Thesis Title	Development of Compact System of Microchip Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection for the Detection of Caffeine in Beverages
Author	Mr. Monchai Jitvisate
Degree	Master of Science (Physics)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Somsorn Singkarat	Advisor
Dr. Nirut Pussadee	Co–advisor

ABSTRACT

In this work, a compact system of microchip capillary electrophoresis (MCE) with capacitively coupled contactless conductivity detection (C^4D) was developed. The MCE separation was studied in a self-made microchannel in microfluidic chip. The chip was made of poly(dimethylsiloxane) (PDMS) by casting technique. The master mold was produced from printed circuit board (PCB) by Etched Wiring Board Technique (EWBT) and was spin-coated by poly(methylmethacrylate) (PMMA) to smoothen the surface. The microchannel was designed as a cross microchannel with channel width and depth of 200 μm and 30 μm respectively. The separation channel length was 5 cm (from sample reservoir to buffer waste reservoir), whereas, the loading channel length was 1 cm (from sample waste reservoir to buffer reservoir). The microfluidic chip was combined with the PCB detection platform, which the two planar detection electrodes and a Faraday shield between them were created by EWBT technique. Oxygen plasma was used for bonding of the two parts and reducing hydrophobicity of the microchannel walls. The integration generated the MCE-C^4D device which its dimensions were 60 $\times$ 100 $\times$ 5 mm^3 with the separation channel effective length of 3.5 cm (from the cross to detection cell). The MCE-C^4D device was used in association with the C^4D detector, which the detection and control electronic boards were installed in two aluminum shield boxes. The detector and

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

associated high voltage power supplies were designed to be controlled via computer software. Each high voltage power supply can be varied between 0 V and 2,500 V. The excitation voltage was 25 V peak-to-peak with the frequency ranging from 0-250 kHz. The data acquired from the experiments was collected as .text file and plotted as electropherograms by SigmaPlot program and was smoothen by Low Pass Filter transform.

The MCE-C^4D system was tested by the detection of signals from standard solution of inorganic ions; Li^+, Na^+, K^+. The sample solutions were prepared from chloride salts with deionized water. The background electrolyte (BGE) was MES/His of pH 6.1. The sample was loaded into the microchannel by gated sample injection mode with the loading time of 5 seconds. Some important parameters such as concentration of BGE, separation voltage, analyte concentration, were studied and optimized. The results showed that the suitable conditions for this system were 20 mM BGE, 600-800 V separation voltage, and 5-20 mM analytes. The three sample signals were detected as positive peaks with the shortest and longest migration times for K^+ and Li^+, respectively. The performance of the separation was also calculated by some performance indices such as resolution (R_S), number of theoretical plates (N), and signal to noise ratio (SNR). The maximum values from the experiments were $R_S = 0.97$, $N = 2.3 \times 10^3$, and $SNR = 4.34$.

The MCE-C^4D system was also applied for the detection of caffeine in coffees. The dynamic complexation was used for caffeine separation. Solutions of standard pure caffeine, instant decaffeinated coffee, and instant normal coffee were served as sample solutions. The BGE was 20 mM solution of 3,4-dimethoxycinnamic acid of pH 8.5. Caffeine signal was detected as negative peak from standard solution of concentration 0.1 g caffeine/50 mL BGE. In instant coffee samples, the MCE-C^4D system cannot detect any sign of caffeine. However, the peak did show up after adding some amount of pure caffeine, but only in the case of normal coffee sample.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาระบบไมโครชิปแคปิลลารีอิเล็กโทรฟอรีซีสขนาดกะทัดรัดที่ใช้การวัดสภาพนำไฟฟ้าชนิดไร้สัมผัสแบบคู่ควบด้วยตัวเก็บประจุสำหรับการตรวจวัดคาเฟอีนในเครื่องดื่ม

