¹	FAD
	NADH-cytochrome P450 reductase ¹	FMN
Pyridine linked dehydrogenases	NADH-cytochrome P450 reductase ¹	FAD
	NADH dehydrogenases	FMN
Non-pyridine nucleotide-dependent dehydrogenases	Succinate dehydrogenase	FAD
	Acyl-CoA dehydrogenases	FAD
Pyridine nucleotide oxidoreductases	Glutathione reductase	FAD
	Lipoamide dehydrogenase	FAD
Reactions of reduced flavoproteins with O ₂	D-Amino acid oxidase	FAD
	L- Amino acid oxidase	FMN
	Monoamine oxidase	FAD
	Xanthine oxidase	FAD
	L-Gulonolactone oxidase	FAD
Flavoprotein monooxygenase	Microsomal flavoprotein mono-oxygenase	FAD

¹ = ส่วนประกอบของ Microsomal cytochrome P450 มีทั้ง FMN และ FAD อย่างละหนึ่งโมเลกุล

2.1.4 การขาด

การขาดไรโบฟลาวินพบ่าเกิดขึ้นในหลายประเทศ เช่น จีน อินเดีย แอฟริกา และไทย ในอเมริกาเหนือพบว่าผู้ป่วยในโรงพยาบาลมีอาการของการขาดไรโบฟลาวิน ส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยวัณโรค และโรคพิษสุราเรื้อรัง ในประเทศอังกฤษที่มีการสำรวจภาวะโภชนาการของประชากรพบว่า มีข้อบ่งชี้ของการประเมินการขาดวิตามินนี้ทางชีวเคมี (Glutathione reductase coefficient) ในผู้สูงอายุที่มีเศรษฐกิจไม่ดี การขาดไรโบฟลาวินจะมีความผิดปกติที่น้อยน้ำตาลในปัสสาวะ ลิ้น และ ผิวหนัง

อาการทางตา ได้แก่ กลัวแสง (Photophobia) น้ำตาไหล (Lacrimation) คัน และปวดแสบปวดร้อน ตาแดงเพราะมีการขยายของหลอดเลือดที่ตาขาวรอบ ๆ กระจกตา (Circumcorneal injection) อาการตาแดงพบได้บ่อย และมักจะเป็นอาการแสดงที่พบก่อนอาการอื่น

ริมฝีปากและลิ้น ริมฝีปากและมุมปากแห้ง แดงเป็นร่องเรียกว่า Chchilosis เฉพาะรอยแตกที่มุมปากเรียกว่า ปากนกกระจอก (Angular stomatitis) ถ้ารอยแตกลึกเวลาแผลหายจะเป็นแผลเป็นเห็นได้ชัด ลิ้นมีการอักเสบและลี้น (Atrophy of papillae) มีสีแดงปนม่วง (Magenta coloured tongue) ดังรูปที่ 2.3 (ก) จากการอักเสบของลิ้นและริมฝีปากทำให้มีการปวดแสบปวดร้อน กินอาหารไม่อร่อย และกลืนอาหารไม่สะดวก

ผิวหนัง บริเวณข้าง ๆ จมูก รอบตา หู ถุงอัณฑะ (Scrotum) (ดังรูปที่ 2.3 (ข)) และอวัยวะเพศหญิง (Valva) จะเป็นสะเก็ดมัน ๆ นอกจากนั้นผู้ป่วยอาจมีภาวะเลือดจางโดยที่เม็ดเลือดแดงมีสีและขนาดปกติ (Normo-chromic normocytic anemia) เนื่องจากไขกระดูกสังเคราะห์เม็ดเลือดแดงได้ช้าลงอาการต่าง ๆ ดังกล่าวนี้มักจะไม่รุนแรงนัก ส่วนมากอาการที่แสดงให้เห็นมักจะเกิดร่วมกับการขาดวิตามินบีชนิดอื่นร่วมด้วย



(ก)



(ข)

รูปที่ 2.3 แสดงสภาวะการขาดไรโบฟลาวิน (ก) บริเวณมุมปาก และริมฝีปาก (ข) บริเวณถุงอัณฑะ

นอกจากนี้พบว่าระดับของกลูตาไรโอนยังลดลงในผู้ป่วยที่เป็นต้อกระจกตา (Cataract) เพราะการทำหน้าที่ของ Glutathione reductase ต้องมี FAD เป็นโคเอนไซม์ เมื่อร่างกายขาด

ไรโบฟลาวินเอนไซม์นี้จะทำหน้าที่ผิดปกติไปย่อมมีผลต่อการทำหน้าที่ของกลูตาไรโอนด้วย ปฏิกิริยาของการขาดไรโบฟลาวินต่อการเกิดคอเลสเตอรอลนี้ยังพบมากในผู้สูงอายุ การศึกษาจากประชากรในสหรัฐอเมริกาและแคนาดาพบว่า การขาดวิตามินชนิดนี้เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดคอเลสเตอรอลได้

ตารางที่ 2.3 ค่าความต้องการไรโบฟลาวินจากแหล่งต่าง ๆ (mg/วัน)

	EAR ¹	RNI ²	RDA ³
เด็ก			
อายุ 0 - 12 เดือน	0.3	0.3 - 0.5	0.4 - 0.6
1 - 16 ปี	0.5 - 0.6	0.5 - 0.7	0.8 - 1.0
7 - 10 ปี			
เพศชาย			
อายุ 11 - 14 ปี	1.0	1.0	1.6
15 - 50 ปี	1.0	1.2	1.4 - 1.7
เพศหญิง			
อายุ 11 - 14 ปี	0.9	0.9	1.3
15 - 50 ปี	0.9	0.8	1.2-1.3
ระยะตั้งครรภ์		+ 0.1	+ 0.3
ระยะให้นมบุตร		+ 0.2	+ 0.5

¹ค่าความต้องการเฉลี่ยจาก Department of Health, UK, 1991.

²จากรายงานของ Health and Welfare, Canada, 1990.

³จากรายงานของ Committee on Dietary Allowances, Food and Nutrition Board, 1980.

2.1.5 ความต้องการ

ความต้องการไรโบฟลาวินของร่างกายนั้นพบว่ามีความสัมพันธ์กับอาหารโปรตีนและเมแทบอลิซึมของร่างกายเพราะว่าปริมาณที่ขับถ่ายทางปัสสาวะจะเปลี่ยนไป เมื่อสมดุลไนโตรเจนเปลี่ยน ในกรณีที่มีการสร้างหรือการเจริญของเนื้อเยื่ออย่างรวดเร็ว เช่น เด็กที่กำลังเจริญเติบโต หญิงขณะตั้งครรภ์ หรือให้นมบุตร จะพบว่าไรโบฟลาวินจะถูกขับถ่ายทางปัสสาวะลดลง แสดงว่าร่างกายต้องการโปรตีนและวิตามินนี้เพิ่มขึ้น เป็นการยากที่จะกำหนดให้แน่นอนลงไปว่าอย่างไร

น้อยร่างกายควรจะได้รับวิตามินนี้วันละเท่าใด ทั้งนี้เพราะว่าอาการของการขาดไรโบฟลาวินนั้นไม่จำเพาะหรือแสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามได้มีผู้ทำการศึกษาในเรื่องนี้ และสรุปไว้ว่า ในผู้ใหญ่ทั้งเพศชายและหญิงต้องการไรโบฟลาวินวันละ 0.5-0.8 mg ในวัยรุ่นก็มีความต้องการในปริมาณที่ใกล้เคียงกับผู้ใหญ่ นอกจากนี้ยังมีผู้ทำการศึกษา และทดลองในผู้ใหญ่โดยให้กินอาหารที่มีไรโบฟลาวินวันละ 0.55 mg เป็นเวลานาน 4 เดือน พบว่าจะมีอาการแสดงออกของการขาดวิตามินชนิดนี้ สำหรับค่าแสดงความต้องการไรโบฟลาวินของร่างกาย และ Recommended dietary allowance (RDA) จะมีความแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.3 ในเด็กไทยควรที่จะได้รับวิตามินชนิดนี้ประมาณวันละ 0.8-1.6 mg ในหญิงตั้งครรภ์และให้นมบุตรควรได้รับเพิ่มอีกวันละ 0.3-0.5 mg

2.2 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่ใช้ในงานวิจัย (Electrochemistry)

เป็นการนำหลักการทางเคมีไฟฟ้ามาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ หรือความเข้มข้นของสารที่ต้องการ โดยวิธีวิเคราะห์จะเกี่ยวข้องกับการวัดการตอบสนองทางไฟฟ้าของสารตัวอย่าง อันเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารนั้น ต้องประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญอย่างน้อยที่สุด 3 ส่วนคือ (เพ็ญศรี ทองนพเนื่อ. 2539 ; Wang. 2000)

- ส่วนของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งมีส่วนประกอบทางเคมีที่สามารถนำกระแสได้
- ส่วนของขั้วไฟฟ้าซึ่งเป็นตัวนำที่ต่อเชื่อมระหว่างอุปกรณ์การวัด และสารละลายอิเล็กโทรไลต์
- อุปกรณ์ตรวจวัดสัญญาณไฟฟ้า ซึ่งอาจเป็นสก็ป์ หรือกระแส

2.2.1 เทคนิคโวลแทมเมตรีที่ใช้ในงานวิจัย

เซลล์โวลแทมเมตรี ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า และสารละลายอิเล็กโทรไลต์

1) ขั้วไฟฟ้า (Electrode) ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ขั้วไฟฟ้าใช้งานและขั้วไฟฟ้าช่วย จุ่มอยู่ในสารละลายที่มีสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ และสารอิเล็กโทรไลต์ที่ไม่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยามักเรียกเป็นสารอิเล็กโทรไลต์ช่วย (Supporting electrolyte) โดยสารอิเล็กโทรไลต์ช่วยมักมีในปริมาณที่มากเกินพอ

1.1) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) จะมีค่าศักย์ที่แน่นอนไม่แปรหรือขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของกระแสในวงจร ไม่ขึ้นกับส่วนประกอบของสารตัวอย่าง ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ดี ต้องมีส่วนประกอบคงตัว ไม่เปลี่ยนแปลงง่ายเมื่อเก็บไว้ และไม่แปรเปลี่ยนตามอุณหภูมิด้วย

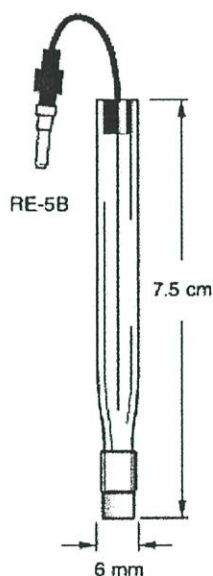
ในการวิเคราะห์เชิงเคมีไฟฟ้าจำเป็นต้องมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิง เพื่อให้ครบวงจรของเซลล์เคมีไฟฟ้า ปกติแล้วค่าศักย์ของวงจรที่อ่านได้จากอุปกรณ์วัดสัญญาณไฟฟ้าเป็นค่าที่เกิดจากผลต่างของ

ศักย์จากขั้วไฟฟ้าทั้งสองของวงจร อาจเรียกค่าศักย์ของวงจรที่วัดได้นี้ว่า ค่าศักย์สัมพัทธ์ (Relative potentials) ถ้าขั้วไฟฟ้าตัวหนึ่งของวงจรเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่รู้ค่าศักย์แน่นอน ย่อมทำให้สามารถหาค่าศักย์ของอีกขั้วไฟฟ้าที่ต่อในวงจรซึ่งเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน นั่นคือไฟฟ้าที่เกิดกับขั้วไฟฟ้าใช้งาน อันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารตัวอย่าง ทำให้วิเคราะห์หาปริมาณของสารตัวอย่างได้

ในงานวิจัยนี้จะใช้ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ดังรูปที่ 2.4 เป็นหลอดแก้วที่มีลวดโลหะเงินจุ่มอยู่ในสารละลายที่อิ่มตัวของโพแทสเซียมคลอไรด์และซิลเวอร์คลอไรด์ ส่วนปลายของหลอดแก้วเป็นแผ่นพรุนในสภาพอุ่นแข็งกั้นส่วนของโพแทสเซียมคลอไรด์กับสารละลายตัวอย่างปฏิกิริยาที่ครึ่งเซลล์เป็นดังสมการที่ 2.1



ศักย์ของขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ขึ้นกับความเข้มข้นของไอออนคลอไรด์ในขั้วไฟฟ้า ที่ความเข้มข้นอิ่มตัวค่าศักย์ขั้วไฟฟ้าของ Ag/AgCl เป็น 0.2223 V



รูปที่ 2.4 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl

1.2) ขั้วไฟฟ้าช่วย (Counter electrode) จะมีคุณลักษณะที่เฉพาะคือ ทำหน้าที่เป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดีเป็นขั้วที่รับพลังงานไฟฟ้าจากขั้วไฟฟ้าอ้างอิงส่งต่อผ่านสารละลายไปยังขั้วไฟฟ้าใช้งาน เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมีของสารตัวอย่างที่ขั้วไฟฟ้าจุ่มอยู่โดยขั้วไฟฟ้าช่วยนี้ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องหรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ เกิดขึ้น ในขณะที่เกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่างระหว่างการวิเคราะห์

ขั้วไฟฟ้าช่วยมักมีพื้นที่ผิวมาก ๆ เพื่อให้การนำไฟฟ้าเป็นไปได้ดี เช่น ขดลวดแพลทินัม หรือแผ่นแพลทินัม และแท่งของกลาสติคาร์บอน

1.3) ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode) จะมีขนาดของขั้วไฟฟ้าที่ขนาดเล็ก เพื่อให้มีพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับสารตัวอย่างน้อย ๆ ทำให้สามารถเกิดสภาวะของโพลาริเซชันตลอดการวิเคราะห์ เรามักจะใช้ขั้วไฟฟ้าที่เป็นโลหะเฉื่อย เช่น แพลทินัมหรือทอง ไพโรไลติกกราไฟต์ หรือกลาสติคาร์บอน และปรอท

2) อิเล็กโทรไลต์ช่วย คือสารประกอบอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้เติมลงไปในการละลายตัวอย่างในการวิเคราะห์ โดยเติมในปริมาณที่มากกว่าสารตัวอย่างประมาณ 50-100 เท่า อิเล็กโทรไลต์ช่วยต้องไม่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่าง แต่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการทำให้ไอออนเคลื่อนที่ในการละลายแบบการแพร่ไม่ใช้แบบไมเกรชันและช่วยลดผลของความต้านทานของเซลล์ การเลือกชนิดของอิเล็กโทรไลต์ช่วยที่เหมาะสมจะช่วยทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ หรือช่วยกำจัดโลหะแทรกซ้อนที่ปนมาในสารตัวอย่าง

ขีดจำกัดของช่วงศักย์ที่ใช้งานของขั้วไฟฟ้าใช้งาน

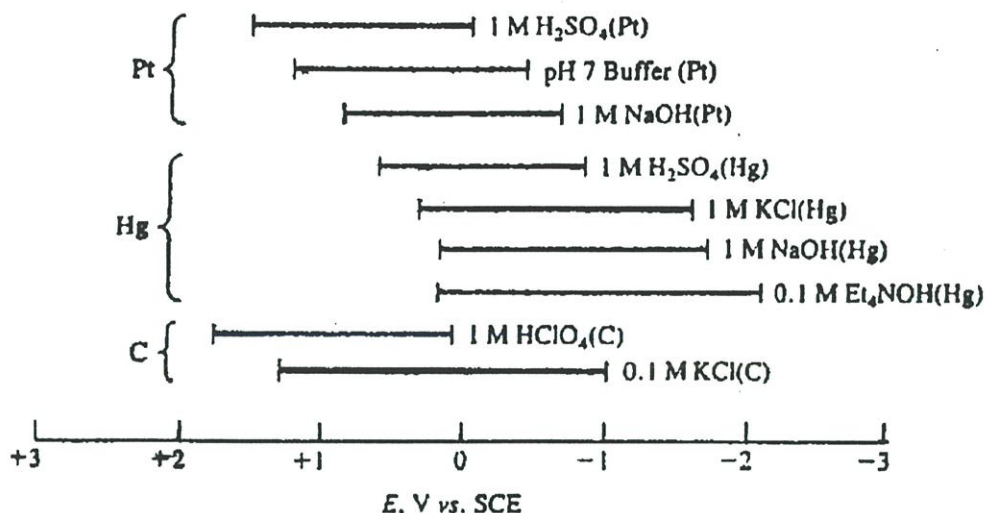
โดยทั่วไปมักเกิดจากตัวทำละลายของสารตัวอย่างที่มักเป็นน้ำ ช่วงศักย์ของแต่ละขั้วไฟฟ้าอาจหาได้จากการให้พลังงานไฟฟ้าในรูปศักย์แกว่งจรเซลล์เคมีไฟฟ้าที่มีขั้วไฟฟ้าใช้งาน และขั้วไฟฟ้าอ้างอิงอยู่ในน้ำ (อาจมีสารอิเล็กโทรไลต์ช่วยด้วย) ศักย์ที่ให้กับวงจรจนเกิดการไหลของกระแส อันเป็นผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำ และเกิดโมเลกุลออกซิเจน



ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเป็นขีดจำกัดศักย์ทางบวก ขณะเดียวกันขีดจำกัดศักย์ทางลบได้จากการเกิดรีดักชันของน้ำ และได้โมเลกุลไฮโดรเจน



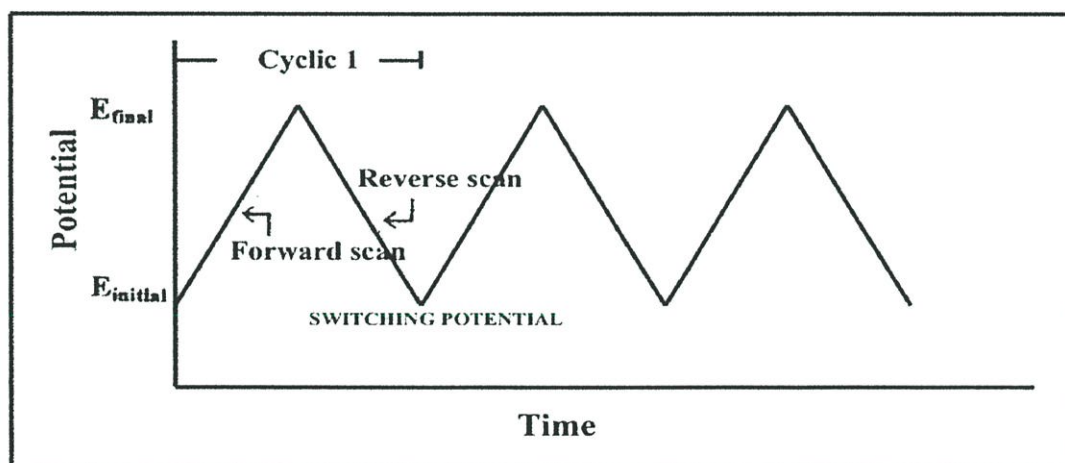
ขีดจำกัดศักย์ทั้งบวก และลบแตกต่างกันในขั้วไฟฟ้าใช้งานแต่ละชนิด และยังต่างกันตามแต่ชนิดของสารอิเล็กโทรไลต์ช่วยด้วย ซึ่งสามารถสรุปได้ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ช่วงศักย์ของขั้วไฟฟ้าใช้งานในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยชนิดต่าง ๆ (Wang, 2000)

2.2.1.1 ไชคคลิกโวลแทมเมตรี (Cyclic voltammetry)

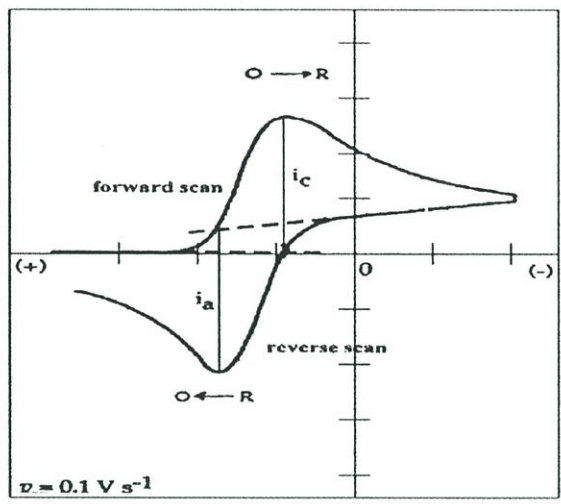
เป็นเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่มีการให้ศักย์ไฟฟ้าเข้าไปด้วยอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นศักย์ไฟฟ้าจะเพิ่มขึ้นจนถึงมากที่สุด จากนั้นจะค่อย ๆ ลดต่ำลงด้วยอัตราเร็วที่เท่ากัน โวลเทจโปรแกรมที่ได้จึงมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมหน้าจั่ว มีลักษณะดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 โวลเทจโปรแกรมของไชคคลิกโวลแทมเมตรี

เมื่อเริ่มสแกนโวลเทจก็เริ่มมีกระแสเกิดขึ้นเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (ถึงยอดของสามเหลี่ยม) ก็จะมีการเกิดกระแสเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาเกิดขึ้นสูงสุดมีลักษณะเป็นพีก และเมื่อลดศักย์ไฟฟ้าด้วยอัตราเร็วเท่าเดิมกระแสก็จะค่อย ๆ ลดลงจนถึงต่ำสุดเพราะเกิดปฏิกิริยาในทิศทางตรงกันข้าม (ผันกลับได้) มีลักษณะเป็นพีกอีกเช่นกันแต่กลับทิศทางกับพีกแรก ซึ่งมีลักษณะที่สมมาตรกัน (Reversible) ดังแสดงในรูปที่ 2.7 แต่จะไม่เกิดพีกถ้าปฏิกิริยาผันกลับไม่ได้เรียกว่า Irreversible

และถ้าปฏิกิริยาผันกลับได้แต่ไม่สมบูรณ์ลักษณะพีกที่เกิดขึ้นจะไม่สมมาตรกันเรียกว่า Quasi-reversible



รูปที่ 2.7 ไชคลิกโวลแทมโมแกรม

การวัดค่ากระแส $i_{p,c}$, $i_{p,a}$ ที่เกิดขึ้นจากไชคลิกโวลแทมโมแกรมสามารถทำได้โดยต่อเส้นฐาน (Baseline) ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาแต่ละชนิดโดยการประมาณค่าแนวโน้มที่เป็นไปได้ (Extrapolation) แล้ววัดระยะระหว่างส่วนยอดของพีกถึงฐานดังรูปที่ 2.7 และจากเทคนิคนี้ยังสามารถทำให้ทราบถึงกลไกของการเกิดปฏิกิริยาและศักย์ที่เกิดปฏิกิริยาได้

จากไชคลิกโวลแทมโมแกรมสามารถศึกษาถึงการคำนวณปริมาณเชิงพื้นที่ผิว (Surface coverage, Γ) ได้จากสมการที่ 2.4 (Wang, 2000)

$$\Gamma = Q/nFA \dots \dots \dots (2.4)$$

- เมื่อ Q แทน ประจุไฟฟ้า หาได้จากพื้นที่ใต้พีก มีหน่วยเป็นคูลอมป์ (C)
- n แทน จำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา
- F แทน ค่าคงที่ฟาราเดย์ มีค่าเป็น 96485 C/mol
- A แทน พื้นที่ผิวขั้วไฟฟ้า มีหน่วยเป็น cm^2

ลักษณะของพีคที่ผันกลับได้ (Reversible) กระแสของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ($i_{p,a}$) ต่อกระแสของปฏิกิริยารีดักชัน ($i_{p,c}$) จะมีค่าเป็นหนึ่งหน่วย ดังสมการที่ 2.5 (Gosser. 1993)

$$i_{p,a} / i_{p,c} \approx 1 \dots \dots \dots (2.5)$$

หรือความต่างของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า (ΔE_p) จะอยู่ที่ 0.059 V (เมื่อ $n = 1$) แสดงให้เห็นว่าพีค reversible เช่นเดียวกัน โดยจะเป็นไปตามสมการที่ 2.6

$$\begin{aligned} \Delta E_p &= E_{p,a} - E_{p,c} \\ &= 0.059/n \text{ V} \dots \dots \dots (2.6) \end{aligned}$$

เมื่อ $E_{p,a}$ แทน ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีหน่วยเป็น V
 $E_{p,c}$ แทน ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน มีหน่วยเป็น V

กระแส (i_p) ที่เกิดขึ้นจะเป็นดังสมการ 2.7 ซึ่งเป็นสมการของ Randles-Sevcik (Wang. 2000)

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} ACD^{1/2} v^{1/2} \dots \dots \dots (2.7)$$

เมื่อ i_p แทน กระแสพีค มีหน่วยเป็น A
 C แทน ความเข้มข้น มีหน่วยเป็น mol cm^{-3}
 D แทน สัมประสิทธิ์ของการแพร่ มีหน่วยเป็น $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$
 v แทน อัตราการสแกน มีหน่วยเป็น V s^{-1}

จากสมการ 2.7 ถ้าให้ n, A, C และ $D^{1/2}$ คงที่ เมื่อใส่ log ลงในสมการ จะได้

$$\begin{aligned} \log i_p &= \log (2.69 \times 10^5 n^{3/2} ACD^{1/2}) + \log v^{1/2} \\ \log i_p &= c (\text{intercept}) + 0.5 \log v \dots \dots \dots (2.8) \end{aligned}$$

จากสมการที่ 2.8 ถ้านำค่า $\log i_p$ มาพลอตกับค่า $\log v$ จะได้กราฟความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงมีความชันเท่ากับ 0.5 และมีจุดตัดของกราฟบนแกน Y (แกนของ $\log i_p$) ที่ค่า c จะเรียกได้ว่าเป็นการเกิดกระบวนการ Diffusion-control (Gosser, 1993) Diffusion-control เป็นกระบวนการของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้านั้นเร็วจนไม่สามารถกำหนดขั้นของปฏิกิริยาได้ แต่ในขณะที่ไอออน โมเลกุล หรืออนุภาคของ Electroactive species เคลื่อนที่จากสารละลายที่อยู่ห่างจากผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (Bulk solution) โดยการแพร่เข้ามาช้าจนไม่ทันกับการเกิดปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ดังนั้นกระแสที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยจะขึ้นกับการแพร่เข้ามาของไอออน โมเลกุล หรืออนุภาคของ Electroactive species ดังกล่าว นั่นก็คือกระแสที่เกิดปฏิกิริยาเป็นกระแสที่ถูกควบคุมโดยกระบวนการแพร่

ในกรณีที่มีการดูดซับสารที่เกิดปฏิกิริยาหรือสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา หรือจะเรียกได้ว่าเป็นอนุภาคของ Electroactive species ติดอยู่ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า กระแสของพีคที่เกิดขึ้นสามารถหาได้จากสมการ

$$i_p = \frac{n^2 F^2 C_{ads} v}{4RT} \dots\dots\dots(2.9)$$

- เมื่อ C_{ads} แทน ความเข้มข้นของสารที่ติดอยู่ที่ผิวหน้า
 R แทน ค่าคงที่ของแก๊ส มีค่าเท่ากับ $8.314 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$
 T แทน อุณหภูมิ มีหน่วยเป็น K

จากสมการ 2.9 ถ้าให้ n, F, C_{ads}, R และ T คงที่ เมื่อใส่ \log ลงในสมการ จะได้

$$\log i_p = \log \left(\frac{n^2 F^2 C_{ads}}{4RT} \right) + \log v$$

$$\log i_p = c \text{ (intercept) } + \log v \dots\dots\dots(2.10)$$

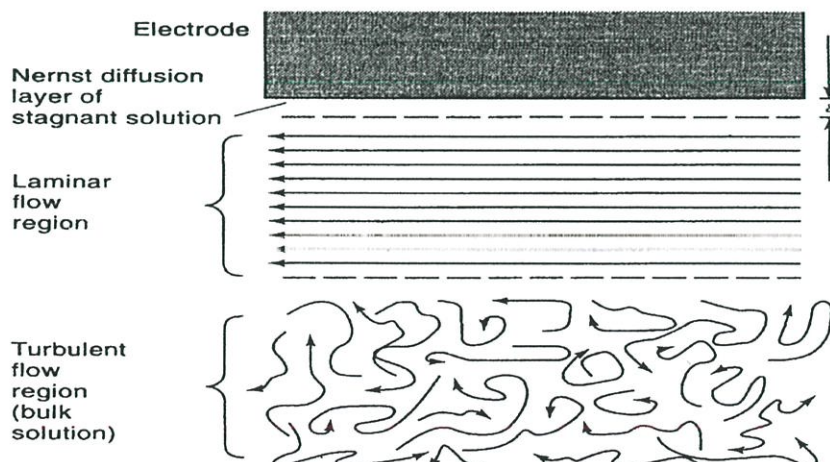
จากสมการที่ 2.10 ถ้านำค่า $\log i_p$ มาพลอตกับค่า $\log v$ จะได้กราฟที่ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง มีความชันเท่ากับ 1 และมีจุดตัดของกราฟบนแกน Y (แกนของ $\log i_p$) ที่ค่า c กระบวนการที่เกิดขึ้นเรียกว่า Surface-control หมายความว่าปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเกิดช้าจนกลายเป็นขั้นกำหนดความเร็วของปฏิกิริยา ไอออน โมเลกุล หรืออนุภาคของ Electroactive species ที่เคลื่อนที่เข้าสู่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เคลื่อนที่ได้เร็วเพียงพอกับการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า กระแสที่เกิดขึ้นจึงถูกควบคุมโดยความเร็วของปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ในลักษณะที่เกิดขึ้นนี้จะมีการดูดซับสารที่เกิดปฏิกิริยาบริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า (Gosser, 1993)

2.2.3.3 แอมเปอร์เมทรี (Amperometry)

เป็นเทคนิควิธีวิเคราะห์ที่ประยุกต์หลักการของโวลแทมเมทรี โดยให้ศักย์ที่คงที่แก่ขั้วไฟฟ้าใช้งานอย่างเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่างที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า จะวัดค่าของกระแสที่ค่าต่าง ๆ ของความเข้มข้นของสารตัวอย่างนั้น ค่าศักย์คงที่ที่ให้กับวงจรจะได้มาจากศักย์บนโวลแทมโมแกรมของสารตัวอย่าง ที่บริเวณส่วนราบของโวลแทมเมทริกเวฟ ซึ่งกระแสจำกัดมีค่าแปรไปกับความเข้มข้นของสารที่เกิดปฏิกิริยานั้น เทคนิคแอมเปอร์เมทรีใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่าง โดยการสร้างกราฟเทียบมาตรฐานหรือการเติมสารมาตรฐาน กระแสที่เกิดขึ้นดังสมการ 2.11 (Eggins. 1996)

$$i = \frac{nFADC_{Ox}}{\delta} \dots\dots\dots(2.11)$$

เมื่อ	i	แทน กระแสการแพร่ มีหน่วยเป็น A
	n	แทน จำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้อง
	F	แทน Faraday constant มีหน่วยเป็น $C \text{ mol}^{-1}$
	D	แทน สัมประสิทธิ์ของการแพร่ มีหน่วยเป็น $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$
	A	แทน พื้นที่ผิวขั้วไฟฟ้า มีหน่วยเป็น cm^2
	C_{Ox}	แทน ความเข้มข้น มีหน่วยเป็น mol cm^{-3}
	δ	แทน thickness of the diffusion layer มีหน่วยเป็น cm



รูปที่ 2.8 แสดงถึงชั้นความหนาของการแพร่ (δ) ในสารละลายที่มีการกวน

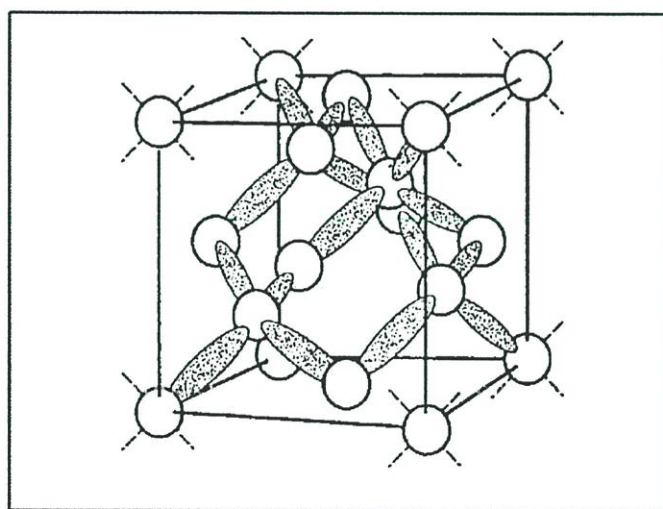
จากรูปที่ 2.8 สารละลายที่บริเวณผิวหน้าอิเล็กโทรดจะเกิดการเคลื่อนที่ออกจากผิวหน้าและสารละลายจะถูกเติมเข้าไปใหม่โดยการไหลตามปกติเข้าสู่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เมื่อเพิ่มอัตราการกวน bulk solution ทำให้ชั้นความหนาของการแพร่ (δ) ลดลงส่งผลให้ค่ากระแสที่ได้จากสมการที่ 2.11 นั้นเพิ่มขึ้น

2.3 คาร์บอน (Carbon) (Pierson. 1993)

การเกิดพันธะของคาร์บอนจะเกิดจากพันธะโควาเลนต์ซึ่งแตกต่างกันที่ชนิดของพันธะ (sp^2 หรือ sp^3) ส่งผลให้มีโครงสร้างที่ต่างกันคือ

2.3.1 โครงสร้างเพชร (Diamond)

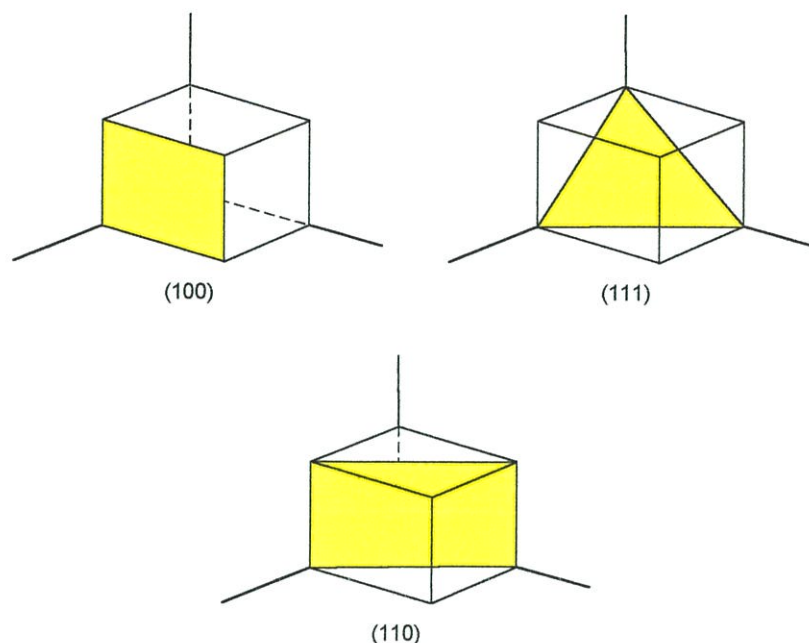
โครงสร้างนี้เกิดขึ้นจากอะตอมคาร์บอนยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะโควาเลนต์แบบ sp^3 เรียกว่า “โครงสร้างเพชร” โดยมีหน่วยเซลล์ดังรูปที่ 2.9 ในหนึ่งหน่วยเซลล์จะประกอบด้วยอะตอมคาร์บอนจำนวน 18 อะตอม คือที่ตำแหน่งมุมของหน่วยเซลล์ 8 อะตอม ซึ่งจะแบ่งกับหน่วยเซลล์ข้างเคียงทั้งหมด 8 หน่วยเซลล์ อะตอมที่บริเวณ Face center จำนวน 6 อะตอม ซึ่งแบ่งกับหน่วยเซลล์ข้างเคียง 2 หน่วยเซลล์ และอะตอมภายในหน่วยเซลล์ที่ตำแหน่งหนึ่งส่วนสี่จากมุมของหน่วยเซลล์ เมื่อรวมอะตอมต่อหนึ่งหน่วยเซลล์ที่เซลล์จะมี 8 อะตอมต่อหน่วยเซลล์



รูปที่ 2.9 รูปแบบจำลองโครงสร้างผลึกเพชร

เมื่อพิจารณาถึงพันธะที่อะตอมคาร์บอนนั้นมีการยึดเหนี่ยวกับอะตอมข้างเคียงแบบ Tetrahedral โดยที่จะยึดเหนี่ยวกับอะตอมรอบข้างด้วยพันธะโควาเลนต์ และ sp^3 มีค่า Raman shift ของรูป Cubic ที่ 1332 cm^{-1} ผลึกเพชรพบว่าที่ระนาบ (111) จะเสมือนว่าอะตอมของคาร์บอนในระนาบเดียวกันเรียงตัวเป็นรูปสามเหลี่ยมซ้อนกัน ระนาบ (100) อะตอมคาร์บอนในระนาบเดียวกัน

จะเรียงตัวเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสซ้อนกันและระนาบ (110) อะตอมคาร์บอนในระนาบเดียวกันจะเรียงตัวเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ดังรูปที่ 2.10

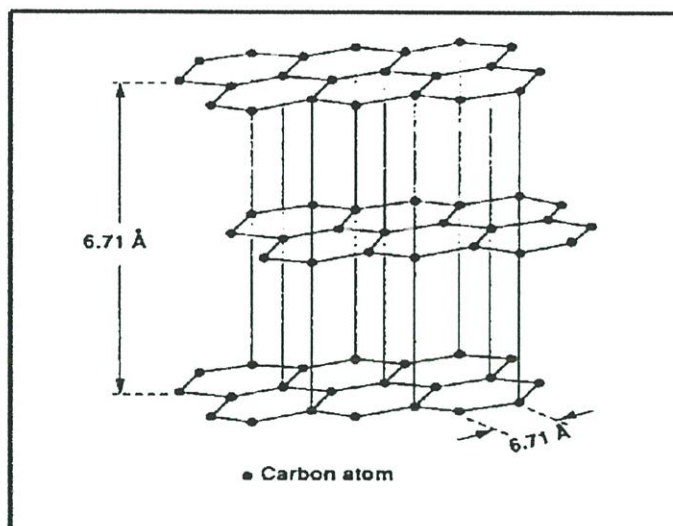


รูปที่ 2.10 ระนาบของ โครงสร้างผลึก cubic

ลักษณะของฟิล์มบางเพชรจะมีทั้งผลึกแบบรวม (polycrystalline) โดยจะมีลักษณะของเม็ดผลึกซ้อน ๆ กัน และผลึกแบบเดี่ยว (single crystalline)

2.3.2 โครงสร้างกราไฟต์ (Graphite)

โครงสร้างที่เกิดขึ้นจากอะตอมคาร์บอนยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะโควาเลนต์แบบ sp^2 เรียกว่า “โครงสร้างกราไฟต์” อะตอมคาร์บอนจะมีการยึดเหนี่ยวกับอะตอมข้างเคียง 3 อะตอมในระนาบเดียวกัน แสดงดังรูปที่ 2.11 โดยชั้นระหว่างวงแหวนหกเหลี่ยมวางซ้อนกันแบบ ABABAB... มีค่าคงที่ของโครงผลึก 6.707 \AA ระยะระหว่างอะตอมที่ใกล้สุดเท่ากับ 1.42 \AA มีค่า Raman shift เท่ากับ 1580 cm^{-1}



รูปที่ 2.11 แบบจำลองการเรียงตัวของพันธะโควาเลนต์แบบ sp^2 ของกราไฟต์

นอกจากโครงสร้างทั้งสองแล้วยังมีโครงสร้างอื่น ๆ อีกเช่น Microcrystalline carbon, Amorphous carbon และ Lonsdaleite เป็นต้น โดยความแตกต่างของโครงสร้างนี้จะต้องทำการวิเคราะห์ด้วย Raman spectroscopy

2.4 เทคนิคการสังเคราะห์ฟิล์มบางเพชร (Diamond Thin Film) แบ่งออกเป็น 5 แบบ คือ (Bachmann and Messier. 1989 ; Zhu. *et. al.* 1991 ; Ashfold. 1994)

2.4.1 Thermally activated deposition (หรือ Hot filament CVD)

2.4.2 High frequency plasma enhanced deposition

2.4.2.1 Microwave plasma

- (1) Tubular MPECVD
- (2) Bell Jar MPECVD
- (3) Magnato MPECVD (หรือ ECR)

2.4.2.2 RF plasma

- (1) Inductive RF plasma CVD
- (2) RF thermal plasma CVD

2.4.3 Direct current discharge assisted deposition

2.4.3.1 DC plasma CVD

2.4.3.2 Hollow cathode CVD

2.4.3.3 DC plasma jet CVD

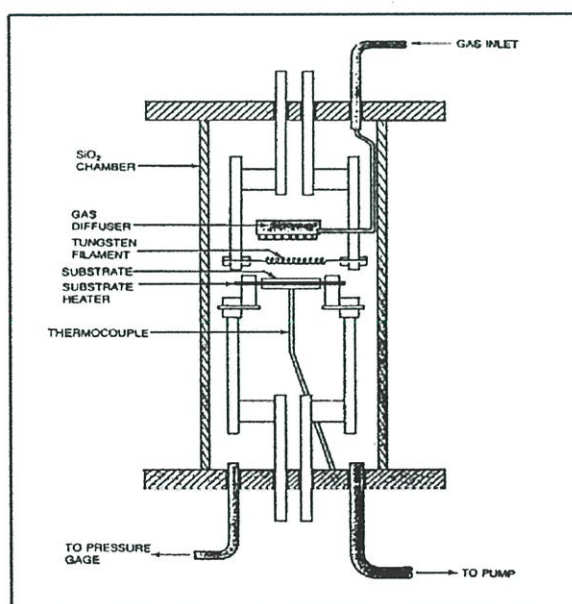
2.4.4 Combustion flame growth

2.4.5 Hybrid methods and others

ในงานวิจัยเป็นการสังเคราะห์แบบ Thermally activated deposition (หรือ Hot filament CVD) ดังนั้นจะกล่าวถึงหลักการเฉพาะ **Hot filament CVD method** ดังนี้

วิธีการสังเคราะห์โดยทั่วไปจะมีอุปกรณ์พื้นฐานดังรูปที่ 2.12 ประกอบด้วย Chamber แหล่งจ่ายแก๊สไฮโดรคาร์บอน และแหล่งจ่ายไฟฟ้าขดลวดทั้งสแตนเป็นอุปกรณ์หลัก หลักการสังเคราะห์คือจ่ายไฟยังขดลวดทั้งสแตนจนมีอุณหภูมิประมาณ 2000-2300°C ทำการผ่านแก๊สไฮโดรคาร์บอนเหนือขดลวดทั้งสแตน แก๊สไฮโดรคาร์บอนจะเกิดการแตกตัวเนื่องจากความร้อนจากขดลวดทั้งสแตนออกเป็นอะตอมคาร์บอนและแก๊สไฮโดรเจน อะตอมคาร์บอนจะตกลงบนฐานรองที่มีอุณหภูมิระหว่าง 700-1000°C การสังเคราะห์ในโดยทั่วไปจะให้เกิดผสมระหว่างมีเทนต่อแก๊สไฮโดรเจน (0.5-2.0 % โดยปริมาตร) ที่ความดัน 10-100 ทอร์ ในงานวิจัยนี้ใช้แหล่งจ่ายของคาร์บอนคือ เอทานอล

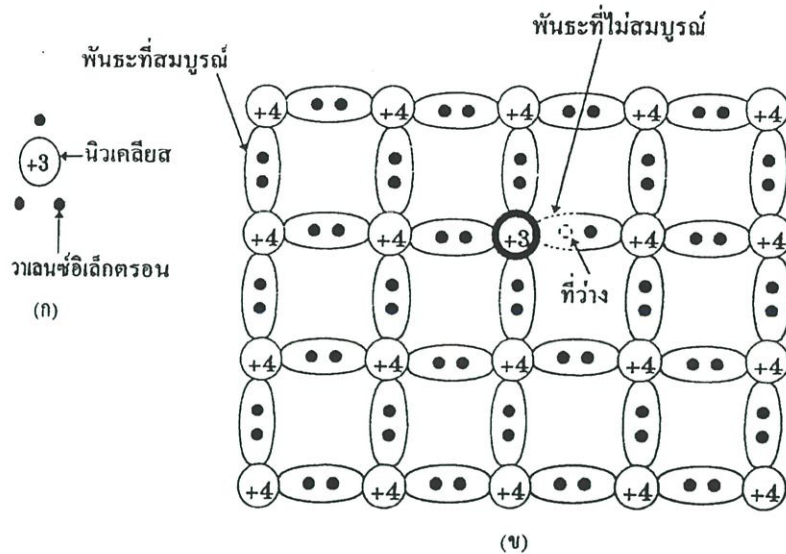
ฟิล์มเพชรที่ได้นั้นจะมีคุณสมบัติ มีอัตราการโต 1-10 $\mu\text{m/hr}$ สามารถสร้างฟิล์มได้บริเวณกว้าง แต่มีปัญหาคืออายุการใช้งานของขดลวดทั้งสแตน



รูปที่ 2.12 แผนภาพระบบ Hot filament CVD method

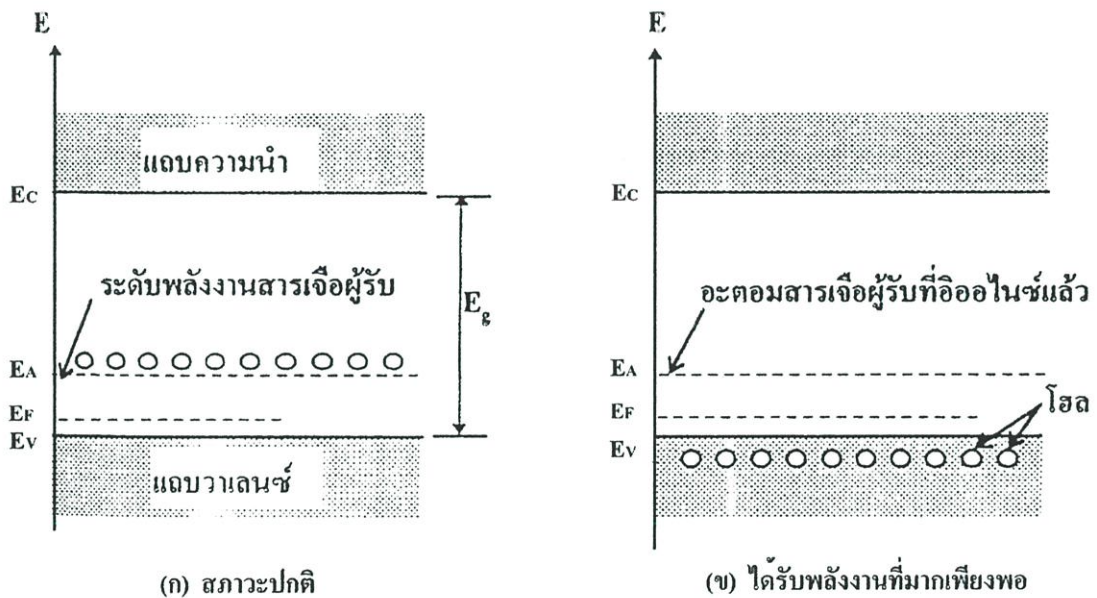
2.5 คุณสมบัติของฟิล์มบางเพชรที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ทางเคมีไฟฟ้า

ฟิล์มเพชรที่ไม่ผ่านการเจือจะเรียกว่า “สารกึ่งตัวนำอินทรินซิก” (Intrinsic) จะมีคุณสมบัติของสภาพความนำไฟฟ้าต่ำ และมีค่าคงที่ เมื่อถูกเติมสารเจือแล้วจะทำให้สภาพความนำไฟฟ้าเปลี่ยนแปลงไปได้มากน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของสารเจือที่เติมลงไป และสารกึ่งตัวนำที่ถูกเติมด้วยสารเจือนี้เรียกว่า “สารกึ่งตัวนำเอกทรินซิก” (Extrinsic) ธาตุที่เป็นสารเจือซึ่งใช้สำหรับเติมลงไป ในสารกึ่งตัวนำที่สำคัญคือ ธาตุในกลุ่มที่ III และ V ของตารางธาตุ การควบคุมการเติมสารเจือนี้เรียกว่า “การโด๊ป” (doping) สารกึ่งตัวนำเอกทรินซิกถูกแบ่งออกได้เป็นสองชนิดคือ “ชนิดเอ็น”(N-type) จะเป็นการโด๊ปธาตุหมู่ V และ “ชนิดพี” (P-type) จะเป็นการโด๊ปธาตุหมู่ III ในงานวิจัยจะเป็นการโด๊ปธาตุโบรอน (หมู่ III) ดังนั้นจึงกล่าวถึงเฉพาะชนิดพี เมื่อผ่านการโด๊ปสารเจือชนิดพีจะมีผลทำให้คุณสมบัติการนำไฟฟ้าดีขึ้น โดยมีโฮล (Hole) ซึ่งเป็นพาหะที่มีประจุบวกเกิดขึ้นที่แถบวาเลนซ์เป็นจำนวนมาก แต่ละอะตอมของสารเจือชนิดพีจะมีวาเลนซ์อิเล็กตรอนอยู่ 3 ตัว ดังแสดงในรูปที่ 2.13 (ก) จะเห็นได้ว่าอะตอมสารเจือเหล่านี้ถูกเติมลงไป ในสารกึ่งตัวนำนั้น พบว่าพันธะโควาเลนต์ระหว่างอะตอมของสารเจือและสารกึ่งตัวนำจะมีอยู่พันธะหนึ่งที่ไม่สมบูรณ์ ทั้งนี้เนื่องจากการขาดอิเล็กตรอนหนึ่งตัวดังรูปที่ 2.13 (ข) ที่ว่างที่เกิดขึ้นในพันธะดังกล่าวเมื่อมีการให้พลังงานเข้าไปมากเพียงพอ (เช่นเมื่อป้อนศักย์ไฟฟ้าเข้าไป) จะมีผลทำให้อิเล็กตรอนจากพันธะข้างเคียงที่สมบูรณ์สามารถที่จะเข้าแทนที่ที่ว่างดังกล่าวนี้ได้โดยง่าย จึงทำให้เกิดโฮลขึ้นในพันธะที่สูญเสียอิเล็กตรอน นั่นก็คือ การเกิดโฮลขึ้นในแถบวาเลนซ์ การเคลื่อนที่ของโฮลนี้จะทำให้เกิดกระแสขึ้นได้ เนื่องจากเราพิจารณาว่าโฮลเป็นอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้าชนิดบวกมีค่ามวลที่แท้จริง และคล้ายกับว่าโคจรอยู่รอบ ๆ ประจุลบที่อยู่กับที่ด้วยวงโคจรที่กว้าง ดังนั้นค่าของพลังงานที่จะทำให้อะตอมของสารเจือชนิดนี้ไอออไนซ์ (คือรับอิเล็กตรอนเข้ามา) ได้ก็สามารถหาได้จะอยู่ที่ประมาณ 0.01 eV การที่อะตอมสารเจือชนิดนี้สามารถรับอิเล็กตรอนเข้ามาได้จึงถูกเรียกว่าเป็น “สารเจือผู้รับ” เมื่อเขียนเป็นโครงสร้างแถบพลังงานจะเห็นว่าอะตอมสารเจือจะทำให้เกิดระดับพลังงานอยู่เหนือขอบบนสุดของแถบวาเลนซ์เล็กน้อยดังรูปที่ 2.14 (ก) คือระดับ E_f ดังนั้นเมื่อมีพลังงานให้เข้าไปมากเพียงพอ อิเล็กตรอนจากแถบวาเลนซ์ก็สามารถมีพลังงานมากพอ และเข้าไปอยู่ในระดับ E_f ได้ทั้งให้เกิดโฮลขึ้นที่แถบวาเลนซ์ ดังรูปที่ 2.14 (ข) ทำให้เกิดโฮลที่ระดับพลังงานชั้น E_f ได้น้อย (Davis. 1993)



รูปที่ 2.13 (ก) โครงสร้างอย่างง่ายของอะตอมสารเจือชนิดพี และ

(ข) ลักษณะการเกาะกันระหว่างอะตอมของสารเจือชนิดพี และอะตอมสารกึ่งตัวนำ



(ก) สภาวะปกติ

(ข) ได้รับพลังงานที่มากเพียงพอ

รูปที่ 2.14 ลักษณะโครงสร้างแถบพลังงานของสารกึ่งตัวนำชนิดพีเมื่อ (ก) สภาวะปกติ และ

(ข) เมื่อได้รับพลังงานที่มากเพียงพอ

ในการสร้างสารกึ่งตัวนำเพชรชนิดพีนั้น จะทำการเจือสารเจือด้วยอะตอมของโบรอนจากการศึกษาลักษณะทางเรขาคณิต และพิจารณาถึงพลังงานของโบรอน พบว่าโบรอนสามารถโคปลงไปในเพชรได้โดยไม่รบกวนแลตทิซ พลังงานกระตุ้นของโบรอนในโครงสร้างของเพชรนั้นจะมีค่า 0.37 eV สำหรับการสร้างฟิล์มเพชรด้วยวิธี CVD โดยมีแหล่งจ่ายเป็น B_2H_6 , B_2O_3 หรือแหล่งจ่ายที่เป็นของแข็งอื่น ๆ ทำให้ได้ฟิล์มเป็นชั้นโฮโมอิตีแทกเซียล (Homoeptaxial) และมีลักษณะเป็นผลึกรวม (Polycrystalline) สำหรับการเพิ่มความเข้มข้นของอะตอมสารเจือโบรอนน้อย ทำให้พลัง

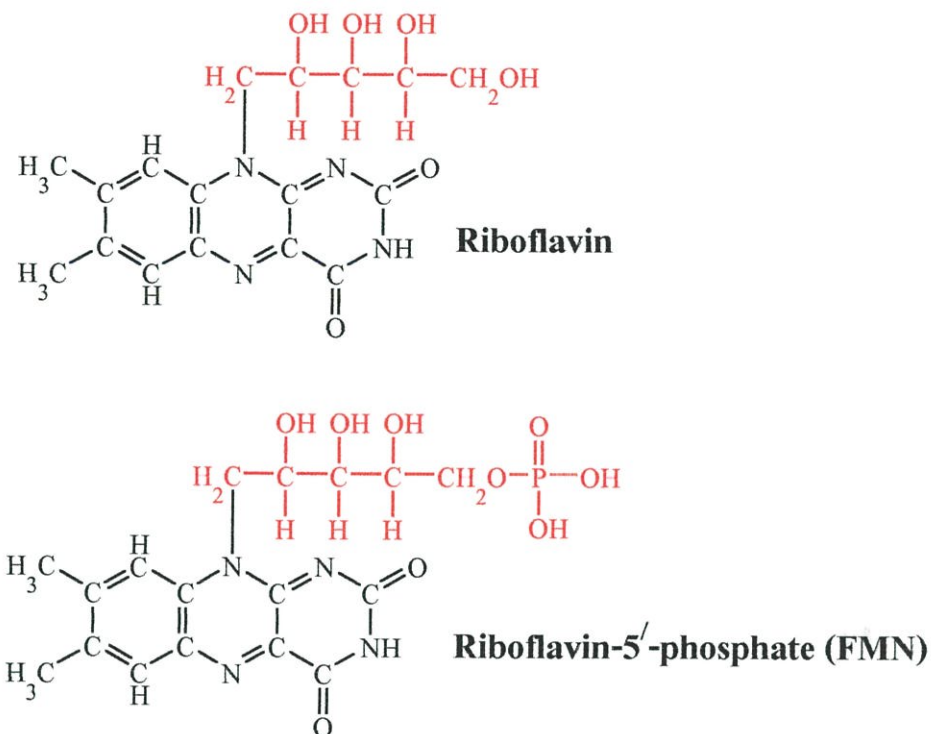
งานกระตุ้นที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับ 0.37 eV เป็นผลให้มีพลังงานกระตุ้นบางส่วนเท่านั้นที่สามารถพบได้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับฟิล์มที่มีการโคบอลต์สูง ๆ ($10^{19} - 10^{20} \text{ cm}^{-3}$) จะได้พลังงานกระตุ้นรวมมีค่าต่ำประมาณค่า 0.02 eV (Davis. 1993)

คุณสมบัติของเพชรที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ทางเคมีไฟฟ้าคือ มีความแข็ง มีความนำความร้อนสูง ทนต่อการกัดกร่อนและทนต่อสารเคมี สามารถนำไฟฟ้าได้โดยผ่านการเจือสาร เช่น โบรอน และวิธีการก่อตัวของฟิล์มเพชรมีความจำเพาะทำให้รูปแบบของขั้วไฟฟ้านั้นเหมือนกัน

ข้อดีของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน คือมีช่วงของศักย์ไฟฟ้าใช้งานทางเคมีไฟฟ้ากว้างเมื่ออยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำ เช่น -1.5 ถึง $+1.2$ V เทียบกับ SCE ใน KCl (Bouamrane *et. al.* 1996) มีชั้นความจุของประจุไฟฟ้า (Double-layer capacitance) ต่ำ เนื่องจากคุณสมบัติของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนมีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำชนิดพี ดังนั้นเมื่อมีพลังงานเข้าไปกระตุ้นเพียงพอจะทำให้เกิดโฮลที่ขาดอิเล็กตรอนอยู่บริเวณของแถบวาเลนซ์ ทำให้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเกิดโฮลตรงบริเวณใกล้กับ Fermi level (E_F) เกิดโฮลลดค่าลงดังนั้นไอออนของอิเล็กโทรไลต์ช่วยที่จะมาคลประจุเกิดการสะสมที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าน้อย ทำให้ชั้นความจุของประจุไฟฟ้าที่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าต่ำ (Alehashem *et. al.* 1995) จึงทำให้มีกระแสพื้น (Background current) ทางไซคลิกโวลแทมเมทรีที่ต่ำ (ต่ำกว่าขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนมาก) ส่งผลให้สัดส่วนของสัญญาณต่อกระแสพื้น (Signal-to-background; S/b) นั้นสูง ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนยังมีความเสถียรทางเคมีไฟฟ้าสูง ทนต่อการเสียดสภาพได้เป็นอย่างดีเมื่อมีสิ่งสกปรกเจือปน ไม่ถูกรบกวนจากออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลาย และไม่ดูดซับโมเลกุลที่มีขั้วเนื่องจากอะตอมของคาร์บอนที่พื้นผิวของโครงสร้างเชื่อมต่อกับอะตอมของไฮโดรเจน (Terminated by hydrogen) ในขณะที่ขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนและขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าจะมีโครงสร้างอะตอมของคาร์บอนเชื่อมต่อกับอะตอมของออกซิเจน (Terminated by oxygen) ซึ่งเป็นลักษณะของผิวหน้าที่มีขั้ว ดังนั้นจึงเกิดการดูดซับโมเลกุลที่มีขั้วได้ (Xu *et. al.* 1998)

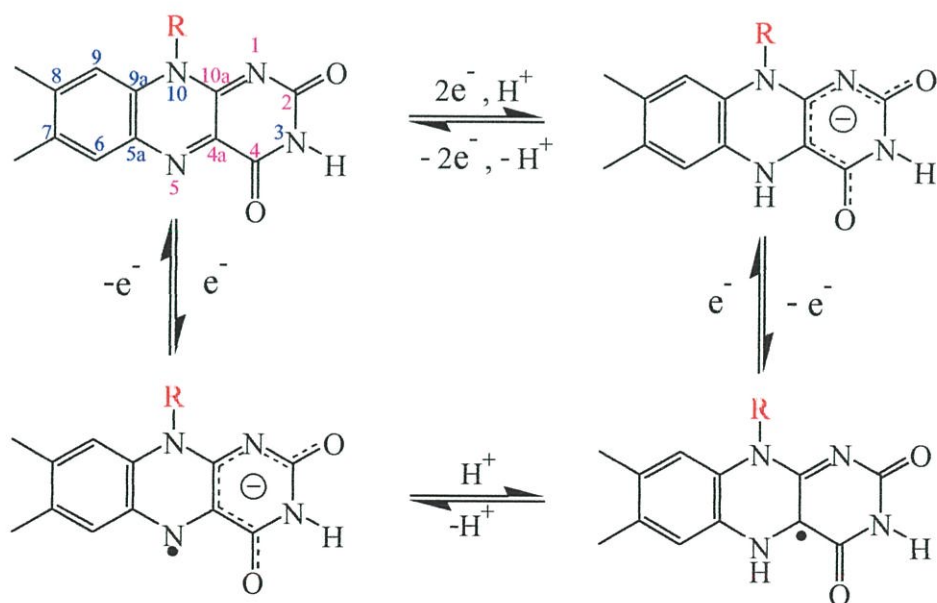
2.6 ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นของไรโบฟลาวิน และ FMN

สูตรโครงสร้างของสารที่วิเคราะห์คือ ไรโบฟลาวินโดยจะประกอบด้วยฟลาวินหรือวงไอโซแอลโลซาซีน (Isoalloxazine ring) ต่อกับ Ribityl chain รวมเรียกว่า 7,8-Dimethyl-10-(1'-d-ribyl) isoalloxazine หรืออีกนัยหนึ่งคือสารอนุพันธ์ของ Isoalloxazine ring ที่มีสายข้างเป็น Ribitol และสารที่ทำการตรวจวัดอีกตัวหนึ่งคือ FMN จะมีหมู่ที่มาเกาะกับ Isoalloxazine ring ต่างกัน ดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 สูตรโครงสร้างของไรโบฟลาวิน และ FMN

ปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นดังรูปที่ 2.16 (Niemz. and Rotello, 1999)



รูปที่ 2.16 แสดงปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้น

กลไกการเกิดปฏิกิริยาดังรูปที่ 2.16 พบว่าจะเกิดจากการส่งผ่านอิเล็กตรอนจากพันธะคอนจูเกตของ π -อิเล็กตรอน (conjugated chains) ที่ต่างกัน 2 ตำแหน่งคือพันธะคอนจูเกตของ

π -อิเล็กตรอนตำแหน่งแรกจากวงเบนซีนต่อไปยัง $N^5=C^{4a}-C^4=O$ โดยพันธะคอนจูเกตจะถูกทำลายอย่างสมบูรณ์ในกระบวนการ electroreduction พันธะคอนจูเกตของ π -อิเล็กตรอนตำแหน่งที่สองจะประกอบด้วยวงเบนซีนต่อไปยัง $C^{10a}=N^1-C^2=O$ โดยจะเกิดกระบวนการ electroreduction เช่นเดียวกันจะได้ผลิตภัณฑ์เป็น $C^{10a}=C^{4a}-C^4=O$ ในขณะเดียวกันปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นกลับในกระบวนการ electrooxidation ไปเป็นสารตั้งต้นดั้งเดิม ดังนั้นในปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเกี่ยวข้องกับอิเล็กตรอน 2 ตัว (Liu *et al.* 2001)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.7.1 การพัฒนาการตรวจวัดสารด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

Alehashem *et al.* (1995) ตรวจวัด $Fe(CN)_6^{3-/4-}$, $IrCl_6^{2-/3-}$, $Ru(NH_3)_6^{3+/2+}$, Dopamine, 4-Methylcatechol, $MV^{2+/+0}$ และ Ferrocene โดยนำเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี และ ac impedance มาใช้ศึกษาถึงการตอบสนองกระแสพื้น และความจุของประจุที่บริเวณรอยต่อระหว่างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่สร้างขึ้นกับอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งจะเปรียบเทียบกับระหว่างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรที่สร้างขึ้น และขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรที่สร้างขึ้นแล้วผ่านการชะล้างด้วยสารเคมี

Strojek *et al.* (1996) นำเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีมาทำการศึกษาถึงอัตราส่วน S/b ในปฏิกิริยารีดอกซ์ $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ และ $IrCl_6^{2-/3-}$ ที่มีสารละลาย KCl เป็นอิเล็กโทรไลต์ พบว่าขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนจะมี S/b สูงกว่าขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนประมาณ 16 และ 8 เท่าตามลำดับ

Ramesham และ Rose (1997) ได้ทำการสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มเพชรเจือโบรอนบนโมลิบดีนัม (Molybdenum) โดยผ่านกระบวนการ Microwave plasma CVD เพื่อนำมาตรวจวัดปฏิกิริยารีดอกซ์ของ Hydroquinone (HQ/Q) ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 1 M Na_2SO_4 และ 0.5 M HCl พบว่าสารมีความเสถียรในสารละลายอิเล็กโทรไลต์เป็นอย่างดี และช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในอิเล็กโทรไลต์นั้นมีช่วงกว้างมาก ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีเหมาะที่จะนำขั้วไฟฟ้าเพชรเจือโบรอนมาใช้ทางเคมีไฟฟ้า พิกที่ได้จากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีจะเป็นแบบ Irreversible โดยพบว่าศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชันกับรีดักชันของพิกจะแยกจากกันถึง 29.5 mV ซึ่งเป็นผลมาจากการตอบสนองของอิเล็กตรอนสองตัว ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของ HQ/Q

Xu and Swain (1998) นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนกับขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนมาทำการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการสแกนศักย์ไฟฟ้า ความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ และส่วนประกอบของอิเล็กโทรไลต์ที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Inorganic azide anion ในตัวกลางที่เป็นน้ำโดยอาศัยเทคนิคลิเธียร์สวิตช์พเฟอเรนเซียลพัลส์โวลแทมเมตรี และแอมเปอโรเมตรี (ใช้

ร่วมกับระบบ Flow injection analysis ; FIA) สิ่งที่ได้จากการตรวจวัดโดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนคือ

- (1) สำหรับระบบ Batch จะได้ช่วงของกราฟที่เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง Orders ที่ 3-4 และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเป็น $0.1 \mu\text{M}$ (4.3 ppm) ที่ $S/b = 3$
- (2) สำหรับระบบ FIA จะมีช่วงของกราฟที่เป็นเส้นตรงอยู่ใน Orders ที่ 5 และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเป็น 8 nM (0.3 ppb) ที่ $S/b = 3$
- (3) เมื่อทำการใช้งานขั้วไฟฟ้าฟิล์มเพชรเจือ โบรอนอย่างต่อเนื่องถึง 12 ชั่วโมงพบว่ามีความ Reproducibility ดีมาก

Wu et. al. (1998) ได้นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนมาใช้ในการศึกษาปฏิกิริมปฏิกิริยารีดักชันของ C_{60} ใน Nonaqueous media ($\text{CH}_3\text{CN/Toluene}$ (1:5 v/v)) ที่อุณหภูมิห้อง โดยอาศัยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี พบว่ามีช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในดวงกลางที่ไม่ละลายน้ำจะกว้างมาก ความสามารถในการแยกฟีกของปฏิกิริยารีดักชันที่พบมี 5 ฟีก ในขณะที่ในขั้วไฟฟ้าแพลทินัมจะพบ 4 ฟีก

Fujishima et. al. (1999) ได้นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนกับขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนมาทำการศึกษเปรียบเทียบปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Dopamine และ NADH ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี และ โคร โนแอมเปอโรเมทรี เมื่อนำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนมาทำการตรวจวัดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ NADH จากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีหลังจากนั้นทิ้งไว้เป็นเวลา 20 ชั่วโมงจึงนำมาทำการตรวจวัดอีกครั้ง พบว่าขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนจะมีความเสถียร และมี Reproducibility สูงมาก ในขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนเมื่อนำมาทำการตรวจวัดแล้วทิ้งไว้เพียง 1 ชั่วโมง พบว่าศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ NADH จะเกิดการเลื่อนออกไปทางบวกประมาณ 200 mV ขีดจำกัดในการตรวจวัด Dopamine โดยใช้เทคนิคโคร โนแอมเปอโรเมทรีมีค่าเท่ากับ 50 nM และ NADH โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีประมาณ 10 nM (ในขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน)

Rao et. al. (1999) นำข้อดีของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนที่ว่าไม่มีกระแสพื้นี่ต่ำและมีช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานที่กว้าง มาใช้สำหรับการตรวจวัดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ NADH ในสารละลายที่เป็นกลางโดยจะอาศัยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี แอมเปอโรเมทรี และขั้วไฟฟ้าดิสค์แบบหมุน พบว่าจะมีความไวต่อ NADH สูง ขีดจำกัดในการตรวจวัดต่ำสุดจากเทคนิคแอมเปอโรเมทรีเท่ากับ 10 nM ($S/b = 7$) และมีความเสถียรมากสามารถทดสอบได้จากการตรวจวัดแล้วล้างเช็ดให้แห้งต่อจากนั้นเก็บไว้เป็นเวลาหลาย ๆ ชั่วโมงจึงนำมาทำการตรวจวัดต่อ พบว่ากระแสของฟีกไซคลิกโวลแทมเมทรียังเท่าเดิมและเกิดฟีกในตำแหน่งเดิม ซึ่งผิดกับขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนเมื่อนำมาล้างเช็ด

ให้แห้งแล้วเก็บไว้ เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง พบว่าฟีกจากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีเริ่มมีการเลื่อนไปทางบวก

Sarada et. al. (1999) นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนจากระบบ Microwave plasma chemical vapor deposition (MPCVD) มาตรวจวัด Serotonin ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี และแอมเปโรเมทรี (ในระบบของ FIA) พบว่าฟีกไซคลิกโวลแทมเมตรีจะมีกระแสพื้นต่ำและ การติดที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันมีน้อยมาก ๆ ชิดจำกัดจากการตรวจวัด โดย FIA เท่ากับ 10 nM (0.2 pmol) และในการตรวจวัดนั้นมีความเสถียรและมีความไวมาก

Sarada et. al. (2000) ศึกษาถึงปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Histamin และ Serotonin โดยนำขั้วไฟฟ้าเพชรเจือโบรอนสูงมาเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ไฮโดรไดนามิกโวลแทมเมตรี และแอมเปโรเมทรี (ระบบ FIA) พบว่าไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ Histamin เกิดที่ค่าศักย์ไฟฟ้า 1.40 V และให้ค่าอัตราส่วนระหว่าง S/b ของเพชรจะสูงกว่ากลาสติคาร์บอน 1 เท่า มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 μM ชิดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้จากขั้วไฟฟ้าเพชรเจือโบรอนสูงมีค่าประมาณ 1 μM สำหรับขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนมีค่าประมาณ 10 μM สำหรับการวิเคราะห์ด้วยระบบ FIA พบว่าขีดจำกัดการวิเคราะห์ต่ำสุดเท่ากับ 0.5 μM และใน Serotonin เท่ากับ 10 nM

Granger et. al. (2000) ศึกษาถึงปฏิกิริยารีดอกซ์จากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี และศึกษา Heterogeneous electron-transfer rate constants (K_{app}°) จากฟิล์มเพชร 2 แห่ง คือ NRL (doped 10^{19} B/cm³) และUSU (doped $\sim 5 \times 10^{20}$ B/cm³) โดยนำไปตรวจวัด $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+/2+}$, $\text{IrCl}_6^{2-/3-}$, Methyl viologen, Dopamine, Ascorbic acid, $\text{Fe}^{3+/2+}$ และ Chlorpromazine และก่อนจะนำฟิล์มเพชรไปทำการตรวจวัดจะขจัด Nondiamond ออกจากพื้นผิวโดยใช้กรดล้างและผ่าน Hydrogen plasma

Saterlay et. al. (2001) ได้นำ High-intensity ultrasound มาประยุกต์ใช้กับขั้วไฟฟ้าเพชรเจือโบรอนเพื่อตรวจวัด 4-Chlorophenol โดยอาศัยเทคนิคโวลแทมเมตรีพบว่าขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 1 μM และช่วงความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1 ถึง 300 μM

Spataru et. al. (2001) ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจวัดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ L-Cysteine ใน Alkaline media ระหว่างขั้วไฟฟ้าเพชรเจือโบรอนกับขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน พบว่าเมื่อจำนวนรอบของการทำงานในเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีเพิ่มขึ้นมีผลทำให้กระแสของปฏิกิริยาออกซิเดชันจากขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนจะค่อย ๆ ลดลง ในขณะที่ขั้วไฟฟ้าเพชรเจือ

โบรอนนั้นจะคงที่ สรุปผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีจากข้อมูลไฟฟ้าเพชรเจือโบรอนได้ดังตาราง

สาร	การส่งผ่านของอิเล็กตรอน	ผลต่างของความศักย์ไฟฟ้าในพีก แอนอดิกกับแคโทดิก
$K_4Fe(CN)_6$	ช้าลง	มากขึ้น
$Ru(NH_3)Cl_3$	ไม่ต่างกันมากนัก	ไม่ต่างกันมากนัก
$Fe(ClO_4)_3$	เร็วขึ้น	น้อยลง

2.7.2 การตรวจวัดไรโบฟลาวิน

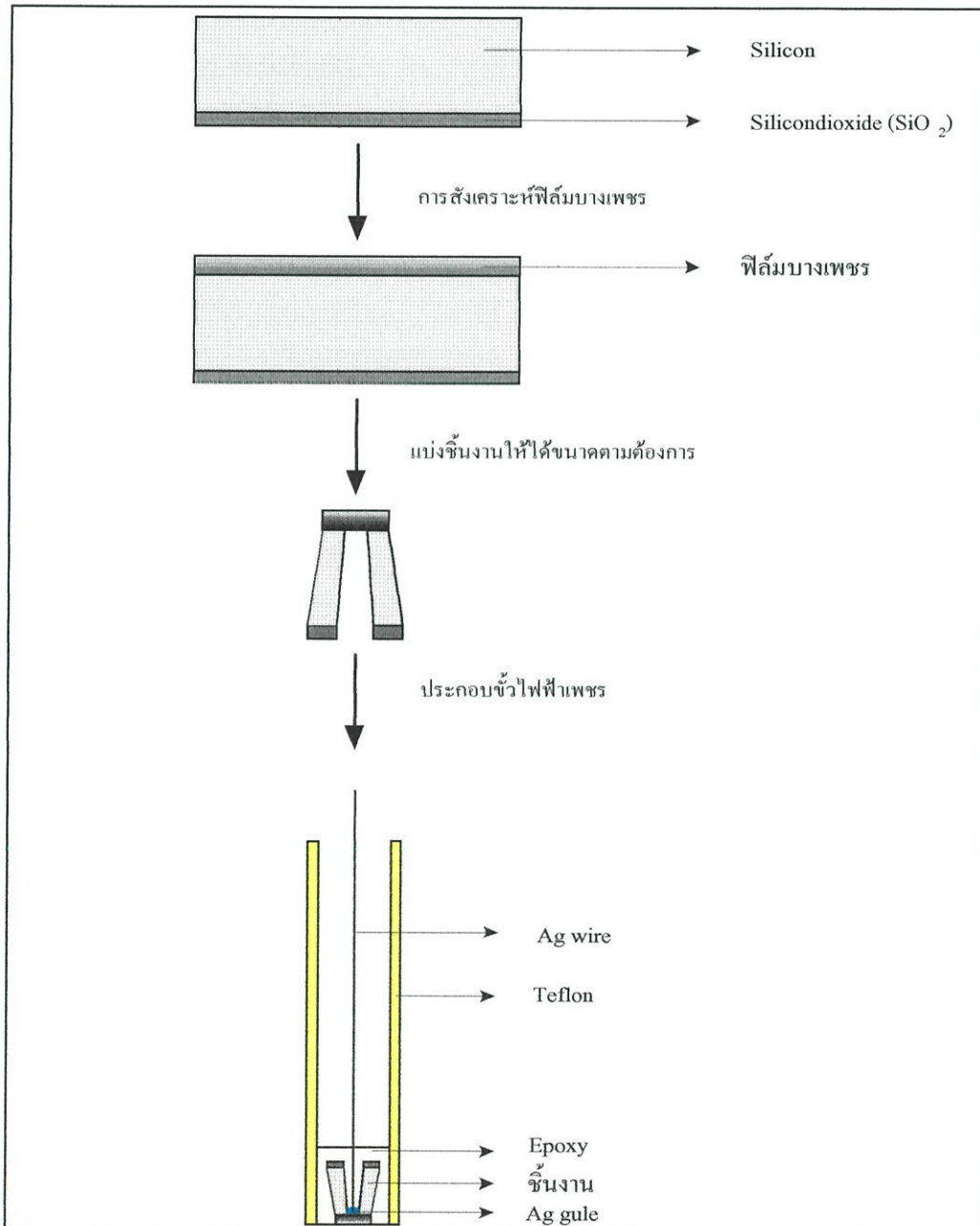
การวิเคราะห์หาปริมาณไรโบฟลาวินได้มีการวิเคราะห์และคิดค้นมาเป็นเวลานานแล้ว ในปี 1987 ที่ผ่านมา Arturo และ Michael ได้ทำการตรวจวัดไรโบฟลาวิน FMN และ FAD ในเลือดและในน้ำปัสสาวะด้วยเครื่อง HPLC ปี ค.ศ. 1994 Barna และ Dworschak ทำการตรวจวัดวิตามินบี 1 และ บี 2 ในเนื้อและตับโดยใช้เครื่อง HPLC ในปีเดียวกันนี้ Greeway and Kometa ได้ทำการตรวจวัดไรโบฟลาวินและ FMN ในนํ้านมและธัญญาหารโดยใช้เครื่องฟลูออริเมเตอร์ และเครื่อง HPLC สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Perez-Ruiz *et. al.* 1994) ได้ทำการตรวจวัดไรโบฟลาวินและ FMN โดยนำเทคนิค FIA ใช้ร่วมด้วย ในส่วนของการตรวจวัดโดยใช้เทคนิคทางคานเคมีไฟฟ้า ในปี ค.ศ. 1966 Hartley และ Wilson ได้มีการนำวิธีการทางโพลารกราฟีไซคลิกโวลแทมเมตรี และ โครโนโพเทนซิโอเมตรี โดยทำการตรวจวัดบนขั้วไฟฟ้าปรอท พบว่าขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ต่ำมาก ต่อมาได้นำเทคนิคแอดซอร์ปทีฟสทริปปิงมาใช้ในการตรวจวัด พบว่าขีดจำกัดในการตรวจวัดต่ำมากถึง 10^{-11} M ของไรโบฟลาวิน (Wang *et. al.* 1985) จากการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าที่ผ่านมาจะเป็นการใช้ขั้วไฟฟ้าปรอทซึ่งเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม จึงได้ประยุกต์นำขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนมาใช้ในการตรวจวัดไรโบฟลาวิน (Shiu and Shi. 2000) พบว่ามีขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ต่ำ และมีความจำเพาะต่อการตรวจวัดไรโบฟลาวินเป็นอย่างดี แต่มีข้อเสียคือโมเลกุลของไรโบฟลาวินเกิดการดูดซับที่บริเวณพื้นผิวของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอน

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงนำข้อดีของขั้วไฟฟ้าฟิล์มเพชรเจือโบรอนที่กล่าวในข้างต้นมาใช้ โดยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรที่ใช้ได้ทำการผลิตขึ้นเองจากเอทานอลและแก๊สไฮโดรเจน สังเคราะห์โดยอาศัยเทคนิค CVD แบบใส่ความร้อนที่ความดันต่ำ มาใช้ร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าสำหรับตรวจวัดไรโบฟลาวิน เพื่อลดปัญหาการดูดซับโมเลกุลของไรโบฟลาวินที่บริเวณพื้นผิวของขั้วไฟฟ้า โดยในงานวิจัยจะทำการตรวจวัดเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

สรุปขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้



รูปที่ 3.1 สรุปขั้นตอนการสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพอร์เจือโบรอน

3.1 สารเคมี และเครื่องมืออุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

3.1.1.1 การสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

1.) การเตรียมฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนขนาด $3 \times 3 \text{ mm}^2$

1. กรดไนตริก (Nitric acid; HNO_3), Electronic grade ของบริษัท J.T. Baker
2. ไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene), Electronic grade ของบริษัท J.T. Baker
3. อะซิโตน (Acetone; $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$), Electronic grade ของบริษัท J.T. Baker
4. น้ำปราศจากไอออน (Deionised water; $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$)
5. เอทานอล (Ethanol; $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)
6. ครีမ်เพชร (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค $0.3 \mu\text{m}$)
7. สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Buffer for oxidation)
 - กรดไฮโดรฟลูออริก (Hydrofluoric acid; HF)
 - แอมโมเนียมฟลูออไรด์ (Ammonium fluoride; NH_4F)
8. โบรอนไตรออกไซด์ (Borontrioxide; B_2O_3)
9. แก๊สไนโตรเจน (Nitrogen gas; N_2)
10. แก๊สไฮโดรเจน (Hydrogen gas; H_2)
11. ชุดสกัดซิลิกอนด้วยสาร EPD
 - เอธิลีนไดเอมีน (Ethylenediamine)
 - ไพโรเซตาคอล (Pyrochetaacol)
 - น้ำปราศจากไอออน (Deionised water)

2.) การประกอบขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

1. กาวเงิน (Silver glue)
2. กาวยาง (Silicone rubber)

3.1.1.2 การตรวจวัด ไรโบฟลาวิน และ FMN ทางเคมีไฟฟ้า

1. โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride; KCl), A.R. grade ของบริษัท

Analytical univar reagent

2. กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid; H_2SO_4), A.R. grade ของบริษัท Merck
3. โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate; K_2SO_4), A.R. grade ของบริษัท Merck
4. โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate; Na_2SO_4), A.R. grade ของบริษัท Merck
5. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride; NaCl), A.R. grade ของบริษัท Fisons
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH), A.R. grade ของบริษัท Merck

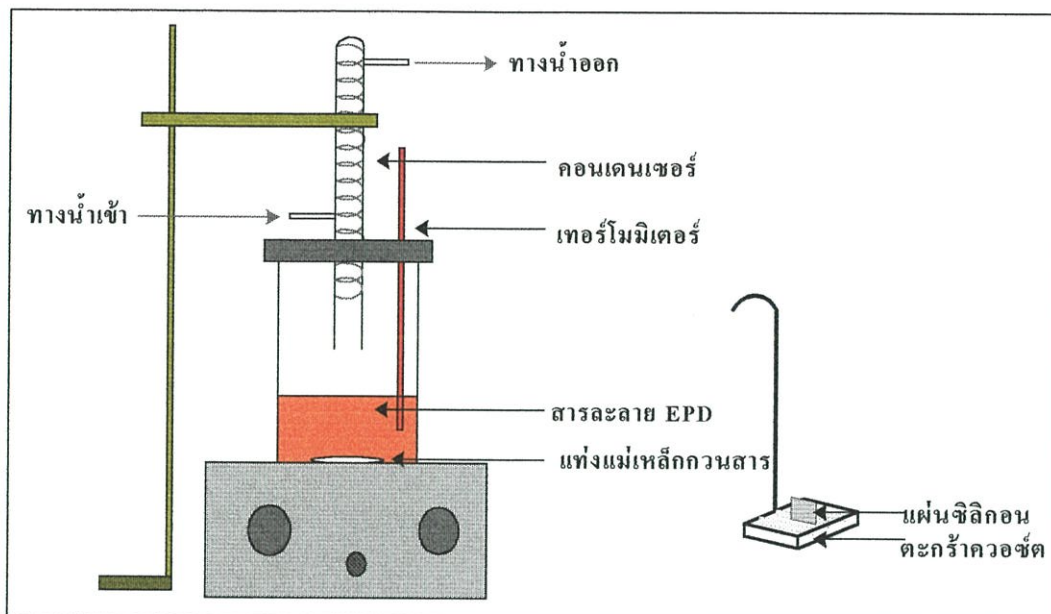
7. ไรโบฟลาวินหรือวิตามินบีสอง (Riboflavin 98%), A.R. grade ของบริษัท Acros organics
8. เกลือโซเดียมไดไฮเดรตของไรโบฟลาวิน-5'-โมโนฟอสเฟต (Riboflavin-5'-monophosphate sodium salt dihydrate; FMN) HPLC grade ของบริษัท Fluka
9. โพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอเรต (Potassium hexacyanoferrate; $K_3(Fe(CN)_6)$)
10. เอทานอล (Ethanol; C_2H_5OH), AR grade จากบริษัท Carlo Erba
11. แก๊สไนโตรเจน (Nitrogen gas; N_2)
12. ผงอะลูมินา (Aluminium oxide; Al_2O_3) ของบริษัท Fluka

3.1.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์

3.1.2.1 การสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

1.) การเตรียมฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนขนาด $3 \times 3 \text{ mm}^2$

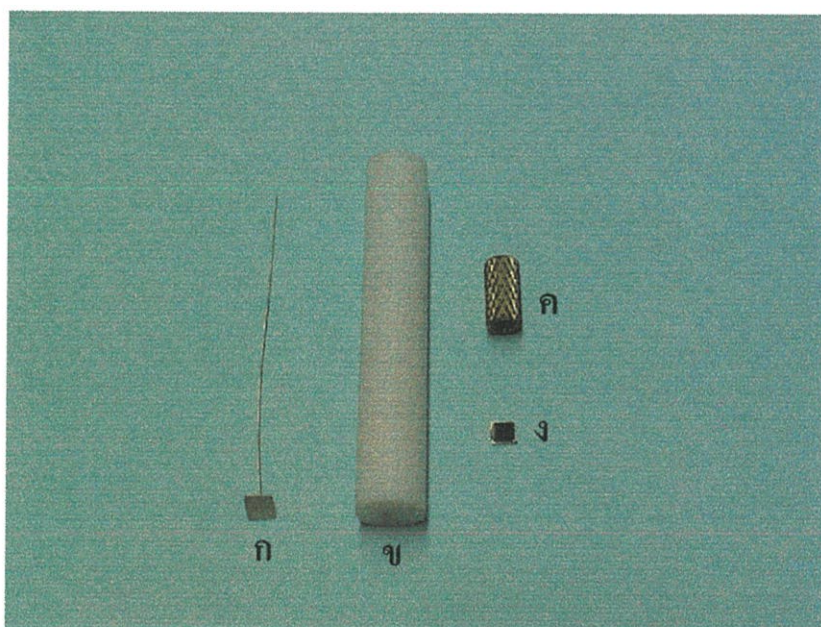
1. แผ่นซิลิกอน (Si N-type (100))
2. เตอบ
3. เครื่องสร้างฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนชนิด Hot filament ที่ความดันต่ำ
4. เครื่องมาร์คอะไลเนอร์ (Mask aligner)
5. เครื่องสกัดซิลิกอนแบบแห้ง (Reactive ion etching, RIE)
6. เครื่องไมโครเวฟพลาสมา (Microwave plasma)
7. เครื่องระเหยทอง (Au evaporator)
8. เครื่องเตาเผาทอง (Au sinter)
9. เครื่องสปัตเตอร์ (Sputter)
10. เครื่องรามานสเปกโตรมิเตอร์ (Raman spectrometer) รุ่น 2000 จากบริษัท Renishaw
11. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาด (Scanning electron microscopy, SEM) รุ่น LEO 1455 VP จากบริษัท LEO Electron Microscopy
12. ชุดสกัดซิลิกอนด้วยสาร EPD ตั้งอุปกรณ์ดังรูปที่ 3.2
 - บีกเกอร์แก้ว พร้อมฝาปิด
 - แท่นให้ความร้อน (Hot plate)
 - ชุดควบแน่น (Condensation)
 - เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
 - ตะกร้าควอร์ตซ์ (Quartz basket)



รูปที่ 3.2 แสดงส่วนประกอบของอุปกรณ์ชุดกักซิลิกอนด้วยสาร EPD (แบบเปียก)

2.) การประกอบขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพอร์เจือโบรอน (ดังรูปที่ 3.3)

1. ลวดเงิน (Ag wire)
2. แท่งเทฟลอน (Teflon)
3. นอตตัวเมีย
4. ฟิล์มบางเพอร์เจือโบรอนที่หักเป็นชิ้นขนาด $3 \times 3 \text{ mm}^2$



รูปที่ 3.3 ส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพอร์เจือโบรอน; ก. ลวดเงิน, ข. แท่งเทฟลอน
ค. นอตตัวเมีย และ ง. ฟิล์มบางเพอร์เจือโบรอนขนาด $3 \times 3 \text{ mm}^2$

3.1.2.2 การตรวจวัด ไโรโบฟลาวิน และ FMN ทางเคมีไฟฟ้า

1. แผ่นขัดขั้วไฟฟ้า (Emery paper) จากบริษัท Metrohm
2. เครื่อง PG STAT 20 (Autolab) จากบริษัท Metrohm
3. เครื่องคอมพิวเตอร์และ General purpose electrochemical system software version

4.5 (GPES 4.5)

4. 663 VA stand จากบริษัท Metrohm
5. เครื่องอัลตราโซนิก รุ่น ME 4.6 จากบริษัท Mettler Electronic
6. ขั้วไฟฟ้ามีดังนี้คือ

- ขั้วไฟฟ้าใช้งาน คือขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (Graphite electrode)

- ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง คือขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ ที่บรรจุด้วยสารละลาย

3 M KCl (Ag/AgCl electrode)

- ขั้วไฟฟ้าช่วย คือขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน (Glassy carbon electrode)

3.2 วิธีดำเนินงาน

3.2.1 การเตรียมสารเคมี

1.) เตรียมสารเคมีในกระบวนการสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

1.1) การเตรียมสารละลาย 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C

การเตรียม Stock solution 10000 ppm ของ B/C โดยชั่ง B_2O_3 1.89805 g นำมาละลายในเอทานอลแล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลเป็น 100 ml เจือจาง 10000 ppm ของ B/C เป็น 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C โดยปีเปิดสารตามตาราง 3.1 แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลเป็น 50 ml

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาตรการปีเปิด stock solution B/C 10000 ppm ให้เจือจางเป็น 10 100 และ 1000 ppm

ปริมาณของ B/C (ppm)	ปริมาตร stock solution ที่ปีเปิด (ml)
10	0.05
100	0.5
1000	5

1.2) การเตรียมสารละลายกักซิลิกอน (Si) ด้วยสาร EPD (แบบเปียก)

ซังไฟโรเคทาคอล 24 g ใส่ในบีกเกอร์ แล้วนำมาละลายในน้ำจืดไอออน 48 ml ต่อจากนั้นทำการปิเปตเอทาลินไดเอมีนลงไป 150 ml แล้วคนให้เข้ากัน

1.3) การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ปิเปต HF 30 ml ผสมกับ NH_4F 300 ml แล้วคนให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดเทฟลอน

2.) เตรียมสารเคมีในการตรวจวัด ไรโบฟลาวิน และ FMN ทางเคมีไฟฟ้า

2.1) เตรียมสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ

โดยซังสารตามตาราง 3.2 แล้วนำมาละลายในน้ำจืดไอออน ต่อจากนั้นปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 ml ด้วยน้ำจืดไอออน

ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณการซังสารต่างๆ เพื่อนำไปเตรียมเป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์

ชื่อสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ความเข้มข้น 0.1 M	ปริมาณการซังสารต่างๆ (g)
0.1 M NaOH	1.00000
0.1 M NaCl	1.46100
0.1 M KCl	2.84250
0.1 M Na_2SO_4	3.58688
0.1 M K_2SO_4	4.35675
0.1 M H_2SO_4	1.4 (ml)

2.2) เตรียมสารละลาย 1 mM $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ ใน 0.1 M KCl

โดยซัง $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ 0.001646 g ละลายใน 0.1 M KCl แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.1 M KCl ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 ml จนถึงขีด

2.3) เตรียมสารละลาย stock solution ของ ไรโบฟลาวิน และ FMN

2.3.1) 0.05 M ไรโบฟลาวิน (stock solution)

โดยซังไรโบฟลาวิน 0.19202 g มาละลายในน้ำจืดไอออน แล้วทำการปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml จนถึงขีด

2.3.2) 0.05 M FMN (stock solution)

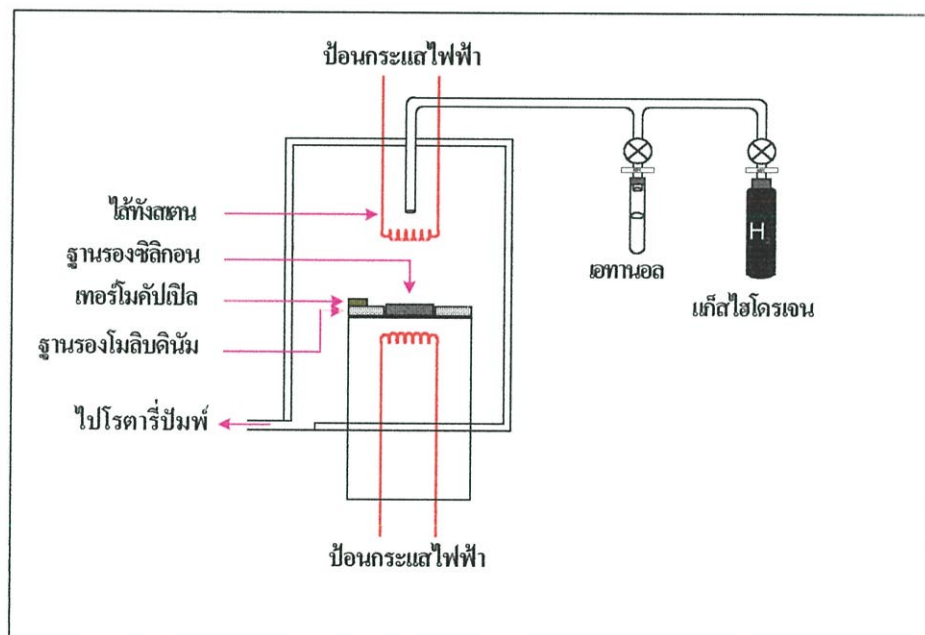
โดยซังไรโบฟลาวิน 0.30256 g มาละลายในน้ำจืดไอออน แล้วทำการปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml จนถึงขีด

3.2.2 การสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

1.) การเตรียมฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนขนาด $3 \times 3 \text{ mm}^2$

1.1) การสังเคราะห์ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

ทำความสะอาดแผ่นด้วยกรดไนตริก ไตรคลอโรเอทิลีน อะซิโตน และน้ำจืดไอออน ตามลำดับ แล้วเป่าให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจนขัดแผ่นซิลิกอนด้านหน้าโดยใช้ครีมเพชร เป็นเวลา 15 นาที นำแผ่นไปสร้างฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนด้วยเครื่อง Hot filament (มีองค์ประกอบดังรูปที่ 3.4) ที่ความดันต่ำเป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง



รูปที่ 3.4 แผนภาพองค์ประกอบของเครื่อง Hot filament แบบความดันต่ำ

หมายเหตุ สภาวะที่ใช้สร้างฟิล์มบางเพชรเจือสารโบรอน

- ความดันของระบบ $1.5 \times 10^{-2} \text{ Torr}$
- อุณหภูมิของ filament 2000°C
- อุณหภูมิของฐานรอง $900-1000^\circ \text{C}$
- ระยะห่างระหว่าง filament กับฐานรอง 3.5 mm
- power supply $160-180 \text{ W}$
- เวลาในการสังเคราะห์ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 4 ชั่วโมง

1.2) การแยกชิ้นงานให้ได้ขนาด $3 \times 3 \text{ mm}^2$

สร้าง SiO_2 ด้านฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนโดยเครื่อง Sputtering เปิดมาร์คตารางด้านฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่มี SiO_2 ปกคลุมอยู่ (เพื่อแบ่งแผ่นฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนให้ได้ขนาดด้าน $3 \times 3 \text{ mm}^2$ ตามต้องการ) โดยผ่านกระบวนการโฟโตลิโทกราฟี ล้าง SiO_2 ออกตามร่องมาร์คโดยใช้เครื่อง RIE กัดฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนด้วยเครื่อง Microwave plasma ที่ความดัน 8.5 torr เป็นเวลา 35 นาที นำชิ้นงานไปกัด Si แบบเปียกด้วย EPD (ตามร่องตาราง) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 30 นาที ที่อุณหภูมิ 95°C ล้างแผ่นและทำความสะอาดต่อจากนั้นนำแผ่นไปเข้าเครื่อง Au Evaporate และเครื่อง Au Sinter ที่อุณหภูมิประมาณ 400°C ตามลำดับ นำแผ่นมาหักชิ้นงานตามตาราง

2.) การประกอบขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

ประกอบอุปกรณ์ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนดังรูปที่ 3.1 แล้วนำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่ได้ไปล้าง SiO_2 ด้านหน้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนออกด้วยสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชัน ต่อจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.2.3 การล้างขั้วไฟฟ้าทำงาน

3.2.3.1 ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

แช่ในเอทานอลเป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำขจัดไอออนและซับให้แห้ง

3.2.3.2 ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

ขัดด้วยผงอะลูมินาบน emery paper เป็นเวลา 5 นาที ต่อจากนั้นนำไปสั่นในเครื่องสั่น 5 นาที แล้วนำไปล้างด้วยเอทานอล และน้ำขจัดไอออนตามลำดับ

3.2.4 เปรียบเทียบสัญญาณของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10 100 และ 1000 ppm ของ B/C กับ 10 mM $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี เพื่อเลือกขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่ดีที่สุดสำหรับการทดลองต่อไป

นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10 ppm ของ B/C ใส่ลงในเซลล์ที่มีสารละลาย 1 mM $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ ใน 0.1 M KCl และมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl กับขั้วไฟฟ้าช่วยกลาสติคาร์บอนอยู่ในเซลล์ ทำการพ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที ให้ศักย์ไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมตรีในช่วง -1.8 ถึง 1.2 V ให้อัตราการสแกนเป็น 0.1 V/s จำนวน 5 รอบ บันทึกโวลแทมโแกรมที่ได้และทำซ้ำ 3 ครั้ง

ทำซ้ำตั้งแต่ต้นโดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10 ppm ของ B/C เป็น 100 และ 1000 ppm ของ B/C ตามลำดับ แล้วเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้

3.2.5 เปรียบเทียบสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าระหว่างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่เลือกจากข้อ 3.2.4 กับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

1.) หาช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในสารละลายต่าง ๆ

นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่เลือกจากข้อ 3.2.4 ใส่ลงในเซลล์ที่มีสารละลาย 0.1 M KCl และมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl กับขั้วไฟฟ้าช่วยกลาสติคาร์บอนอยู่ในเซลล์ ฟันแก๊สในโครเจน 300 วินาที ให้ศักย์ไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมทรีในช่วงต่าง ๆ กัน และให้อัตราการสแกน 0.1 V/s จำนวน 5 รอบ บันทึกโวลแทมโมแกรมที่ได้ และทำซ้ำ 3 ครั้ง

ทำซ้ำตั้งแต่แรกโดยเปลี่ยนสารละลาย 0.1 M KCl เป็นสารละลาย NaCl, H₂SO₄, K₂SO₄, Na₂SO₄ และ NaOH ความเข้มข้น 0.1 M ตามลำดับ แล้วเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้

ทำซ้ำตั้งแต่แรกโดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเป็นขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

2.) หาสภาวะทางเคมีไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ไรโบฟลาวิน และ FMN โดยศึกษา

2.1) ชนิดของอิเล็กโทรไลต์

2.1.1) 1 mM ไรโบฟลาวิน

นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่เลือกจากข้อ 3.2.4 ใส่ลงในเซลล์ที่มีสารละลาย 1 mM ไรโบฟลาวินใน 0.1 M NaOH และมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl กับขั้วไฟฟ้าช่วยกลาสติคาร์บอนอยู่ในเซลล์ ทำการฟันแก๊สในโครเจน 300 วินาที ให้ศักย์ไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมทรี และให้อัตราการสแกน 0.1 V/s จำนวน 5 รอบ บันทึกไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้ และทำซ้ำ 3 ครั้ง

ทำซ้ำตั้งแต่ต้นโดยเปลี่ยนสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M NaOH เป็นสารละลาย NaCl, H₂SO₄, K₂SO₄, Na₂SO₄ และ NaOH ความเข้มข้น 0.1 M ตามลำดับ แล้วเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้ ทำซ้ำตั้งแต่ต้นโดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเป็นขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

2.1.2) 1 mM FMN

ทำเหมือนข้อ 2.1.1) โดยเปลี่ยน 1 mM ไรโบฟลาวิน เป็น 1 mM FMN

2.2) ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์

2.2.1) 50 μM ไรโบฟลาวิน

นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่เลือกจากข้อ 3.2.4 ใส่ลงในเซลล์ที่มีสารละลาย 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.001 M ของอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกจากข้อ 2.1.1) และมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl กับขั้วไฟฟ้าช่วยกลาสติคาร์บอนอยู่ในเซลล์ ทำการพ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที ให้ศักย์ไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมทรี และให้อัตราการสแกน 0.1 V/s จำนวน 5 รอบ บันทึกไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้ และทำซ้ำ 3 ครั้ง

ทำซ้ำตั้งแต่ต้นโดยเปลี่ยนสารละลาย 50 μM ไรโบฟลาวิน ใน 0.001 M ของอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกจากข้อ 2.1.1) เป็น 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 M ตามลำดับ แล้วเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้

นำซ้ำตั้งแต่ต้นโดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเป็นขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

2.2.2) 50 μM FMN

ทำเหมือนข้อ 2.2.1) โดยเปลี่ยน 50 μM ไรโบฟลาวิน เป็น 50 μM FMN ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกจากข้อ 2.1.2) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ตามลำดับ

2.3) อัตราการสแกนที่เหมาะสม

2.3.1) 50 μM ไรโบฟลาวิน

นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่เลือกจากข้อ 3.2.4 ใส่ลงในเซลล์ที่มีสารละลาย 50 μM ไรโบฟลาวินในอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกจากข้อ 2.2.1) และมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl กับ ขั้วไฟฟ้าช่วยกลาสติคาร์บอนอยู่ในเซลล์ ทำการพ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที ให้ศักย์ไฟฟ้าแบบไซคลิกโวลแทมเมทรี และให้อัตราการสแกน 0.01 V/s จำนวน 5 รอบ บันทึกไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้ และทำซ้ำ 3 ครั้ง

ทำซ้ำตั้งแต่ต้นโดยเปลี่ยนอัตราการสแกนจาก 0.01 V/s เป็น 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, และ 1.0 V/s ตามลำดับ แล้วเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้

นำซ้ำตั้งแต่ต้นโดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเป็นขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

2.3.2) 50 μM FMN

ทำเหมือนข้อ 2.3.1) โดยเปลี่ยน 50 μM ไรโบฟลาวินเป็น 50 μM FMN ในอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกจากข้อ 2.2.2)

2.4 อัตราการกวนที่เหมาะสม

2.4.1) ไรโบฟลาวิน

นำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่เลือกจากข้อ 3.2.4 ใส่ลงในเซลล์ที่มี 10 ml ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกจากข้อ 2.2.1) และมีขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl กับขั้วไฟฟ้าช่วยกลาสคาร์บอนอยู่ในเซลล์ ทำการพ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที วิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีให้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ -0.15 V และให้อัตราการกวนสารละลายเป็น 1000 rpm ทำการเติม 10 μ l ของ 0.05 M ไรโบฟลาวิน ลงในสารละลาย และทำซ้ำ 3 ครั้ง

ทำซ้ำตั้งแต่ต้น โดยเปลี่ยนอัตราการกวนจาก 1000 rpm เป็น 2000, 3000, 4000, และ 5000 rpm ตามลำดับ แล้วเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้

ทำซ้ำตั้งแต่ต้น โดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเป็นขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

2.4.2) FMN

ทำเหมือนข้อ 2.4.1) โดยเปลี่ยนละลายในอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกจากข้อ 2.2.1) เป็นอิเล็กโทรไลต์จากข้อ 2.2.2) ให้ศักย์ไฟฟ้าที่คงที่ -0.13 V และเปลี่ยนจากการเติม 0.05 M ไรโบฟลาวินเป็น 0.05 M FMN

3.) ประสิทธิภาพในการตรวจวัดไรโบฟลาวิน และ FMN ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

3.1) เสถียรภาพของขั้วไฟฟ้า

3.1.1) 50 μ M ไรโบฟลาวิน

ทำตามข้อ 2.3.1) โดยเลือกอัตราการสแกนที่ดีที่สุด (ทำการตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์)

3.1.2) 50 μ M FMN

ทำตามข้อ 2.3.2) โดยเลือกอัตราการสแกนที่ดีที่สุด (ทำการตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์)

3.2) การทำซ้ำ (Reproducibility)

3.2.1) 50 μ M ไรโบฟลาวิน

ทำตามข้อ 2.3.1) โดยเลือกอัตราการสแกนที่ดีที่สุด (ทำการตรวจวัดซ้ำในสารละลายเดิม จำนวน 30 ครั้ง)

3.2.2) 50 μ M FMN

ทำตามข้อ 2.3.2) โดยเลือกอัตราการสแกนที่ดีที่สุด (ทำการตรวจวัดซ้ำในสารละลายเดิม จำนวน 30 ครั้ง)

3.3) ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

3.3.1) ไโรโบฟลาวิน

ทำตามข้อ 2.4.1) โดยเลือกอัตราการกวานที่ดีที่สุด และทำการเติม 0.05 M ไโรโบฟลาวิน จนกว่ากระแสจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเติมไโรโบฟลาวิน

3.1.2) FMN

ทำตามข้อ 2.4.2) โดยเลือกอัตราการกวานที่ดีที่สุด และทำการเติม 0.05 M FMN จนกว่ากระแสจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเติม FMN

3.4) ขีดจำกัดในการตรวจวัด

3.4.1) ไโรโบฟลาวิน

เลือกความสัมพันธ์ในช่วงที่เป็นเส้นตรงจากข้อ 3.3.1) แล้วทำการวัดเพียงสารละลายอิเล็กโทรไลต์ตามข้อ 3.3.1) ซ้ำกันจำนวน 30 ครั้ง แล้วนำค่ากระแสพื้นที่ได้นำไปคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดตามภาคผนวก ข

3.4.2) FMN

เลือกความสัมพันธ์ในช่วงที่เป็นเส้นตรงจากข้อ 3.3.2) แล้วทำการวัดเพียงสารละลายอิเล็กโทรไลต์ตามข้อ 3.3.2) ซ้ำกันจำนวน 30 ครั้ง แล้วนำค่ากระแสพื้นที่ได้นำไปคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดตามภาคผนวก ข

4.) ตรวจวัด ไโรโบฟลาวินในยาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่มีขายตามท้องตลาด

นำยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง (มีปริมาณไโรโบฟลาวิน 50 mg/เม็ด) มาบดและละลายในน้ำขจัดไอออน แล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml จากนั้นทำตามข้อ 3.3.1) โดยเติม 20 μ l ของสารละลายยาเม็ดวิตามินลงในอิเล็กโทรไลต์ที่มีปริมาตร 10 ml ก่อนเริ่มตรวจวัดทางแอมเปอโรเมทรี ต่อจากนั้นจะเริ่มเติม 5 μ l ของ 0.05 M ไโรโบฟลาวินมาตรฐานที่ 200 วินาที และทุก ๆ 50 วินาทีถัดไปจำนวน 5 ครั้ง แล้วนำค่าของกระแสที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานจากการเติมเพื่อคำนวณหาปริมาณวิตามินในยาเม็ดตัวอย่างในรูปของ เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% Recovery) (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ค)

บทที่ 4

ผลการทดลอง และอภิปรายผล

4.1 การเตรียมขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

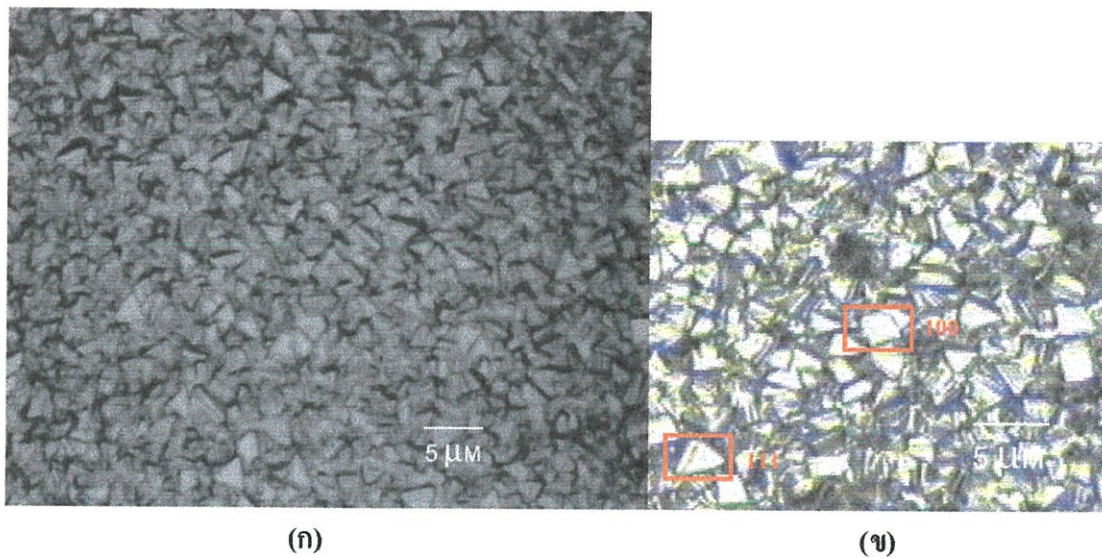
4.1.1 คุณภาพของการสร้างฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

4.1.1.1 ลักษณะของพื้นผิวของฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

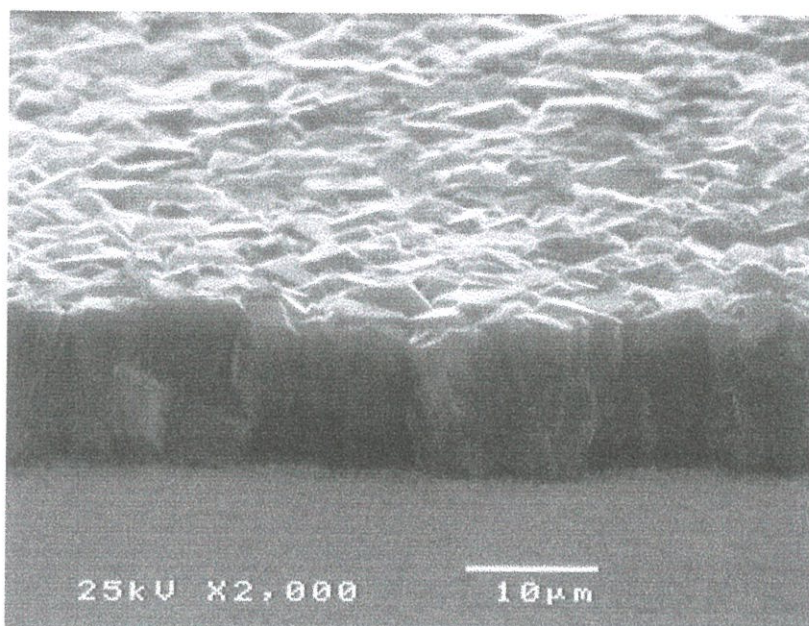
ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยเครื่อง CVD แบบ Hot filament ที่ความดันต่ำ ที่สภาวะดังนี้

- ความดันของระบบ 1.5×10^{-2} Torr
- อุณหภูมิของ Filament 2000°C
- อุณหภูมิของฐานรอง $900-1000^{\circ}\text{C}$
- ระยะห่างระหว่าง Filament กับฐานรอง 3.5 mm
- Power supply $160-180\text{ W}$
- เวลาในการสังเคราะห์ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 4 ชั่วโมง

ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนจะได้ดังรูปที่ 4.1-4.2



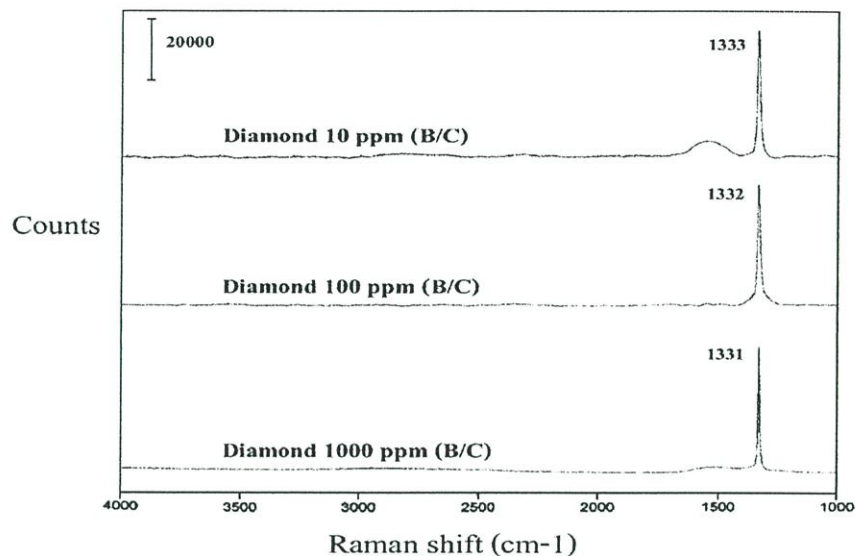
รูปที่ 4.1 (ก) ภาพถ่ายผิวหน้าของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนจากกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า
(ข) แสดงระนาบของฟิล์มบางเพชร (111) และ (100)



รูปที่ 4.2 ภาพถ่ายภาคตัดขวางของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนจากเครื่อง SEM ด้วยกำลังขยาย 2000 เท่า

จากรูปที่ 4.1 ลักษณะผิวหน้าของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอนจะเป็นแบบ polycrystalline เม็ดผลึกที่ได้จากการสังเคราะห์จะมีทั้งเม็ดเล็กที่กำลังซ้อนทับกับเม็ดผลึกที่มีขนาดใหญ่ และเม็ดผลึกที่ซ้อนๆ เรียงต่อกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยจะมีทั้งระนาบ (111) มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยม และ (100) มีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยม จากภาพภาคตัดขวางจากเครื่อง SEM จะพบว่าฟิล์มที่ได้มีความหนาประมาณ $10\ \mu\text{M}$ (รูปที่ 4.2) จากเวลาที่ใช้ในการสังเคราะห์ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 4 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับอัตราในการกัดฟิล์มบางเพชรด้วยเครื่องไมโครเวฟ $0.3\ \mu\text{M}/\text{นาที่}$ ที่ความดัน 8.5 torr (เอกราช รัตนอุดมพิสุทธิ์. 2545) ในขั้นตอนการแบ่งชิ้นงานให้ได้ขนาด $3 \times 3\ \text{mm}^2$ โดยจะใช้เวลาในการกัดฟิล์มบางเพชร 35 นาที คิดเป็นความหนาของฟิล์มบางเพชรประมาณ $10.5\ \mu\text{M}$ (0.3×35) จะเห็นได้ว่าค่าของความหนาที่ได้มีความใกล้เคียงกัน

4.1.1.2 ผลของ Raman spectroscopy

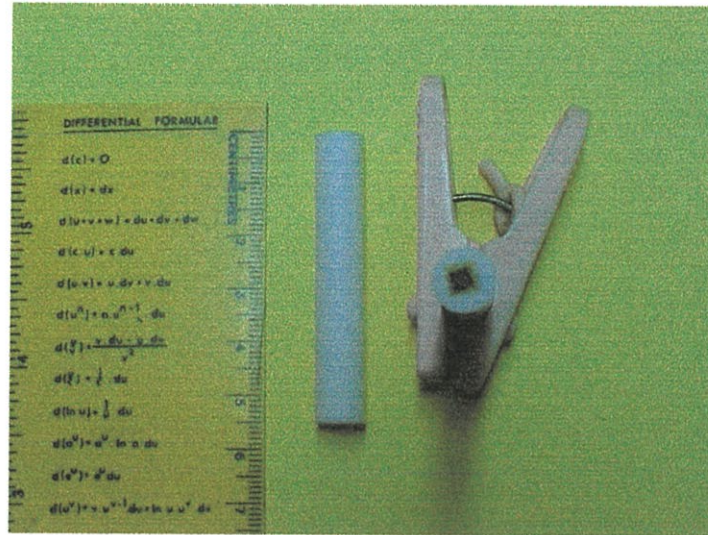


รูปที่ 4.3 Raman spectrum ที่ได้จากเครื่อง Raman spectrometer ของฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C

Raman spectrometer เป็นอุปกรณ์ที่มีประโยชน์ในการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของคาร์บอน โดยเฉพาะฟิล์มเพชรที่สร้างจากวิธีการ CVD เนื่องจากมีความไวต่อธรรมชาติของพันธะคาร์บอน ดังนั้นจึงสามารถแยกชนิดของคาร์บอนที่เป็นเพชรและกราไฟต์ได้ สำหรับเพชรในธรรมชาตินั้นจะให้ Raman spectrum ที่มีพีกที่ตำแหน่ง 1332 cm^{-1} ซึ่งแสดงการไฮบริดของคาร์บอนเป็นแบบ sp^3 และ Raman spectrum ของกราไฟต์จะปรากฏที่ตำแหน่ง 1580 cm^{-1} จะแสดงการไฮบริดของคาร์บอนเป็นแบบ sp^2 จาก Raman spectrum ในรูปที่ 4.3 แสดงได้ว่าฟิล์มเพชรที่สังเคราะห์ได้เป็นเพชรจริง ๆ เพราะมีตำแหน่ง Raman spectrum ขึ้นที่ 1332 cm^{-1} ส่วนของ Raman spectrum ที่ตำแหน่ง 1500 cm^{-1} เป็นผลเนื่องจากการไฮบริดของคาร์บอนแบบ sp^2 พบว่าเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย

4.1.2 การประกอบขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน

รูปขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่ได้ทำการประกอบเสร็จแล้วจะได้ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ลักษณะของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนหลังจากประกอบเสร็จ

ขนาดของแท่งขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่ประกอบสำเร็จคือสูง 5.5 cm เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 cm พื้นที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า 9 mm^2 (3×3)

4.2 การเลือกขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่ดีที่สุดโดยเปรียบเทียบสัญญาณกระแสจากสารละลาย $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$

กำหนดสถานะของตัวแปรในการทดลองไว้ดังนี้

สารละลาย 1 mM $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ ใน 0.1 M KCl

พ่นแก๊สไนโตรเจน 300 วินาที

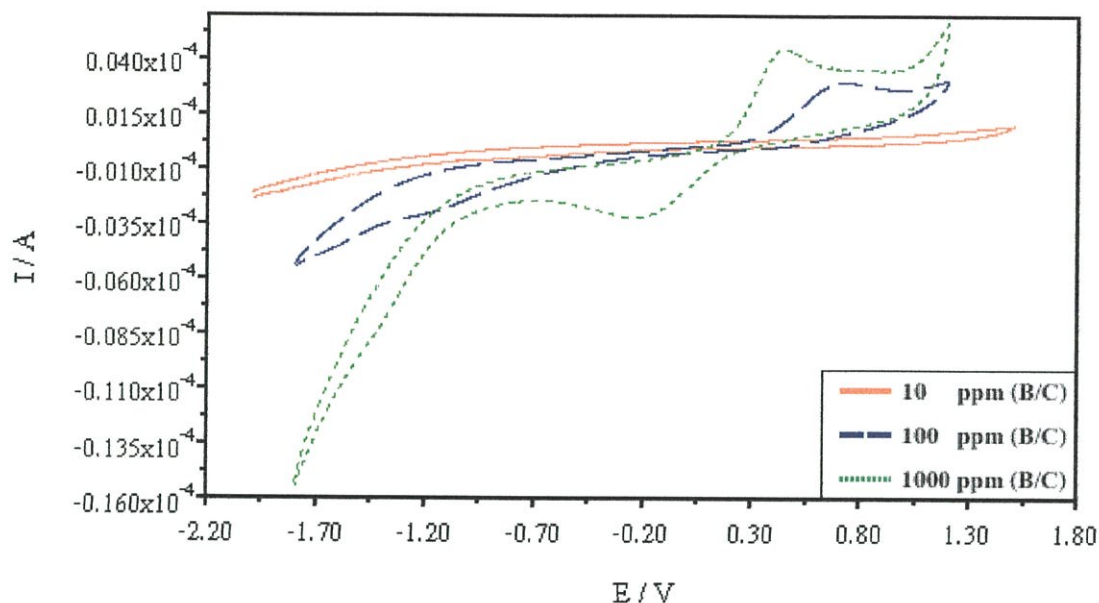
อัตราการสแกน 0.1 V/s

ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคือ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

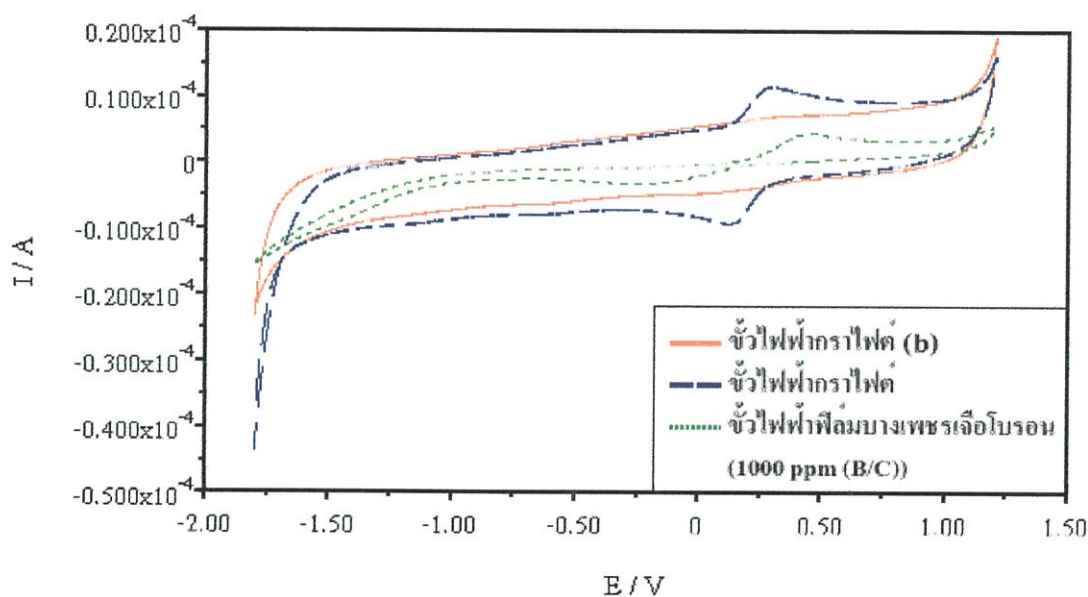
ขั้วไฟฟ้าช่วยคือ ขั้วไฟฟ้ากาสติคาร์บอน

ขั้วไฟฟ้าทำงานคือ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ ใน 0.1 M KCl แสดงในรูปที่ 4.5 และรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.5 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของ $1 \text{ mM K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ ใน 0.1 M KCl ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl



รูปที่ 4.6 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของ $1 \text{ mM K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ ใน 0.1 M KCl ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2 และ 3.465 mm^2 ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (b – กวระแฉพื้น)

ตารางที่ 4.1 ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 1 mM $K_3(Fe(CN)_6)$ ใน 0.1 M KCl จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมโดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนในอัตราส่วนต่าง ๆ และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ขั้วไฟฟ้า		ปฏิริยาออกซิเดชัน			ปฏิริยารีดักชัน		
		ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu A/mm^2$)	ประจุไฟฟ้า (μC)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu A/mm^2$)	ประจุไฟฟ้า (μC)
ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนใน (ppm ของ B/C)	10	-	-	-	-	-	-
	100	0.7120	0.2654	3.8070	-1.2010	-0.0595	1.0680
	1000	0.4350	0.4277	11.0300	-0.2010	-0.2438	9.6120
กราไฟต์		0.2870	1.6424	15.6600	0.1290	-1.6089	15.5400

ปฏิริยาที่เกิดขึ้นของ $K_3(Fe(CN)_6)$ จะเป็นดังนี้



จากตารางที่ 4.1 (รูปที่ 4.5) ที่ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10 ppm ของ B/C พบว่าไม่ปรากฏพีกของปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันอาจเป็นเพราะการส่งผ่านของอิเล็กตรอนไม่ดีพอเนื่องจากมีปริมาณการเจือโบรอนของฟิล์มบางเพชรมีน้อยเกินไปไม่เพียงพอต่อการเกิดปฏิริยาที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า ทำให้กระแสของพีกที่เกิดขึ้นไม่สามารถมองเห็นได้ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของกระแสต่อพื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า 1 mm^2 หรือความหนาแน่นกระแสของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C จะได้ว่าปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่เกิดขึ้นจะมีค่าสูงสุดเมื่อใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C สำหรับตรวจวัด $K_3(Fe(CN)_6)$ ดังนั้นในการทดลองต่อ ๆ ไปจึงใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C

เมื่อพิจารณาถึงค่า $i_{p,d}/i_{p,c}$ ในสมการ 2.5 จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมรูปที่ 4.6 พบว่ากระแสของพีกที่เกิดปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันบนขั้วไฟฟ้ากราไฟต์จะมีค่าประมาณ 1 ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าปฏิริยาที่เกิดขึ้นของ $K_3(Fe(CN)_6)$ บนขั้วไฟฟ้ากราไฟต์สามารถผันกลับได้ (Reversible) สำหรับกระแสของพีกที่เกิดปฏิริยาบนขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนทั้ง 100 และ 1000 ppm ของ B/C ลักษณะของพีกจะผันกลับได้แต่ไม่สมบูรณ์ (Quasi-reversible)

ค่าของประจุไฟฟ้าที่ได้จากพื้นที่ได้พิกของไซคลิก โวลแทม โมแกรมเมื่อนำมาคำนวณหาค่าปริมาณเชิงพื้นที่ผิว (Γ) ตามสมการที่ 2.4 จะได้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าของปริมาณเชิงพื้นที่ผิวที่คำนวณได้จากพื้นที่ได้พิกไซคลิก โวลแทม โมแกรมของ 1 mM $K_3(Fe(CN)_6)$ ใน 0.1 M KCl โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนในอัตราส่วนต่าง ๆ และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ขั้วไฟฟ้า		ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
		ประจุไฟฟ้า (μC)	Γ (nmol/cm ²)	ประจุไฟฟ้า (μC)	Γ (nmol/cm ²)
ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน (ppm ของ B/C)	10	-	-	-	-
	100	3.8070	0.4384	1.0680	0.1230
	1000	11.0300	1.2702	9.6120	1.1069
กราไฟต์		15.6600	4.6841	15.5400	4.6482

ค่าของปริมาณเชิงพื้นที่ผิวที่คำนวณได้ของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ในปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันจะมีค่า 4.6841 nmol/cm² และ 4.6482 nmol/cm² ซึ่งจะมากกว่าขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนทั้ง 100 และ 1000 ppm ของ B/C

4.3 เปรียบเทียบสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าระหว่างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C กับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

4.3.1 ช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ

ไซคลิก โวลแทม โมแกรมของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ของ KCl, NaCl, H₂SO₄, K₂SO₄, Na₂SO₄ และ NaOH จะแสดงรูปในภาคผนวก ก.1 และค่าของช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานที่ได้จากขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์แสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานของอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม โดยใช้
ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับ
ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ชนิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (ความเข้มข้น 0.1 M)	ช่วงของศักย์ไฟฟ้าใช้งานเทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (V)	
	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C	ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์
KCl	-2.0 ถึง 1.6	-1.5 ถึง 1.1
NaCl	-1.7 ถึง 1.6	-1.6 ถึง 1.1
H ₂ SO ₄	-1.0 ถึง 1.7	-0.7 ถึง 1.1
K ₂ SO ₄	-2.0 ถึง 1.6	-1.6 ถึง 1.0
Na ₂ SO ₄	-1.8 ถึง 1.2	-1.5 ถึง 1.0
NaOH	-1.7 ถึง 1.0	-1.5 ถึง 0.4

ในอิเล็กโทรไลต์ต่างชนิดกันขีดจำกัดของศักย์ทางบวกและทางลบก็ต่างกันไป ซึ่งสามารถใช้สำหรับเป็นช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานของอิเล็กโทรไลต์แต่ละชนิด

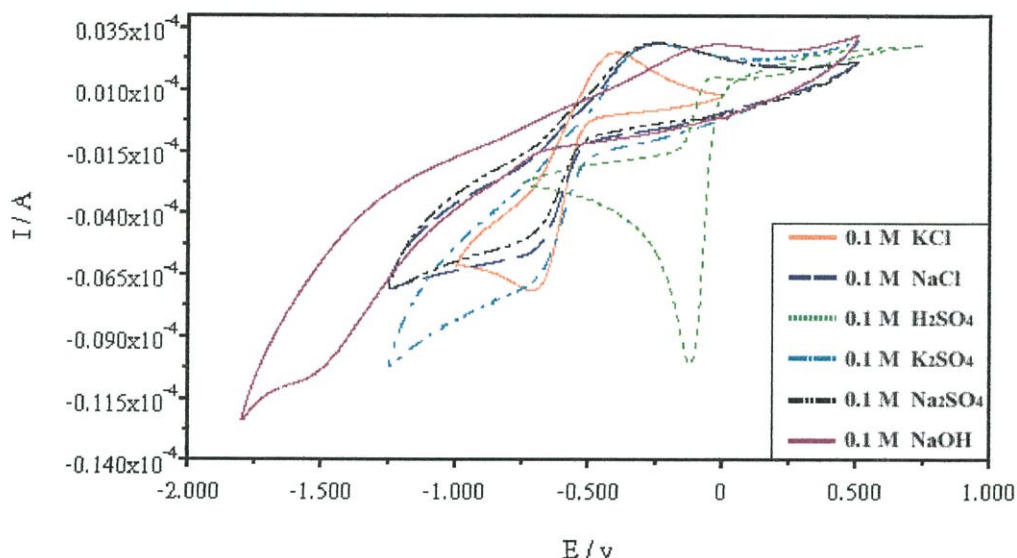
จากตารางที่ 4.3 ในการทดลองเมื่อใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C ความกว้างของช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ทุกชนิดจะมากกว่าเมื่อใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ในสารละลาย 0.1 M KCl และ 0.1 M K₂SO₄ ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C จะกว้างกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ถึง 1 V ส่วนในสารละลาย 0.1 M NaCl ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์จะมีค่าความกว้างของช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานต่างกันน้อยที่สุดคือ 0.4 V

4.3.2 สภาพที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดไรโบฟลาวินและ FMN

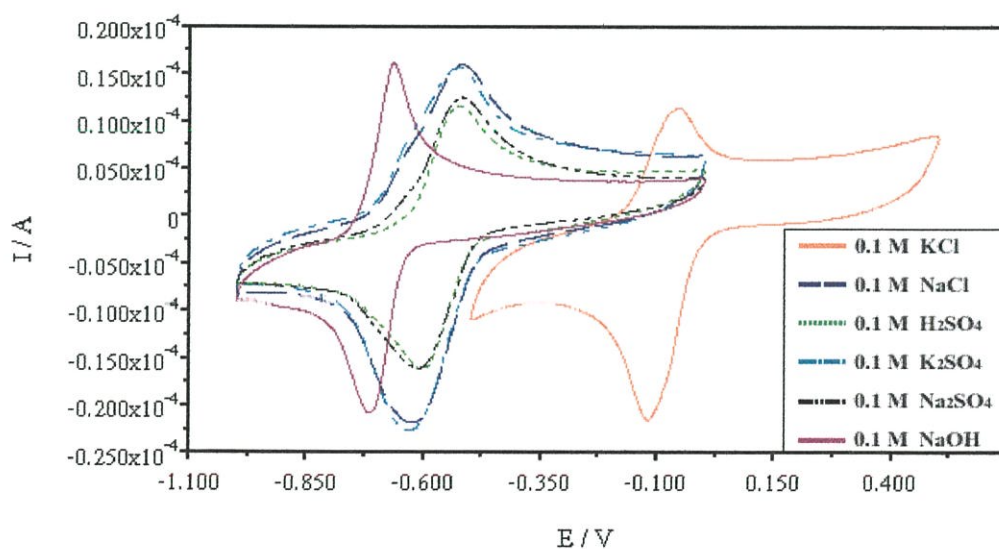
1.) ชนิดของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม

1.1) สารละลาย 1 mM ไรโบฟลาวิน

ผลของไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลาย 1 mM ไรโบฟลาวินในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ดังรูปที่ 4.7 และ 4.8 ตามลำดับ



รูปที่ 4.7 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM ไรโบฟลาวินในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl



รูปที่ 4.8 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM ไรโบฟลาวินในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

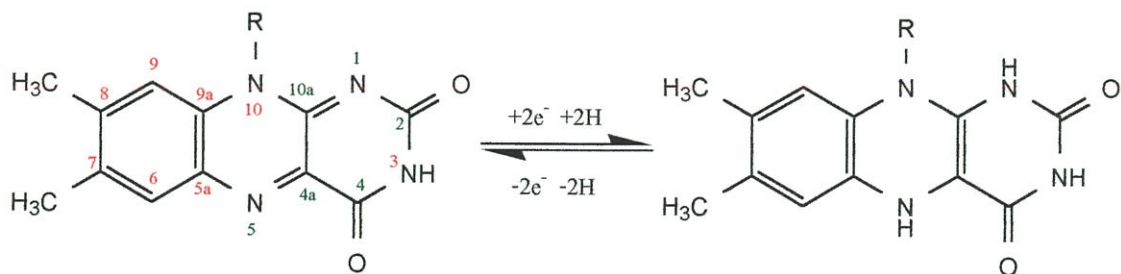
ตารางที่ 4.4 ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้า และความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยารีดักชันของ 1 mM โรโบฟลาวินในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ชนิดของอิเล็กโทรไลต์ (ความเข้มข้น 0.1 M)	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C		ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.1 M KCl	-0.711	-0.7409	-0.603	-3.7633
0.1 M NaCl	-0.758	-0.4208	-0.612	-3.8990
0.1 M H ₂ SO ₄	-0.120	-1.1522	-0.119	-5.6450
0.1 M K ₂ SO ₄	-0.740	-0.4204	-0.619	-5.1768
0.1 M Na ₂ SO ₄	-0.785	-0.3500	-0.623	-5.3045
0.1 M NaOH	-1.530	-0.3243	-0.711	-4.9783

ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจะกล่าวเฉพาะปฏิกริยารีดักชัน เพราะกระแสของฟิสิกปฏิกริยาออกซิเดชันที่ความเข้มข้นของโรโบฟลาวิน 1 mM จะน้อยกว่าเมื่อเทียบกับกระแสของฟิสิกปฏิกริยารีดักชัน

จะเห็นแนวโน้มของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าในการเกิดปฏิกริยารีดักชันของโรโบฟลาวินจากขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ได้ 3 แบบคือ

1. ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เป็นกรดของ 0.1 M H₂SO₄ ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกริยารีดักชันจะอยู่ที่ประมาณ -0.12 V (vs. Ag/AgCl) ของทั้ง 2 ขั้วไฟฟ้า จะพบว่ากลไกของการเกิดปฏิกริยาของโรโบฟลาวินจะเกิดผ่าน radical เป็นไปตามกลไกการเกิดปฏิกริยารูปที่ 2.15 (สรุปได้ดังรูปด้านล่าง) (Liu *et. al.* 2001) และสภาวะในการเกิดปฏิกริยาชอบที่จะเกิดและเกิดได้ดีในปฏิกริยาแบบนี้ เพราะคุณสมบัติของโรโบฟลาวินทนต่อสภาวะที่เป็นกรด (Machlin. 1991)



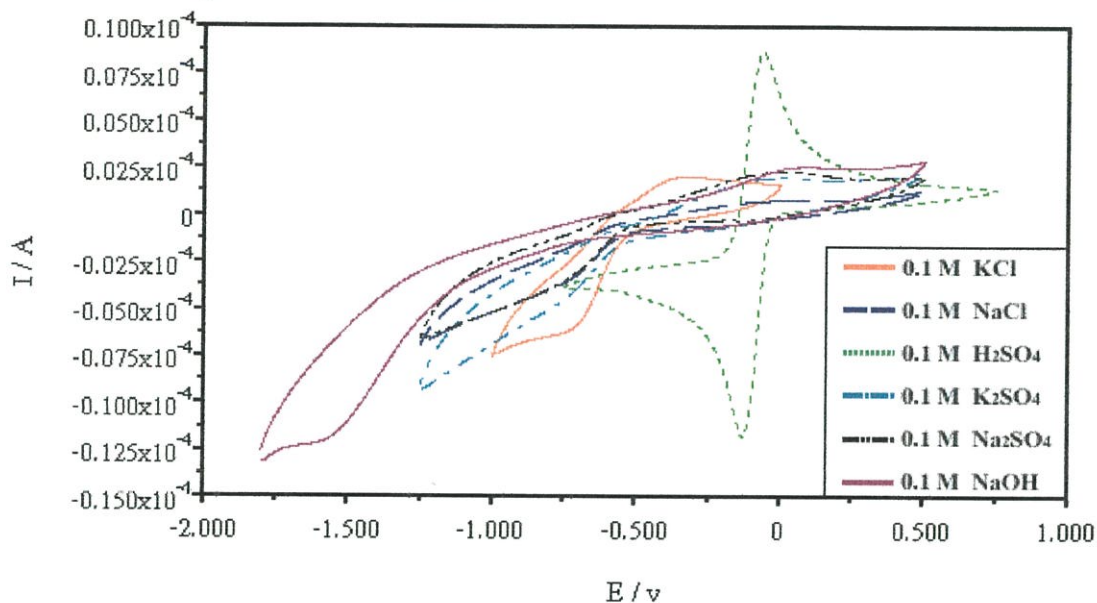
2. ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เป็นกลางของ KCl, NaCl, K_2SO_4 และ Na_2SO_4 ความเข้มข้น 0.1 M ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยารีดักชันจะอยู่ที่ประมาณ -0.75 V และ -0.6 V (vs. Ag/AgCl) ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ตามลำดับ

3. ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เป็นเบสของ 0.1 M NaOH ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยารีดักชันจะอยู่ที่ประมาณ -1.5 V และ -0.7 V (vs. Ag/AgCl) ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ตามลำดับ พบว่ากลไกในการเกิดปฏิกิริยาจะเกิดผ่านคาร์เบนไอออน ถ้าทิ้งไว้นาน ๆ จะไม่เสถียรและไม่คงตัวเพราะจะทำให้ ribose chain แตกออกแล้วเปลี่ยนไปเป็น Lumichrome จะให้แสง Greenish-yellow fluorescence ซึ่งทำให้สูญเสียสภาพความเป็นวิตามินไป (Machlin, 1991)

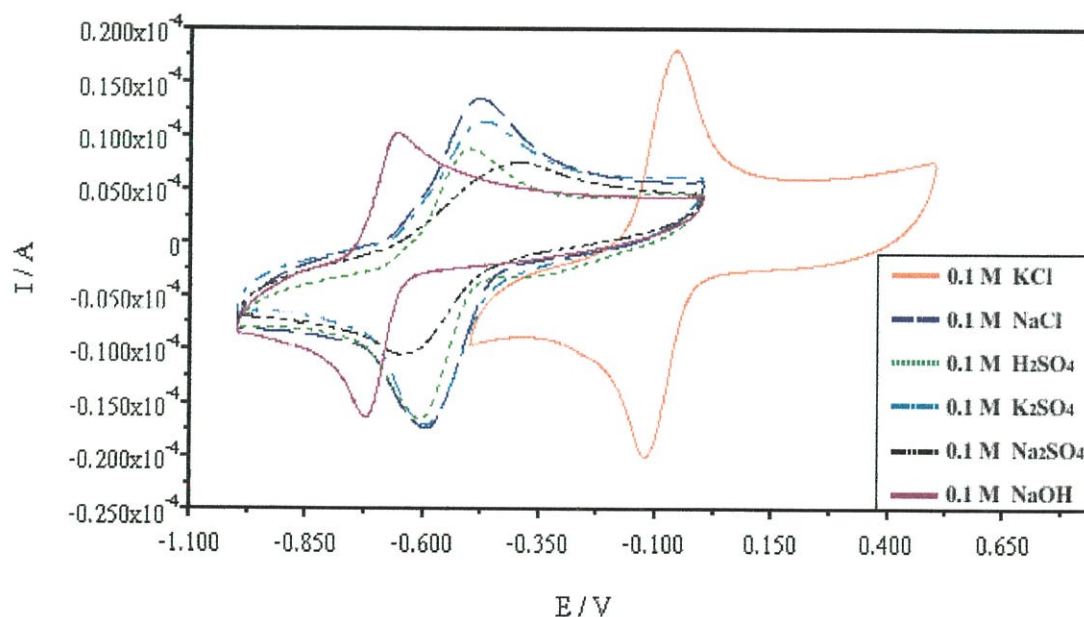
จากตารางที่ 4.4 ทั้งขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์นั้นพบว่ากระแสปฏิกิริยารีดักชันของโรโบฟลาวินใน 0.1 M H_2SO_4 สูงกว่าในอิเล็กโทรไลต์อื่น ๆ เมื่อพิจารณาถึงลักษณะของไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลาย 0.1 M NaOH ในรูปที่ 4.8 ของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์จะมียอดฟีกที่คมชัดกว่าสารละลาย H_2SO_4 แต่กระแสที่ได้จากสารละลาย 0.1 M H_2SO_4 นั้นจะสูงกว่า ดังนั้นในการทดลองต่อ ๆ ไปจึงเลือกสารละลาย H_2SO_4 เป็นอิเล็กโทรไลต์สำหรับตรวจวัดโรโบฟลาวิน

1.2) สารละลาย 1 mM FMN

ผลของไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลาย 1 mM FMN ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ แสดงในรูปที่ 4.9 และ 4.10 ตามลำดับ



รูปที่ 4.9 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM FMN ในอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl



รูปที่ 4.10 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 mM FMN ในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm²) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

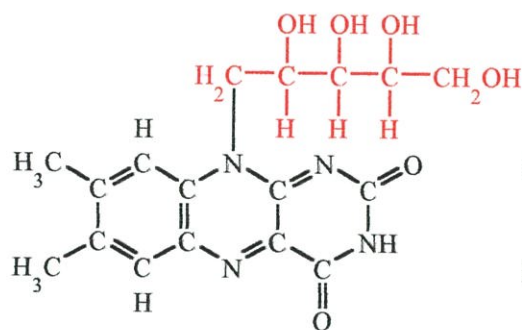
ตารางที่ 4.5 ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยารีดักชันของ 1 mM FMN ในอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ชนิดของอิเล็กโทรไลต์ (ความเข้มข้น 0.1 M)	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C		ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.1 M KCl	-0.744	-0.3909	-0.6070	-3.7316
0.1 M NaCl	-0.748	-0.0957	-0.6380	-2.2268
0.1 M H ₂ SO ₄	-0.129	-1.3056	-0.1220	-4.6580
0.1 M K ₂ SO ₄	-0.726	-0.2000	-0.5920	-4.0000
0.1 M Na ₂ SO ₄	-0.864	-0.1678	-0.5920	-3.7258
0.1 M NaOH	-1.585	-0.6112	-0.7250	-3.5440

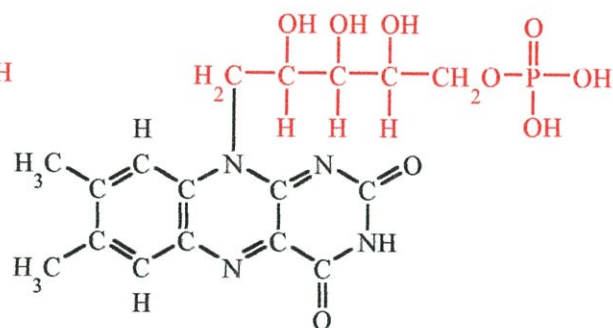
จากตารางที่ 4.5 จะเห็นแนวโน้มของศักย์ไฟฟ้าในการเกิดปฏิกริยารีดักชันของ FMN จากขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เกิดได้ 3 แบบเช่นเดียวกับการตรวจวัดโรโบพลาวินจะได้ดังนี้

1. ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เป็นกรดของ 0.1 M H₂SO₄ ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกริยารีดักชันจะอยู่ที่ประมาณ -0.13 V (vs. Ag/AgCl) ของทั้ง 2 ขั้วไฟฟ้า
2. ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เป็นกลางของ KCl, NaCl, K₂SO₄, และ Na₂SO₄ ที่ความเข้มข้น 0.1 M ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกริยารีดักชันจะอยู่ที่ประมาณ -0.75 V และ -0.6 V (vs. Ag/AgCl) ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ ตามลำดับ
3. ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เป็นเบสของ 0.1 M NaOH ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกริยารีดักชันจะอยู่ที่ประมาณ -1.6 V และ -0.7 V (vs. Ag/AgCl) ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ ตามลำดับ

ระหว่างการตรวจวัดไรโบฟลาวิน และ FMN จะพบว่าตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าในการเกิดปฏิกิริยาก็ใกล้เคียงกันนั้นเป็นเพราะตำแหน่งของ โมเลกุลที่เกิดปฏิกิริยาอยู่ที่ตำแหน่งเดียวกันที่วงของ isoalloxazine แต่ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของไรโบฟลาวินและ FMN จะต่างกันที่หมู่ R ซึ่งจะไม่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งของการเกิดปฏิกิริยา



Riboflavin

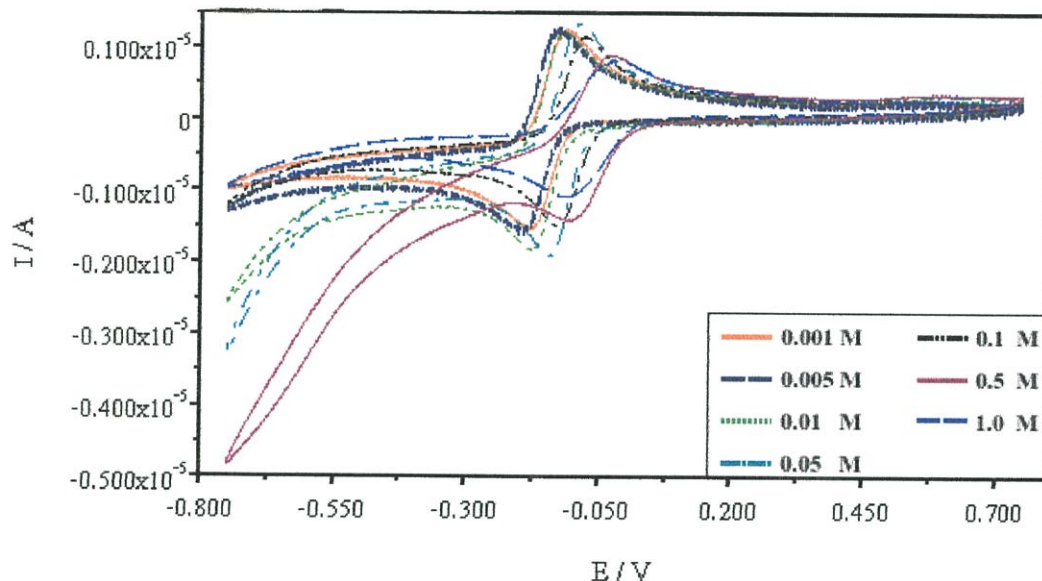


Riboflavin-5'-phosphate (FMN)

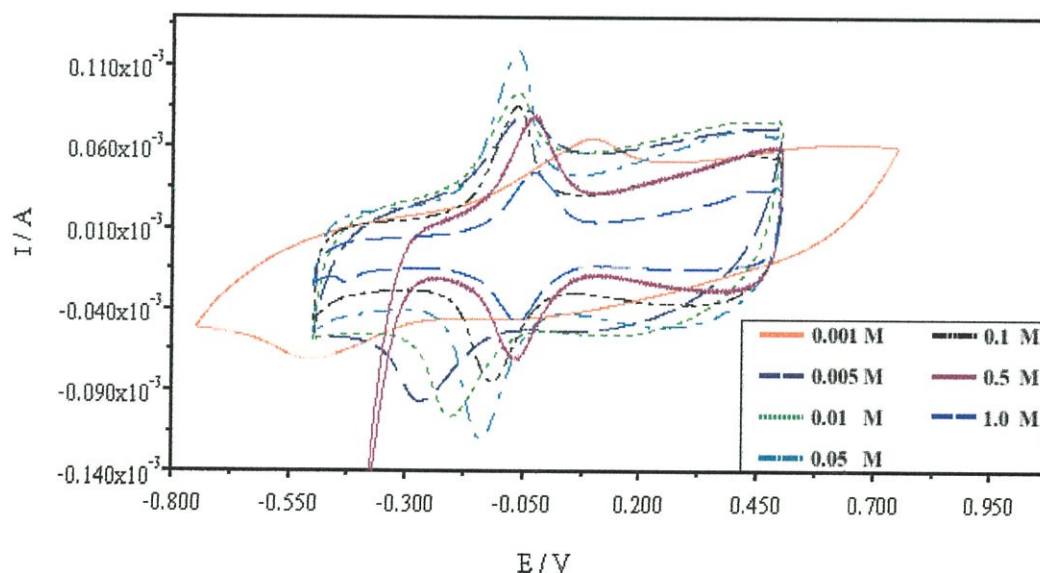
2.) ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม

2.1) สารละลาย 50 μM ไรโบฟลาวิน

ผลของไซคลิกโวลแทมโมแกรมเมื่อใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์แสดงในรูปที่ 4.11 และ รูปที่ 4.12 ตามลำดับ



รูปที่ 4.11 ไซคลิกโวลแทมโมแกรม 50 μM ไรโบฟลาวินในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl



รูปที่ 4.12 ไซคลิกโวลแทมโมแกรม 50 μM ไรโบฟลาวินในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ค่าความหนาแน่นของกระแสและตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของไซคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงในภาคผนวก ก.2.1.1 (ตารางที่ ก.1 และ ก.2) ถ้าพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนของกระแสของพีกที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ($i_{p,a}$) ต่อกระแสของพีกที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ($i_{p,c}$) ตามสมการที่ 2.5 กล่าวไว้ว่าถ้าพีกผันกลับได้สมบูรณ์ (reversible) ค่า $i_{p,a} / i_{p,c}$ จะมีค่าประมาณ 1 จากการคำนวณของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์พบว่าในทุก ๆ ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นของโรโบฟลาวิน 50 μM จะมีค่าประมาณ 1 แสดงว่าลักษณะของพีกก่อนข้างจะผันกลับได้ ในส่วนของตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาทั้งออกซิเดชันและรีดักชัน เมื่อความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้น (ความเป็นกรดเพิ่มขึ้น) ส่งผลให้ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าเลื่อน (shift) ไปทางบวกเพิ่มขึ้นตามลำดับ (ค่า ΔE_p ลดลงตามลำดับ) ทั้งสองขั้วไฟฟ้า

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมรูปที่ 4.11 และ 4.12 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นอิเล็กโทรไลต์ 0.001 M ถึง 0.05 M ของ H_2SO_4 พบว่ากระแสค่อย ๆ เพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ H_2SO_4 ออกจาก 0.1 M ถึง 1 M จะเห็นได้ว่ากระแสที่ได้ค่อย ๆ ลดลงตามลำดับ นั่นเป็นเพราะว่าสัดส่วนของอิเล็กโทรไลต์ต่อสารที่เราวิเคราะห์มีค่าที่เหมาะสมที่สุดเมื่อเราให้ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์เป็น 0.05 M H_2SO_4 คิดเป็น $\text{pH} = 1$ มีสถานะที่เป็นกรด สามารถสรุปค่าของความหนาแน่นของกระแสที่ได้และตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าของการตรวจวัดที่ความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ 0.05 M H_2SO_4 ได้ดังตารางที่ 4.6

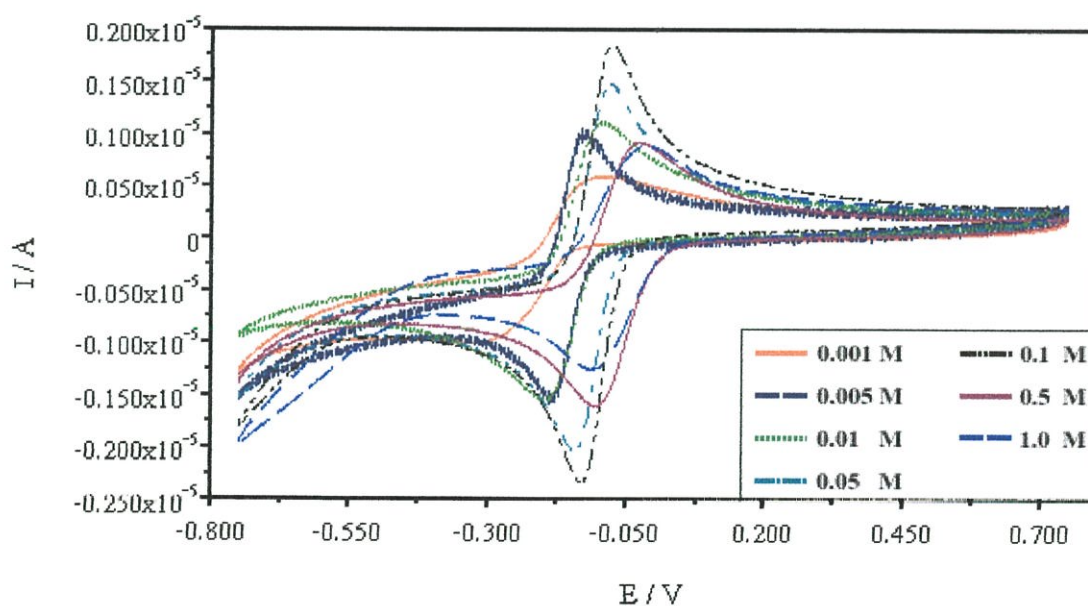
ตารางที่ 4.6 ความหนาแน่นของกระแสที่ได้ต่อกระแสพื้น (S/b) จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ชนิดของปฏิกิริยา	ขั้วไฟฟ้า	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแสที่ได้; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ความหนาแน่นของกระแสพื้น; b ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b
ออกซิเดชัน	ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C	-0.0898	0.1859	0.0015	123.93
	กราไฟต์	-0.0664	16.7671	13.8297	1.21
รีดักชัน	ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C	-0.1414	-0.1932	-0.0011	175.64
	กราไฟต์	-0.1339	-15.7235	-13.3160	1.18

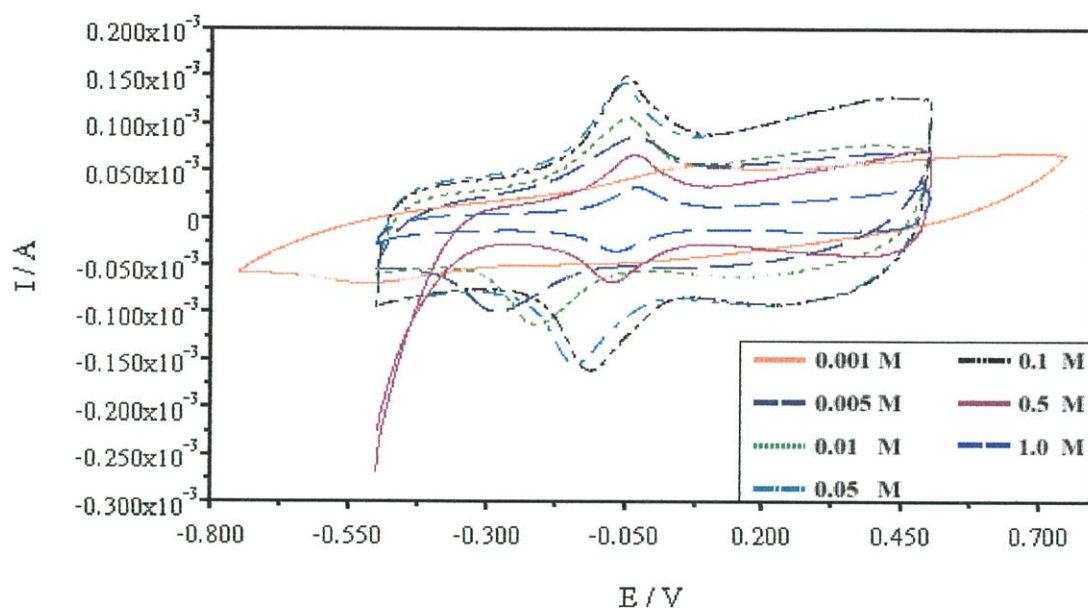
จากตารางที่ 4.5 เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ $50 \mu\text{M}$ โรโบฟลาวินใน $0.05 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ พบว่าขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์จะมากกว่าขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนประมาณ 90 และ 81 เท่า ตามลำดับ และสำหรับความหนาแน่นของกระแสต่อกระแสพื้นของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรจะมากกว่าขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ประมาณ 102 และ 149 เท่า ตามลำดับของปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชัน เนื่องจากว่าค่าของความหนาแน่นของกระแสพื้นของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนจะต่ำกว่าขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์มาก นั่นเป็นเพราะว่าคุณสมบัติของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนมีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำชนิดพี ดังนั้นเมื่อมีพลังงานเข้าไปกระตุ้นเพียงพอจะทำให้เกิดโฮลที่ขาดอิเล็กตรอนอยู่บริเวณของแถบวาเลนซ์ ทำให้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเกิดโฮลตรงบริเวณใกล้เคียงกับ E_F ต่ำ ทำให้มีไอออนของอิเล็กโตรไลต์ช่วยที่จะมาช่วยดุลประจุสะสมที่ผิวของขั้วไฟฟ้าน้อย จึงทำให้มีค่าของกระแสพื้นต่ำ (Alehashem *et. al.* 1995)

2.2) สารละลาย $50 \mu\text{M}$ FMN

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมเมื่อใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์แสดงในรูปที่ 4.13 และรูปที่ 4.14 ตามลำดับ



รูปที่ 4.13 ไซคลิกโวลแทมโมแกรม $50 \mu\text{M}$ FMN ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl



รูปที่ 4.14 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ $50 \mu\text{M}$ FMN ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2) เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ค่าความหนาแน่นของกระแสและตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของไชคลิกโวลแทมโมแกรมแสดงในภาคผนวก ก.2.1.2 (ตารางที่ ก.3 และ ก.4) ถ้าพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนของกระแสของพีคที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ($i_{p,a}$) ต่อกระแสของพีคที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ($i_{p,c}$) ตามสมการที่ 2.5 ก็จะพบเช่นเดียวกันกับการตรวจวัดโรโบฟลาวินคือ ค่า $i_{p,a} / i_{p,c}$ จะมีค่าประมาณ 1 บอกได้ว่าลักษณะของพีคค่อนข้างจะผันกลับได้อย่างสมบูรณ์ และตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าก็จะพบเช่นเดียวกันคือเมื่อความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันเลื่อนไปทางบวกมากขึ้น ส่งผลให้ค่า ΔE_p จะลดลงตามลำดับเช่นเดียวกันทั้งขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

จากไชคลิกโวลแทมโมแกรมรูปที่ 4.13 และ 4.14 ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์จาก 0.001 M ถึง 0.1 M ของ H_2SO_4 (ค่า pH ค่อย ๆ ลดลง ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น) พบว่าความหนาแน่นของกระแสที่ได้ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ H_2SO_4 ขึ้นไปอีกเป็น 0.5 M ถึง 1 M จะเห็นได้ว่าความหนาแน่นของกระแสที่ได้ค่อย ๆ ลดลงตาม ดังนั้นความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ที่ให้ความหนาแน่นของกระแสมากที่สุดและเหมาะสมที่สุดคือ 0.1 M H_2SO_4 คิดเป็นค่า pH

เท่ากับ 0.70 ค่าหนึ่งของศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสของ 50 μM FMN ใน 0.1M H_2SO_4 สรุปได้ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ความหนาแน่นของกระแสที่ได้ต่อกระแสพื้น (S/b) จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 อัตราการสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ชนิดของ ปฏิกิริยา	ขั้วไฟฟ้า	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแสที่ได้ ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ความหนาแน่นของ กระแสพื้น ; b ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b
ออกซิเดชัน	ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C	-0.0724	0.1960	0.0014	140.00
	กราไฟต์	-0.0566	24.4296	23.1400	1.06
รีดักชัน	ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C	-0.1262	-0.2090	-0.0013	160.77
	กราไฟต์	-0.1144	-22.9224	-22.3203	1.03

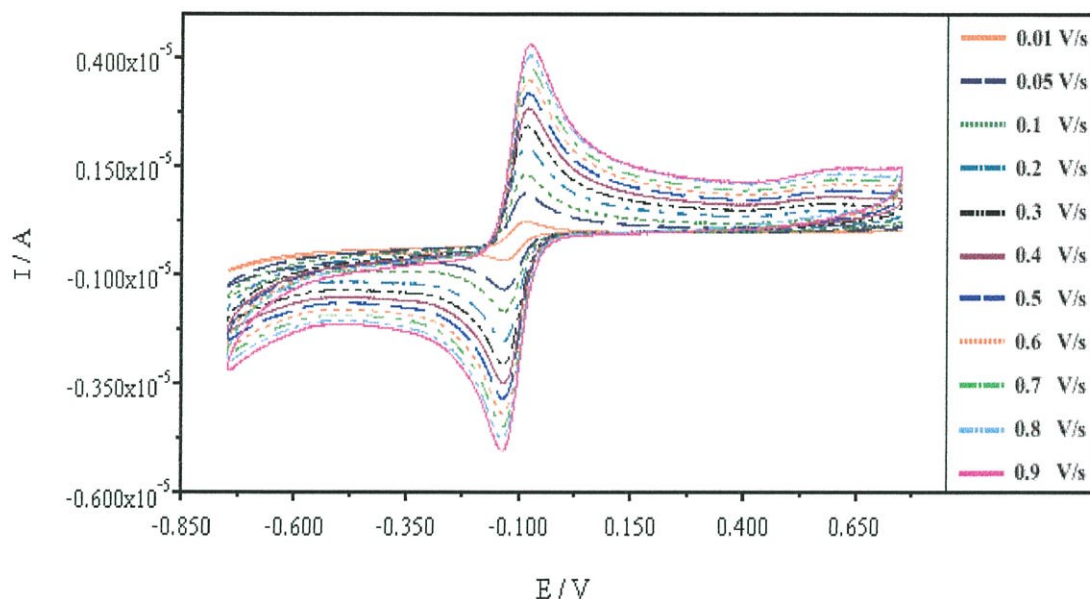
จากตารางที่ 4.7 เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 พบว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์จะมากกว่าขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนประมาณ 124 และ 109 เท่า ตามลำดับ และสำหรับความหนาแน่นของกระแสต่อกระแสพื้นของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรจะมากกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ประมาณ 132 และ 155 เท่า ตามลำดับของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน เหตุผลก็เหมือนกับการตรวจวัดโรโบฟลาวิน

3.) อัตราการสแกนที่เหมาะสม

3.1) สารละลาย 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4

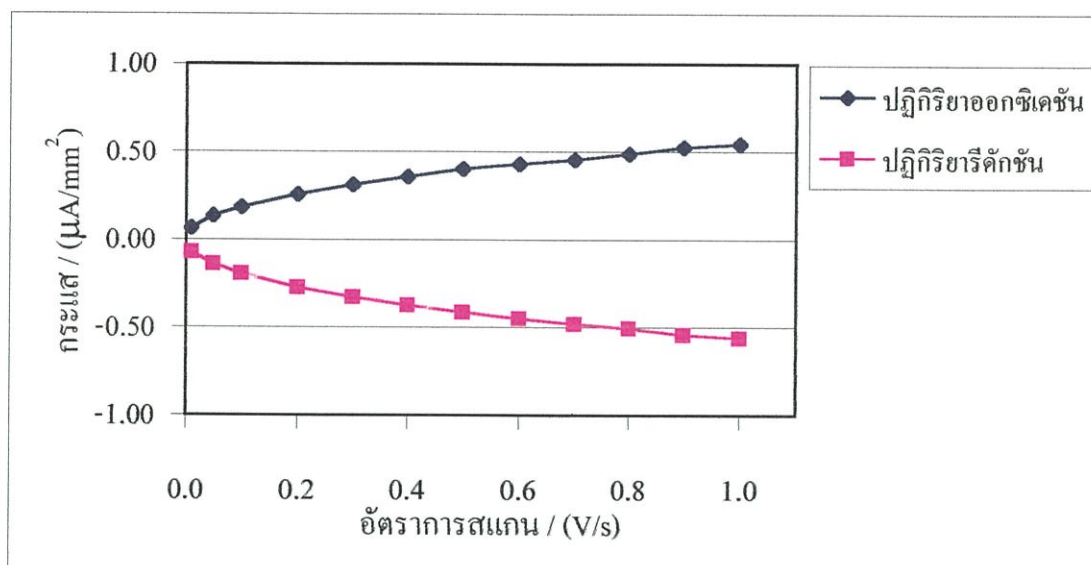
3.1.1) ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมจะได้ดังรูปที่ 4.15



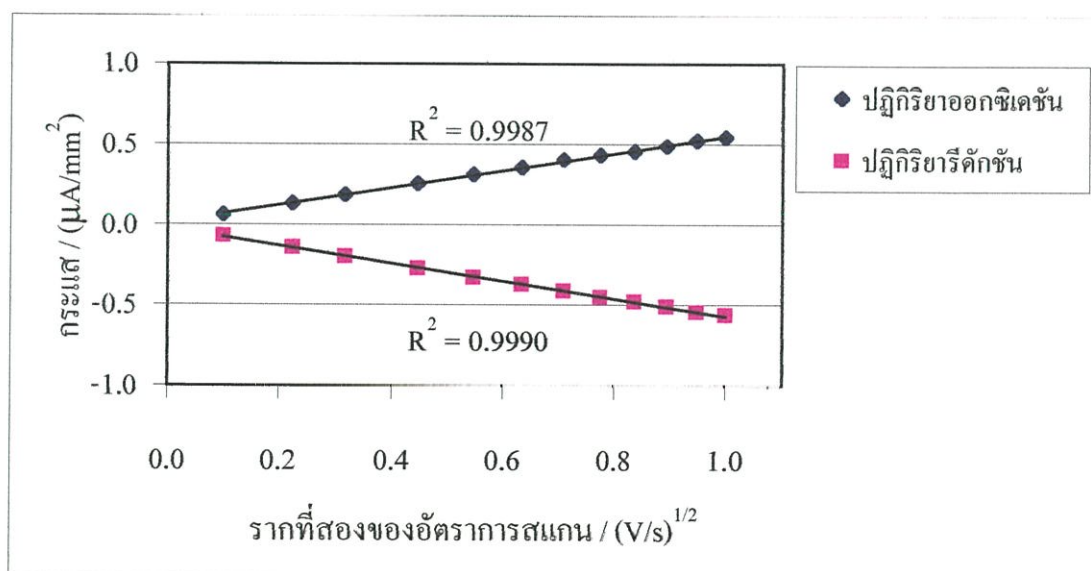
รูปที่ 4.15 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

อัตราการสแกนที่มีผลต่อไซคลิกโวลแทมโมแกรมเมื่อเพิ่มอัตราการสแกนส่งผลทำให้ศักย์ไฟฟ้าในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยค่าของ ΔE_p อยู่ในช่วง 44-61 mV (ศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันจะเกิดที่ประมาณ -0.08 และ -0.14 V ตามลำดับ) พิจารณาถึงค่าอัตราส่วนของกระแสของพีกที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ($i_{p,a}$) ต่อกระแสของพีกที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ($i_{p,c}$) ตามสมการที่ 2.5 ค่า $i_{p,a} / i_{p,c}$ จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมจะมีค่าประมาณ 1 บอกได้ว่าลักษณะของพีกค่อนข้างจะผันกลับได้อย่างสมบูรณ์ ค่าความหนาแน่นของกระแสและตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันแสดงในภาคผนวก ก.2.2.1 (ตารางที่ ก.5) นำค่าที่ได้มาพลอตกราฟได้ดังรูปที่ 4.16

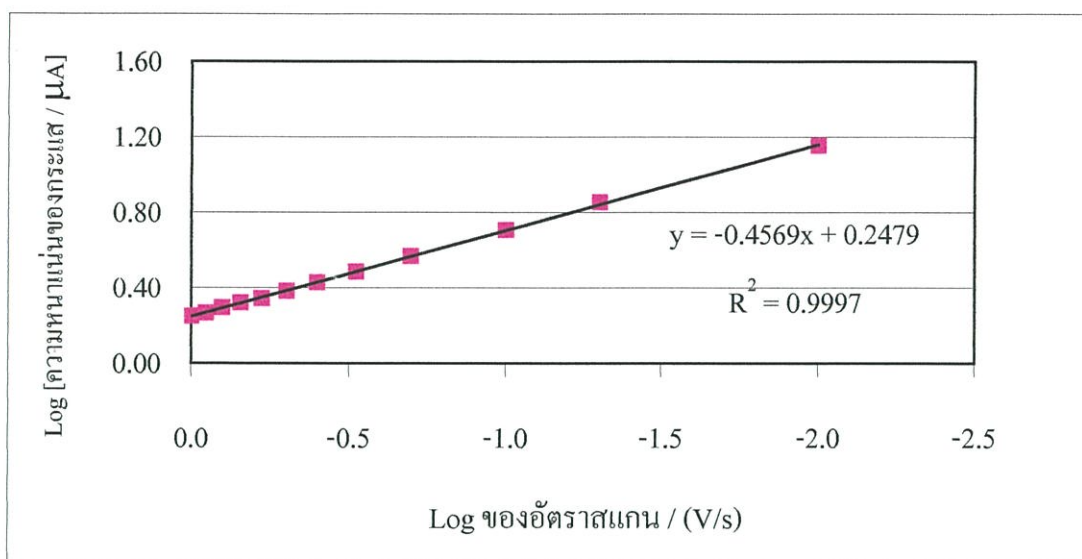


รูปที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

จากกราฟรูปที่ 4.16 จะเลือกอัตราการสแกนที่ 0.1 V/s เพราะความชันของเส้นกราฟสูงสุด ดังนั้นตลอดการทดลองจึงเลือกอัตราการสแกนที่ 0.1 V/s สำหรับตรวจวัดไรโบฟลาวิน



รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl



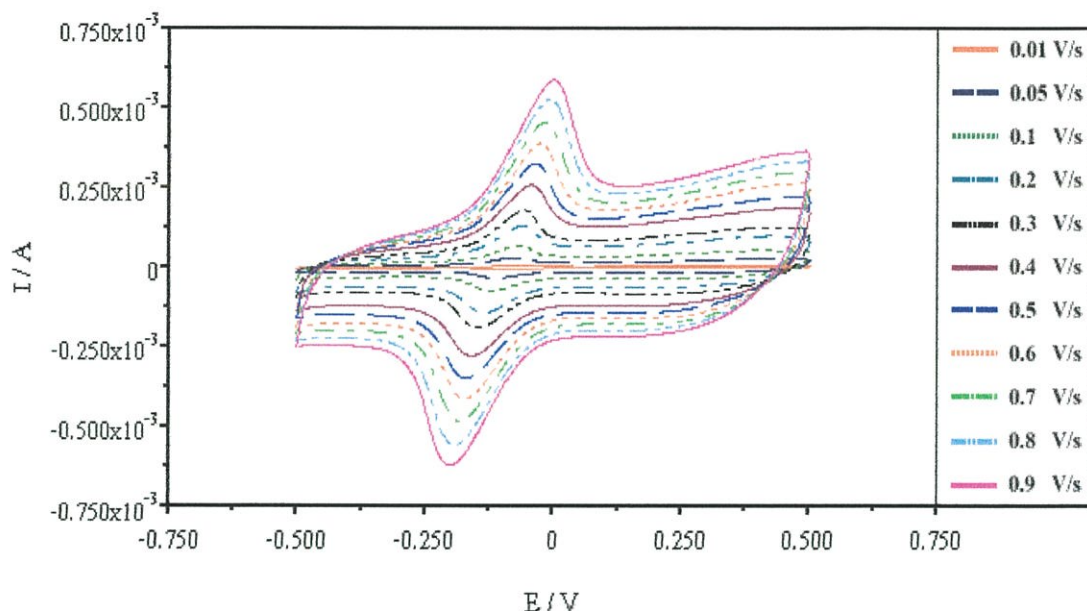
รูปที่ 4.18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยารีดักชันของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

จากกราฟรูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสโรโบฟลาวินทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันเป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9987$ และ 0.9990 ตามลำดับ) เป็นไปตามสมการที่ 2.7 และกราฟรูปที่ 4.18 จากความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log กระแสปฏิกริยารีดักชันของโรโบฟลาวินจะได้เป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9997$) และมีความชันประมาณ 0.5 ตรงกับสมการที่ 2.8 จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่ากระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (electrode process) จะควบคุมด้วยกระบวนการแพร่ หมายความว่ากระบวนการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของโรโบฟลาวินที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเกิดขึ้นเร็วจนทำให้เกิดเกรเดียนของความเข้มข้นโรโบฟลาวินขึ้น โรโบฟลาวินในสารละลายบัลค์ (Bulk solution) ซึ่งมีความเข้มข้นมากกว่าบริเวณใกล้ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าจะเคลื่อนที่โดยการแพร่เข้าสู่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (electrode surface) การแพร่เข้าสู่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของโรโบฟลาวินดังกล่าวไม่เพียงพอกับการเกิดปฏิกิริยาบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้านั้นกระแสรีดักชันที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยจึงขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่ของโรโบฟลาวินเข้าสู่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

จากผลการทดลองข้างต้นจัดเป็นข้อดีของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนคือไม่ดูดซับโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีขั้ว เพราะที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนอะตอมของคาร์บอนที่ไฮบริดแบบ sp^3 จะเกิดพันธะกับไฮโดรเจน (Terminate by hydrogen) จึงจัดได้ว่าเป็นผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าที่ไม่มีขั้วจึงไม่ดูดซับโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีขั้วของโรโบฟลาวิน

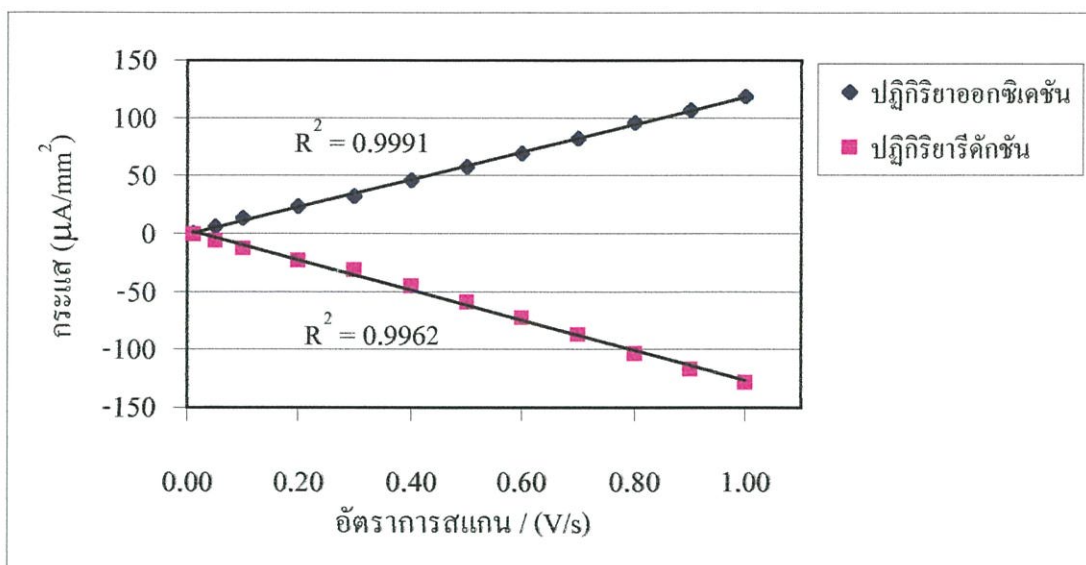
3.1.2) ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมจะแสดงได้ดังรูปที่ 4.19



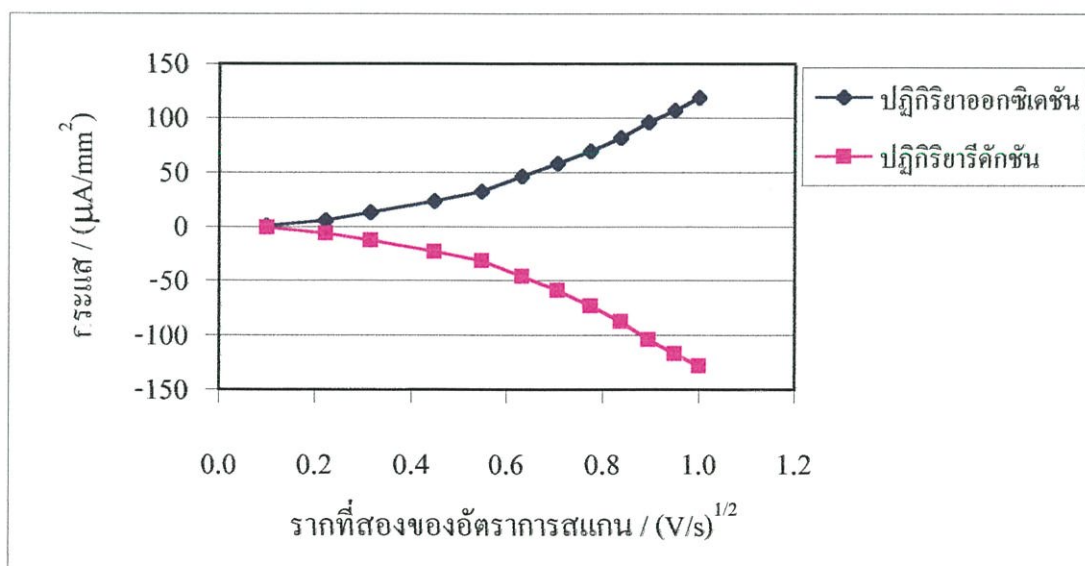
รูปที่ 4.19 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM ริโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

อัตราการสแกนที่มีผลต่อไซคลิกโวลแทมโมแกรมเมื่อมีการเพิ่มอัตราการสแกนทำให้ค่า ΔE_p เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ถ้าพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนของกระแสของพีคที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ($i_{p,a}$) ต่อกระแสของพีคที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ($i_{p,c}$) ตามสมการที่ 2.5 ค่า $i_{p,a} / i_{p,c}$ จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมจะมีค่าประมาณ 1 บอกได้ว่าลักษณะของพีคค่อนข้างจะผันกลับได้อย่างสมบูรณ์ ค่าความหนาแน่นของกระแสและตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันแสดงในภาคผนวก ก.2.2.1 (ตารางที่ ก.6) นำค่าที่ได้มาพลอตกราฟได้ดังรูปที่ 4.20

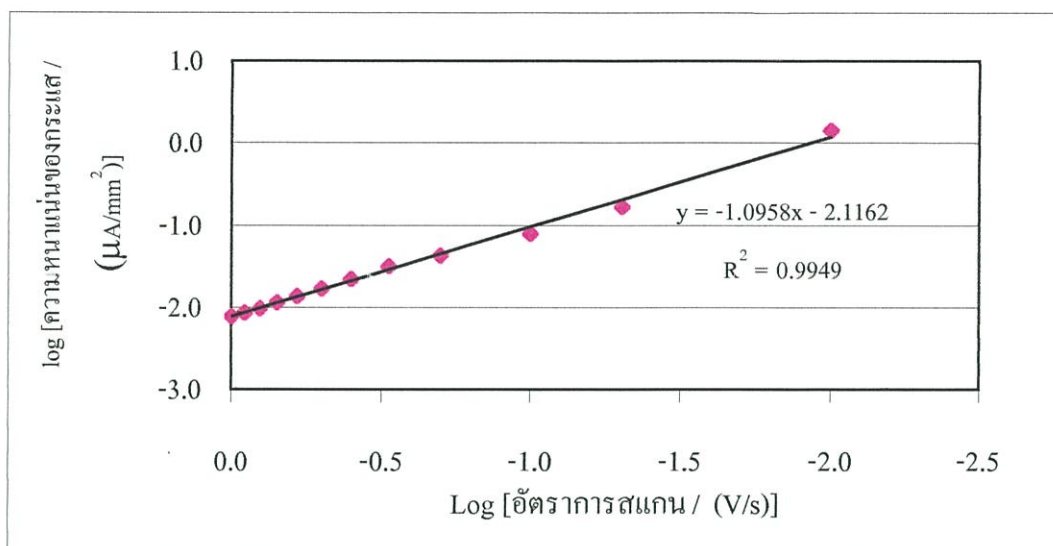


รูปที่ 4.20 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

จากกราฟรูปที่ 4.20 พบว่าเมื่อมีอัตราการสแกนเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้กระแสของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันนั้นเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นอัตราการสแกนจึงเลือกตามขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C คือ 0.1 V/s สำหรับวิเคราะห์โรโบฟลาวิน



รูปที่ 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl



รูปที่ 4.22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยารีดักชันของ 50 μM ไโรโพลาวินใน 0.05 M H₂SO₄ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

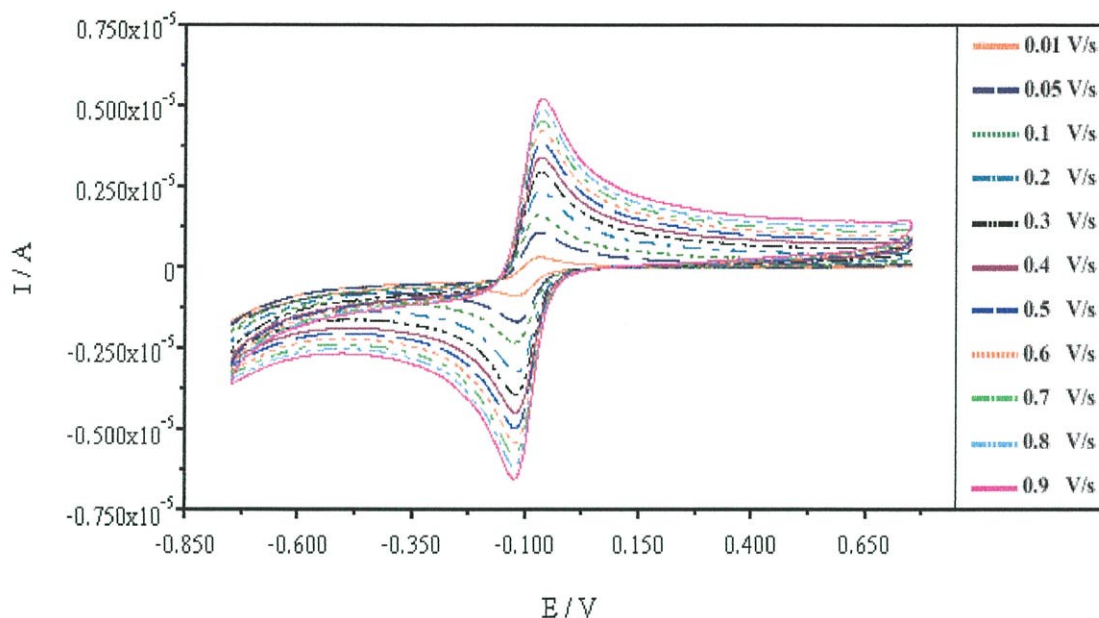
จากกราฟรูปที่ 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันจะไม่เป็นเส้นตรง และกราฟรูปที่ 4.20 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสที่เกิดปฏิกิริยาจะเป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9991$ และ 0.9962 ตามลำดับ) เป็นไปตามสมการที่ 2.9 และจากกราฟรูปที่ 4.22 จากความสัมพันธ์ Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของกระแสจะได้เป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9949$) และมีความชันประมาณ 1 เป็นไปตามสมการที่ 2.10 จากผลการทดลองสรุปได้ว่ากระบวนการเกิดปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าจะเกิดจากการดูดซับของไโรโพลาวินที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (Surface-control) โดยปฏิกิริยารีดักชันที่เกิดบริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์จะเกิดช้าจนกลายเป็นขั้นกำหนดความเร็วของปฏิกิริยา โมเลกุลของไโรโพลาวินที่เคลื่อนที่เข้าสู่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์สามารถเคลื่อนที่ได้เร็วเพียงพอกับการเกิดปฏิกิริยารีดักชันที่ผิวหน้า ดังนั้นปริมาณของกระแสรีดักชันจะมากหรือน้อยจึงขึ้นอยู่กับอัตราเร็วของปฏิกิริยารีดักชันของไโรโพลาวินบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

จากงานวิจัย Shiu and Shi ในปี ค.ศ. 2000 ได้ทำการตรวจวัดไโรโพลาวินด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนพบว่าโมเลกุลของไโรโพลาวินเกิดการดูดซับที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า ซึ่งตรงกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (จากการทดลอง) ที่มีการดูดซับโมเลกุลของไโรโพลาวินเช่นเดียวกัน ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากลาสติคาร์บอนและขั้วไฟฟ้ากราไฟต์จะเกิดพันธะกับออกซิเจน (Terminate by oxygen) ซึ่งเป็นผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าที่มีขั้ว ดังนั้นจึงสามารถดูดซับโมเลกุลที่มีขั้วได้ และไโรโพลาวินจัดได้ว่าเป็นโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีขั้ว ดังนั้นจึงเกิดการดูดซับที่บริเวณพื้นผิวของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ได้

3.2) สารละลาย 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4

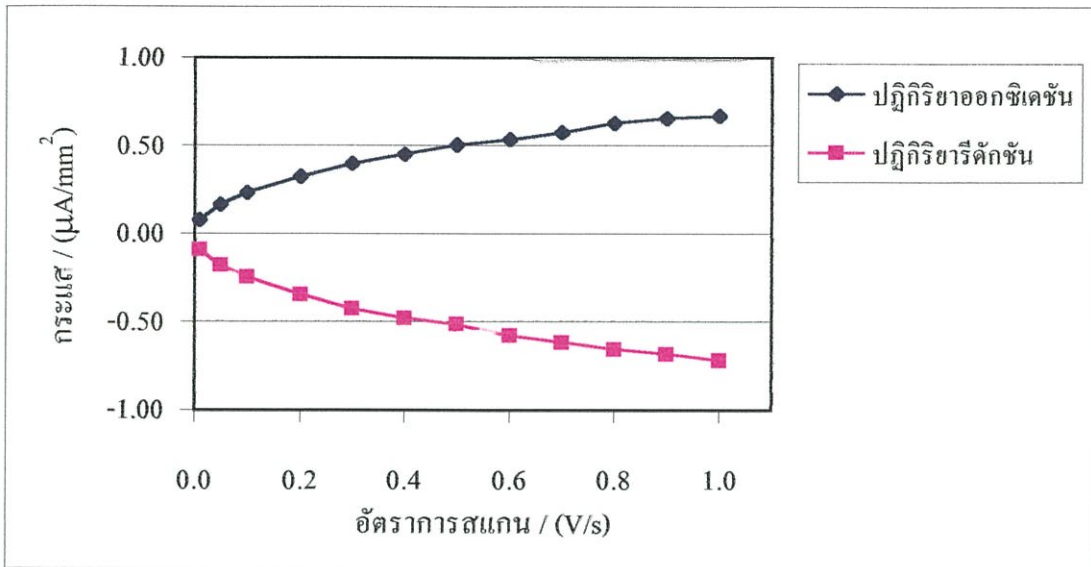
3.2.1) ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C

อัตราการสแกนที่มีผลต่อไซคลิกโวลแทมโมแกรมจะได้ดังรูปที่ 4.23



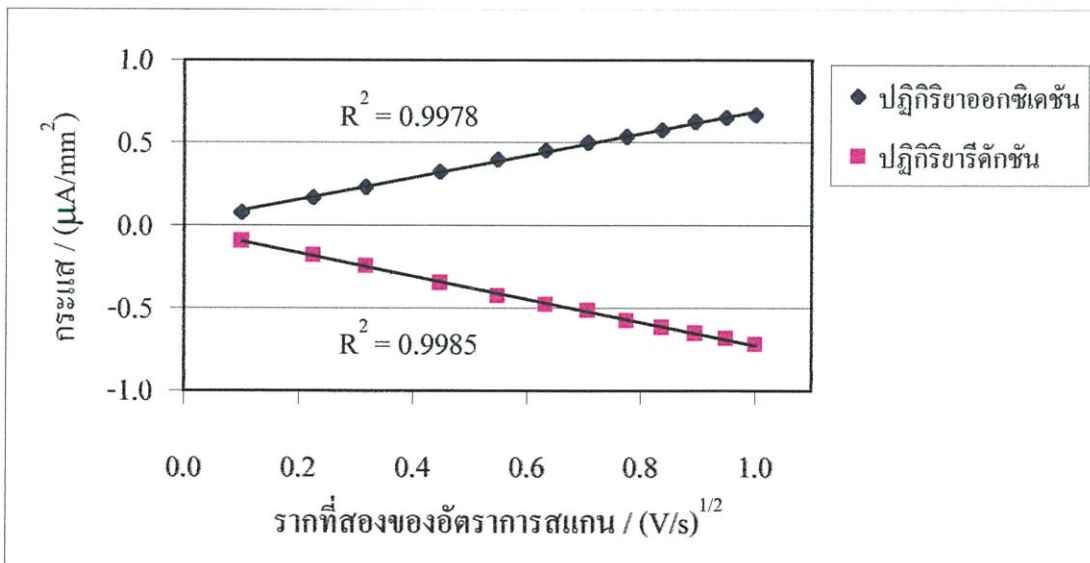
รูปที่ 4.23 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ลักษณะไซคลิกโวลแทมโมแกรมของรูปที่ 4.23 จะเห็นได้ว่าเมื่อมีการเพิ่มอัตราการสแกนส่งผลให้ศักย์ไฟฟ้าในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ค่าของ ΔE_p ค่อนข้างจะคงที่ (ศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันจะเกิดที่ประมาณ -0.067 และ -0.123 V ตามลำดับ) ถ้าพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนของกระแสของพีกที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ($i_{p,a}$) ต่อกระแสของพีกที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ($i_{p,c}$) ตามสมการที่ 2.5 ก็จะได้ตามการตรวจวัดโรโบฟลาวินด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C คือค่า $i_{p,a}/i_{p,c}$ จะมีค่าประมาณ 1 บอกได้ว่าลักษณะของพีกค่อนข้างจะ Reversible ค่าของความหนาแน่นของกระแสและตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน แสดงในภาคผนวก ก.2.2.2 (ตารางที่ ก.7) นำค่าที่ได้มาพลอตกราฟได้ดังรูปที่ 4.24

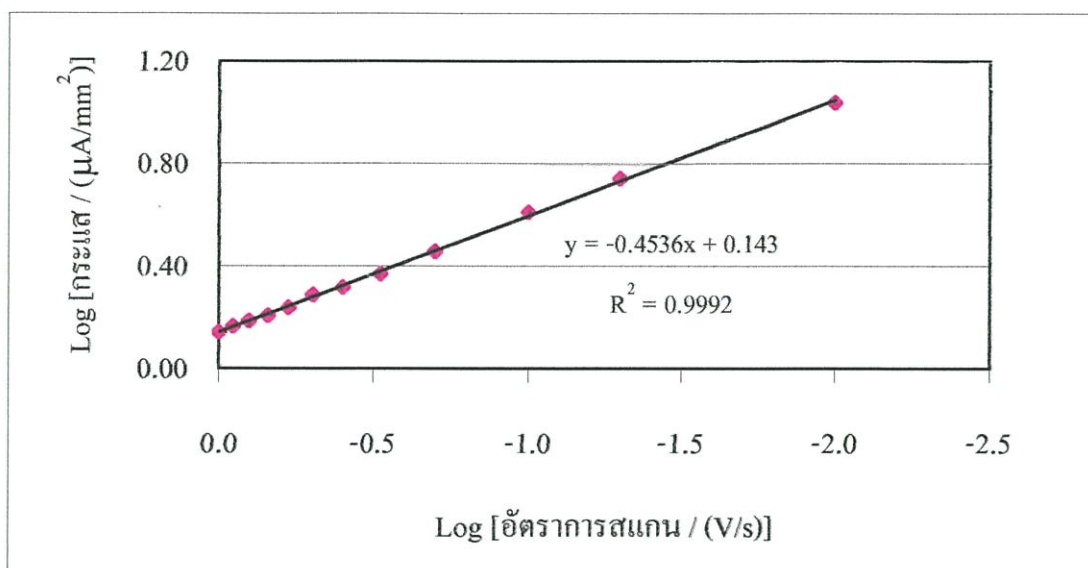


รูปที่ 4.24 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

จากกราฟรูปที่ 4.24 เลือกอัตราการสแกนที่ 0.1 V/s เพราะความชันของเส้นกราฟสูงสุด ดังนั้นตลอดการทดลองจึงเลือกอัตราการสแกนที่ 0.1 V/s สำหรับวิเคราะห์ FMN



รูปที่ 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

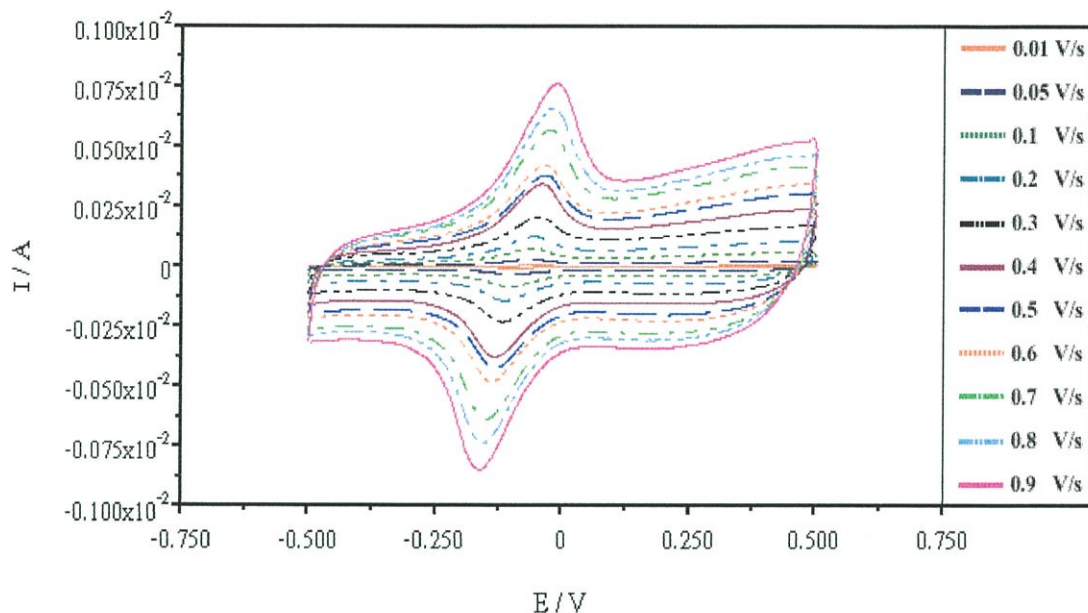


รูปที่ 4.26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยารีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

จากกราฟรูปที่ 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราสแกนกับกระแสของไรโบฟลาวินทั้งปฏิกริยาออกซิเดชัน และรีดักชันของ FMN จะมีลักษณะเป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9978$ และ 0.9985 ตามลำดับ) เป็นไปตามสมการที่ 2.7 และกราฟรูปที่ 4.26 จากความสัมพันธ์ Log ของอัตราสแกนเทียบกับ Log กระแสปฏิกริยารีดักชันของ FMN จะได้เป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9992$) และมีความชันประมาณ 0.5 ตรงกับสมการที่ 2.8 ผลที่ได้จะคล้ายกับการตรวจวัดไรโบฟลาวินด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C ดังนั้นกระบวนการเกิดปฏิกริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าจะควบคุมโดยกระบวนการแพร่เช่นเดียวกัน และประกอบกับเหตุผลของผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C ไม่มีขั้วจึงไม่ดูดซับ โมเลกุลของ FMN ซึ่งมีขั้วเช่นเดียวกับโมเลกุลของไรโบฟลาวิน

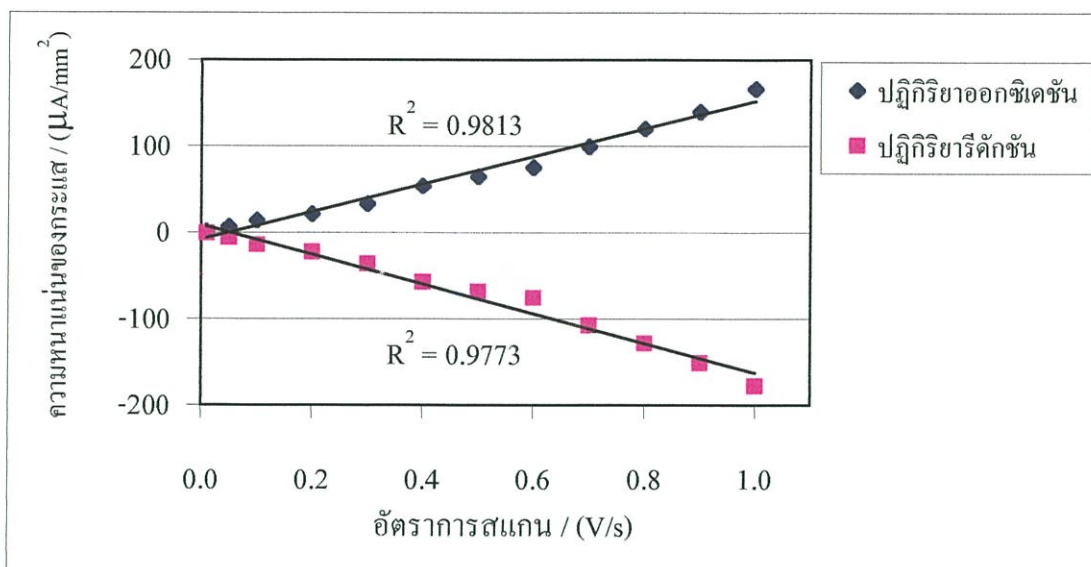
3.2.2) ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์

ไซคลิกโวลแทมโมแกรมจะได้อ้างรูปที่ 4.27



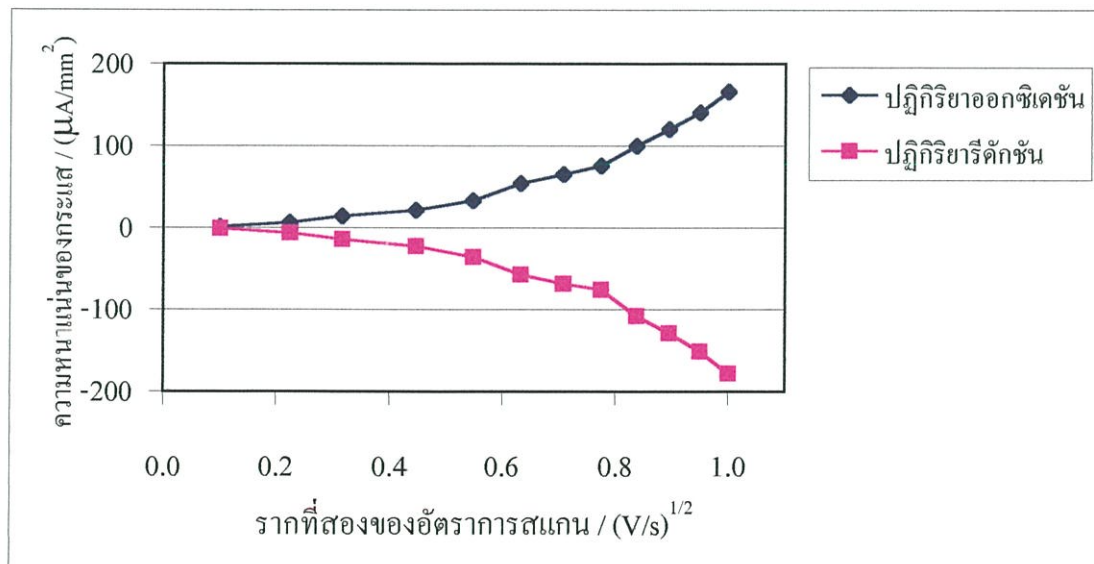
รูปที่ 4.27 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

อัตราการสแกนที่มีผลต่อไซคลิกโวลแทมโมแกรมเมื่อมีการเพิ่มของอัตราการสแกนส่งผลให้ ค่า ΔE_p เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ถ้าพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนของกระแสของพีคที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ($i_{p,a}$) ต่อกระแสของพีคที่เกิดปฏิกิริยารีดักชัน ($i_{p,c}$) ตามสมการที่ 2.5 จะเหมือนกับการตรวจวัดโรโบฟลาวินด้วยขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ คือค่า $i_{p,a} / i_{p,c}$ จะมีค่าประมาณ 1 บอกได้ว่าลักษณะของพีคค่อนข้างจะ reversible เช่นเดียวกัน ค่าของกระแสและตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน แสดงในภาคผนวก ก.2.2.2 (ตารางที่ ก.8) นำค่าที่ได้มาพลอตกราฟได้อ้างรูปที่ 4.28

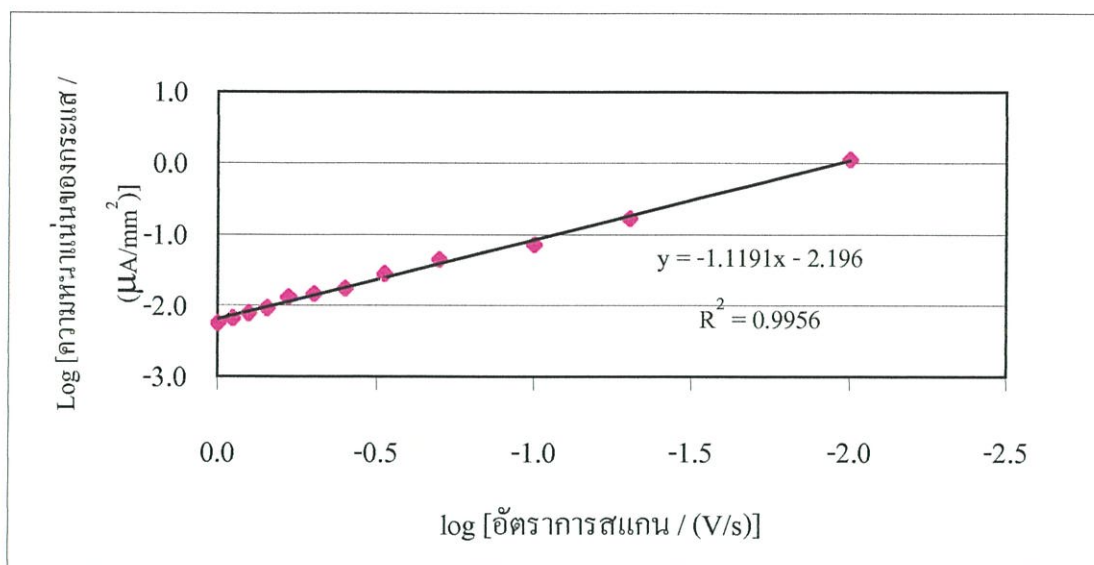


รูปที่ 4.28 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ $50 \mu\text{M}$ FMN ใน $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

จากกราฟรูปที่ 4.28 พบว่าเมื่อมีอัตราการสแกนเพิ่มขึ้นทำให้กระแสของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันนั้นเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นอัตราการสแกนของขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์จึงเลือกจากขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C คือที่ 0.1 V/s สำหรับวิเคราะห์ FMN



รูปที่ 4.29 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ $50 \mu\text{M}$ FMN ใน $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl



รูปที่ 4.30 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Log อัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยารีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

จากรูปที่ 4.29 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของอัตราการสแกนกับกระแสของทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันจะไม่เป็นเส้นตรง และจากกราฟรูปที่ 4.28 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับกระแสที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันจะเป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9813$ และ 0.9773 ตามลำดับ) จากสมการที่ 2.9 และกราฟรูปที่ 4.30 จากความสัมพันธ์ Log ของอัตราการสแกนเทียบกับ Log ความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยารีดักชันจะได้กราฟเป็นเส้นตรง ($R^2 = 0.9959$) และมีความชันประมาณ 1 เป็นไปตามสมการที่ 2.10 จากผลการทดลองพบว่ากระบวนการเกิดปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าจะเป็นเช่นเดียวกันกับการตรวจวัดโรโบฟลาวินด้วยขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ คือเกิดการดูดซับโมเลกุลของ FMN ที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ และประกอบกับเหตุผลของผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์มีขั้วจึงดูดซับโมเลกุลของ FMN ซึ่งมีขั้วเช่นเดียวกับโมเลกุลของโรโบฟลาวิน

4.) อัตราการกวนสารละลาย

การตรวจวัดจะให้อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ คือ 1000, 2000, 3000, 4000 และ 5000 rpm ตามลำดับ

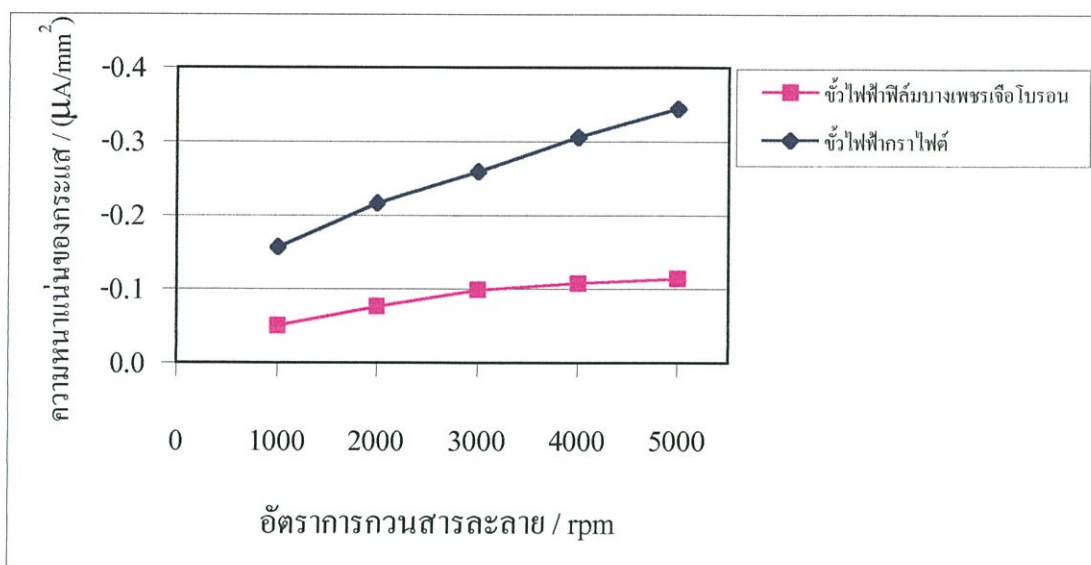
4.1) สารละลายโรโบฟลาวินความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.05 M H_2SO_4

ผลกระทบของอัตราการกวนสารละลายที่มีผลต่อการตรวจวัดโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl จะแสดงผลดังตารางที่ 4.8 (ตัวอย่างของแอมเปอโรแกรมอยู่ในภาคผนวก ก.2.2.1 (รูปที่ ก.7 และ ก.8))

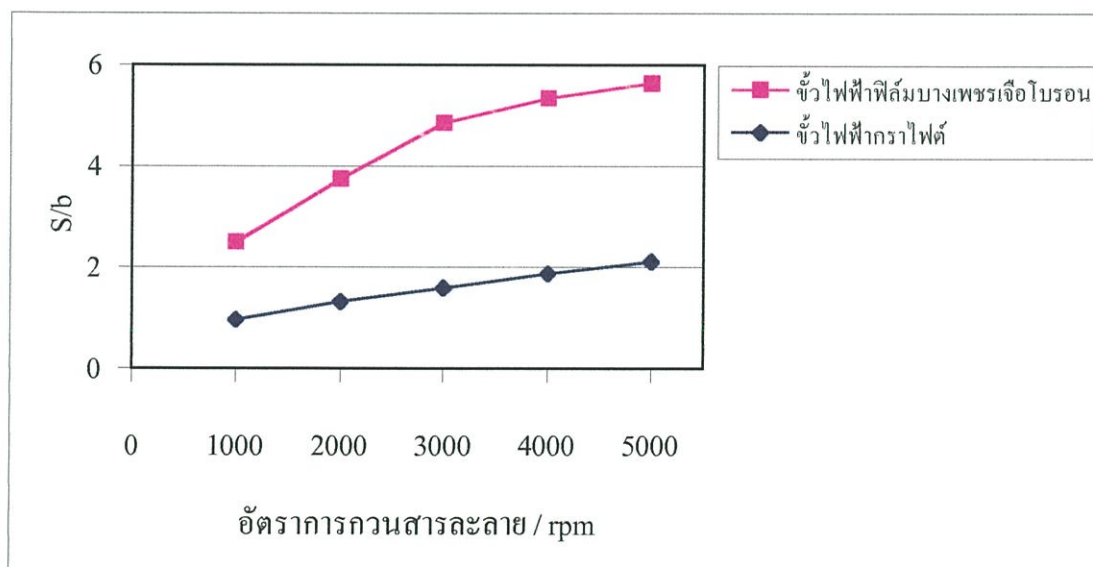
ตารางที่ 4.8 ความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยารีดักชัน (ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl) ของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ กัน (b = ความหนาแน่นของกระแสพื้น, S = ความหนาแน่นของกระแสที่ได้)

อัตราการกวน สารละลาย (rpm)	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C		ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์	
	ความหนาแน่น ของกระแส; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b=-0.0022$ $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ความหนาแน่น ของกระแส; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b=-0.0470$ $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1000	-0.0506	22.47419	-0.1567	3.3300
2000	-0.0759	33.72505	-0.2160	4.5912
3000	-0.0983	43.7131	-0.2590	5.5045
4000	-0.1080	48.01237	-0.3060	6.5035
5000	-0.1141	50.72679	-0.3440	7.3115

นำค่าได้จากตารางที่ 4.8 ไปพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับอัตราการกวนสารละลาย และ S/b กับอัตราการกวนสารละลาย ดังรูปที่ 4.31 และ 4.32



รูปที่ 4.31 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการกวนสารละลายกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยารีดักชันของไรโบฟลาวินความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.05 M H_2SO_4 จากเทคนิคแอมแปโรเมทรีที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ที่อัตราการกวนสารละลายต่างๆ



รูปที่ 4.32 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการกวนสารละลายกับ S/b ของปฏิกิริยารีดักชัน 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl โดยใช้เทคนิคแอมแปโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลายต่างๆ

จากกราฟรูปที่ 4.31 พบว่ากระแสที่ได้จะแปรผันตามอัตราการกวนสารละลาย ซึ่งจะเป็นไปตามสมการที่ 2.11 เพราะสารละลายที่บริเวณผิวหน้าอิเล็กโทรดจะเกิดการเคลื่อนที่ออกจากผิวหน้าและสารละลายจะถูกเติมเข้าไปใหม่โดยการไหลตามปกติเข้าสู่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เมื่อเพิ่มอัตราการกวนสารละลาย bulk ทำให้ชั้นความหนาของการแพร่ (δ) ลดลงส่งผลให้กระแสที่เกิดขึ้นนั้นเพิ่มขึ้นซึ่งจะเป็นไปตามสมการที่ 2.11

จากกราฟรูปที่ 4.31 และ 4.32 ความสูงของกระแสที่ได้จากขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C จะต่ำกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ประมาณ 1 เท่า ในขณะที่ค่าของ S/b ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C จะสูงกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ถึง 7 เท่า นั่นเป็นเพราะว่าในขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนมีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำชนิดพี ดังนั้นเมื่อมีพลังงานเข้าไปกระตุ้นเพียงพอจะทำให้เกิดโฮลอยู่บริเวณของแถบวาเลนซ์ ทำให้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเกิดโฮลตรงบริเวณใกล้กับ Fermi level ต่ำลงทำให้มีไอออนของอิเล็กโทรไลต์ช่วยที่จะมาดุลประจุสะสมที่บริเวณผิวของขั้วไฟฟ้าต่ำจึงทำให้มีกระแสพื้นต่ำ ส่งผลให้สัดส่วนของ S/b นั้นสูง (Alehashem *et. al.* 1995)

การทดลองได้เลือกอัตราการกวนสารละลายที่ 3000 rpm สำหรับขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เพราะที่ 4000 และ 5000 rpm มีอัตราการกวนสารละลายที่สูงเกินไป และผลของกราฟจากการเกิดกระแสของปฏิกิริยารีดักชันที่ 4000 rpm ความชันเริ่มลดลง ส่วนขั้วไฟฟ้ากราไฟต์อัตราการกวนสารละลายจะสูงเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จึงเลือกที่ 3000 rpm เหมือนกับขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เพราะในการทดลองต่อ ๆ ไปต้องนำผลการทดลองที่ได้มาเปรียบเทียบกัน

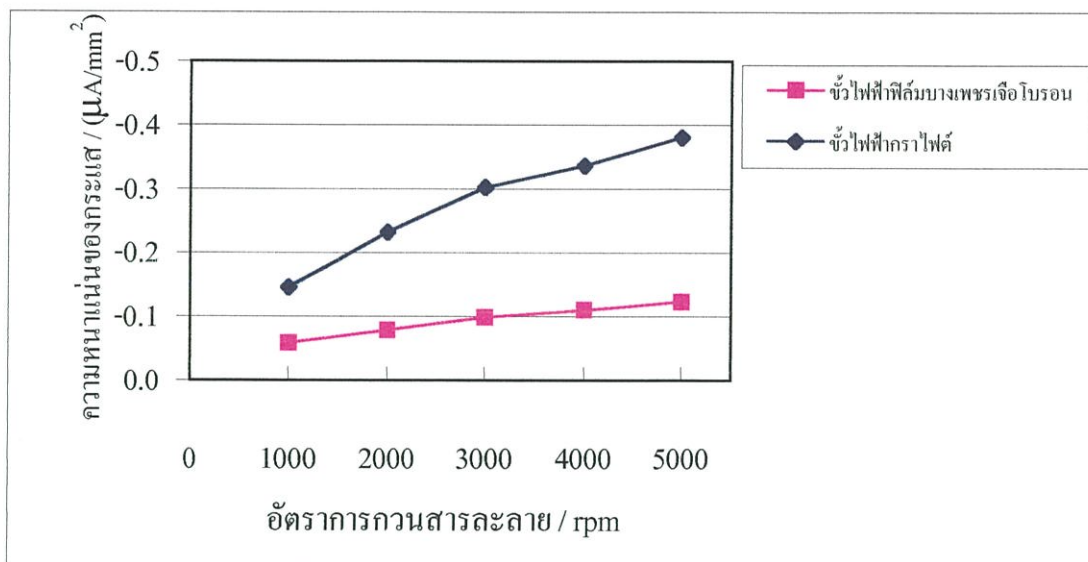
4.2) สารละลาย FMN ความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.1 M H_2SO_4

ผลกระทบของอัตราการกวนสารละลายที่มีผลต่อการตรวจวัด FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl จะแสดงผลดังตารางที่ 4.9 (ตัวอย่างของแอมเปอโรแกรมอยู่ในภาคผนวก ก.2.2.2 (รูปที่ ก.9 และ ก.10))

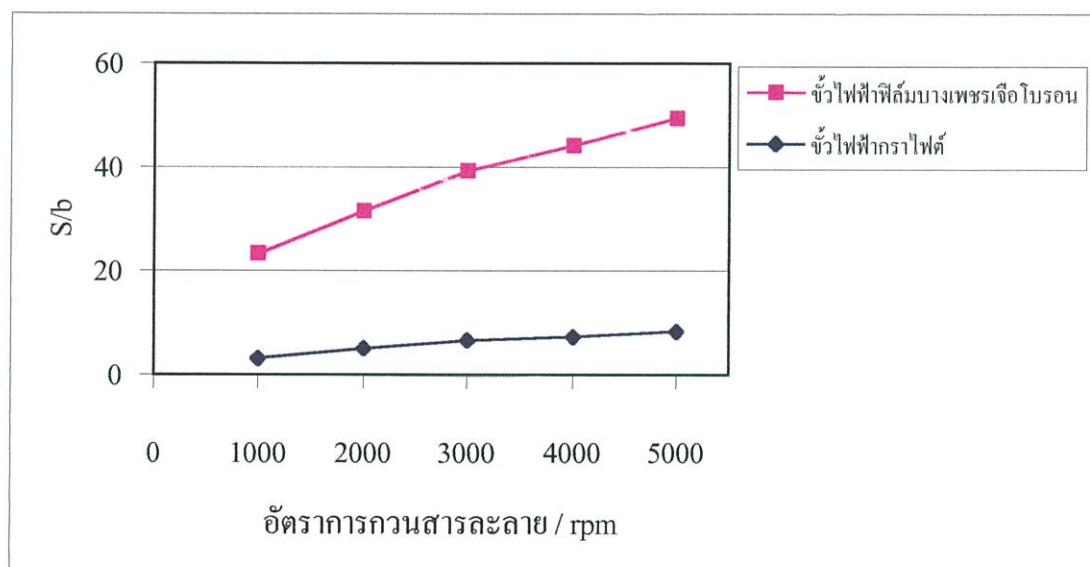
ตารางที่ 4.9 กระแสปฏิกริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ (b = ความหนาแน่นของกระแสพื้น, S = ความหนาแน่นของกระแสที่ได้)

อัตราการกวน สารละลาย (rpm)	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C		ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์	
	ความหนาแน่น ของกระแส; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b=-0.0025$ $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ความหนาแน่น ของกระแส; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b=-0.0176$ $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1000	-0.0585	23.4006	-0.1462	3.2068
2000	-0.0791	31.6501	-0.2328	5.1042
3000	-0.0984	39.3735	-0.3020	6.6239
4000	-0.1104	44.1703	-0.3361	7.3715
5000	-0.1236	49.4422	-0.3811	8.3565

นำค่าได้จากตารางที่ 4.9 ไปพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของกระแสกับอัตราการกวนสารละลาย และ S/b กับอัตราการกวนสารละลาย ดังรูปที่ 4.33 และ 4.34



รูปที่ 4.33 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการกวนสารละลายกับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยารีดักชัน $50 \mu\text{M}$ FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีให้อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ



รูปที่ 4.34 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการกวนสารละลายกับ S/b ของปฏิกิริยารีดักชัน $50 \mu\text{M}$ FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ให้อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ

จากกราฟรูปที่ 4.33 พบว่ากระแสที่ได้จะแปรผันตามอัตราการกวนสารละลาย ซึ่งจะเป็นไปตามสมการที่ 2.11 เมื่ออัตราการกวนสารละลายเพิ่มขึ้นมีผลให้ความหนาของชั้นที่เกิดการแพร่ลดลง ดังนั้นทำให้กระแสที่ได้จึงสูงขึ้น (ตามสมการ 2.11) ผลที่ได้จะเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการตรวจวัดโรโบฟลาวิน

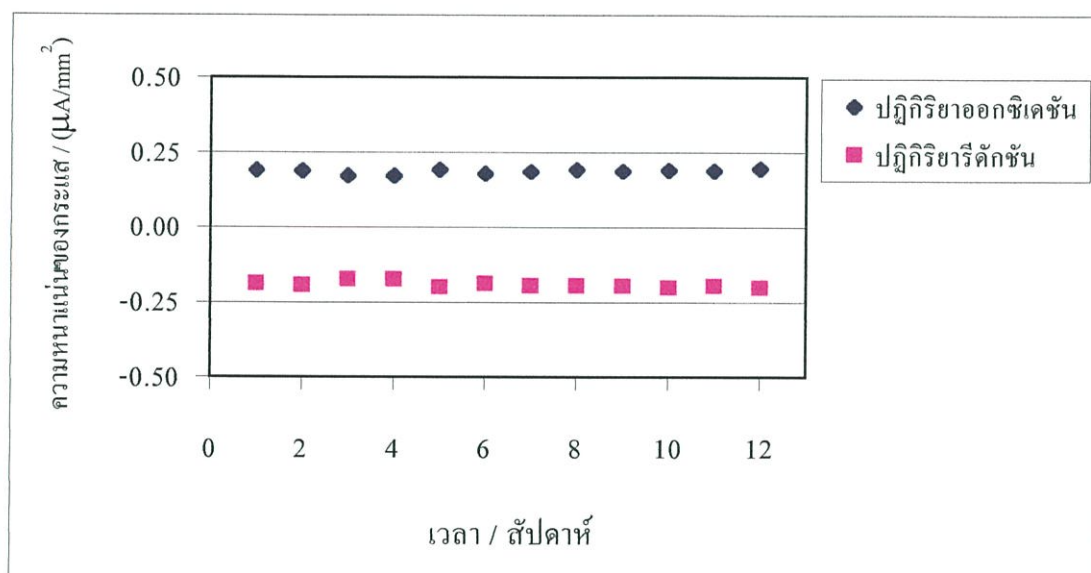
จากกราฟรูปที่ 4.33 และ 4.34 ความสูงของกระแสที่ได้จากขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C จะต่ำกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ประมาณ 3 เท่า ในขณะที่ค่าของ S/b ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C จะสูงกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ถึง 7 เท่า เหตุผลก็เช่นเดียวกับการตรวจวัดโรโบฟลาวิน คือขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนมีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำชนิดพี ดังนั้นเมื่อมีพลังงานเข้าไปกระตุ้นเพียงพอจะทำให้เกิด โฮลอยู่บริเวณของแถบวาเลนซ์ ทำให้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเกิดโฮลตรงบริเวณใกล้กับ Fermi level ค่าทำให้มีไอออนของอิเล็กโทรไลต์ช่วยที่จะมาดุลประจุสะสมที่บริเวณผิวของขั้วไฟฟ้าค่าจึงทำให้มีกระแสพื้นต่ำ ส่งผลให้สัดส่วนของ S/b นั้นสูง (Alehashem *et. al.* 1995) ในการทดลองได้ใช้อัตราการกวนสารละลายที่ 3000 rpm สำหรับขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เพราะที่ 4000 และ 5000 rpm มีอัตราการกวนสารละลายที่สูงเกินไป และผลของกราฟจากการเกิดกระแสของปฏิกิริยารีดักชันที่ 4000 rpm ความชันเริ่มลดลง

4.3.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C กับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

1.) เสถียรภาพของขั้วไฟฟ้า โดยวัดทุก ๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 3 เดือน

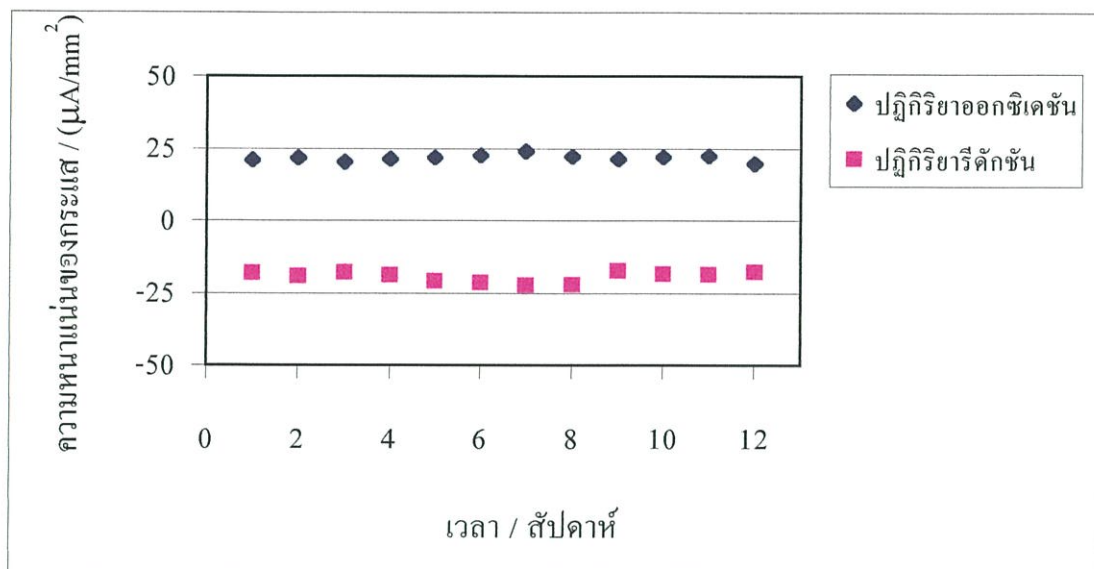
1.1) สารละลาย 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4

จากการตรวจวัดสารละลาย 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ จะได้กราฟรูปที่ 4.35 และ 4.36 ตามลำดับ



รูปที่ 4.35 กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์)

จากกราฟรูปที่ 4.35 ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของกระแสคือ 0.1859 และ $-0.1910 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) คือ 0.0076 และ $0.0094 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ของปฏิกริยาออกซิเดชันและรีดักชันตามลำดับ จะแสดงเสถียรภาพได้จากค่า % RSD (Relative standard deviation; $\% \text{RSD} = (\text{SD}/\text{ค่าเฉลี่ย}) \times 100$) มีค่าเป็น 4.11 % และ 4.90 % ตามลำดับ

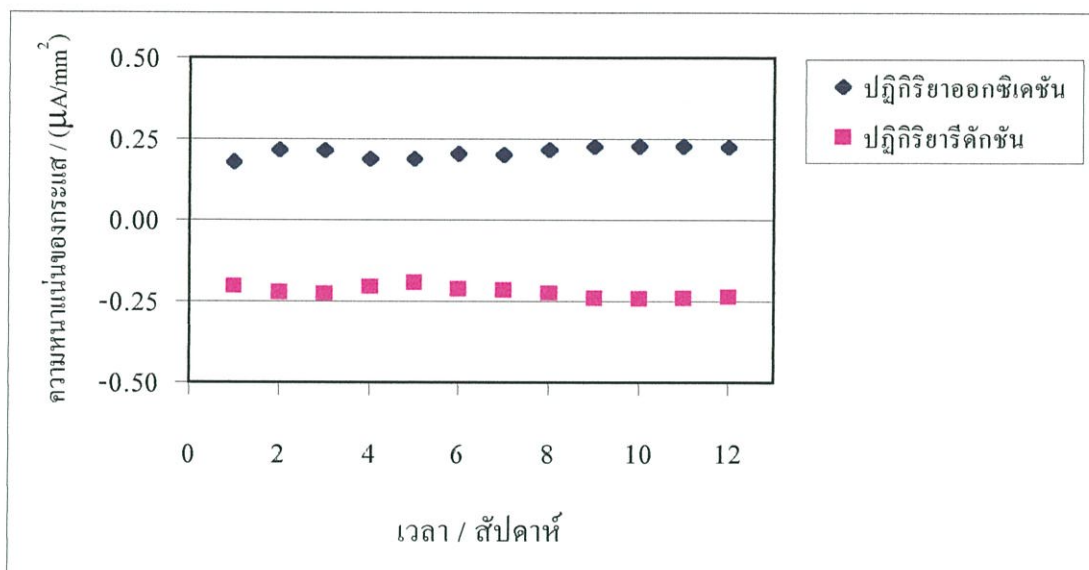


รูปที่ 4.36 กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์)

จากกราฟรูปที่ 4.36 ค่าเฉลี่ยของกระแสคือ 21.7562 และ $-19.3311 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ค่า SD เท่ากับ 1.1084 และ $1.869 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน จะแสดงเสถียรภาพได้จากค่า % RSD มีค่าเป็น 5.09 % และ 9.35 % ตามลำดับ

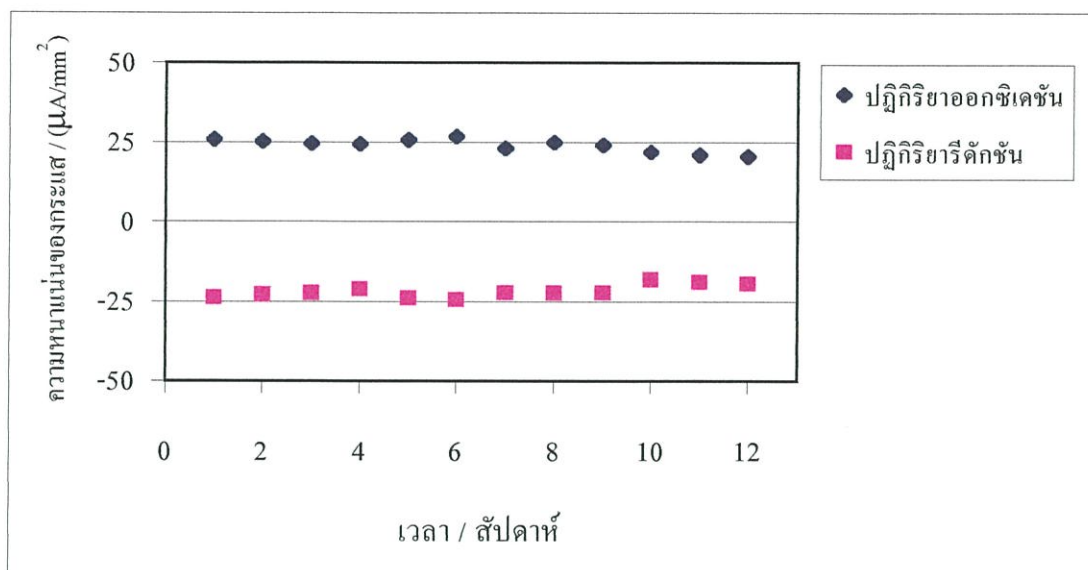
1.2) สารละลาย 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4

จากการตรวจวัดสารละลาย 50 μM FMN ใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ จะได้กราฟรูปที่ 4.37 และ 4.38 ตามลำดับ



รูปที่ 4.37 กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์)

จากกราฟรูปที่ 4.37 ค่าเฉลี่ยของกระแสคือ 0.2095 และ $-0.2212 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ค่า SD เท่ากับ 0.0171 และ $0.0164 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันตามลำดับ จะแสดงเสถียรภาพได้จาก ค่า % RSD มีค่าเป็น 8.18 % และ 7.42 % ตามลำดับ



รูปที่ 4.38 กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ $50 \mu\text{M}$ FMN ใน $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์)

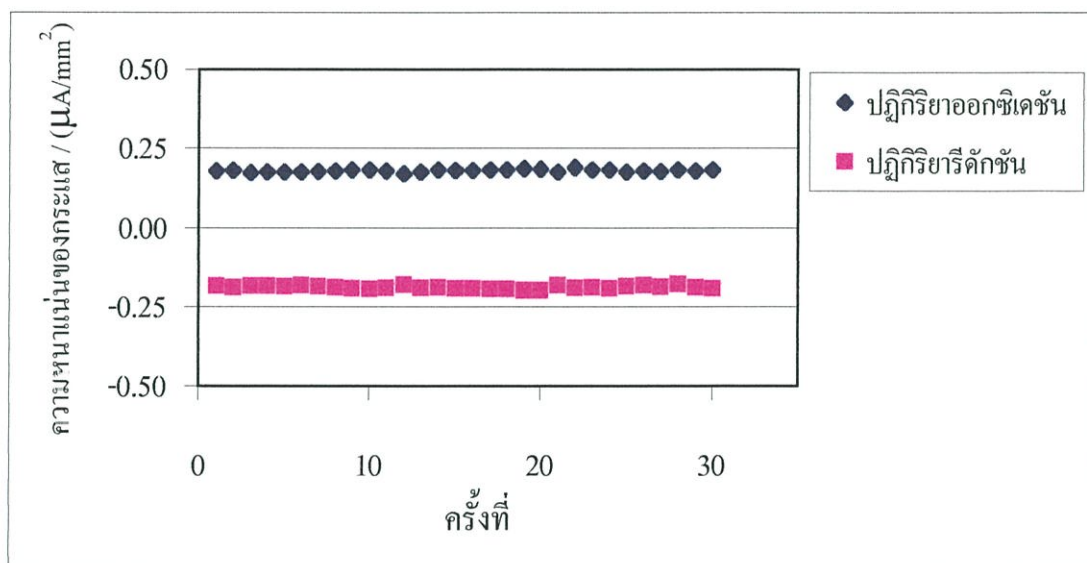
จากกราฟรูปที่ 4.38 ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของกระแสคือ 24.0142 และ $-21.8415 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ค่า SD เท่ากับ 2.0118 และ $2.0398 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันตามลำดับ จะแสดงเสถียรภาพได้จากค่า % RSD มีค่าเป็น 8.38% และ 9.34% ตามลำดับ

ค่า % RSD ของเทคนิคโวลแทมเมตรีที่ยอมรับได้ควรอยู่ที่ ± 1 ถึง $\pm 10 \%$ (Settle. 1997) จากผลการทดลองเป็นเวลา 3 เดือน (12 สัปดาห์) พบว่าในการตรวจวัดทั้งไรโบฟลาวิน และ FMN ด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C มีความเสถียรภาพดีกว่าขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ เพราะค่า % RSD นั้นต่ำกว่า และค่า % RSD ของขั้วไฟฟ้าทั้งสองอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

2.) การวัดซ้ำในสารละลายเดิม 30 ครั้ง (Reproducibility)

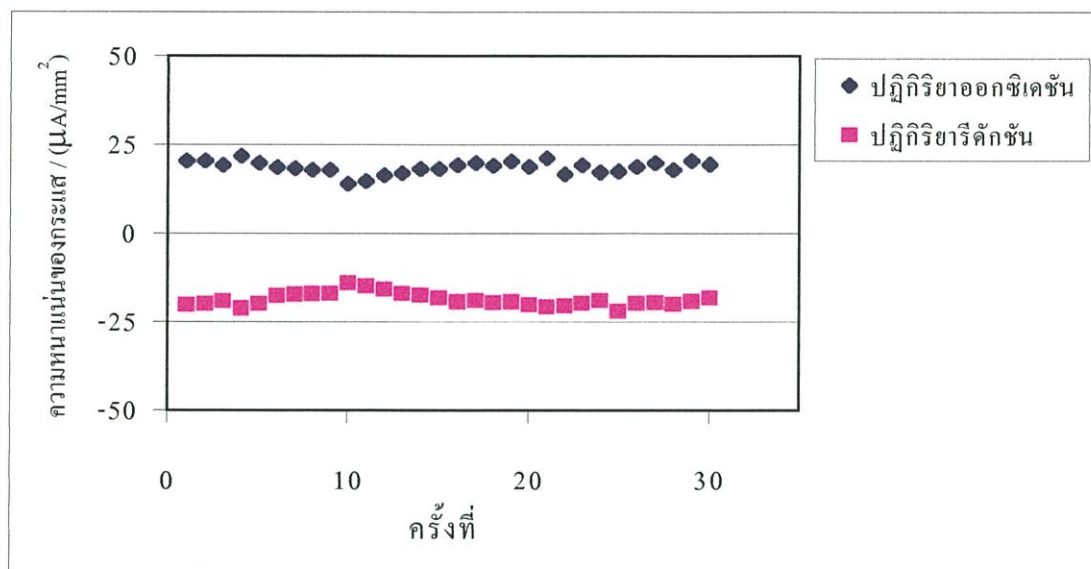
2.1) สารละลาย 50 μM ไรโบฟลาวิน ใน 0.05 M H_2SO_4

จากการตรวจวัดสารละลาย 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ จะได้กราฟรูปที่ 4.39 และ 4.40 ตามลำดับ



รูปที่ 4.39 กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM ไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 30 ครั้ง)

จากกราฟรูปที่ 4.39 ค่าเฉลี่ยของกระแสคือ 0.1798 และ $-0.1876 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ค่า SD เท่ากับ 0.0041 และ $0.0053 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันตามลำดับ จะแสดงเสถียรภาพได้จากค่า % RSD มีค่าเป็น 2.29 % และ 2.80 % ตามลำดับ

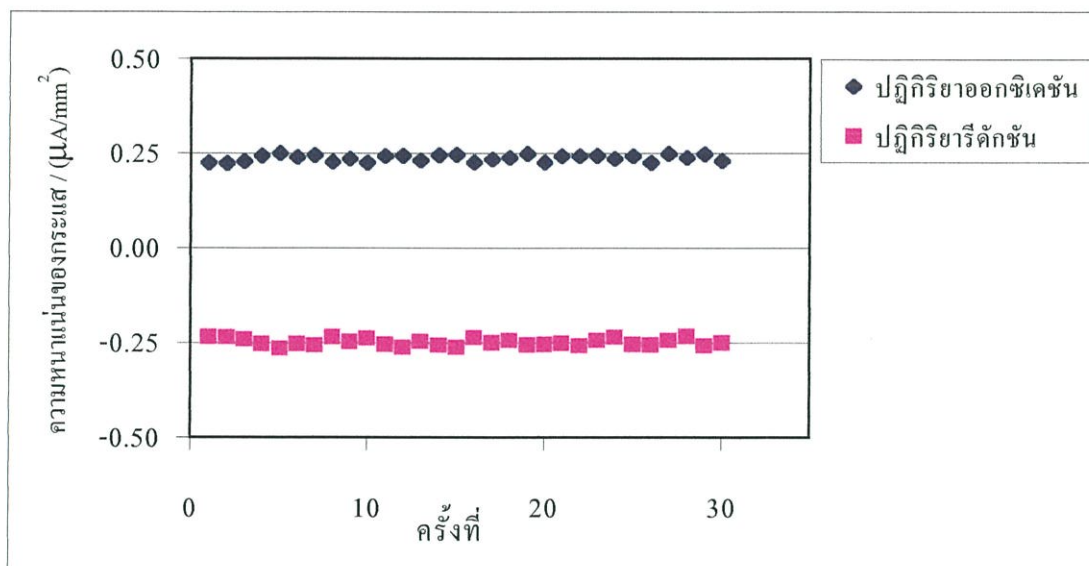


รูปที่ 4.40 กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ $50 \mu\text{M}$ ไโรโบฟลาวินใน $0.05 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 30 ครั้ง)

จากกราฟรูปที่ 4.40 ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของกระแสคือ 18.6231 และ $-18.7432 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ค่า SD เท่ากับ 1.7564 และ $1.8356 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันตามลำดับ จะแสดงเสถียรภาพได้จากค่า % RSD มีค่าเป็น 9.43% และ 9.79% ตามลำดับ

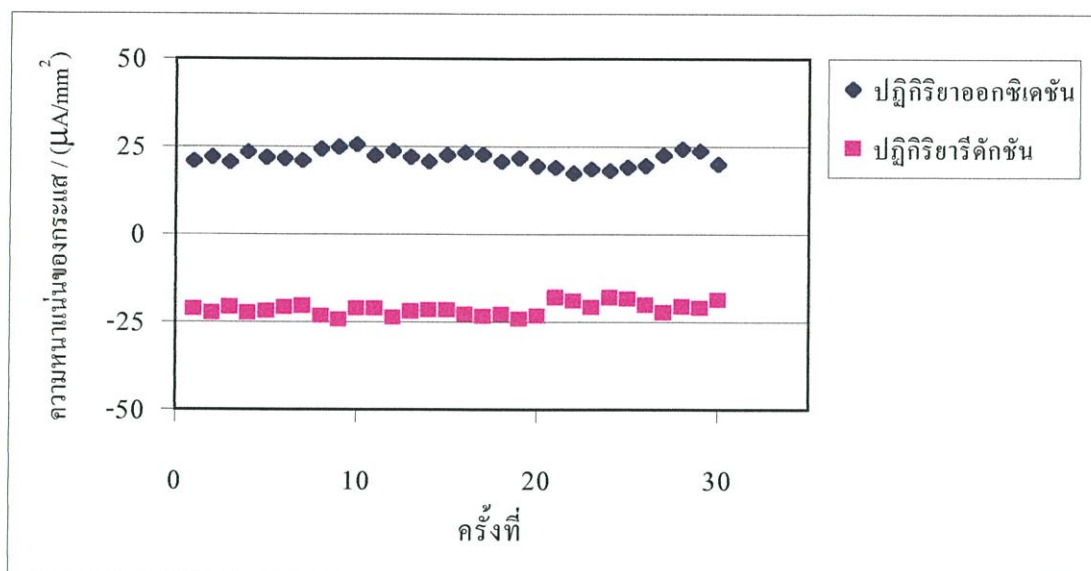
2.2) สารละลาย 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4

จากการตรวจวัดสารละลาย 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ จะได้กราฟรูปที่ 4.41 และ 4.42 ตามลำดับ



รูปที่ 4.41 กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันที่ได้จากไซคลิก โวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 30 ครั้ง)

จากกราฟรูปที่ 4.41 ค่าเฉลี่ยของกระแสคือ 0.2375 และ $-0.2489 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ค่า SD เท่ากับ 0.0084 และ $0.0095 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันตามลำดับ จะแสดงเสถียรภาพได้จากค่า % RSD มีค่าเป็น 3.53 % และ 3.80 % ตามลำดับ



รูปที่ 4.42 กราฟความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ $50 \mu\text{M}$ FMN ใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 30 ครั้ง)

จากกราฟรูปที่ 4.42 ค่าเฉลี่ยของกระแสคือ 21.5579 และ $-21.3910 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ค่า SD เท่ากับ 2.1151 และ $1.7689 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ ของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันตามลำดับ จะแสดงเสถียรภาพได้จากค่า % RSD มีค่าเป็น 9.81% และ 8.27% ตามลำดับ

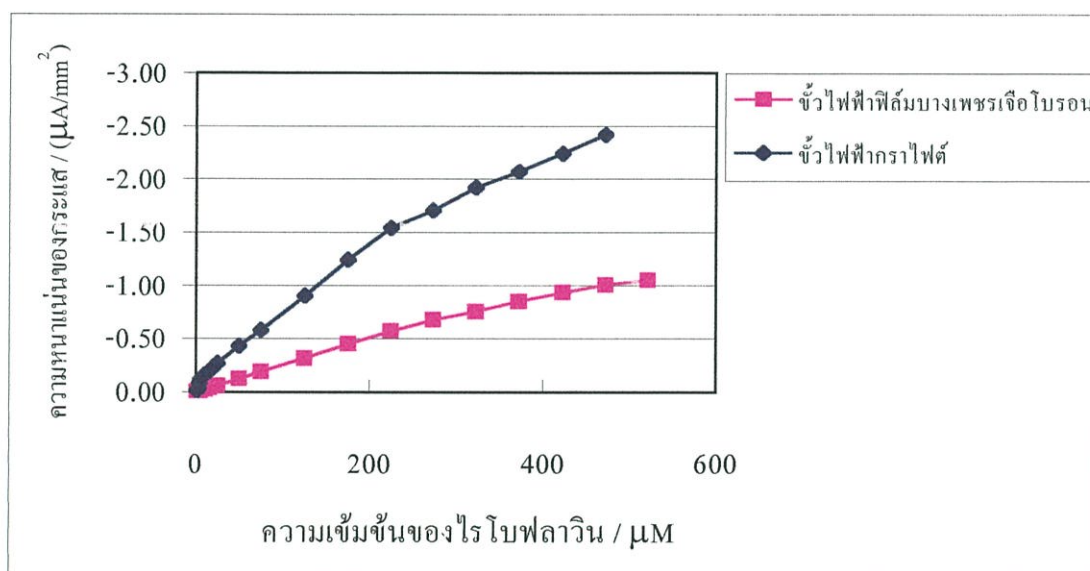
ค่า % RSD ของเทคนิคโวลแทมเมตรีที่ยอมรับได้ควรอยู่ที่ ± 1 ถึง $\pm 10 \%$ (Settle. 1997) จากการตรวจวัด $50 \mu\text{M}$ ไบโอฟลาวินและ FMN ในสารละลายเดิมจำนวน 30 ครั้ง พบว่าขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C จะมี Reproducibility ที่สูงกว่าขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์คู่ได้ จากค่า % RSD และพบว่าค่า % RSD ของขั้วไฟฟ้าทั้งสองอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

3.) ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

การตรวจวัดไรโบฟลาวินและ FMN โดยใช้เทคนิคแอมเปโรเมทรี ที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm จะได้แอมเปโรแกรมและตารางของกระแสที่ได้ แสดงอยู่ในภาคผนวก ก.3.3

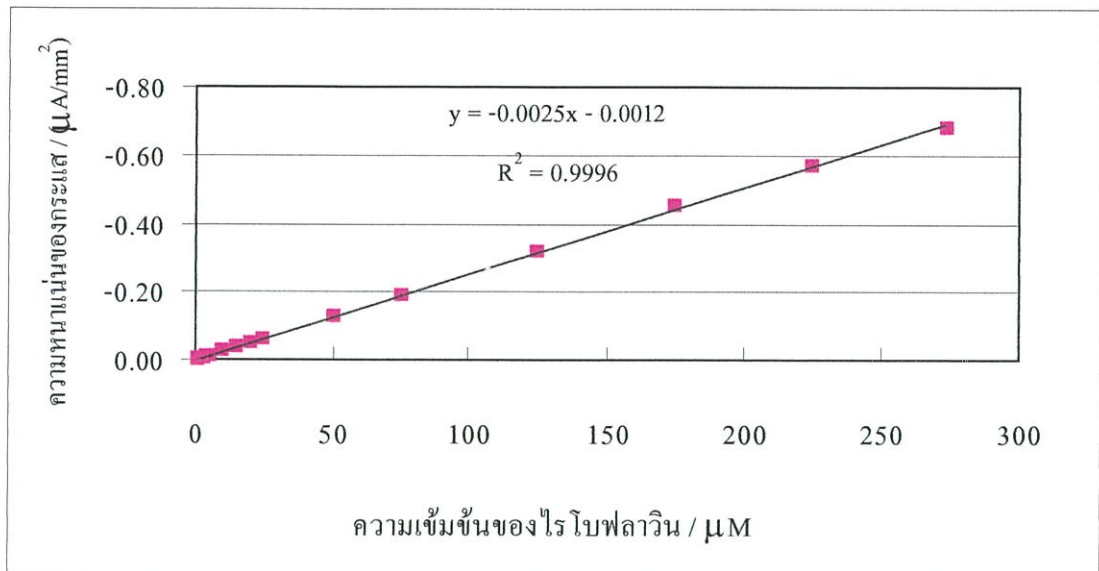
3.1) ไรโบฟลาวิน

จากการตรวจวัดโดยเติมไรโบฟลาวิน ใน 0.05 M H_2SO_4 ด้วยเทคนิคแอมเปโรเมทรีที่ ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า $Ag/AgCl$ ใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ จะได้กราฟดังรูปที่ 4.43

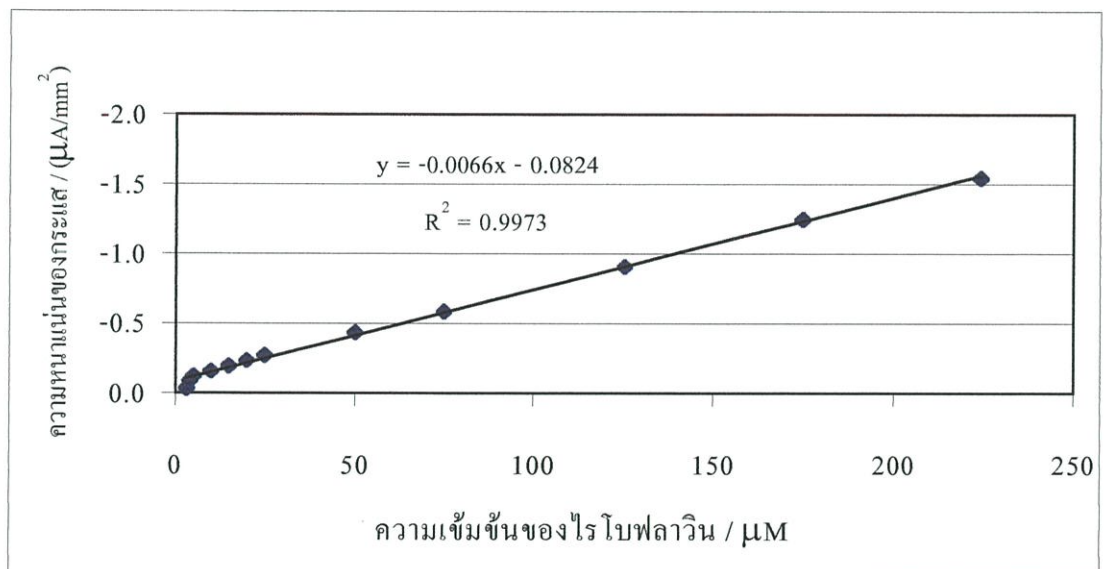


รูปที่ 4.43 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับความหนาแน่นของกระแสที่วัดได้จากปฏิกิริยารีดักชันของไรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่ -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า $Ag/AgCl$ โดยใช้เทคนิคแอมเปโรเมทรี อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm

จากกราฟที่ 4.43 สามารถหาช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C ได้ดังรูปที่ 4.44 และสำหรับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์จะได้ดังรูปที่ 4.45

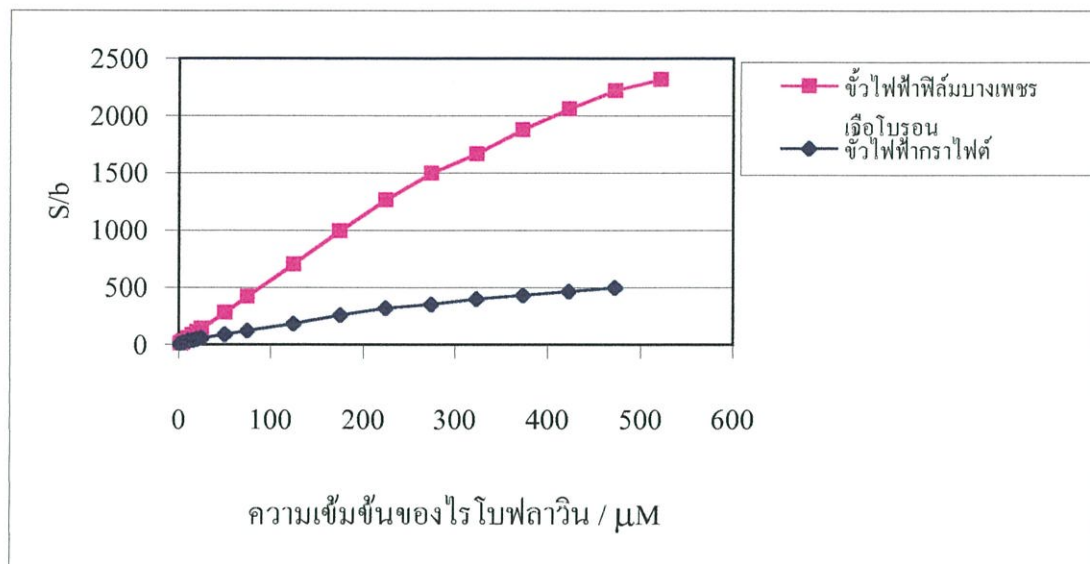


รูปที่ 4.44 ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของโรโบฟลาวินใน $0.05 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C



รูปที่ 4.45 ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของโรโบฟลาวินใน $0.05 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ โดยใช้ไฟฟ้ากราไฟต์

จากกราฟรูปที่ 4.44 และ 4.45 ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของโรโบฟลาวินโดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์จะอยู่ในช่วง 0.5-274 μM ($R^2 = 0.9996$) และ 3-224 μM ($R^2 = 0.9973$) ตามลำดับ

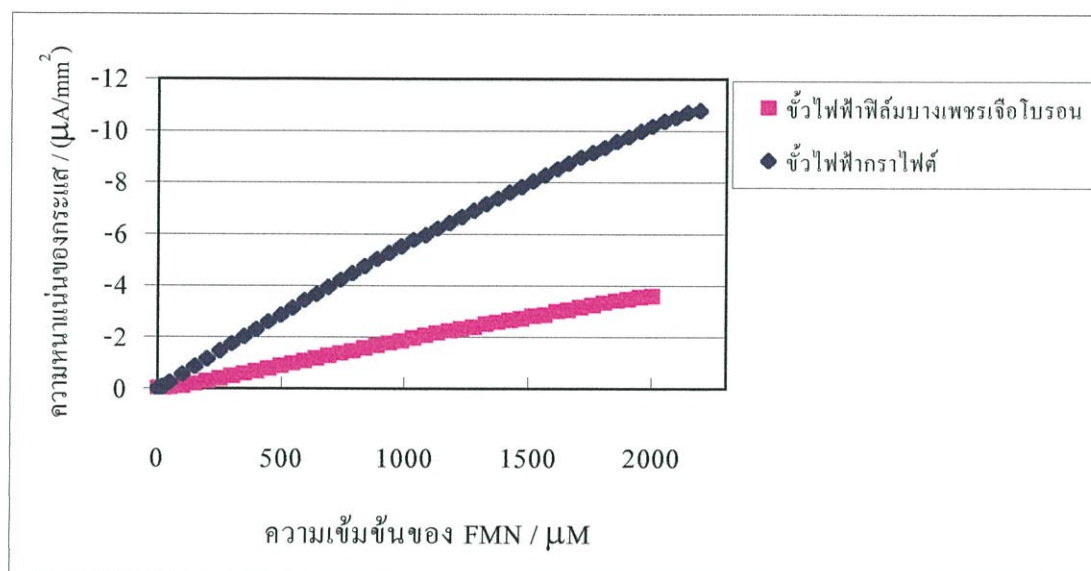


รูปที่ 4.46 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับ S/b ในปฏิกิริยารีดักชันที่ -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของโรโบฟลาวิน

กราฟรูปที่ 4.46 จะได้ว่า S/b ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C จะสูงกว่า ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ประมาณ 10 เท่า

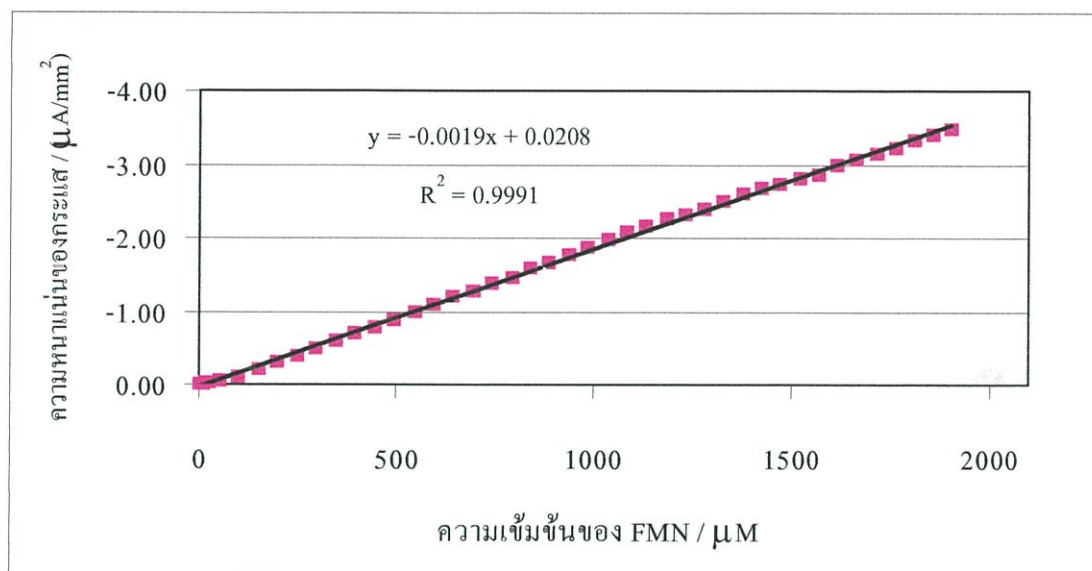
3.2) FMN

จากการตรวจวัดโดยเติม FMN ใน 0.1 M H₂SO₄ ด้วยเทคนิคแอมเปโรเมทรีที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ จะได้กราฟดังรูปที่ 4.47

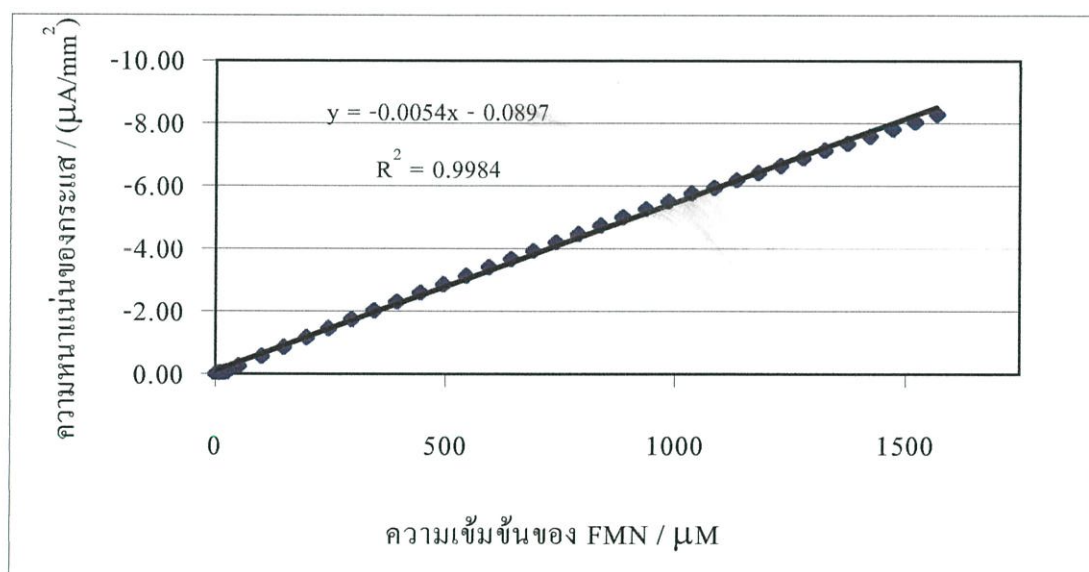


รูปที่ 4.47 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับความหนาแน่นของกระแสที่วัดได้จากปฏิกิริยารีดักชันของ FMN ใน 0.1 M H₂SO₄ ที่ -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้เทคนิคแอมเปโรเมทรี

จากกราฟที่ 4.47 สามารถหาช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C ได้ดังรูปที่ 4.48 และสำหรับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์จะได้ดังรูปที่ 4.49

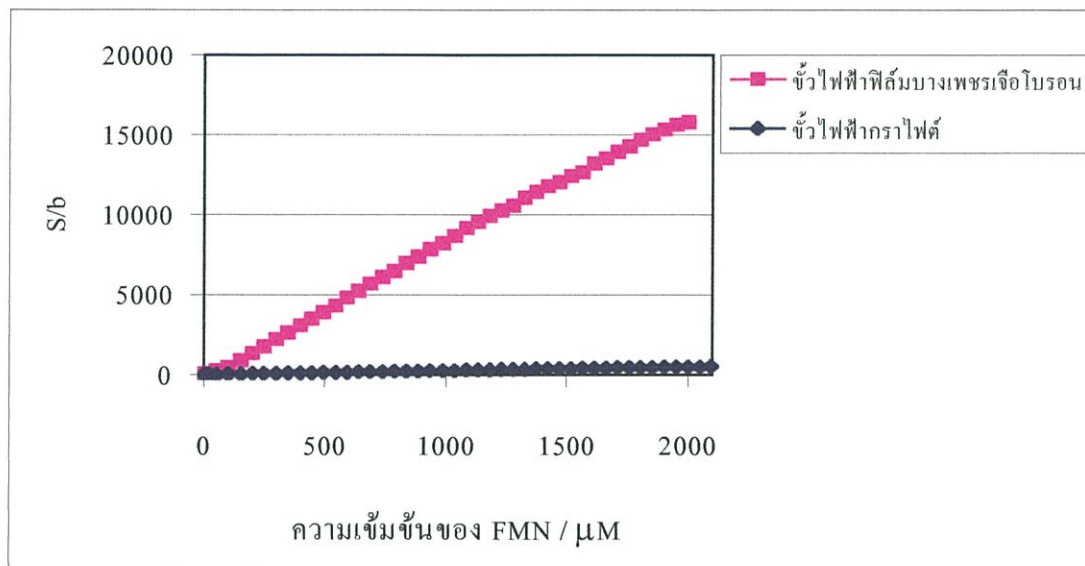


รูปที่ 4.48 ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของ FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C



รูปที่ 4.49 ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของ FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

จากกราฟรูปที่ 4.48 และ 4.49 ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของ FMN โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์จะอยู่ในช่วง 0.5-1904 μM ($R^2 = 0.9991$) และ 3-1568 μM ($R^2 = 0.9984$) ตามลำดับ



รูปที่ 4.50 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับ S/b ในปฏิกิริยารีดักชันที่ -0.13 V เทียบกับ Ag/AgCl ของ FMN

กราฟรูปที่ 4.50 จะได้ว่า S/b ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C จะสูงกว่า ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ประมาณ 10 เท่า

4.) ขีดจำกัดในการตรวจวัด

จากการคำนวณตามภาคผนวก ข ได้ผลของขีดจำกัดในการตรวจวัดโรโบฟลาวิน และ FMN จากขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ผลจากการคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด โรโบฟลาวิน และ FMN

รายการ	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C		ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์	
	โรโบฟลาวิน	FMN	โรโบฟลาวิน	FMN
สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้ ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	0.0008	0.0007	0.0603	0.2154
ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ (μM)	0.1200	0.1364	1.2162	2.9571

4.3.4 ผลการตรวจวัด โรโบฟลาวิน จากยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง

ผลการตรวจวัดยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรี (ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V) และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานเทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl จะได้ผลดังตารางที่ 4.11 และแสดงกราฟการเติมสารมาตรฐานในภาคผนวก ค

ตารางที่ 4.11 ผลการตรวจวัดโรโบฟลาวินจากยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง

ขั้วไฟฟ้า		ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2
ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C	ปริมาณสารตัวอย่าง (mg/เม็ด)	50	50
	ปริมาณที่ตรวจวัดได้ (mg/เม็ด)	47.06	47.82
	เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%)	94.12	95.64
กราฟไฟต์	ปริมาณสารตัวอย่าง (mg/เม็ด)	50	50
	ปริมาณที่ตรวจวัดได้ (mg/เม็ด)	45.00	50.01
	เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%)	90.00	100.02

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนในการวิจัยนี้ได้มาจากการสังเคราะห์ด้วยวิธี CVD แบบลดความร้อนที่ความดันต่ำ ผลจาก Raman spectroscopy ยืนยันได้ว่าผลึกของฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเป็นผลึกของฟิล์มบางเพชรที่แท้จริงเพราะมีตำแหน่ง Raman spectrum ขึ้นที่ 1332 cm^{-1} นั่นคือตำแหน่ง Spectrum ของคาร์บอนที่มีการไฮบริดแบบ sp^3 และมีแถบของ Raman spectrum ขึ้นที่ตำแหน่ง 1500 cm^{-1} เป็นผลเนื่องจากการไฮบริดของคาร์บอนเป็นแบบ sp^2 (กราไฟต์) พบว่าเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย ผลจากการเลือกขั้วไฟฟ้าทำงานของฟิล์มบางเพชรที่มีปริมาณการเจือโบรอนต่าง ๆ ระหว่าง 10, 100 และ 1000 ppm ของ B/C จะได้เป็น 1000 ppm ของ B/C เพราะจะให้กระแสโวลแทมโมแกรมของ $K_3(Fe(CN)_6)$ สูงสุด และที่ 10 ppm ของ B/C ไม่ปรากฏปิกเป็นเพราะปริมาณการเจือโบรอนน้อยเกินไปทำให้การส่งผ่านของอิเล็กตรอนไม่เพียงพอต่อการเกิดปิก ผลที่ได้จากการวิเคราะห์จะนำมาเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ในสถานะเดียวกัน

ช่วงของศักย์ไฟฟ้าใช้งานของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ จะมีช่วงกว้างกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์อยู่ประมาณ 0.5 ถึง 1 V สถานะที่เหมาะสมของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์สำหรับการวิเคราะห์ไรโบฟลาวินและ FMN ใช้ $0.05\text{ M H}_2\text{SO}_4$ และ $0.1\text{ M H}_2\text{SO}_4$ เป็นอิเล็กโทรไลต์ช่วยตามลำดับ ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้สำหรับเทคนิคแอมเปอโรเมทรี -0.15 V และ -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง $Ag/AgCl$ ตามลำดับ อัตราการกวนสารละลายสำหรับเทคนิคแอมเปอโรเมทรีเป็น 3000 rpm อัตราสแกนที่ใช้ 0.1 V/s (สำหรับเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี) มีขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าช่วย

จากการวิจัยโดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C พบว่ารากที่สองของอัตราการสแกน (0.01 ถึง 1 Vs^{-1}) จะเป็นสัดส่วนกันกับกระแสที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ $50\text{ }\mu\text{M}$ ไรโบฟลาวินและ FMN แสดงให้เห็นว่ากระแสที่เกิดปฏิกิริยานั้นควบคุมโดยกระบวนการแพร่ สำหรับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์นั้นพบว่าเมื่อพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสแกนกับกระแสที่ได้จะได้อกราฟที่เป็นเส้นตรง แสดงให้เห็นว่าที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้ากราไฟต์มีการดูดซับโมเลกุลของสารที่วิเคราะห์ที่บริเวณพื้นผิวของ

ขั้วไฟฟ้า เพราะที่บริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าประกอบด้วยคาร์บอนที่มีการไฮบริดเป็นแบบ sp^2 จะเกิดพันธะกับออกซิเจน หรือเรียกได้ว่าที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้านั้นมีขั้วจึงดูดซับ โมเลกุลที่มีขั้ว สัดส่วน S/b ของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C ที่ได้จากเทคนิคแอมเปอโรเมทรีจะสูงกว่าขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ประมาณ 7-10 เท่า นั้นเป็นเพราะว่าในขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนมีคุณสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำชนิดพี ดังนั้นเมื่อมีพลังงานเข้าไปกระตุ้นเพียงพอ จะทำให้เกิดโฮลอยู่บริเวณของแถบวาเลนซ์ ทำให้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเกิดโฮลตรงบริเวณใกล้เคียงกับ Fermi level ทำให้มีไอออนของอิเล็กโทรไลต์ช่วยที่จะมาดุลประจุสะสมที่บริเวณผิวของขั้วไฟฟ้าทำให้มีกระแสพื้นต่ำ ส่งผลให้สัดส่วนของ S/b นั้นสูง จากการตรวจวัดโดยเทคนิคแอมเปอโรเมทรีจะได้ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของไรโบฟลาวินจะอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 274 μM (ขีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 0.1200 μM ; $R^2 = 0.9996$) และอยู่ในช่วง 3 ถึง 224 μM (ขีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 1.2162 μM ; $R^2 = 0.9973$) เมื่อใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และ ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ตามลำดับ สำหรับใน FMN ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงจะอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 1904 μM (ขีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 0.1364 μM ; $R^2 = 0.9991$) และ อยู่ในช่วง 3 ถึง 1568 μM (ขีดจำกัดในการตรวจวัดเป็น 2.9571 μM ; $R^2 = 0.9984$) เมื่อใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ปริมาณการเจือโบรอนของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรของการวิจัยนี้สูงสุดที่ 1000 ppm ของ B/C ถ้ามีปริมาณการเจือโบรอนสูงกว่า 1000 ppm ผู้วิจัยคาดว่าสัญญาณกระแสที่ได้อาจจะดีกว่านี้ จะเห็นได้จากผลการทดลองในหัวข้อเรื่องการเลือกขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนที่ดีที่สุด โดยเปรียบเทียบสัญญาณจากสารละลาย $K_3(Fe(CN)_6)$ พบว่าเมื่อมีปริมาณการเจือโบรอนเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณของกระแสเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นในจุดนี้จึงเป็นแนวทางในการพัฒนาสร้างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรต่อไป

บรรณานุกรม

- สมทรง เลขะกุล. 2542. *ชีวเคมีของวิตามิน*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ ฯ : ศุภวานิชการพิมพ์. หน้า 153-163.
- อาทิตย์ตรา ชมิดท์. 2537. *ชีวเคมี*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ ฯ : เค.ยู.เพลส์. หน้า 118-121.
- เอกราช รัตนอุดมพิสุทธ์ และคณะ. 2540. “การสังเคราะห์ฟิล์มเพชรบน Si ด้วยวิธี CVD แบบลดความร้อนโดยใช้ C_2H_5OH .” หน้า 495-500. ใน การประชุมวิชาการทางวิศวกรรมไฟฟ้า ครั้งที่ 20. กรุงเทพฯ ฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- เอกราช รัตนอุดมพิสุทธ์. 2545. “ทรานสดิวเซอร์ความดันชนิดเพชรแบบเบี่ยงไซรีซีฟที่ปบบนฟิล์มบางเพชร.” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมไฟฟ้า บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 30-59.
- Alehashem, S., Chambers, F., Strojek, J.W. and Swain, G.M. 1995. “Cyclic Voltammetric Studies of Charge Transfer Reactions at Highly Boron-Doped Polycrystalline Diamond Thin-Film Electrodes.” *Anal. Chem.* 67 : 2812-2821.
- Ashfold, M.N.R., May, P.W. and Rego, C.A. 1994. “Thin Film Diamond by Chemical Vapour Deposition Methods.” *Chem. Soc. Rev.* 21-30.
- Bachmann, P.K. and Messier, R. 1989. “Emerging Technology of Diamond Thin Films.” *E&EN*. May, 15 : 24-39.
- Barna, E. and Dworschak, E. 1994 “Determination of Thiamin (Vitamin B₁) and Riboflavin (Vitamin B₂) in Meat and Liver by High-Performance Liquid Chromatography.” *J. Chromatogr. A.* 668 : 359-363.
- Bouamrane, F. 1996. “Electrochemical Study of Diamond Thin Films in Neutral and Basic Solutions of Nitrate.” *J. Electroanal. Chem.* 405 : 95-99.
- Davis, R.F. 1993. **Diamond Films and Coatings**. United States : Noyes. pp. 382-386.
- Eggins, B.R. 1996. **Biosensors: an Introduction**. England : John Wiley & Sons. pp. 51-86.
- Fujishima, A., Rao T. N., Popa E., Sarada B. V., Yagi I. and Tryk D.A. 1999. “Electroanalysis of Dopamine and NADH at Conductive Diamond Electrodes.” *J. Electroanal. Chem.* 473 : 179-185.
- Gosser, David K. 1994. **Cyclic Voltammetry Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms**. New York : VCH. pp. 27-69.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Granger, M.C., Witek, M., Xu, J., Wang, J., Hupert, M., Hanks, A., Koppang, M.D., Butler, J.E.,
Lucazeau, G., Mermoux, M., Strojek, W. and Swain, G.M. 2000. "Standard
Electrochemical Behavior of High-Quality, Boron-Doped Polycrystalline Diamond
Thin-Film Electrodes." **Anal. Chem.** 72 : 3793-3804.
- Greenway, G.M. and Kometa, N. 1994. "On-line Sample Preparation for the Determination of
Riboflavin and Flavin Mononucleotides in Foodstuffs." **Analyst.** 119 : 929-935.
- Liu, X., Zhu, Y., Cheng, G. and Dong, S. 2001. "Circular Dichroism Spectroelectrochemical and
Voltammetric Studies of Vitamin B₂." **Electroanalysis.** 13(13) : 1071-1075.
- Machlin, L.J. 1991. **Handbook of Vitamin.** 2nd ed. New York : Marcel Dekker. pp. 283-310.
- Niemz, A. and Rotello, V.M. 1999. "From Enzyme to Molecular Device. Exploring the
Interdependence of Redox and Molecular Recognition." **Acc. Chem. Res.** 32 : 44-52.
- Perez-Ruiz, T., Martinez-Lozano, C., Tommas, V. and Val, O. 1994. "Photochemical
Spectrophotometric Determination of Riboflavin and Riboflavin 5' - Phosphate by
Manual and Flow Injection Methods." **Analyst.** 119 : 1199-1203.
- Ramesham, R. and Rose, M.F. 1997. "Kinetic Studies of Hydroquinone/quinone at the Boron
Doped Diamond Electrode by Cyclic Voltammetry." **J. Mater. Sci. Lett.** 16 : 1693-
1699.
- Rao, T.N., Yagi, I., Miwa, T., Tryk, D.A. and Fujishima, A. 1999. "Electrochemical Oxidation
of NADH at Highly Boron-Doped Diamond Electrodes." **Anal. Chem.** 71 : 2506-2511.
- Sarada, B.V., Fujishima, A., Tryk, D.A. and Rao T.N. 1999. "Electrochemical Detection of
Serotonin Using Conductive Diamond Electrodes." **Chem. Lett.** July, 29 : 1213-1214.
- Sarada, B.V., Fujishima, A., Sarada, B.V., Tryk, D.A. and Rao, T.N. 2000. "Electrochemical
Oxidation of Histamine and Serotonin at Highly Boron-Doped Diamond Electrodes"
Anal. Chem. 72 : 1632-1638.
- Saterlay, A.J., Foord, J.S. and Compton, R.G. 2001. "An Ultrasonically Facilitated Boron-
Doped Diamond Voltammetry Sensor for Analysis of the Priority Pollutant 4-
Chlorophenol." **Electroanalysis.** 13(13) : 1065-1070.

บรรณานุกรม (ต่อ)

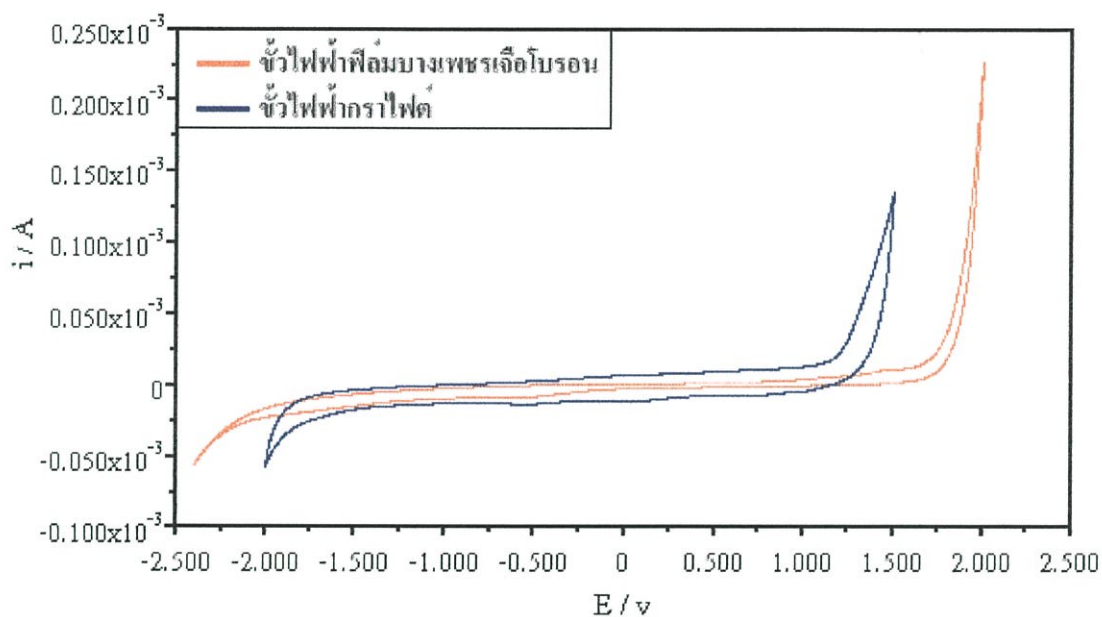
- Settle, F.A. 1997, **Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry**. New Jersey, Trentice Hall. p. 710.
- Spataru, N., Fujishima, A., Arada, B.V., Tryk, D.A. and Popa, E. 2001. "Voltammetric Determination of L-Cysteine at Conductive Diamond Electrodes." **Anal. Chem.** 73 : 514-519.
- Strojek, J.W., Granger, M.C. and Swain, G.M. 1996. "Enhanced Signal-to-Background Ratios in Voltammetric Measurements Made at Diamond Thin-Film Electrochemical Interfaces." **Anal. Chem.** 68 : 2031-2037.
- Zhu, W., Stoner, B.S., Williams, B.E. and Glass, J. 1991. "Growth and Characterization of Diamond Films on Nondiamond Substrates for Electronic Applications" **Proceedings of the IEEE.** 79 : 621-646.
- Wang, J., Luo, Den-B., Farias, P. A.M. and Mahmoud, J.S. 1985. "Adsorptive Stripping Voltammetry of Riboflavin and Other Flavin Analogues at the Static Mercury Drop Electrode." **Anal. Chem.** 57 : 158-162.
- Wang, J. 2000. **Analytical Electrochemistry**. 2nd Ed. New York : WILEY-VCH. pp. 1-139.
- Wu, Z., Fujishima, A., Tryk, D.A., Hashimoto, K. and Yano, T. 1998. "Observation of Electrochemical C₆₀ Reduction of a Diamond Thin Film Electrode at Room Temperature." **Chem. Lett.** February, 26 : 503-504.
- Xu, J. and Swain, G.M. 1998. "Oxidation of Azide Anion at Boron-Doped Diamond Thin-Film Electrodes." **Anal. Chem.** 70 : 1502-1510.
- Xu, J., Chen, Q. and Swain, G.M. 1998. "Anthraquinonedisulfonate Electrochemistry: A Comparison of Glassy Carbon, Hydrogenated Glassy Carbon, Highly Oriented Pyrolytic Graphite, and Diamond Electrodes." **Anal. Chem.** 70 : 3146-3154.

ภาคผนวก ก.

ผลการทดลอง

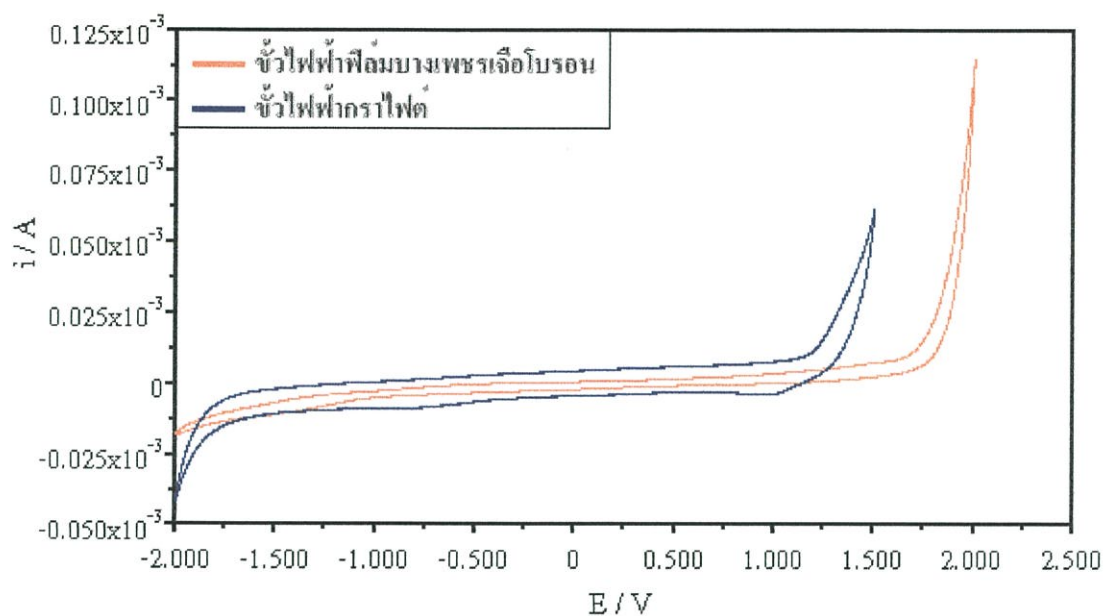
ก.1 เปรียบเทียบช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ระหว่างขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C กับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

ก.1.1 สารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M KCl



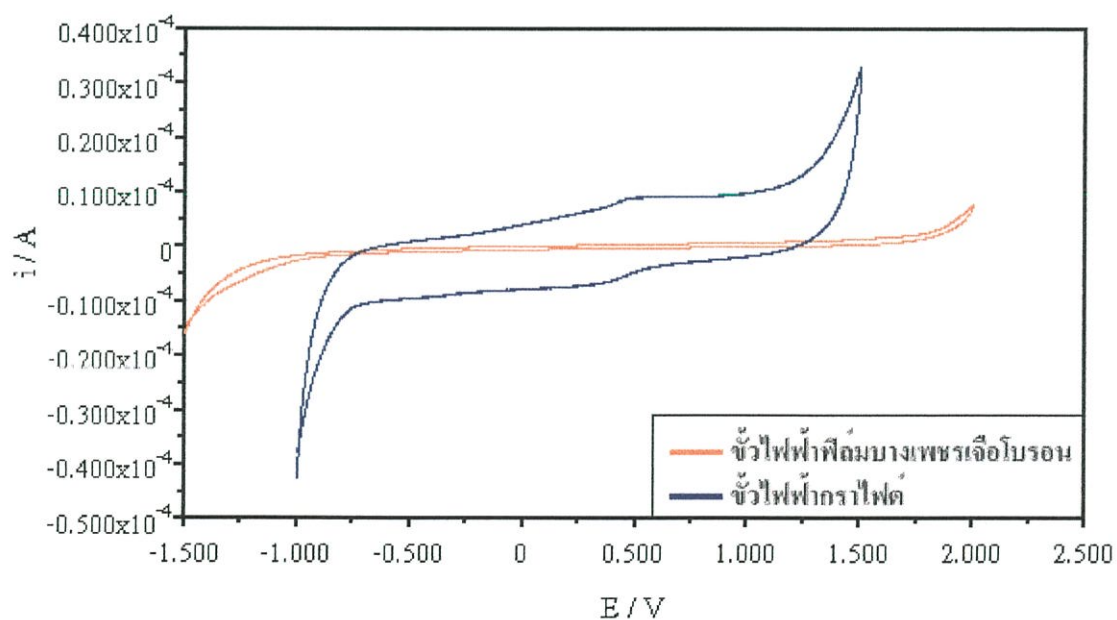
รูปที่ ก.1 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M KCl ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm² ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ก.1.2 สารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M NaCl



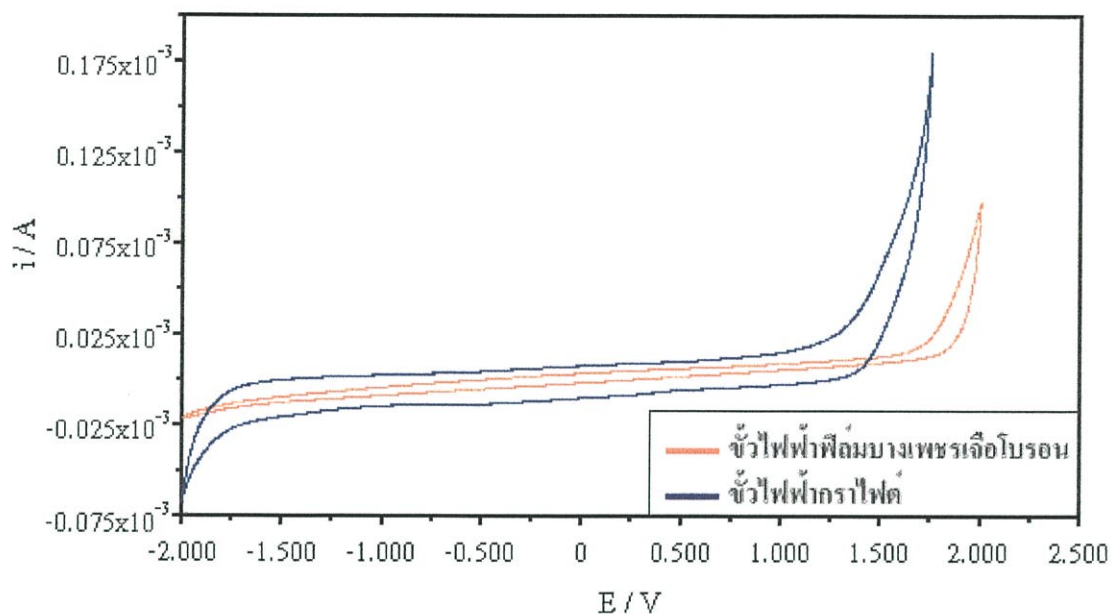
รูปที่ ก.2 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M NaCl ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิว หน้า 9 และ 3.465 mm² ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ก.1.3 สารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M H₂SO₄



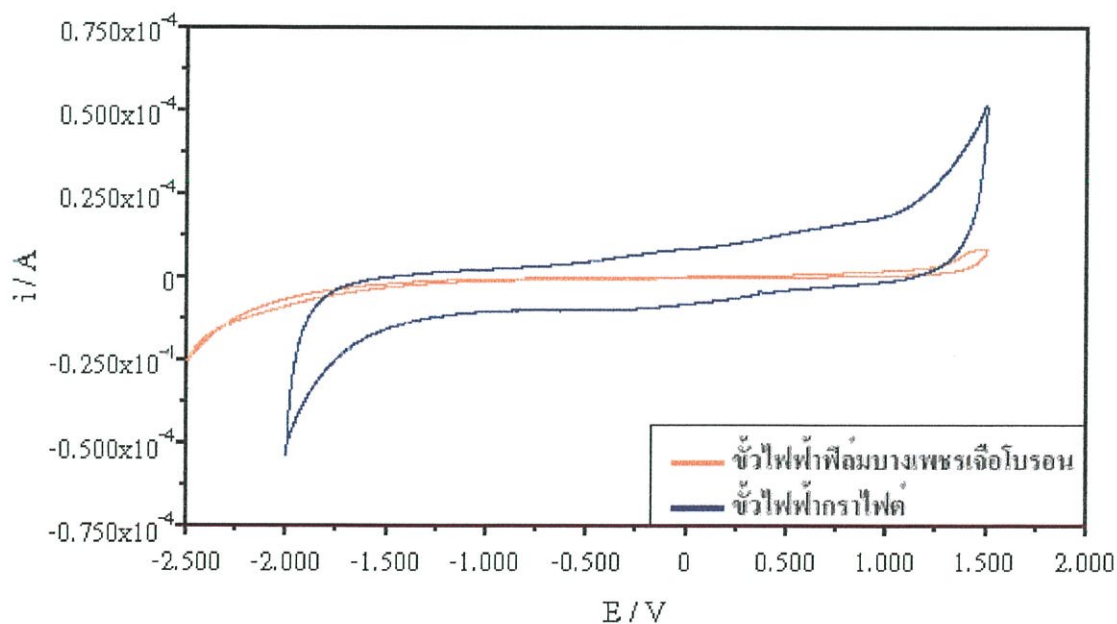
รูปที่ ก.3 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M H₂SO₄ ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิว หน้า 9 และ 3.465 mm² ตามลำดับ) เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ก.1.4 สารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M K_2SO_4



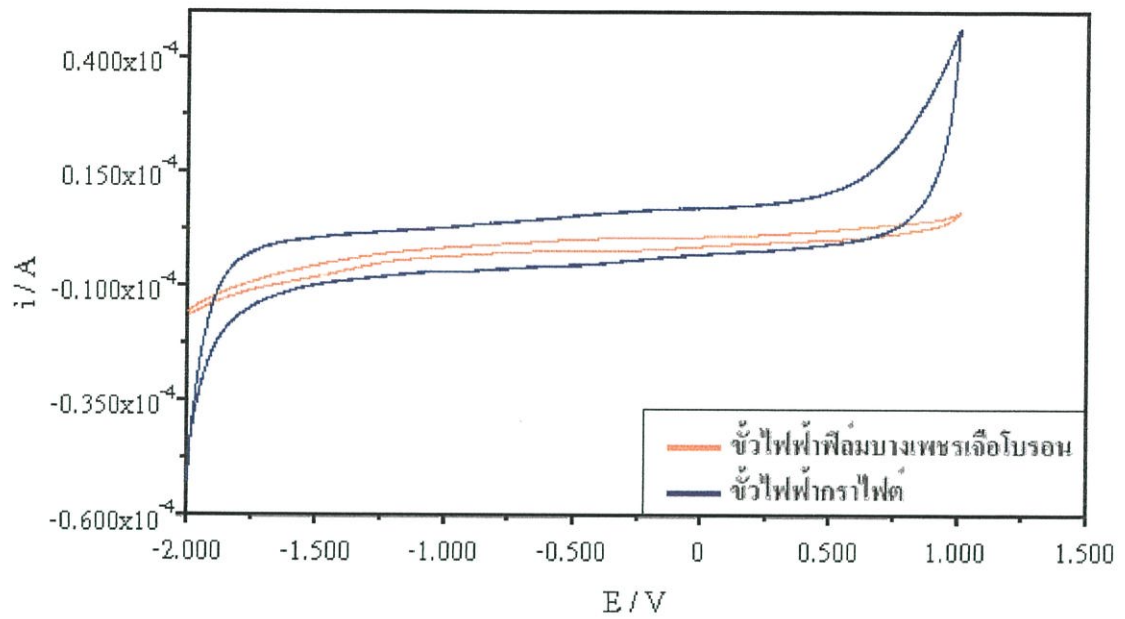
รูปที่ ก.4 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M K_2SO_4 ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm^2 ตามลำดับ) เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ก.1.5 สารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M Na_2SO_4



รูปที่ ก.5 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M Na_2SO_4 ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm^2 ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ก.1.6 สารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M NaOH



รูปที่ ก.6 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M NaOH ที่อัตราสแกน 0.1 V/s โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 9 และ 3.465 mm^2 ตามลำดับ) เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ก.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดไรโบฟลาวินและ FMN

ก.2.1 เลือกความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม

ก.2.1.1 สารละลาย 50 μM ไรโบฟลาวิน

ตารางที่ ก.1 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไรโบฟลาวินในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ความเข้มข้นของ H_2SO_4 (M)	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.001	-0.1297	0.1698	-0.1991	-0.1627
0.005	-0.1297	0.1659	-0.1917	-0.1623
0.010	-0.1181	0.1777	-0.1734	-0.1778
0.050	-0.0898	0.1859	-0.1414	-0.1932
0.100	-0.0748	0.1654	-0.1259	-0.1752
0.500	-0.0327	0.0929	-0.1017	-0.1286
1.000	-0.0157	0.0879	-0.1060	-0.1163

ตารางที่ ก.2 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM ไรโบฟลาวินในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ความเข้มข้นของ H_2SO_4 (M)	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.001	-0.0837	7.9885	-0.3088	-6.9689
0.005	-0.0542	9.7284	-0.2579	-10.9989
0.010	-0.0650	14.5500	-0.2042	-14.8099
0.050	-0.0664	16.7671	-0.1339	-15.7235
0.100	-0.0600	15.7291	-0.1104	-14.2362
0.500	-0.0320	12.1760	-0.0723	-11.8384
1.000	-0.0220	10.4430	-0.0537	-9.5931

ก. 2.1.2 สารละลาย 50 μM FMN

ตารางที่ ก.3 ผลของค่าแรงศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ความเข้มข้นของ H_2SO_4 (M)	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.001	-0.1245	0.0980	-0.3403	-0.0924
0.005	-0.1243	0.1620	-0.1998	-0.1553
0.010	-0.1107	0.1715	-0.1830	-0.1761
0.050	-0.0864	0.1903	-0.1400	-0.2000
0.100	-0.0724	0.1960	-0.1262	-0.2090
0.500	-0.0310	0.1258	-0.1007	-0.1494
1.000	-0.0127	0.1159	-0.1040	-0.1334

ตารางที่ ก.4 ผลของค่าแรงศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ FMN ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ความเข้มข้นของ H_2SO_4 (M)	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.001	0.0530	5.0289	-0.5115	-4.8846
0.005	-0.0408	10.9473	-0.2805	-12.9784
0.010	-0.0555	19.1047	-0.2188	-19.1209
0.050	-0.0616	22.9587	-0.1396	-21.6240
0.100	-0.0566	24.5651	-0.1144	-22.9224
0.500	-0.0320	20.4296	-0.0700	-19.0082
1.000	-0.0223	9.6611	-0.0570	-8.6907

ก.2.2 อัตราการสแกนที่เหมาะสม

ก.2.2.1 สารละลาย 50 μM โรโบฟลาวิน ใน 0.05 M H_2SO_4

ตารางที่ ก.5 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ กัน โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

อัตราการสแกน (V/s)	(อัตราการสแกน) ^{1/2} (V/s) ^{1/2}	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
		ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.01	0.1000	-0.0900	0.0624	-0.1370	-0.0700
0.05	0.2236	-0.0910	0.1339	-0.1350	-0.1403
0.10	0.3162	-0.0900	0.1839	-0.1370	-0.1963
0.20	0.4472	-0.0880	0.2579	-0.1370	-0.2708
0.30	0.5477	-0.0860	0.3131	-0.1360	-0.3270
0.40	0.6325	-0.0830	0.3572	-0.1360	-0.3737
0.50	0.7071	-0.0830	0.4030	-0.1370	-0.4134
0.60	0.7746	-0.0820	0.4301	-0.1380	-0.4524
0.70	0.8367	-0.0810	0.4537	-0.1380	-0.4794
0.80	0.8944	-0.0810	0.4880	-0.1400	-0.5054
0.90	0.9487	-0.0810	0.5248	-0.1400	-0.5421
1.00	1.0000	-0.0800	0.5417	-0.1410	-0.5626

ตารางที่ ก.6 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ กัน โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

อัตราการสแกน (V/s)	(อัตราการสแกน) ^{1/2} (V/s) ^{1/2}	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
		ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.01	0.1000	-0.0800	0.6606	-0.1070	-0.6929
0.05	0.2236	-0.0760	5.9394	-0.1120	-5.9913
0.10	0.3162	-0.0700	13.1198	-0.1190	-12.7186
0.20	0.4472	-0.0610	23.9105	-0.1340	-23.1486
0.30	0.5477	-0.0550	32.6407	-0.1470	-31.6595
0.40	0.6325	-0.0450	46.2626	-0.1550	-45.3968
0.50	0.7071	-0.0370	57.9221	-0.1650	-58.8745
0.60	0.7746	-0.0260	69.4661	-0.1730	-72.8139
0.70	0.8367	-0.0180	81.9336	-0.1830	-87.0418
0.80	0.8944	-0.0090	95.9885	-0.1920	-103.6652
0.90	0.9487	-0.0020	106.8687	-0.2010	-116.6522
1.00	1.0000	0.0050	118.5859	-0.2100	-128.2251

ก.2.2.2 สารละลาย 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4

ตารางที่ ก.7 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

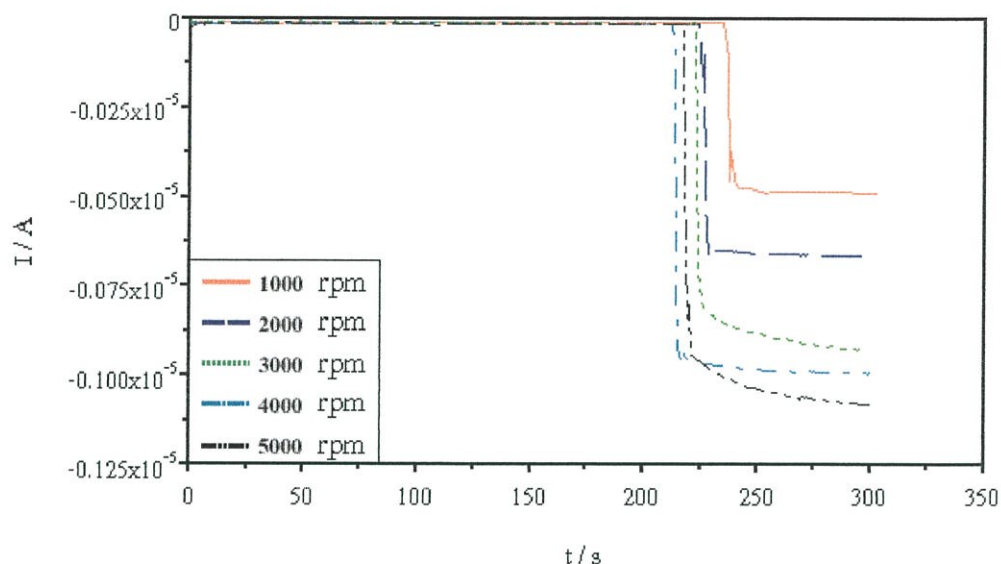
อัตราการสแกน (V/s)	(อัตราการสแกน) ^{1/2} (V/s) ^{1/2}	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
		ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.01	0.1000	-0.0700	0.0786	-0.1240	-0.0914
0.05	0.2236	-0.0700	0.1669	-0.1200	-0.1803
0.10	0.3162	-0.0710	0.2335	-0.1230	-0.2454
0.20	0.4472	-0.0690	0.3244	-0.1200	-0.3462
0.30	0.5477	-0.0660	0.3996	-0.1230	-0.4258
0.40	0.6325	-0.0660	0.4516	-0.1230	-0.4791
0.50	0.7071	-0.0650	0.5028	-0.1210	-0.5145
0.60	0.7746	-0.0660	0.5348	-0.1230	-0.5778
0.70	0.8367	-0.0660	0.5749	-0.1250	-0.6178
0.80	0.8944	-0.0650	0.6258	-0.1240	-0.6532
0.90	0.9487	-0.0660	0.6533	-0.1250	-0.6821
1.00	1.0000	-0.0650	0.6689	-0.1250	-0.7196

ตารางที่ ก.8 ผลของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ที่อัตราการสแกนต่าง ๆ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

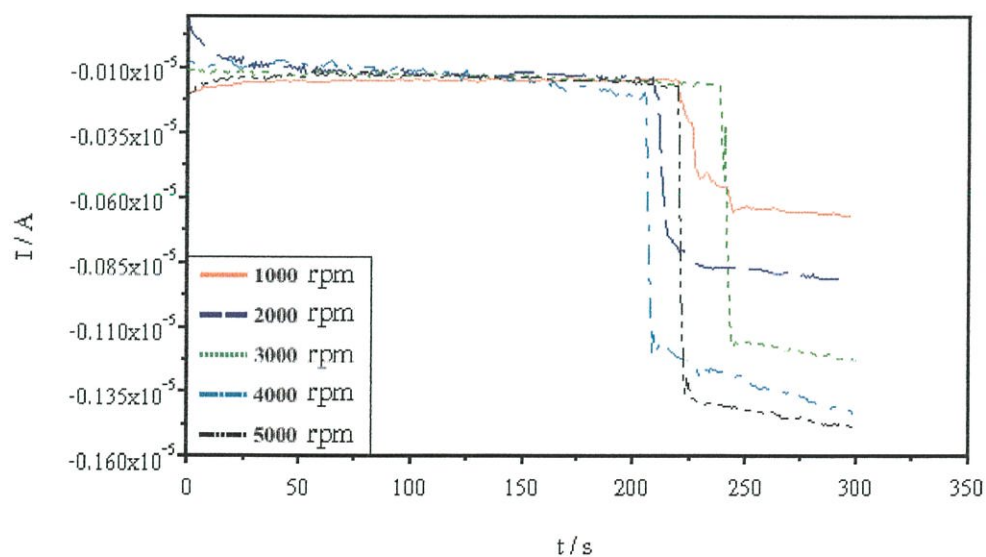
อัตราการสแกน (V/s)	(อัตราการสแกน) ^{1/2} (V/s) ^{1/2}	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
		ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.01	0.1000	-0.0560	0.9648	-0.0940	-0.8834
0.05	0.2236	-0.0610	6.4444	-0.1020	-5.9452
0.10	0.3162	-0.0610	13.8874	-0.1070	-13.8961
0.20	0.4472	-0.0590	21.2294	-0.1170	-22.5859
0.30	0.5477	-0.0480	33.2468	-0.1180	-35.9019
0.40	0.6325	-0.0430	54.0548	-0.1350	-56.9986
0.50	0.7071	-0.0360	65.1082	-0.1350	-68.1674
0.60	0.7746	-0.0390	75.5844	-0.1410	-75.5844
0.70	0.8367	-0.0290	99.5960	-0.1520	-107.4747
0.80	0.8944	-0.0230	120.0866	-0.1580	-128.4560
0.90	0.9487	-0.0140	140.1443	-0.1640	-150.9380
1.00	1.0000	-0.0140	166.0895	-0.1730	-177.4892

ก.2.3 อัตราการกวนที่เหมาะสม

ก.2.3.1 สารละลาย โรโบฟลาวินความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.05 M H_2SO_4

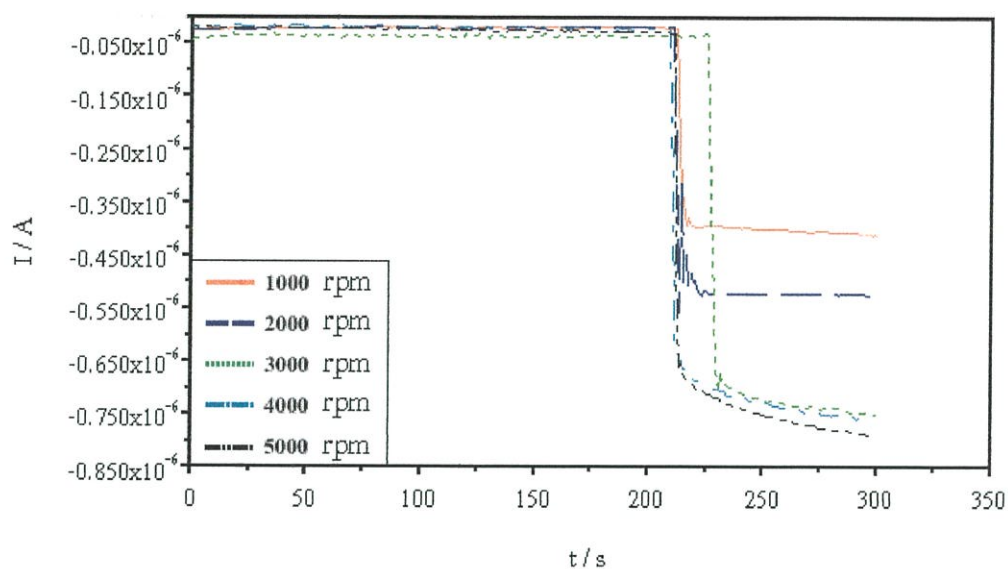


รูปที่ ก.7 กระแสปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของโรโบฟลาวินความเข้มข้นสุทธิ $50 \mu\text{M}$ ใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปโรเมทรี ที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ กัน และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2)

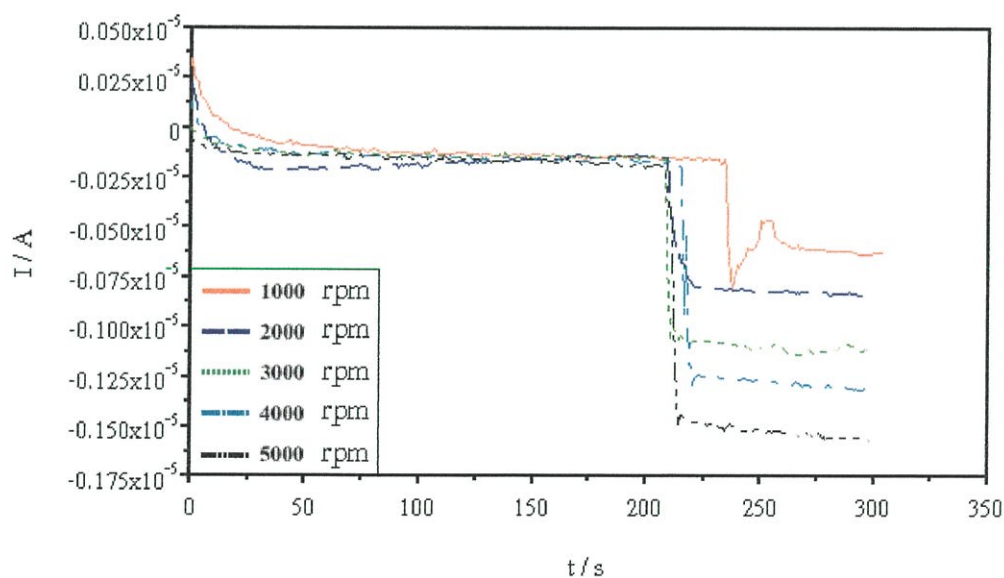


รูปที่ ก.8 กระแสปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของโรโบฟลาวินความเข้มข้นสุทธิ $50 \mu\text{M}$ ใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลายต่าง ๆ กัน และใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2)

ก.2.3.2 สารละลาย FMN ความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.1 M H_2SO_4



รูปที่ ก.9 กระแสปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ FMN ความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตรา การกวนสารละลายต่าง ๆ และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm^2)



รูปที่ ก.10 กระแสปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของ FMN ความเข้มข้นสุทธิ 50 μM ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรี ที่อัตรา การกวนสารละลายต่าง ๆ และใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm^2)

ก.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C กับขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์

ก.3.1 เสถียรภาพ

ตารางที่ ก.9 ค่าของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้ากับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์)

เวลา (สัปดาห์)	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1	-0.0840	0.1901	-0.1410	-0.1876
2	-0.0910	0.1887	-0.1410	-0.1914
3	-0.0930	0.1721	-0.1380	-0.1726
4	-0.0940	0.1724	-0.1410	-0.1743
5	-0.0870	0.1926	-0.1420	-0.1993
6	-0.0870	0.1780	-0.1420	-0.1868
7	-0.0860	0.1849	-0.1420	-0.1941
8	-0.0900	0.1915	-0.1420	-0.1940
9	-0.0900	0.1875	-0.1430	-0.1948
10	-0.0900	0.1897	-0.1430	-0.2015
11	-0.0930	0.1881	-0.1410	-0.1961
12	-0.0930	0.1948	-0.1410	-0.2000

ตารางที่ ก.10 ค่าของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้ากับความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM โรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์)

เวลา (สัปดาห์)	ปฏิริยาออกซิเดชัน		ปฏิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1	-0.0670	21.0505	-0.1300	-17.9885
2	-0.0680	21.7085	-0.1310	-19.1659
3	-0.0650	20.2479	-0.1400	-17.7905
4	-0.0670	21.4430	-0.1440	-18.7365
5	-0.0660	21.9587	-0.1330	-20.8000
6	-0.0520	22.5633	-0.1410	-21.4194
7	-0.0530	24.0404	-0.1450	-22.2248
8	-0.0530	22.3405	-0.1460	-22.1126
9	-0.0760	21.3665	-0.1230	-17.3371
10	-0.0780	22.0306	-0.1240	-18.3088
11	-0.0790	22.4768	-0.1280	-18.4889
12	-0.0730	19.8476	-0.1220	-17.6000

ตารางที่ ก.11 ค่าของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้ากับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์)

เวลา (สัปดาห์)	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1	-0.0660	0.1798	-0.1230	-0.2027
2	-0.0790	0.2162	-0.1310	-0.2213
3	-0.0770	0.2146	-0.1290	-0.2260
4	-0.0700	0.1878	-0.1240	-0.2040
5	-0.0700	0.1882	-0.1240	-0.1922
6	-0.0690	0.2037	-0.1270	-0.2122
7	-0.0690	0.2003	-0.1260	-0.2146
8	-0.0750	0.2164	-0.1290	-0.2251
9	-0.0740	0.2263	-0.1300	-0.2403
10	-0.0750	0.2281	-0.1290	-0.2413
11	-0.0740	0.2272	-0.1300	-0.2404
12	-0.0760	0.2251	-0.1270	-0.2348

ตารางที่ ก.12 ค่าของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้ากับความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่ได้จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl (ตรวจวัดทุก ๆ สัปดาห์)

เวลา (สัปดาห์)	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1	-0.0530	25.9221	-0.1110	-23.8903
2	-0.0630	25.1775	-0.1200	-22.8802
3	-0.0620	24.5887	-0.1160	-22.3232
4	-0.0570	24.4205	-0.1080	-21.1752
5	-0.0480	25.7746	-0.1170	-23.9486
6	-0.0500	26.8225	-0.1130	-24.4791
7	-0.0510	23.0563	-0.1110	-22.1760
8	-0.0510	24.9610	-0.1140	-22.3838
9	-0.0580	24.0762	-0.1010	-22.2984
10	-0.0630	21.9631	-0.1080	-18.1325
11	-0.0620	20.9351	-0.1090	-18.9354
12	-0.0630	20.4727	-0.1090	-19.4747

ก.3.2 การวัดซ้ำ (Reproducibility)

ตารางที่ ก.13 ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันแลรีดักชัน $50 \mu\text{M}$ ไรโบฟลาวินใน $0.05 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ ตรวจวัดซ้ำจำนวน 30 ครั้งในสารละลายเดียวกันด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ครั้งที่	ปฏิริยาออกซิเดชัน		ปฏิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแสของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแสของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1	-0.0880	0.1791	-0.1380	-0.1831
2	-0.0900	0.1815	-0.1380	-0.1875
3	-0.0870	0.1729	-0.1350	-0.1818
4	-0.0870	0.1754	-0.1350	-0.1833
5	-0.0860	0.1756	-0.1350	-0.1848
6	-0.0870	0.1759	-0.1350	-0.1804
7	-0.0870	0.1767	-0.1350	-0.1853
8	-0.0880	0.1790	-0.1350	-0.1877
9	-0.0880	0.1833	-0.1350	-0.1911
10	-0.0880	0.1824	-0.1350	-0.1932
11	-0.0880	0.1799	-0.1350	-0.1903
12	-0.0870	0.1702	-0.1360	-0.1784
13	-0.0880	0.1757	-0.1350	-0.1898
14	-0.0870	0.1819	-0.1350	-0.1876
15	-0.0880	0.1812	-0.1350	-0.1910
16	-0.0880	0.1800	-0.1350	-0.1924
17	-0.0880	0.1830	-0.1350	-0.1938
18	-0.0880	0.1828	-0.1350	-0.1927
19	-0.0880	0.1867	-0.1350	-0.1975
20	-0.0880	0.1836	-0.1350	-0.1965
21	-0.0880	0.1756	-0.1350	-0.1804

ตารางที่ ก.13 (ต่อ)

ครั้งที่	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
22	-0.0870	0.1898	-0.1350	-0.1907
23	-0.0880	0.1824	-0.1360	-0.1877
24	-0.0870	0.1824	-0.1350	-0.1911
25	-0.0860	0.1764	-0.1350	-0.1844
26	-0.0880	0.1791	-0.1350	-0.1814
27	-0.0870	0.1774	-0.1350	-0.1864
28	-0.0880	0.1828	-0.1350	-0.1774
29	-0.0880	0.1794	-0.1350	-0.1876
30	-0.0880	0.1827	-0.1350	-0.1919

ตารางที่ ก.14 ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ $50 \mu\text{M}$ ไรบิโพลาวินใน $0.05 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ ตรวจสอบซ้ำจำนวน 30 ครั้ง ในสารละลายเดียวกัน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ครั้งที่	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1	-0.0750	20.4970	-0.1140	-20.1303
2	-0.0740	20.4444	-0.1150	-19.8919
3	-0.0750	19.2219	-0.1130	-18.9887
4	-0.0750	21.8182	-0.1140	-21.1919
5	-0.0750	19.8707	-0.1150	-19.8758
6	-0.0750	18.6677	-0.1150	-17.6455
7	-0.0750	18.3134	-0.1190	-17.2121

ตารางที่ ก.14 (ต่อ)

ครั้งที่	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของ กระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
8	-0.0750	17.9013	-0.1170	-17.0644
9	-0.0750	17.8990	-0.1170	-17.0121
10	-0.0750	14.0061	-0.1120	-13.9354
11	-0.0750	14.6899	-0.1140	-14.8394
12	-0.0750	16.3990	-0.1150	-15.8101
13	-0.0750	16.9737	-0.1140	-16.9758
14	-0.0750	18.1768	-0.1160	-17.5354
15	-0.0750	18.2475	-0.1170	-18.2434
16	-0.0750	19.2242	-0.1170	-19.3556
17	-0.0740	19.9303	-0.1170	-18.9222
18	-0.0750	18.9879	-0.1170	-19.5717
19	-0.0740	20.3636	-0.1170	-19.3081
20	-0.0740	18.7737	-0.1170	-20.1909
21	-0.0740	21.1313	-0.1170	-20.7677
22	-0.0750	16.6626	-0.1140	-20.4029
23	-0.0740	19.1717	-0.1160	-19.7535
24	-0.0740	17.2975	-0.1130	-18.9322
25	-0.0740	17.5423	-0.1140	-22.0029
26	-0.0750	18.8006	-0.1190	-19.7610
27	-0.0750	19.8747	-0.1160	-19.5879
28	-0.0740	17.9475	-0.1190	-20.0182
29	-0.0760	20.4242	-0.1140	-19.2101
30	-0.0760	19.4343	-0.1160	-18.1576

ตารางที่ ก.15 ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ 50 μM FMN ใน 0.1 M H_2SO_4 ตรวจวัดซ้ำจำนวน 30 ครั้งในสารละลายเดียวกัน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

ครั้งที่	ปฏิริยาออกซิเดชัน		ปฏิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแสของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่นของกระแสของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1	-0.0760	0.2249	-0.1270	-0.2348
2	-0.0740	0.2241	-0.1240	-0.2360
3	-0.0740	0.2288	-0.1240	-0.2408
4	-0.0740	0.2437	-0.1260	-0.2534
5	-0.0740	0.2503	-0.1250	-0.2652
6	-0.0740	0.2393	-0.1250	-0.2527
7	-0.0720	0.2448	-0.1250	-0.2567
8	-0.0750	0.2274	-0.1260	-0.2339
9	-0.0740	0.2353	-0.1250	-0.2472
10	-0.0740	0.2253	-0.1250	-0.2390
11	-0.0720	0.2428	-0.1250	-0.2544
12	-0.0720	0.2442	-0.1250	-0.2619
13	-0.0740	0.2323	-0.1270	-0.2463
14	-0.0720	0.2444	-0.1240	-0.2573
15	-0.0720	0.2459	-0.1240	-0.2628
16	-0.0760	0.2265	-0.1270	-0.2364
17	-0.0720	0.2348	-0.1240	-0.2506
18	-0.0740	0.2385	-0.1260	-0.2436
19	-0.0720	0.2484	-0.1250	-0.2559
20	-0.0720	0.2268	-0.1240	-0.2540
21	-0.0720	0.2422	-0.1250	-0.2514
22	-0.0720	0.2426	-0.1240	-0.2586
23	-0.0750	0.2438	-0.1260	-0.2436

ตารางที่ ก.15 (ต่อ)

ครั้งที่	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
24	-0.0740	0.2364	-0.1250	-0.2359
25	-0.0740	0.2418	-0.1250	-0.2540
26	-0.0720	0.2251	-0.1250	-0.2559
27	-0.0720	0.2484	-0.1260	-0.2439
28	-0.0740	0.2389	-0.1250	-0.2324
29	-0.0720	0.2474	-0.1250	-0.2578
30	-0.0720	0.2309	-0.1250	-0.2498

ตารางที่ ก.16 ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าและความหนาแน่นของกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ $50 \mu\text{M}$ FMN ใน $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ ที่ทำการตรวจวัดซ้ำจำนวน 30 ครั้งในสารละลายเดียวกัน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl

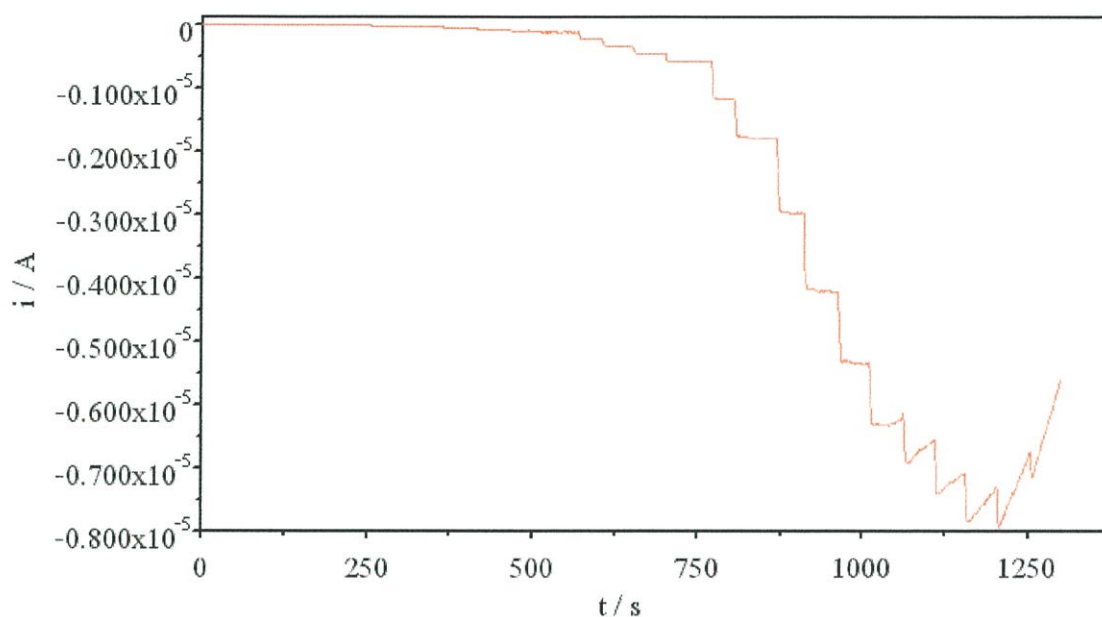
ครั้งที่	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
1	-0.0640	20.8254	-0.1110	-21.2872
2	-0.0640	21.9336	-0.1110	-22.4358
3	-0.0640	20.5714	-0.1110	-20.6638
4	-0.0620	23.3997	-0.1080	-22.3608
5	-0.0620	21.8317	-0.1070	-21.8517
6	-0.0620	21.5296	-0.1070	-20.8889
7	-0.0620	21.0095	-0.1070	-20.4063
8	-0.0590	24.2563	-0.1080	-23.2309
9	-0.0630	24.8312	-0.1080	-24.2531

ตารางที่ ก.16 (ต่อ)

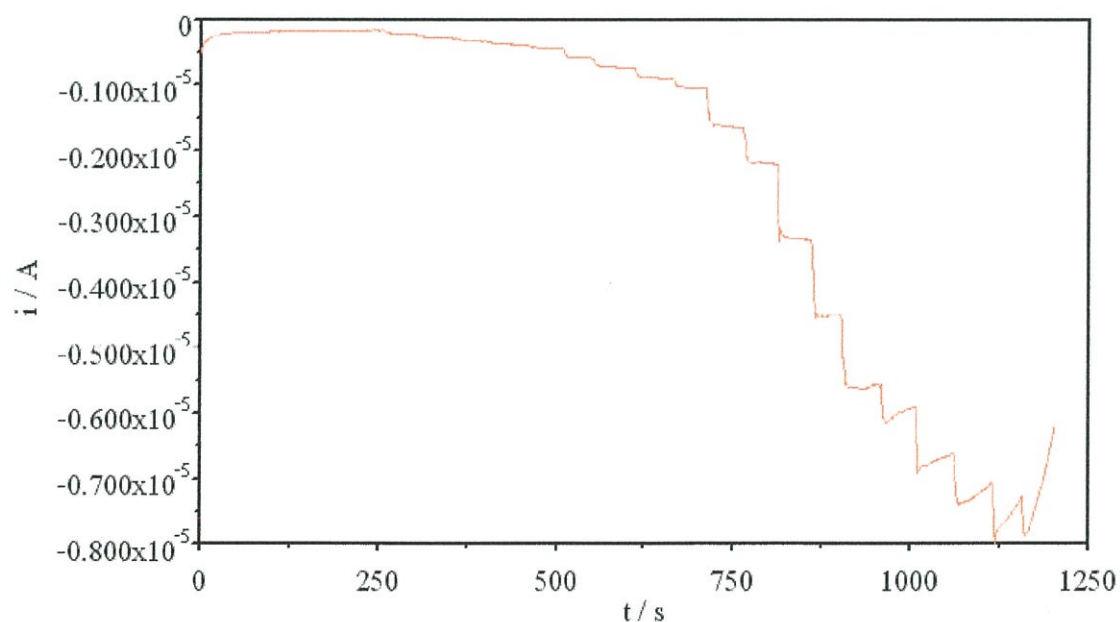
ครั้งที่	ปฏิกิริยาออกซิเดชัน		ปฏิกิริยารีดักชัน	
	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ศักย์ไฟฟ้า (V)	ความหนาแน่น ของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
10	-0.0640	25.5815	-0.1050	-21.1082
11	-0.0620	22.4473	-0.1050	-21.0505
12	-0.0640	23.7345	-0.1090	-23.7403
13	-0.0630	21.9492	-0.1090	-22.0508
14	-0.0630	20.7100	-0.1070	-21.5861
15	-0.0620	22.5512	-0.1070	-21.6104
16	-0.0620	23.2670	-0.1070	-22.7821
17	-0.0620	22.7201	-0.1070	-23.4704
18	-0.0620	20.6747	-0.1110	-22.9022
19	-0.0620	21.6508	-0.1110	-24.0750
20	-0.0670	19.3593	-0.1000	-23.2987
21	-0.0610	18.9264	-0.1030	-17.9625
22	-0.0590	17.3506	-0.1050	-18.9697
23	-0.0630	18.4753	-0.0950	-20.8225
24	-0.0650	18.0317	-0.1060	-17.9971
25	-0.0630	19.0938	-0.1070	-18.4069
26	-0.0610	19.4747	-0.1030	-20.1039
27	-0.0620	22.5512	-0.1070	-22.3030
28	-0.0630	24.3117	-0.1050	-20.4978
29	-0.0650	23.7345	-0.1090	-21.0043
30	-0.0610	19.9538	-0.1050	-18.6089

ก.3.3 ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

ก.3.3.1 ไรโบฟลาวิน ใน 0.05 M H₂SO₄



รูปที่ ก.11 การตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของไรโบฟลาวินใน 0.05 M H₂SO₄ ที่ -0.15 V เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรี ที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm²)

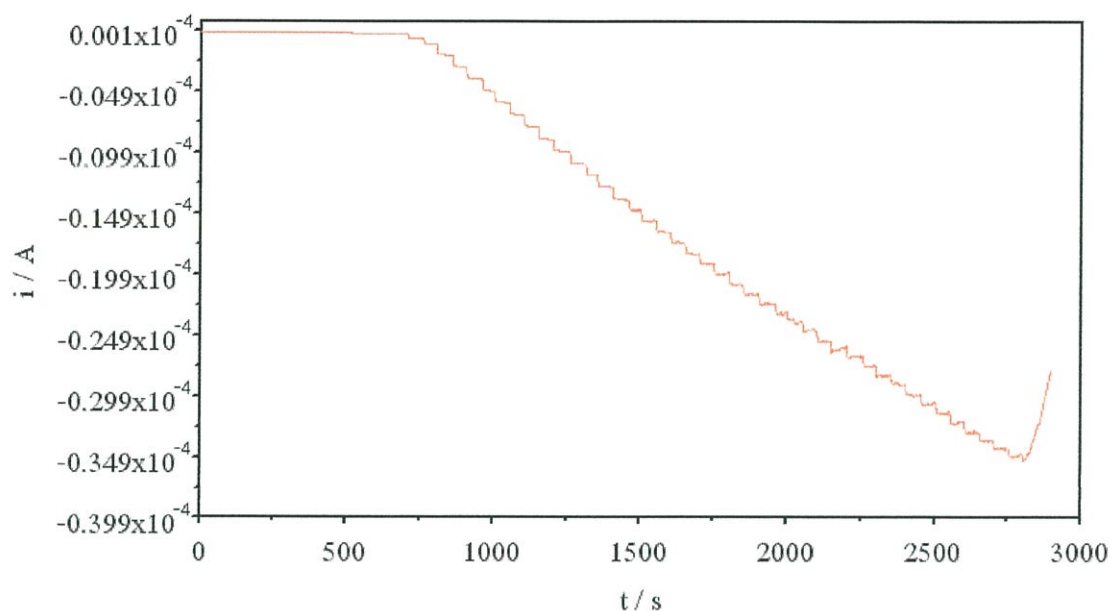


รูปที่ ก. 12 การตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของไรโบฟลาวินใน 0.05 M H₂SO₄ ที่ -0.15 V เทียบกับ ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรี ที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm²)

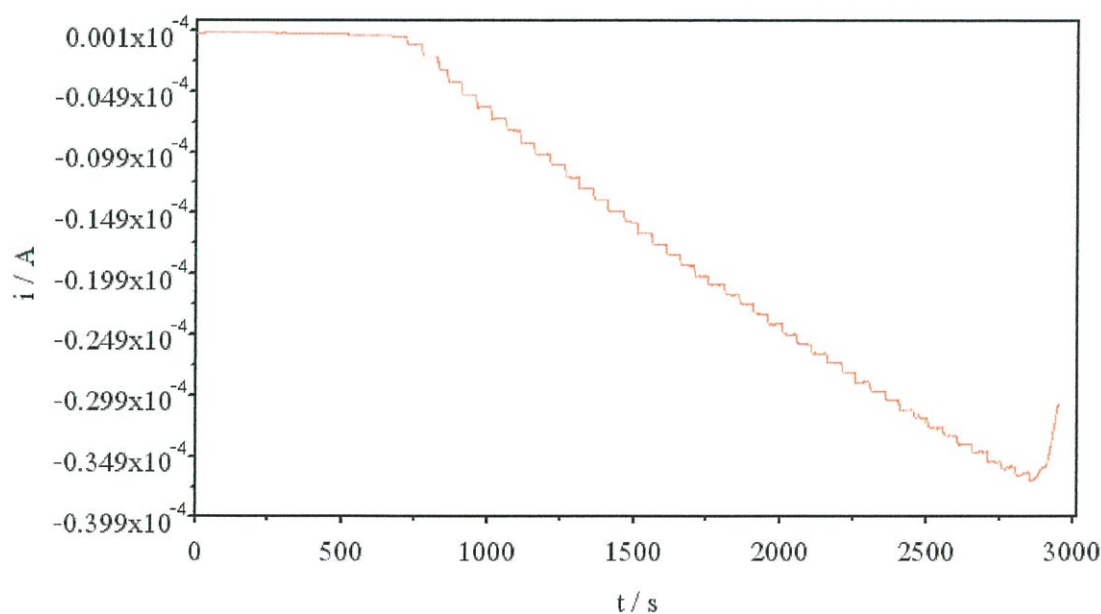
ตารางที่ ก.17 ความหนาแน่นของกระแสรีดักชันที่ -0.15 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ของโรโบฟลาวินใน 0.05 M H_2SO_4 และ S/b ที่ได้จากเทคนิคแอมเปอโรเมทรี ที่อัตราการกวน 3000 rpm (S = ความหนาแน่นของกระแสที่ได้ และ b = ความหนาแน่นของกระแสพื้น)

ความเข้มข้น (μM)	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน		ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์	
	ความหนาแน่นของ กระแส ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b = -0.0005$) ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ความหนาแน่นของ กระแส ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b = -0.0048$) ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.5	-0.001616	3.555882	-	-
1.0	-0.002861	6.297383	-0.016710	1
1.5	-0.004401	9.686965	-	-
2	-0.005906	12.99829	-0.026494	1.585492
3	-0.008370	18.4226	-0.033709	2.017271
4	-0.010889	23.96674	-0.086898	2.639033
5	-0.013401	29.49621	-0.121706	3.183074
10	-0.025790	56.76449	-0.158329	5.374784
15	-0.038634	85.03546	-0.195299	7.587219
20	-0.051568	113.5021	-0.233307	9.861831
25	-0.063068	138.8139	-0.269815	12.04663
50	-0.127623	280.9024	-0.433452	21.83938
75	-0.191179	420.7899	-0.584967	30.90674
125	-0.319734	703.7442	-0.906468	50.1468
174	-0.452401	995.7471	-1.246150	70.47496
224	-0.573290	1261.827	-1.542831	88.22971
274	-0.680512	1497.826	-1.705890	97.98791
323	-0.758846	1670.24	-1.923495	111.0104
373	-0.852734	1876.892	-2.075010	120.0777
422	-0.936846	2062.022	-2.244130	130.1986
471	-1.007401	2217.317	-2.419599	140.6995
521	-1.053512	2318.809	-	-

ก.3.3.2 FMN ใน 0.1 M H₂SO₄



รูปที่ ก.13 การตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของ FMN ใน 0.1 M H₂SO₄ ที่ -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรีที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C (พื้นที่ผิวหน้า 9 mm²)



รูปที่ ก.14 การตรวจวัดปฏิกิริยารีดักชันของ FMN ใน 0.1 M H₂SO₄ ที่ -0.13 V เทียบกับขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl ด้วยเทคนิคแอมเปอโรเมทรี ที่อัตราการกวนสารละลาย 3000 rpm โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ (พื้นที่ผิวหน้า 3.465 mm²)

ตารางที่ ก.18 ความหนาแน่นของกระแสรีดักชันของ FMN ใน 0.1 M H₂SO₄ ที่ -0.13 V เทียบกับ
ขั้วไฟฟ้า Ag/AgCl และ S/b ที่ได้จากเทคนิคแอมเปโรเมทรี ที่อัตราการกวน 3000
rpm (S = ความหนาแน่นของกระแสที่ได้ และ b = ความหนาแน่นของกระแสพื้น)

ความเข้มข้น (μM)	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน		ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์	
	ความหนาแน่นของ กระแส ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b (b= -0.0002 $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ความหนาแน่นของ กระแส ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b (b= -0.0204 $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
0.5	-0.0008	3.3831	-0.0026	0.1271
1	-0.0015	6.7299	-0.0058	0.2837
2	-0.0028	12.5305	-0.0132	0.6442
3	-0.0043	19.2151	-0.0203	0.9962
4	-0.0059	25.8851	-0.0268	1.3128
5	-0.0074	32.7367	-0.0334	1.6337
10	-0.0102	44.9666	-0.0469	2.2981
15	-0.0132	58.4882	-0.0569	2.7872
20	-0.0159	70.4725	-0.0695	3.4022
25	-0.0189	83.5864	-0.0824	4.0383
50	-0.0602	266.2976	-0.2588	12.6784
100	-0.1068	472.1424	-0.5708	27.9569
150	-0.1995	882.0639	-0.8686	42.5455
199	-0.2988	1320.6690	-1.1647	57.0493
249	-0.3930	1737.1719	-1.4697	71.9914
298	-0.4945	2186.0914	-1.7578	86.0994
348	-0.5912	2613.3998	-2.0314	99.5006
397	-0.6924	3060.8458	-2.3110	113.1986
446	-0.7841	3466.0521	-2.5970	127.2077
496	-0.8844	3909.5688	-2.8648	140.3261
545	-0.9797	4330.4921	-3.1304	153.3315
594	-1.0862	4801.5138	-3.4190	167.4678
643	-1.1840	5233.7338	-3.6729	179.9077
692	-1.2818	5665.9538	-3.9384	192.9130

ตารางที่ ก.18 (ต่อ)

ความเข้มข้น (μM)	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน		ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์	
	ความหนาแน่นของ กระแส ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b = -0.0005$ $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ความหนาแน่นของ กระแส ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b = -0.0048$ $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
741	-1.3807	6103.0855	-4.2126	206.3425
839	-1.4673	6486.1896	-4.4781	219.3479
888	-1.5729	6952.7908	-4.7552	232.9187
937	-1.6707	7385.0108	-5.0149	245.6413
986	-1.7718	7831.9656	-5.2631	257.7985
1035	-1.8607	8224.8929	-5.5142	270.0971
1083	-1.9618	8671.8477	-5.7682	282.5370
1132	-2.0762	9177.7417	-5.9557	291.7256
1181	-2.1607	9551.0226	-6.2011	303.7414
1229	-2.2484	9939.0383	-6.4262	314.7677
1278	-2.3240	10273.0265	-6.6513	325.7940
1326	-2.3873	10552.9872	-6.8937	337.6685
1375	-2.5029	11063.7927	-7.1448	349.9670
1423	-2.5851	11427.2505	-7.3728	361.1347
1471	-2.6662	11785.7967	-7.5979	372.1610
1520	-2.7208	12026.8919	-7.8230	383.1873
1568	-2.8130	12434.5540	-8.0452	394.0722
1616	-2.8641	12660.4872	-8.2848	405.8053
1664	-2.9896	13215.4971	-8.5070	416.6903
1712	-3.0630	13539.6621	-8.7234	427.2925
1760	-3.1508	13927.6778	-8.9630	439.0256
1808	-3.2308	14281.3124	-9.1390	447.6487
1856	-3.3230	14688.9745	-9.3410	457.5441
1904	-3.3996	15027.8743	-9.5719	468.8531
1952	-3.4708	15342.2161	-9.7508	477.6176
2000	-3.5419	15656.5580	-9.9673	488.2198

ตารางที่ ก.18 (ต่อ)

ความเข้มข้น (μM)	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน		ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์	
	ความหนาแน่นของ กระแส ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b = -0.0005$ $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	ความหนาแน่นของ กระแส ; S ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	S/b ($b = -0.0048$ $\mu\text{A}/\text{mm}^2$)
2048	-	-	-10.3598	507.4451
2095	-	-	-10.5070	514.6546
2143	-	-	-10.7061	524.4087
2191	-	-	-10.7811	528.0841

ภาคผนวก ข.

การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด

การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัดตามวิธีของ International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

สูตรการคำนวณและวิธีทำการทดสอบ

1. สร้าง Calibration curve จากความสัมพันธ์ของการตรวจวัดไรโบฟลาวิน และ FMN ในช่วงที่เป็นเส้นตรง โดยนำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณหาความชัน และจุดตัดแกนกระแสของเส้นกราฟ จากสมการ least squares (Miller and Miller. 1993)

$$a = \frac{\sum_i \{(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})\}}{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}$$

$$b = \bar{Y} - a(\bar{X})$$

เมื่อ	a	คือความชันของเส้นกราฟ
	b	คือจุดตัดแกนกระแส
	X_i	คือความเข้มข้นของไรโบฟลาวินหรือ FMN ในแต่ละความเข้มข้น
	Y_i	คือกระแสที่ได้จากการตรวจวัดในแต่ละความเข้มข้น
	\bar{X}	คือความเข้มข้นเฉลี่ยของไรโบฟลาวินหรือ FMN
	\bar{Y}	คือกระแสเฉลี่ย

นำค่า a และ b มาแทนค่าในสมการเส้นตรงจะได้กราฟเส้นตรง

$$Y = aX + b$$

จากนั้นนำค่าความชันและจุดตัดแกนกระแสไปหาค่าสัญญาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ และค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดต่อไป

2. เมื่อสามารถหาค่าความชันของเส้นกราฟได้แล้วนำสารละลายอิเล็กโทรไลต์มาวัด กระแสพื้น 30 ครั้ง แล้วจึงนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$\text{ค่าเฉลี่ย Blank } (\bar{Y}_B) = \frac{\sum_{j=1}^{n_B} Y_{Bj}}{n_B}$$

$$\text{Standard Deviation of Blank } (SD_B) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{n_B} (Y_{Bj} - \bar{Y}_B)^2}{(n_B - 1)}}$$

3. นำค่าที่ได้ทั้งหมดมาคำนวณหาค่าสัญญาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ และค่าขีดจำกัดในการ ตรวจวัด

$$\text{สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้ } (Y_L) = \bar{Y}_B + 3(SD_B)$$

(3 คือ k = Confidence Level of 99.86 % เมื่อ $(Y_L) \geq \bar{Y}_B + 3(SD_B)$)

จะได้

$$C_L = \frac{Y_L - \bar{Y}_B}{a}$$

หรือ

$$C_L = \frac{3(SD_B)}{a}$$

ข.1 คำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดโรโบฟลาวิน

1. หาค่าความชัน และจุดตัดแกนกระแสของกราฟ

ตารางที่ ข.1 ความหนาแน่นของกระแสของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ สำหรับการคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดโรโบฟลาวิน

ความเข้มข้น (μM)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	
	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C	ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์
5	0.0134	0.0468
10	0.0258	0.0835
15	0.0386	0.1204
20	0.0516	0.1584
25	0.0631	0.1950
Slope	0.0025	0.0074
Intercept	0.0010	0.0095

2. หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ ข.2 ค่าความหนาแน่นของกระแสพื้นของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C สำหรับการคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดโรโบฟลาวิน

ลำดับที่	ความหนาแน่นของกระแสพื้น ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	
	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน1000 ppm ของ B/C	ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์
1	0.0006	0.0605
2	0.0005	0.0562
3	0.0006	0.0578
4	0.0005	0.0522
5	0.0004	0.0527
6	0.0006	0.0478
7	0.0005	0.0496
8	0.0005	0.0489

ตารางที่ ข.2 (ต่อ)

ลำดับที่	ความหนาแน่นของกระแสพื้น ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	
	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C	ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์
9	0.0005	0.0532
10	0.0004	0.0503
11	0.0006	0.0513
12	0.0004	0.0487
13	0.0006	0.0505
14	0.0006	0.0475
15	0.0005	0.0532
16	0.0005	0.0490
17	0.0006	0.0541
18	0.0006	0.0516
19	0.0005	0.0496
20	0.0006	0.0488
21	0.0004	0.0507
22	0.0005	0.0528
23	0.0004	0.0495
24	0.0006	0.0499
25	0.0005	0.0470
26	0.0005	0.0515
27	0.0006	0.0491
28	0.0005	0.0528
29	0.0005	0.0501
30	0.0006	0.0536
sum	0.0157	1.5403
average	0.0005	0.0513
SD	0.0001	0.0030

3. หาค่าสัญญาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ และค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด

สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้ ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)

$$\begin{aligned} \text{ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน} &= 0.0005 + (3 \times 0.0001) \\ &= 0.0008 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์} &= 0.0513 + (3 \times 0.0030) \\ &= 0.0603 \end{aligned}$$

ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ (μM)

$$\begin{aligned} \text{ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน} &= (3 \times 0.0001)/0.0025 \\ &= 0.1200 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์} &= (3 \times 0.0030)/0.0074 \\ &= 1.2162 \end{aligned}$$

ข.2 กำหนดหาขีดจำกัดในการตรวจวัด FMN

1. หาค่าความชันของกราฟ

ตารางที่ ข.3 ความหนาแน่นของกระแสของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์ สำหรับการกำหนดหาขีดจำกัดในการตรวจวัด FMN

ความเข้มข้น (μM)	ความหนาแน่นของกระแส ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	
	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C	ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์
50	0.1055	0.3290
100	0.2177	0.7117
150	0.3165	1.0556
200	0.4280	1.4031
250	0.5412	1.7438
Slope	0.0022	0.0070
Intercept	-0.0028	-0.0076

2. หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ ข.4 ค่าความหนาแน่นของกระแสพื้นของขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C สำหรับการกำหนดหาขีดจำกัดในการตรวจวัด FMN

ลำดับที่	ความหนาแน่นของกระแสพื้น ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	
	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C	ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์
1	0.0004	0.1977
2	0.0005	0.1876
3	0.0004	0.2005
4	0.0004	0.2001

ตารางที่ ข.4 (ต่อ)

ลำดับที่	ความหนาแน่นของกระแสพื้น ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	
	ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของB/C	ขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์
5	0.0004	0.1971
6	0.0003	0.1908
7	0.0005	0.1929
8	0.0005	0.1816
9	0.0003	0.1935
10	0.0005	0.1757
11	0.0003	0.2092
12	0.0003	0.2015
13	0.0003	0.1984
14	0.0004	0.1922
15	0.0001	0.2022
16	0.0005	0.2001
17	0.0004	0.1903
18	0.0007	0.2021
19	0.0003	0.1971
20	0.0005	0.1984
21	0.0003	0.1977
22	0.0005	0.1967
23	0.0003	0.1868
24	0.0003	0.1907
25	0.0003	0.2020
26	0.0004	0.1924
27	0.0004	0.1878
28	0.0003	0.1868

ตารางที่ ข.4 (ต่อ)

ลำดับที่	ความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้า ($\mu\text{A}/\text{mm}^2$)	
	ขี้ไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของB/C	ขี้ไฟฟ้ากราฟไฟต์
29	0.0003	0.1934
30	0.0005	0.1967
sum	0.0113	5.8401
average	0.0004	0.1947
SD	0.0001	0.0069

3. หาค่าสัญญาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ และค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด

สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้ (μA)

$$\begin{aligned} \text{ขี้ไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน} &= 0.0004 + (3 \times 0.0001) \\ &= 0.0007 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ขี้ไฟฟ้ากราฟไฟต์} &= 0.1947 + (3 \times 0.0069) \\ &= 0.2154 \end{aligned}$$

ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ (μM)

$$\begin{aligned} \text{ขี้ไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน} &= (3 \times 0.0001)/0.0022 \\ &= 0.1364 \end{aligned}$$

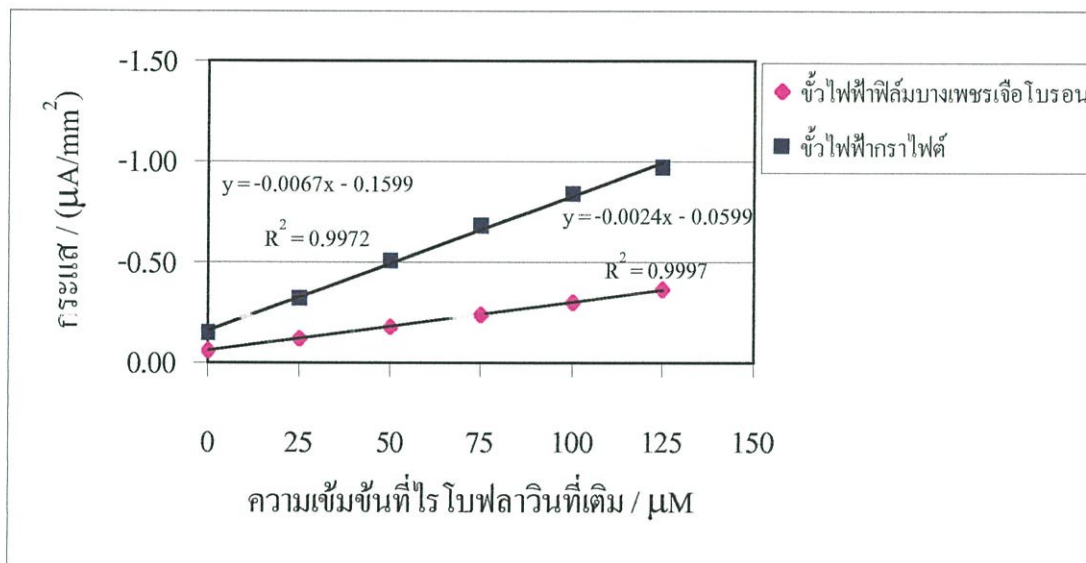
$$\begin{aligned} \text{ขี้ไฟฟ้ากราฟไฟต์} &= (3 \times 0.0069)/0.0070 \\ &= 2.9571 \end{aligned}$$

ภาคผนวก ก.

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% Recovery)

ผลการตรวจวัด ไรบโพลาวินจากยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง

ก.1 ตัวอย่างที่ 1



รูปที่ ก.1 กราฟของการเติมสารมาตรฐานของยาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่ 1 ตรวจวัดโดยใช้เทคนิคแอมเปอโรเมทรี และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราฟไฟต์

ก.1.1 ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C

ยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง (มีปริมาณโรไบโพลาวิน 50 mg/เม็ด) นำมาบด และละลายในขวดวัดขนาด 10 ml เติม 20 μL ของสารละลายยาเม็ดวิตามินตัวอย่างลงในอิเล็กโทรไลต์ตรวจวัดทางแอมเปอโรเมทรี แล้วทำการเติมสารละลายมาตรฐานของโรไบโพลาวินความเข้มข้น 0.05 M ลงไปครั้งละ 5 μL (ตามวิธีการทดลองข้อ 4.) แล้วทำการตรวจวัดซ้ำ

กราฟมาตรฐานการเติมจากเทคนิคแอมเปอโรเมทรีจะได้ดังรูปที่ ก.1 จะได้สมการเส้นตรงดังนี้

$$y = -0.0024x - 0.0599$$

เมื่อ y คือ ความหนาแน่นของกระแส มีหน่วยเป็น $\mu\text{A}/\text{mm}^2$

x คือ ความเข้มข้นของไรโบฟลาวิน มีหน่วยเป็น μM

เมื่อ $y = 0$ สามารถแก้สมการหาค่า x ได้เท่ากับ 24.9583

ได้ว่าจากปริมาตรที่เติม 20 μl ของสารละลายยาเม็ดวิตามินตัวอย่างกับ 10 ml ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ รวมปริมาตรทั้งหมดเป็น 10.02 ml จะมีไรโบฟลาวินอยู่ 24.9583 μM คิดเป็นปริมาณไรโบฟลาวิน 94.1210 μg (มวลโมเลกุลของไรโบฟลาวินเท่ากับ 376.36)

จากปริมาณไรโบฟลาวิน 94.1210 μg ที่ได้จะมาจากสารละลายยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง 20 μl ดังนั้นจากการเตรียมยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง (50 mg/เม็ด) ในปริมาตรทั้งหมด 10 ml จะมีปริมาณไรโบฟลาวินอยู่ 47.06 mg คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การกลับคืนมาได้ 94.12 %

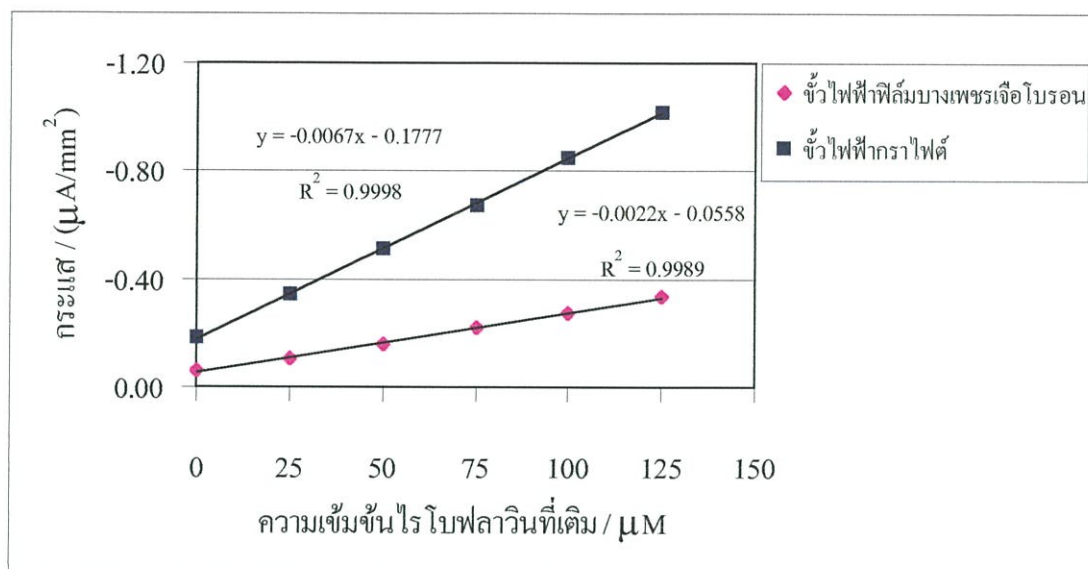
ก.1.2 ขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

สามารถคำนวณหาปริมาณไรโบฟลาวินในยาเม็ดวิตามินตัวอย่างได้ตามตัวอย่างการตรวจวัดด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C ตามตัวอย่างที่ผ่านมา โดยสามารถสรุปได้ดังตารางดังนี้

ตารางที่ ก.1 สรุปผลของการคำนวณยาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่ 1

ขั้วไฟฟ้า	สมการเส้นตรง	ค่า x (μM)	ปริมาณยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง			เปอร์เซ็นต์ การกลับ คืน (%)
			ปริมาณจริง (mg/เม็ด)	ใน 20 μl (μg)	ใน 10 ml (mg)	
ฟิล์มบางเพชรเจือ โบรอน 1000 ppm ของ B/C	$y = -0.0024x - 0.0599$	24.9583	50	94.1210	47.06	94.12
กราไฟต์	$y = -0.0067x - 0.1599$	23.8657	50	90.0050	45.00	90.00

ก.2 ตัวอย่างที่ 2



รูปที่ ก.2 กราฟของการเติมสารมาตรฐานของยาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่ 2 ตรวจสอบโดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมทรี และใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C และขั้วไฟฟ้ากราไฟต์

ตารางที่ ก.2 สรุปผลของการคำนวณยาเม็ดวิตามินตัวอย่างที่ 2

ขั้วไฟฟ้า	สมการเส้นตรง	ค่า x (μM)	ปริมาณยาเม็ดวิตามินตัวอย่าง			เปอร์เซ็นต์ การกลับ คืน (%)
			ปริมาณจริง (mg/เม็ด)	ใน 20 μl (μg)	ใน 10 ml (mg)	
ฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน 1000 ppm ของ B/C	$y = -0.0067x - 0.1777$	25.3636	50	95.6495	47.82	95.64
กราไฟต์	$y = -0.0022x - 0.0558$	26.5224	50	100.0190	50.01	100.02

ประวัติผู้เขียน

ชื่อผู้เขียน	นางสาวอัญชญา ปรีชาวรพันธ์
วันเดือนปีเกิด	20 มีนาคม พ.ศ. 2520
ภูมิลำเนา	จังหวัดพิษณุโลก
วุฒิการศึกษาระดับปริญญาตรี	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี
สถานที่ที่จบการศึกษา	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ปีที่สำเร็จการศึกษา	ปีการศึกษา 2542