ผู้เขียน นายมนต์ชัย จิตรวิเศษ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ฟิสิกส์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. สมศร สิงขรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ดร. นิรุต ผุสดี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาระบบไมโครชิปแคปิลลารีอิเล็กโทรฟอรีซีส (MCE) ที่ใช้การวัดสภาพไฟฟ้าชนิดไร้สัมผัสแบบคู่ควบด้วยตัวเก็บประจุ (C^4D) ขนาดกะทัดรัด โดยทำการศึกษาการแยกแบบ MCE ในท่อไมครอนบนชิปของไหลจุลภาคที่สร้างขึ้นเอง วัสดุที่ใช้ในการสร้างชิปดังกล่าวคือ โพลีไดเมธิลไซลอกเซน (PDMS) โดยใช้เทคนิคการลอกแบบจากแม่พิมพ์ที่สร้างจากแผ่นปริ๊นลายวงจรอิเล็กทรอนิกส์ (PCB) เทคนิคที่ใช้ผลิตแม่พิมพ์มีชื่อย่อว่า EWBT ซึ่งแม่พิมพ์ที่ได้จากเทคนิคนี้จะถูกเคลือบผิวหน้าเพื่อลดความขรุขระด้วย โพลีเมธิลเมธาคริเลท (PMMA) โดยการใช้เครื่องเคลือบเหวี่ยง ท่อไมครอนในการทดลองครั้งนี้มีลักษณะเป็นท่อกากบาทที่มีความกว้าง 200 ไมโครเมตร และ ลึก 30 ไมโครเมตร โดยที่ท่อแยกสารมีความยาว 5 เซนติเมตร (วัดจากอ่างตัวอย่างถึงอ่างทิ้งบัฟเฟอร์) และท่อนำสารเข้ามีความยาว 1 เซนติเมตร (วัดจากอ่างทิ้งตัวอย่างถึงอ่างบัฟเฟอร์) ชิปของไหลจุลภาคดังกล่าวได้ถูกประกอบรวมกับแท่นตรวจวัดที่ด้านบนประกอบด้วยขั้วตรวจวัดและฟาราเดย์ชิลด์ที่สร้างจาก PCB โดยเทคนิค EWBT การประกอบรวมดังกล่าวอาศัยผลจากพลาสมาออกซิเจนที่มีผลในการลดความไม่ชอบน้ำของผนังท่อไมครอน ด้วยกระบวนการดังกล่าวทำให้ได้อุปกรณ์วิเคราะห์ MCE-C^4D ที่มีขนาดโดยรวมประมาณ 60 x 100 x 5 มิลลิเมตร^3 โดยมีระยะแยกประสิทธิผล 3.5 เซนติเมตร (วัดจากตำแหน่งกากบาทถึงเซลตรวจวัด) อุปกรณ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิเคราะห์ MCE-C^4D ถูกใช้ร่วมกับเครื่องวัด C^4D ซึ่งหน่วยตรวจวัดและหน่วยควบคุมถูกสร้างบนแผ่นวงจรขนาดเล็กที่ถูกติดตั้งไว้ในกล่องอลูมิเนียมขนาดเล็ก 2 กล่อง เครื่องวัดและแหล่งจ่ายไฟศักย์สูงที่ปรับค่าได้ระหว่าง 0 โวลท์ และ 2,500 โวลท์ ได้ถูกออกแบบให้สามารถควบคุมได้ผ่านโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ศักย์กระตุ้นของเครื่องวัดมีค่า 25 โวลท์ พีคทูพีค มีความถี่ในช่วง 0-250 กิโลเฮิร์ท ข้อมูลการทดลองถูกบันทึกในรูปแบบไฟล์ .text และถูกนำไปสร้างกราฟอิเล็กโทรเฟอโรแกรมโดยโปรแกรมซิกมาพลอต สัญญาณกวนที่ผสมมากับข้อมูลได้ถูกลดทอนโดยอาศัยชุดคำสั่งสำหรับการกรองสัญญาณความถี่สูง

ระบบ MCE-C^4D ได้ถูกทดสอบโดยการนำไปวัดสัญญาณของสารละลายมาตรฐานของไอออน Li^+, Na^+ และ K^+ ที่เตรียมจากเกลือคลอไรด์ของสารแต่ละชนิดในน้ำบริสุทธิ์ สารละลายพื้นหลังที่ใช้คือ MES/His ที่มีค่า pH ประมาณ 6.1 สารตัวอย่างถูกนำเข้าสู่ท่อไมครอนโดยเทคนิคการนำเข้าแบบเกท โดยมีเวลานำเข้า 5 วินาที ในการนี้ได้ทำการศึกษาถึงพารามิเตอร์สำคัญบางตัวที่มีผลต่อการแยกของสารตัวอย่างในท่อ เช่น ความเข้มข้นของสารละลายพื้นหลัง ศักย์แยก และความเข้มข้นของตัวถูกวิเคราะห์ ซึ่งพบว่าเงื่อนไขที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดการแยกของสารตัวอย่างได้ดีสำหรับการทดลองครั้งนี้ คือ สารละลายพื้นหลังต้องมีความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ศักย์แยกมีค่า 600-800 โวลท์ และความเข้มข้นของสารตัวอย่างอยู่ในช่วง 5-20 มิลลิโมลาร์ ประสิทธิภาพของการแยกได้ถูกวิเคราะห์ผ่านดัชนีประสิทธิภาพ เช่น กำลังแยก (R_S) จำนวนเพลทตามทฤษฎี (N) และอัตราส่วนระหว่างสัญญาณต่อสัญญาณกวน (SNR) โดยพบว่าค่ามากสุดที่ได้จากการทดลองครั้งนี้มีค่า $R_S = 0.97$, $N = 2.3 \times 10^3$ และ $SNR = 4.34$

นอกจากนี้ระบบ MCE-C^4D ยังได้ถูกใช้สำหรับการตรวจวัดคาเฟอีนในสารตัวอย่างกาแฟแบบพร้อมชง โดยกระบวนการสร้างโมเลกุลเชิงซ้อนแบบพลวัตรได้ถูกใช้เพื่อการแยกโมเลกุลคาเฟอีน สารละลายมาตรฐานของคาเฟอีนบริสุทธิ์ กาแฟปลอดคาเฟอีน และกาแฟแบบธรรมดา ได้ถูกใช้เป็นสารตัวอย่างในการทดลองนี้ สารละลายพื้นหลังคือ สารละลายกรด 3,4-dimethoxycinnamic ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่มีค่า pH 8.5 โดยตรวจพบสัญญาณของคาเฟอีนจากสารละลายมาตรฐานคาเฟอีน 0.1 กรัม ในสารละลายพื้นหลัง 50 มิลลิลิตร แต่ไม่สามารถตรวจพบสัญญาณของคาเฟอีนจากสารตัวอย่างกาแฟทั้งสองชนิด ทั้งนี้การเติมคาเฟอีนบริสุทธิ์ลงในสารตัวอย่างกาแฟทำให้สามารถตรวจพบสัญญาณของคาเฟอีนในสารตัวอย่างจากกาแฟธรรมดาได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved