โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนสำหรับการหาปริมาณไอโอดีนด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี
Gel electromembrane microextraction for determination of iodine by ion chromatography

ชื่อนิสิต นางสาวธนกร รื่นภาคพจน์ เลขประจำตัว 5933045023

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน สำหรับการหาปริมาณไอโอดีนด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

Gel electromembrane microextraction for determination of iodine by ion chromatography

โดย

นางสาวธนกร รื่นภาคพจน์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

โครงการ การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนสำหรับการหาปริมาณไอโอดีนด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

โดย นางสาวธนกร รื่นภาคพจน์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

1. รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพรศิริศาล ประธานกรรมการ
2. อาจารย์ ดร.ชฎิล กุลสิงห์ กรรมการ
3. รองศาสตราจารย์ ดร.ปกรณ์ วรานุศุภากุล อาจารย์ที่ปรึกษา

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปกรณ์ วรานุศุภากุล)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)
หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 05 เดือน ....พฤษภาคม..... พ.ศ. ...2563...

ชื่อโครงการ การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนสำหรับการหาปริมาณไอโอดีนด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวธนกร รื่นภาคพจน์ เลขประจำตัว 5933045023

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ปกรณ์ วรานุศุภากุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2562

บทคัดย่อ

เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ถูกพัฒนาขึ้นบนพื้นฐานของหลักการ “เคมีสีเขียว” ที่มีจุดมุ่งหมายในการลดการใช้สารเคมีและของเสียที่อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงการใช้สารเคมีหรือวัสดุที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ในงานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคดังกล่าวไปใช้ในการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของไอโอดีนในรูปของไอโอเดตก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยมีหลักการคือ สารที่สนใจที่มีประจุจะเคลื่อนย้ายจากสารละลายตัวอย่างหรือเฟสให้ไปยังเฟสรับภายใต้แรงขับเคลื่อนศักย์ไฟฟ้า ผ่านตัวกลางที่เป็นเจลเมมเบรนที่ทำจากสารจากธรรมชาติ คือ อะกาโรส ศึกษาสภาวะเหมาะสมที่ให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุด ได้แก่ ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร, ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, พีเอชของอะกาโรสเจลเท่ากับ 7, พีเอชของสารละลายตัวให้เท่ากับ 7, พีเอชของสารละลายตัวรับเท่ากับ 7 และศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์ ทำการศึกษาแต่ละปัจจัยที่ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที พิจารณาประสิทธิภาพการสกัดจากค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ เทคนิคที่ถูกพัฒนาขึ้นสามารถสกัดไอโอเดตได้ ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับความเที่ยงปานกลาง เทคนิคการสกัดนี้เป็นเทคนิคที่ง่าย รวดเร็ว และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน, สารไอโอเดต, ไอออนโครมาโทกราฟี

Project Title Gel electromembrane microextraction for determination of iodine by ion chromatography

Student Name Miss Thanakorn Ruenpakpoj Student ID 5933045023

Advisor Name Associate Professor Pakorn Varanusupakul, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2019

Abstract

Gel electromembrane extraction (Gel-EME) was developed based on the principle of "green chemistry" which aimed to reduce the use of chemicals and the release of waste affecting environment, in addition to utilizing the environment-friendly chemicals or materials. In this research, the proposed technique was applied in order to extract and increase the concentration of iodine in the form of iodate before analyzing by ion chromatography. The principle of proposed method is that the charged analytes of interest would transfer from the sample solution or donor phase to acceptor phase under the electrical driving forces through mediated-gel membrane. This gel membrane is made from agarose. The appropriate conditions giving the highest extraction efficiency were 2% (w/v) of agarose gel, 7 mm of agarose gel thickness, pH 7 of agarose gel, pH 7 of donor solution, pH 7 of acceptor solution, and 50 volts of applied voltage. All factors were studied at 10 min of extraction time. Extraction efficiency was considered from the signal of iodate peak area with 3 replicates. This proposed technique can extract iodate and give the percentages of relative standard deviation less than 20% which is in moderate precision level. This extraction technique is simple, fast, and eco-friendly.

Keywords: Gel electromembrane extraction, Iodate, Ion chromatography

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ปกรณ์ วรานุศุภากุล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ สำหรับการให้ความรู้ ให้คำปรึกษา ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการมอบเงินทุนบางส่วน เพื่อสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ Dr. Waleed Alahmad ซึ่งเป็น Senior postdoctoral รวมทั้งรุ่นพี่ในห้องปฏิบัติการทุกท่าน สำหรับการดูแล การให้คำแนะนำ การให้ความรู้ ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ผู้เป็นที่รัก และขอบคุณเพื่อนๆภาคเคมีทุกคน สำหรับกำลังใจและคำปรึกษาที่มอบให้ตลอดการทำวิจัย

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อบุคลากรทางการศึกษา และผู้ที่สนใจศึกษาค้นคว้าต่อไป

ธนกร รื่นภาคพจน์
ผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	2
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	14
บทที่ 2 การทดลอง	15
2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์	15
2.2 รายการสารเคมี	15
2.3 วิธีการทดลอง	16
2.3.1 การเตรียมเมมเบรนชนิดเจล	16
2.3.2 การเตรียมสารละลายต่างๆ	16
2.3.3 การสกัดและเพิ่มความเข้มข้นโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน	16
2.3.4 การวิเคราะห์ไอโอเดตด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี	17
2.3.5 การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน	18
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	19
3.1 การวิเคราะห์ไอโอเดตด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี	19
3.2 การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน	19

3.3 ความเที่ยงของวิธี 26
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 28
เอกสารอ้างอิง 29
ภาคผนวก 32
ประวัติผู้วิจัย 38

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 2.1 สภาวะในการวิเคราะห์ไอโอเดตด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี 18

ตาราง 3.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 26

ตาราง 3.2 เปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตของสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด 27

ตาราง 3.3 ระดับความเที่ยงของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน[30] 27

ตาราง A-1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของอะกาโรสเจลที่ใช้เป็นเมมเบรนในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 32

ตาราง A-2 ความหนาของอะกาโรสเจลในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 33

ตาราง A-3 พีเอชของอะกาโรสเจลในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 34

ตาราง A-4 พีเอชของสารละลายตัวให้ในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 35

ตาราง A-5 พีเอชของสารละลายตัวรับในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 36

ตาราง A-6 ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 37

สารบัญรูป

หน้า

รูป 1.1 ส่วนประกอบของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[11] 4

รูป 1.2 เครื่องไอออนโครมาโทกราฟ รุ่น ™ Dionex™ Integrion™ HPIC™ ยี่ห้อ Thermo Scientific[12] 4

รูป 1.3 โคพอลิเมอร์ของสไตรีนกับไดไวนิลเบนซีน, x คือ หมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดอันตรกิริยา[13] 5

รูป 1.4 เรซินชนิดแลกเปลี่ยนแคทไอออน[14] 5

รูป 1.5 เรซินชนิดแลกเปลี่ยนแอนไอออน[14] 6

รูป 1.6 ตัวตรวจวัดสัญญาณของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12] 8

รูป 1.7 หลักการทำงานของตัวตรวจวัดสัญญาณของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12] 8

รูป 1.8 ตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดและลดสัญญาณรบกวนของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12] 9

รูป 1.9 กระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนของตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดและลดสัญญาณรบกวน ของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12] 9

รูป 1.10 การแสดงผลเมื่อใช้ตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดและลดสัญญาณรบกวนของ เครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12] 10

รูป 1.11 เทคนิคการสกัดด้วยเมมเบรน[17] 11

รูป 1.12 เทคนิคการสกัดด้วยอิเล็กโทรเมมเบรน[19] 11

รูป 1.13 การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน[21] 12

รูป 1.14 กลไกการเคลื่อนที่ของสารที่มีประจุในการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 12

รูป 1.15 โครงสร้างทางเคมีของอะกาโรส[23] 13

รูป 1.16 โครงสร้างของอะกาโรสเจล[24] 13

รูป 2.1 การจัดตั้งอุปกรณ์สำหรับเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 17

รูป 3.1 โครมาโทแกรมของสารละลายผสมระหว่างไอโอเดตและไอโอไดด์ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 25 นาที ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยพีคที่ 1 คือ พีคของไอโอเดต ใช้เวลาเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ เท่ากับ 4.560 นาที และพีคที่ 2 คือ พีคของไอโอไดด์ ใช้เวลาเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ เท่ากับ 16.500 นาที 19

รูป 3.2 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ที่ความเข้มข้นต่างๆของอะกาโรสเจล (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, พีเอชของอะกาโรสเจล สารละลายตัวให้ และสารละลายตัวรับ เท่ากับ 6, ความหนาของอะกาโรสเจล 20

5 มิลลิเมตร, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)
รูป 3.3 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทร 21
เมมเบรน ที่ความหนาต่างๆของอะกาโรสเจล (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, พีเอชของ
อะกาโรสเจล สารละลายตัวให้ และสารละลายตัวรับ เท่ากับ 6, ความเข้มข้นของ
อะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)
รูป 3.4 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทร 22
เมมเบรน ที่พีเอชต่างๆของอะกาโรสเจล (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, พีเอชของสารละลายตัวให้
และสารละลายตัวรับ เท่ากับ 6, ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์,
ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)
รูป 3.5 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทร 23
เมมเบรน ที่พีเอชต่างๆของสารละลายตัวให้ (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, พีเอชของ
สารละลายตัวรับเท่ากับ 6, ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ความหนาของ
อะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, พีเอชของอะกาโรสเจลเท่ากับ 7, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์,
ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)
รูป 3.6 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทร 24
เมมเบรน ที่พีเอชต่างๆของสารละลายตัวรับ (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเข้มข้นของ
อะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, พีเอชของ
อะกาโรสเจลเท่ากับ 7, พีเอชของสารละลายตัวให้เท่ากับ 7, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์,
ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)
รูป 3.7 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็ก 25
โทรเมมเบรน ที่ค่าศักย์ไฟฟ้าต่างๆ (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเข้มข้นของ
อะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, พีเอชของ
อะกาโรสเจลเท่ากับ 7, พีเอชของสารละลายตัวให้เท่ากับ 7, พีเอชของสารละลายตัวรับ
เท่ากับ 7, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)

สัญลักษณ์และคำย่อ

ชื่อเต็ม		คำย่อ
1.	ค่าการเพิ่มความเข้มข้น (Enrichment factor)	EF
2.	การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน (Gel electromembrane extraction)	Gel-EME
3.	ไอออนโครมาโทกราฟี (Ion chromatography)	IC
4.	มิลลิกรัมต่อลิตร (Milligram per liter)	mg L^{-1}
5.	นาที (Minute)	min
6.	ส่วนในล้านส่วน (Parts per million)	ppm
7.	ส่วนในพันล้านส่วน (Parts per billion)	ppb
8.	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation)	RSD
9.	มวลต่อปริมาตร (Weight by volume)	w/v
10.	ไมโครลิตร (Microliter)	µL
11.	ไมโครซีเมนต์ นาที (Microsiemens min)	µS*min

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไอโอดีน (Iodine) เป็นแร่ธาตุที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เป็นส่วนประกอบที่จำเป็นในการผลิตฮอร์โมนของต่อมไทรอยด์ หรือเสริมสร้างการเจริญเติบโตตามปกติของสมอง ประสาท และเนื้อเยื่อของร่างกาย ซึ่งถ้าได้รับไอโอดีนไม่เพียงพอ จะก่อให้เกิดโรคขาดสารไอโอดีน เช่น โรคเอ๋อ คอพอก ที่มักพบในคนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ห่างไกลทะเล เช่น ภาคเหนือและภาคอีสานของประเทศไทย เป็นต้น โรคนี้สามารถป้องกันและควบคุมได้โดยการบริโภคอาหารที่มีไอโอดีน เช่น อาหารทะเล และอาหารเสริมไอโอดีน เช่น นม บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป และไข่ ซึ่งมีการเติมไอโอดีนในรูปของโพแทสเซียมไอโอเดต ทำให้สามารถแก้ปัญหาโรคขาดสารไอโอดีนได้ อาหารเสริมไอโอดีนจึงมีมูลค่าที่สูงกว่าอาหารทั่วไป ดังนั้นเพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของการเสริมสารไอโอดีนในอาหารให้มีปริมาณไอโอดีนตามที่ระบุ จึงจำเป็นต้องตรวจวัดหาปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างอาหาร

การวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างต่างๆ สามารถวิเคราะห์ได้ในรูปของไอโอเดต หรือไอโอไดด์ไอออน วิธีหนึ่งที่นิยมใช้สำหรับตรวจวัดไอโอดีน ได้แก่ เทคนิคไฮเปอฟอร์แมนลิควิดโครมาโทกราฟี-อินดักทีฟลีคัปเปิลพลาสมา-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (HPLC-ICP-MS)[1-3] ซึ่งจะสามารถแยกไอโอไดด์ ไอโอเดต และไอโอดีนสปีชีส์อื่นออกจากกันด้วย HPLC จากนั้นวัดปริมาณไอโอไดด์และไอโอเดตโดยใช้ ICP-MS แต่วิธีนี้มีข้อจำกัดคือ เครื่องมือการวิเคราะห์มีราคาแพง และใช้เวลาวิเคราะห์นาน เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion chromatography, IC) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้แยกไอออน โดยอาศัยการแลกเปลี่ยนไอออน ใช้เวลาวิเคราะห์น้อย รวดเร็ว และราคาไม่แพง แต่เทคนิคนี้มีข้อจำกัดของส่วนตรวจวัด ซึ่งได้แก่ ส่วนตรวจวัดการนำไฟฟ้า (Conductivity detector) ซึ่งให้ค่าความไวต่ำ ทำให้ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สารในปริมาณน้อยได้ ดังนั้น การตรวจวัดปริมาณไอโอดีนที่มีปริมาณน้อยในตัวอย่างอาหารจึงจำเป็นต้องมีการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของไอโอดีนก่อนตรวจวัดโดยวิธีดังกล่าว

ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างหลายวิธี เช่น การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (Liquid-liquid extraction)[4] แต่เทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัดคือ ใช้เวลานานในการสกัด และใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมากในระดับมิลลิลิตร ทำให้เกิดของเสียที่ต้องกำจัดในปริมาณมาก ซึ่งส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบันจึงได้มีการนำหลักการ “เคมีสีเขียว” (Green chemistry) มาใช้ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ โดยมุ่งหวังว่าจะช่วยลดการใช้สารเคมีและของเสียที่อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงการใช้สารเคมีหรือวัสดุที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลว (Liquid phase microextraction, LPME)[5] เป็นเทคนิคการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นสารที่สนใจ โดยสารที่สนใจจะเคลื่อนย้ายจากสารละลายตัวอย่างหรือเฟสให้ (Donor phase) ไปยังเฟสรับ (Acceptor phase) ผ่านตัวกลางที่กั้นระหว่างเฟสให้และเฟสรับ ซึ่งอาจเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่แทรกอยู่ในโครงสร้างของพอลิเมอร์เมมเบรนที่มีรูพรุน (Supported liquid membrane, SLM) เทคนิคนี้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณน้อยมาก ไม่เกิดของเสียปริมาณมาก ทำง่าย และราคาไม่แพง แต่มีข้อจำกัดคือ การสกัดจะเกิดแบบการแพร่ (Passive diffusion) ทำให้ต้องใช้เวลาในการสกัดนาน จึงเกิดการพัฒนาเทคนิคการสกัดด้วยอิเล็กโทรเมมเบรน (Electromembrane extraction)[6] เป็นเทคนิคการสกัดโดยใช้ศักย์ไฟฟ้าเป็นแรงขับเคลื่อนให้สารที่มีประจุเกิดการสกัดจากสารละลายตัวอย่างหรือเฟสให้ไปยังเฟสรับ ผ่านตัวกลาง SLM เทคนิคนี้มีข้อดีคือ มีความจำเพาะต่อการสกัดสารที่มีประจุ และลด

เวลาในการสกัด แต่มีข้อจำกัดคือ เมื่อทำการให้ศักย์ไฟฟ้าเป็นเวลานาน ตัวทำละลายอินทรีย์ใน SLM จะไหลออกมาภายนอกเมมเบรน ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเฟสให้และเฟสรับ เพื่อแก้ไขปัญหานี้จึงเกิดการพัฒนาเทคนิคซึ่งใช้ SLM ที่ปราศจากตัวทำละลายอินทรีย์ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม คือ เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน (Gel electromembrane extraction, Gel-EME)[7] โดยสารที่สนใจที่มีประจุจะเคลื่อนย้ายจากสารละลายตัวอย่างหรือเฟสให้ไปยังเฟสรับภายใต้แรงขับเคลื่อนศักย์ไฟฟ้า ผ่านตัวกลางที่เป็นเจลเมมเบรนที่ทำจากสารจากธรรมชาติ ได้แก่ อะกาโรสเจล (Agarose gel) เทคนิคนี้มีข้อดี คือ การเตรียมเจลเมมเบรนทำได้ง่าย ไม่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถสกัดและเพิ่มความเข้มข้นได้ในขั้นตอนเดียว และราคาไม่แพง

งานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาวิธีการสกัดไอโอดีนในรูปของไอโอเดต โดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน และทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ และศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน ซึ่งสามารถตรวจสอบปริมาณไอโอดีนเพื่อประโยชน์ทางโภชนาการและเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

เพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นของไอโอเดตโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนสำหรับตรวจวัดด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยที่ผ่านมา ส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างต่างๆ เช่น อาหาร แหล่งน้ำใต้ดิน ดังนี้

Z. Nie และคณะ[1] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนสปีชีส์ต่างๆ เช่น ไอโอไดด์ ไอโอเดต ในตัวอย่างแหล่งน้ำใต้ดิน โดยใช้เทคนิค Anion-exchange high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry และศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ได้แก่ องค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) พีเอชและองค์ประกอบของสารปรับสภาวะ (Organic modifier) ในการแยก

L. Liu และคณะ[2] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างอาหาร โดยศึกษาการรีดักชันของไอโอเดตที่เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของไอโอไดด์และโมเลกุลของไอโอดีน ซึ่งอาศัยเทคนิค High-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry ในการวิเคราะห์

H. Doh และคณะ[3] ได้ทำปริมาณวิเคราะห์สารไอโอดีนในตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อ ผ่านการศึกษาไอโอดีน 4 สปีชีส์ ได้แก่ ไอโอไดด์ ไอโอเดต organic iodinated amino acids 2 ชนิด ได้แก่ Monoiodo-tyrosine (MIT) และ Diiodo-tyrosine (DIT) ซึ่งอาศัยการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค Microwave-assisted extraction (MAE) และนำไปตรวจวัดโดยใช้เทคนิค High-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวกับการเพิ่มความเข้มข้นของไอโอดีนที่มีปริมาณน้อยในตัวอย่างต่างๆ เช่น อาหารและนม โดยใช้เทคนิคการสกัดหลากหลายวิธี ดังนี้

S. Wang และคณะ[8] ได้ทำการวิเคราะห์ไอโอดีนในตัวอย่างอาหารทะเลด้วยเทคนิคการสกัด คือ In-line solid-phase extraction ซึ่งใช้ของเหลวไอออนิก (Ionic liquid) เป็นตัวทำละลายที่ใช้ชะ (Elution solvent) และทำการตรวจวัดโดยใช้เทคนิค Capillary electrophoresis (CE) ศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ชะ ระยะเวลาในการชะ พีเอชและเวลาในการโหลดของสารละลายตัวอย่าง

J. Akhoundzadeh[9] และคณะ ได้ทำการวิเคราะห์ไอโอดีนในนมผงสำหรับเด็ก โดยใช้เทคนิคการสกัดแบบ Headspace single-drop microextraction (HS-SDME) และตรวจวัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography, GC) ทำการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ได้แก่ องค์ประกอบของไมโครดรอป ปริมาตรของไมโครดรอป ระยะเวลาในการสกัด การเติมเกลือ และอัตราการกวนสารสะลาย

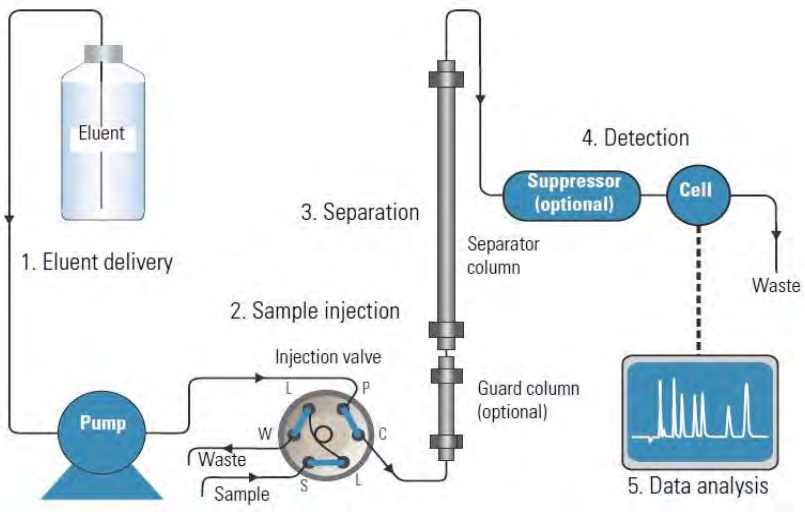
N. Altunay และ R. Gurkan[10] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ไอโอดีนในผลิตภัณฑ์นมเสริมอาหาร ซึ่งอาศัยเทคนิคการสกัดแบบ Cloud-point extraction (CPE) เพื่อสกัดสารเชิงซ้อนของไตรไอโอไดด์ไอออน และนำไปตรวจวัดด้วยด้วยเทคนิค UV-vis spectrophotometry ทำการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ได้แก่ พีเอชของสารละลายตัวอย่าง ความเข้มข้นของสารที่จะเกิด Ion-pair ชนิดและความเข้มข้นของ Nonionic surfactant ความเข้มข้นของสารอิเล็กโทรไลต์ อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด

จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นว่า การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในรูปของไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ควบคู่กับเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี ยังไม่มีการทำการศึกษามาก่อน ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในรูปไอโอเดตผ่านการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

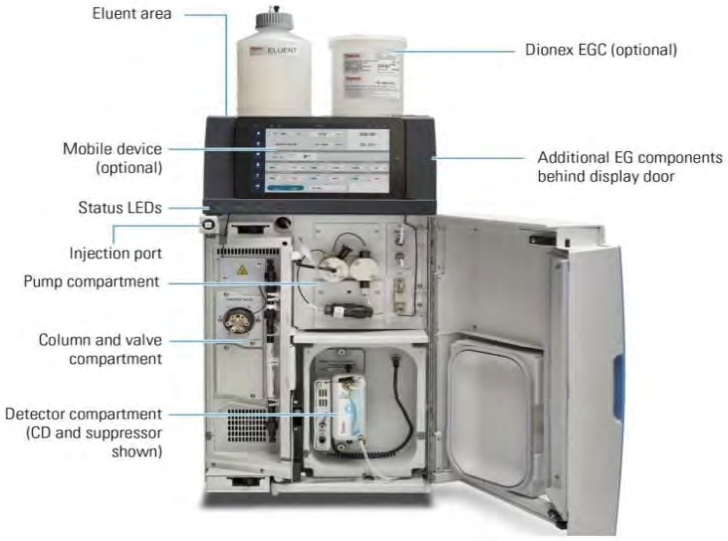
1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.4.1 ไอออนโครมาโทกราฟี

เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี เป็นวิธีการวิเคราะห์แขนงหนึ่งของลิควิดโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ โดยอาศัยหลักการแลกเปลี่ยนของไอออนในสารละลาย หรือวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) ซึ่งเป็นสารละลายกรดหรือเบส กับไอออนในของแข็งหรือวัฏภาคนิ่ง (Stationary phase) เมื่อพิจารณาส่วนประกอบของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ ดังรูป 1.1 ซึ่งเครื่องไอออนโครมาโทกราฟที่ใช้ในการทดลองเป็นรุ่น ™ Dionex™ Integrion™ HPIC™ ยี่ห้อ Thermo Scientific ดังรูป 1.2 สามารถแบ่งส่วนประกอบพื้นฐานของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ ได้ดังนี้



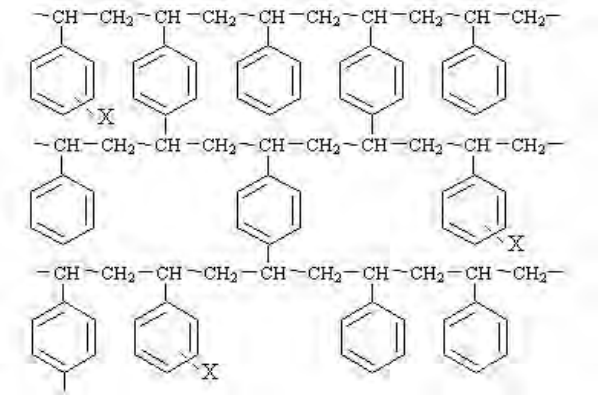
รูป 1.1 ส่วนประกอบของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[11]



รูป 1.2 เครื่องไอออนโครมาโทกราฟ รุ่น ™ Dionex™ Integrion™ HPIC™ ยี่ห้อ Thermo Scientific[12]

1.4.1.1 คอลัมน์แยก (Separation column)

คอลัมน์แยกเป็นส่วนที่มีการบรรจุวัฏภาคนิ่ง ซึ่งมีลักษณะเป็นเรซินแลกเปลี่ยนไอออน (Ion exchange resin) ผิวภายนอกมีประจุแตกต่างกับไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ โดยเรซิน คือ สารพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้จากการทำปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันของสารอินทรีย์ เช่น พอลิเมทาคริเลต (Polymethacrylate), กรดเมทาคริลิก (Methacrylic acid) กับไดไวนิลเบนซีน (Divinylbenzene), กรดอะคริลิก (Acrylic acid) กับไดไวนิลเบนซีน เรซินที่นิยมใช้ คือ สไตรีน (Styrene) กับไดไวนิลเบนซีน แสดงดังรูป 1.3 แล้วทำการปรับปรุงพื้นผิวให้มีสมบัติแลกเปลี่ยนไอออนได้

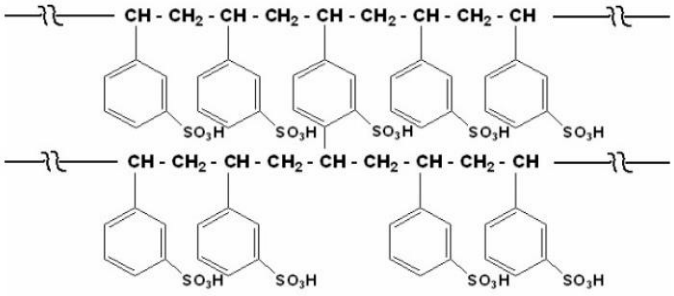


รูป 1.3 โคพอลิเมอร์ของสไตรีนกับไดไวนิลเบนซีน, x คือ หมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดอันตรกิริยา[13]

เรซินจะแสดงคุณสมบัติตามหมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดอันตรกิริยา ซึ่งสามารถแบ่งการแลกเปลี่ยนได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดแลกเปลี่ยนแคทไอออน (Cation exchangers) และ ชนิดแลกเปลี่ยนแอนไอออน (Anion exchangers)

1) ชนิดแลกเปลี่ยนแคทไอออน

แคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ชนิดนี้จะมีเรซินที่ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดอันตรกิริยาที่เป็นกรดอยู่ในอะโรมาติกนิวเคลียสเตรียมได้จากการทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อให้ได้หมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดอันตรกิริยาระหว่างหมู่ของกรดกับแคทไอออนต่างๆ มีคุณสมบัติที่สามารถแลกเปลี่ยนโปรตอน (H^+) กับแคทไอออนอื่นๆได้ดี ซึ่งสามารถแบ่งแคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ตามความแตกต่างของหมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดอันตรกิริยา ได้เป็น 2 ชนิด คือ แคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ที่แรง (Strong cation exchangers) ซึ่งเตรียมได้จากการนำกรดซัลฟิวริกทำปฏิกิริยากับพอลิเมอร์ของสไตรีนกับไดไวนิลเบนซีน ซึ่งจะทำให้หมู่ $-SO_3H$ เข้าไปอยู่ในพอลิเมอร์ ดังรูป 1.4



รูป 1.4 เรซินชนิดแลกเปลี่ยนแคทไอออน[14]

แคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ที่อ่อน (Weak cation exchangers) ได้จากหมู่ของกรดที่มีความแรงน้อยกว่าหมู่ $-SO_3H$ ได้แก่ กรดคาร์บอกซิลิก (Carboxylic acid, –COOH), กรดฟอสโฟนิก (Phosphonic acid, $-PO_3H$- หรือ $-PO_3H_2$), กรดฟอสฟินิก (Phosphinic acid, $-HPO_2H$- หรือ $-HPO_2H_2$), กรดฟีนอลิก (Phenolic, –OH) และกรดอาร์โซนิก (Arsonic acid, – AsO_3H- หรือ $-AsO_3H_2$) ความแรงของหมู่กรดแต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับค่าคงที่ของการแตกตัวของกรดนั้นๆ และปริมาณของโปรตอน (พีเอชของสารละลาย) เนื่องจากเรซินที่อยู่ในรูปของเกลือโซเดียมมีลักษณะเป็นเกลือของกรดอ่อนที่สามารถแตกตัวได้ ดังนั้นถ้าใช้

น้ำกลั่นล้างเรซินจะทำให้เรซินเกิดการแลกเปลี่ยนแคทไอออนกับโปรตอนแล้วกลับมาอยู่ในรูปของกรดอ่อนที่มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคทไอออนต่ำ เช่น

$$RCOO^- Na^+ + H_2O \leftrightharpoons RCOOH + Na^+ + OH^-$$ (R แทนด้วยพอลิเมอร์ของเรซิน)

ดังนั้นถ้าต้องการให้แคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ชนิดอ่อนสามารถเกิดการแลกเปลี่ยนแคทไอออนได้ดี ควรทำในสารละลายที่เป็นเบส หรือทำเรซินให้อยู่ในรูปของเกลือโซเดียม จะเห็นได้ว่าเรซินชนิดแคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์มีได้ 2 รูป คือที่อยู่ในรูปของ H^+ (Hydrogen form) และในรูปของ Na^+ (Sodium form)

2) ชนิดแลกเปลี่ยนแอนไอออน

แอนไอออนเอ็กซ์เชนจ์ชนิดนี้จะมีเรซินที่ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดอันตรกิริยาที่เป็นเบสอยู่ในอะโรมาติกนิวเคลียสเตรียมได้โดยทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อให้ได้หมู่ฟังก์ชันที่จะเกิดอันตรกิริยาระหว่างหมู่ของเบสกับแอนไอออนต่างๆ และสามารถแบ่งแอนไอออนเอ็กซ์เชนจ์ได้เป็น 3 ชนิด คือ แอนไอออนเอ็กซ์เชนจ์ชนิดแรง (Strong anion exchangers) จะมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้ดี เป็นกลุ่มของเบส Quaternary amine group ทำให้เรซินที่เตรียมได้มีฤทธิ์เป็นเบสแก่ ถ้ากลุ่มของเบสเป็น Tertiary และ Secondary amine ความแรงของเบสจะลดน้อยลงตามลำดับ จัดเป็นเรซินที่มีความแรงขนาดกลาง (Moderately basic anion exchangers) แต่ถ้ากลุ่มของเบสคือ เอมีน ($-NH_2$) จะมีความเป็นเบสต่ำมากกว่า จัดเป็นเรซินชนิดอ่อน (Weak anion exchangers) ปฏิกิริยาในการเตรียมมีดังนี้

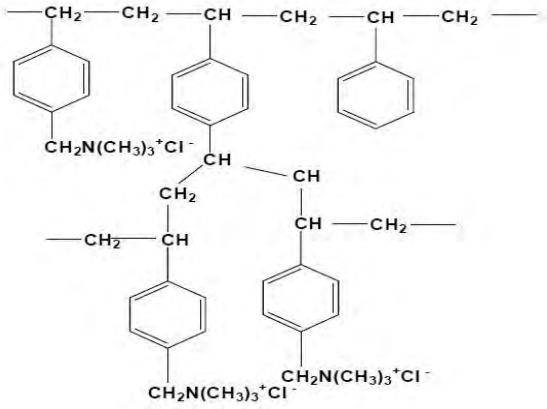
1) $R-CH_2Cl + N(CH_3)_3 \longrightarrow RCH_2N(CH_3)_3^+ Cl^- + H_2O \leftrightharpoons RCH_2N(CH_3)_3^+ OH^- + H^+ + Cl^-$

2) $R-CH_2Cl + NH(CH_3)_2 \longrightarrow RCH_2N(CH_3)_2 + H^+ + Cl^-$

3) $R-CH_2Cl + NH_2(CH_3) \longrightarrow RCH_2NH(CH_3) + H^+ + Cl^-$

4) $R-CH_2Cl + NH_3 \longrightarrow RCH_2NH_2 + H^+ + Cl^-$

โครงสร้างเรซินที่เตรียมได้มีลักษณะดังแสดงในรูป 1.5



รูป 1.5 เรซินชนิดแลกเปลี่ยนแอนไอออน[14]

เรซินที่เตรียมได้ตามปฏิกิริยาที่ 1) เป็นชนิดที่มีความเป็นเบสมากกว่า สามารถแลกเปลี่ยนไอออนกับแอนไอออนต่างๆได้ดี โดยไม่ขึ้นกับอยู่พีเอชของสารละลาย

$$xRCH_2N(CH_3)_3^+ Cl^- + A^{X-} \leftrightharpoons [RCH_2N(CH_3)_3^+]_x A^{X-} + xCl^-$$

$$xRCH_2N(CH_3)_3^+ OH^- + A^{X-} \leftrightharpoons [RCH_2N(CH_3)_3^+]_x A^{X-} + xOH^-$$

A^{X-} คือ แอนไอออนต่างๆ เช่น OH^-, SO_4^{2-}, NO_3^-

เรซินที่เตรียมได้ตามปฏิกิริยาที่ 2) และ 3) มีความเป็นเบสปานกลาง เมื่ออยู่ในสารละลายของน้ำจะเกิดการแตกตัวได้ OH^- ที่สามารถแลกเปลี่ยนกับแอนไอออนตัวอื่นได้

$$RCH_2N(CH_3)_2 + H_2O \leftrightharpoons RCH_2NH(CH_3)_2^+ OH^-$$

$$RCH_2NH(CH_3) + H_2O \leftrightharpoons RCH_2NH_2(CH_3)^+ OH^-$$

$$xRCH_2NH(CH_3)_2^+ OH^- + A^{X-} \leftrightharpoons [RCH_2NH(CH_3)_2^+]_x A^{X-} + xOH^-$$

การแตกตัวของเรซินเพื่อให้ได้ OH^- สำหรับแลกเปลี่ยนไอออนนั้นขึ้นอยู่กับพีเอชของสารละลาย โดยสารละลายที่มีพีเอชสูง หรือเป็นเบสมาก จะทำให้เรซินรับโปรตอนกลายเป็นประจุได้น้อยและความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนมีค่าน้อย ส่วนในสารละลายที่มีพีเอชต่ำหรือเป็นกรด จะทำให้เรซินแตกตัวให้ OH^- ได้ดี และได้เรซินที่อยู่ในรูปของเกลือที่มีการแตกตัวได้ดี

$$RCH_2N(CH_3)_2 + H_2O \longrightarrow RCH_2NH(CH_3)_2^+ OH^- + HCl \longrightarrow RCH_2NH(CH_3)_2^+ + H_2O$$

หรือ เขียนปฏิกิริยารวมได้เป็น

$$RCH_2N(CH_3)_2 + H_2O \longrightarrow RCH_2NH(CH_3)_2^+ Cl^-$$

ซึ่งเรซินที่อยู่ในรูปของเกลือคลอไรด์สามารถแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้ดีเช่นเดียวกับเรซินชนิดแรง

$$xRCH_2NH(CH_3)_2^+ Cl^- + A^{X-} \leftrightharpoons [RCH_2NH(CH_3)_2^+]_x A^{X-} + xCl^-$$

ดังนั้นถ้าต้องการให้แอนไอออนเรซินชนิดอ่อนปานกลางสามารถแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้ดี ควรทำในสารละลายที่เป็นกรดหรือพีเอชต่ำๆ เพื่อเปลี่ยนเรซินให้อยู่ในรูปของคลอไรด์ที่สามารถเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนได้ดี จะเห็นได้ว่าลักษณะของเรซินที่นำมาใช้ในการแลกเปลี่ยนแอนไอออนมีได้ 2 รูปเช่นกัน คือ อยู่ในรูปของ OH^- (Hydroxide form) และอยู่ในรูปของ Cl^- (Chloride form) สำหรับแอนไอออนเรซินชนิดอ่อนที่เตรียมได้ตามปฏิกิริยาที่ 4) จะอยู่ในรูปของเบสอิสระ (RCH_2NH_2) เมื่อต้องการนำมาใช้งานต้องนำมาทำปฏิกิริยากับกรดเกลือก่อน เพื่อทำให้อยู่ในรูปของคลอไรด์ จากนั้นจึงนำไปแลกเปลี่ยนกับแอนไอออนอื่นๆ

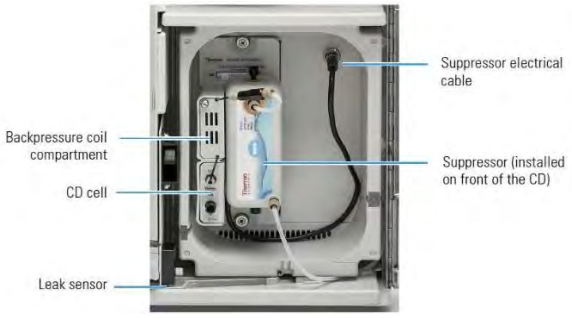
$$RCH_2NH_2 + HCl \longrightarrow RCH_2NH_3^+ Cl^-$$

$$xRCH_2NH_3^+ Cl^- + A^{X-} \leftrightharpoons [RCH_2NH_3^+]_x A^{X-} + xCl^-$$

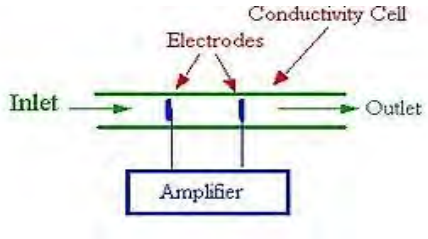
เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี ได้ถูกพัฒนาและปรับปรุงส่วนของคอลัมน์ที่ใช้ในการแยกให้มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูงขึ้น ใช้เวลาน้อยลง และใช้ได้กับการวิเคราะห์สารต่างๆที่อยู่ในรูปไอออนได้ทุกชนิด ทั้งสารอินทรีย์ อนินทรีย์ จึงถือเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ดีวิธีหนึ่ง ซึ่งสามารถขจัดปัญหาในการวิเคราะห์ได้หลายประการ เช่น ปัญหาการรบกวนจากสารมลทิน ปัญหาการเตรียมสารตัวอย่าง เพราะวิธีนี้สามารถนำสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวมาทำการวิเคราะห์ได้โดยตรง ไม่ต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก และปัญหาการพิสูจน์หรือแสดงเอกลักษณ์ (Identify) สารตัวอย่าง โดยลำดับของไอออนที่จะออกจากคอลัมน์ขึ้นอยู่กับขนาดและประจุของไอออนนั้นๆ กล่าวคือ ไอออนที่มีขนาดเล็กและมีประจุน้อยกว่า จะเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์เร็วกว่าไอออนที่มีขนาดใหญ่และมีประจุมากกว่า

1.4.1.2 ตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector)

เครื่องไอออนโครมาโทกราฟ มีการตรวจวัดสารละลายที่ได้จากการชะ (Elution) ด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ ดังรูป 1.6 ซึ่งวัดค่าการนำไฟฟ้า โดยการตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้านี้ถือเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำไอออนเอ็กซ์เชนจ์โครมาโทกราฟี เพราะไอออนทุกตัวที่อยู่ในสารละลายสามารถนำไฟฟ้าได้ โดยหลักการทำงานของตัวตรวจวัดสัญญาณ คือ เมื่อไอออนเคลื่อนที่เข้ามายังตัวตรวจวัดสัญญาณซึ่งประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 อัน จะทำให้สภาพต้านทานไฟฟ้า (Electrical resistance) เปลี่ยนไปเกิดสัญญาณที่จะส่งต่อไปยังตัวขยายสัญญาณ จากนั้นจะมีการแปรผลและจัดเก็บข้อมูลไปยังคอมพิวเตอร์ ดังรูป 1.7 ส่วนค่าการนำไฟฟ้าที่วัดได้จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของไอออนในสารตัวอย่าง และระยะเวลาที่ใช้ในการชะสารตัวอย่างจากคอลัมน์มาเข้าตัวตรวจวัดสัญญาณ หรือรีเทนชันไทม์ (Retention time) จะขึ้นอยู่กับชนิดของไอออน ทำให้สามารถประยุกต์วิธีการนี้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณและการวิเคราะห์ทางคุณภาพได้



รูป 1.6 ตัวตรวจวัดสัญญาณของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12]

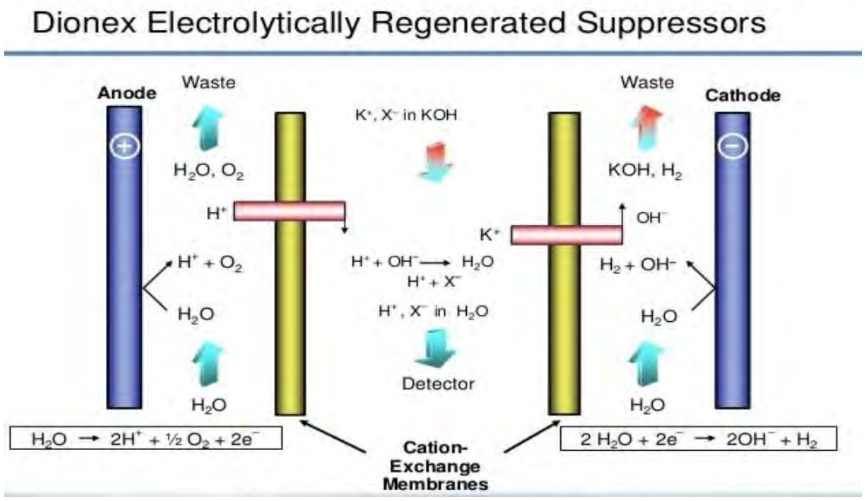


รูป 1.7 หลักการทำงานของตัวตรวจวัดสัญญาณของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12]

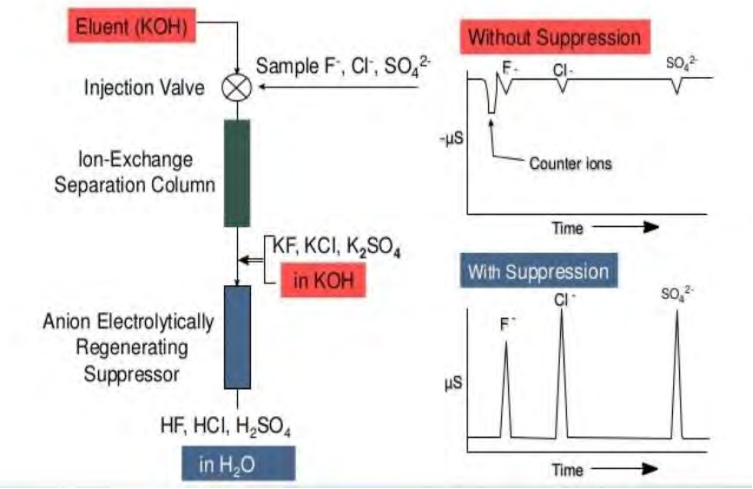
1.4.1.3 ตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดและลดสัญญาณรบกวน (Suppressor column)

เครื่องไอออนโครมาโทกราฟ จำเป็นต้องมีตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดและลดสัญญาณรบกวน ดังรูป 1.8 เนื่องจากสารละลายตัวชะมีความเข้มข้นของไอออนสูง ทำให้ค่าการนำไฟฟ้าของตัวชะก่อนใช้งานมีค่าสูง เมื่อผ่านตัวชะลงในคอลัมน์ แล้วนำสารละลายที่ได้จากการชะมาวัดค่าการนำไฟฟ้า จึงไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้า เพราะให้ค่าการนำไฟฟ้าของสารตัวอย่างน้อยมาก เมื่อเทียบกับค่าการนำไฟฟ้าที่เกิดจากตัวชะที่มีอยู่เดิม ดังนั้นจึงแก้ปัญหาโดยการทำให้ตัวชะถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ คือมีการลดลงของสัญญาณพื้นก่อนที่จะผ่านเข้าไปยังตัวตรวจวัดสัญญาณ ดังรูป 1.9 ทั้งนี้ภายในตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดสารตัวอย่างและลดสัญญาณรบกวน จะมีไอออนเอ็กซ์เชนจ์เมมเบรน เช่น แคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์เมมเบรนชนิดแรงสำหรับวิเคราะห์แอนไอออน จะเกิดการแลกเปลี่ยน H^+ กับแคทไอออนของตัวชะ ในกรณีที่ใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เป็นตัวชะ H^+ จะแลกเปลี่ยนกับ K^+ ทำให้เกิดน้ำ (H_2O) ขึ้นแทน ทำให้ค่าการนำไฟฟ้าของตัวชะลดลง ในขณะที่แอนไอออนที่ต้องการวิเคราะห์ก็มีการแลกเปลี่ยนแคทไอออนเป็น H^+ ทำให้มีค่าการนำไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้น ดังรูป 1.10

รูป 1.8 ตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดและลดสัญญาณรบกวนของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12]



รูป 1.9 กระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนของตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดและลดสัญญาณรบกวนของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12]



รูป 1.10 การแสดงผลเมื่อใช้ตัวช่วยขยายสัญญาณการตรวจวัดและลดสัญญาณรบกวนของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ[12]

1.4.2 การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลว (Liquid-phase microextraction, LPME)[15] เป็นเทคนิคการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจให้เคลื่อนที่จากสารละลายตัวอย่างที่เป็นเฟสให้ไปยังเฟสรับที่มีปริมาตรน้อยๆ ในระดับไมโครลิตรของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด ซึ่งไม่รวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ เทคนิคนี้ช่วยลดปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์และระยะเวลาการสกัด ถึงแม้เทคนิคนี้จะให้ประสิทธิภาพในการสกัด (Extraction efficiency, EE) ที่ไม่สูง แต่จะสามารถลดสัญญาณเมทริกซ์ในตัวอย่างหรือทำให้ความเข้มข้นของสารเป้าหมายหลังสกัดสูงขึ้นได้ แสดงด้วยค่าการเพิ่มความเข้มข้น (Enrichment factor, EF) ดังสมการ

$$EE = \frac{n_{\mathrm{org}}}{n_{\mathrm{i}}} = \frac{K_{\mathrm{d}} V_{\mathrm{org}}}{K_{\mathrm{d}} V_{\mathrm{org}} + V_{\mathrm{aq}}}$$

$$EF = \frac{c_{\mathrm{org}}}{c_{\mathrm{i}}} = EE \frac{V_{\mathrm{aq}}}{V_{\mathrm{org}}}$$

โดยที่ n_{org} คือ จำนวนโมลของสารที่สนใจในเฟสรับ

n_i คือ จำนวนโมลของสารที่สนใจในเฟสให้

K_d คือ สัมประสิทธิ์การกระจายตัวของความเข้มข้นสารที่สนใจระหว่างเฟสรับและเฟสให้

V_{org} คือ ปริมาตรของเฟสรับ

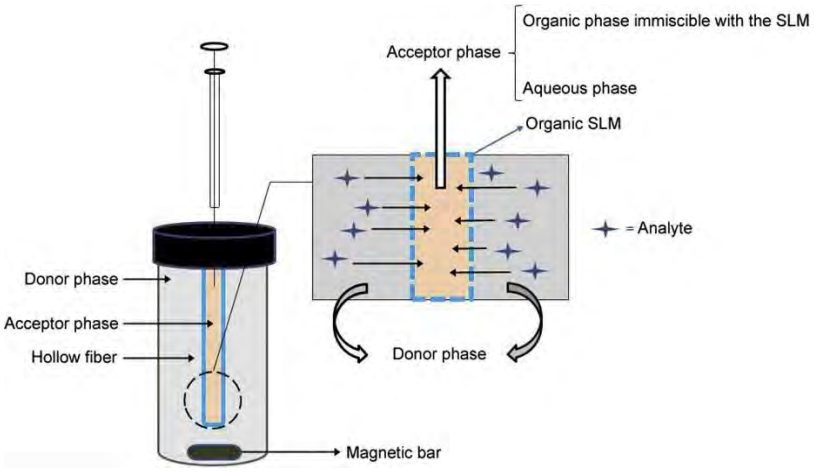
V_{aq} คือ ปริมาตรของเฟสให้

C_{org} คือ ความเข้มข้นของสารที่สนใจในเฟสรับ

C_i คือ ความเข้มข้นของสารที่สนใจในเฟสให้

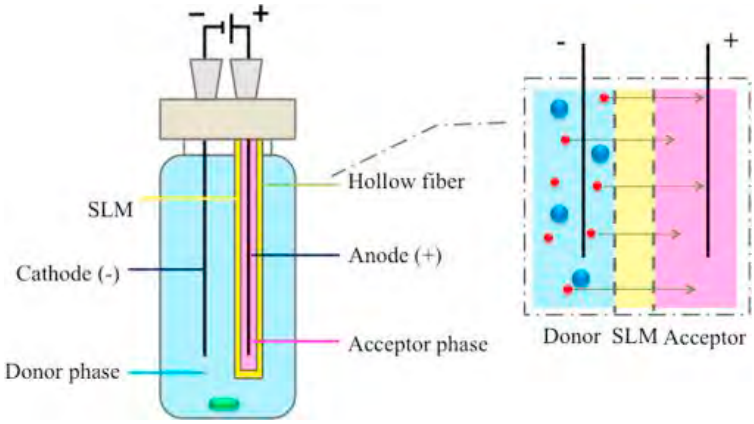
โดย EF จะแปรผันตรงกับ $\frac{V_{\mathrm{aq}}}{V_{\mathrm{org}}}$ และสามารถปรับให้เพิ่มขึ้นได้ โดยการปรับ EE หรือเพิ่มสัดส่วนการกระจายตัวของสารที่สนใจในเฟสรับ

เทคนิคการสกัดด้วยเมมเบรน (Membrane-based extraction)[16] เป็นเทคนิคการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจจากเฟสให้ผ่านเมมเบรนไปยังเฟสรับ ดังรูป 1.11 สามารถแบ่งชนิดของเมมเบรนได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ Supported liquid membrane (SLM) ซึ่งประกอบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์บรรจุอยู่ภายในโครงสร้างรูพรุนของเมมเบรน และเมมเบรนที่ไม่มีรูพรุน (Nonporous membrane) การสกัดผ่าน SLM จะให้ความจำเพาะเจาะจงในการสกัด (Selectivity) ที่ขึ้นกับขนาดของรูพรุน ในขณะที่การสกัดผ่านเมมเบรนที่ไม่มีรูพรุนจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายและอัตราการแพร่ของสารที่สนใจภายในเมมเบรน เทคนิคนี้อาจมีข้อจำกัดในการสกัดสารที่มีประจุ



รูป 1.11 เทคนิคการสกัดด้วยเมมเบรน[17]

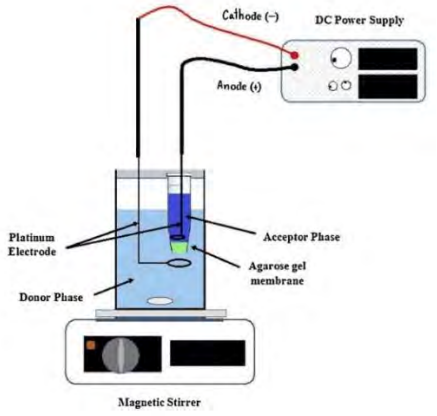
เทคนิคการสกัดด้วยอิเล็กโทรเมมเบรน (Electromembrane extraction, EME)[18] เป็นเทคนิคการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของสารที่มีประจุ โดยสารที่มีประจุจะเคลื่อนที่จากเฟสให้ไปยังเฟสรับผ่าน SLM ภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้าด้วยการให้ศักย์ไฟฟ้าจากภายนอก ดังรูป 1.12 ส่งผลให้ใช้ระยะเวลาในการสกัดน้อยลง อย่างไรก็ตาม การสกัดด้วยเทคนิคนี้ยังต้องใช้เมมเบรนและตัวทำละลายอินทรีย์



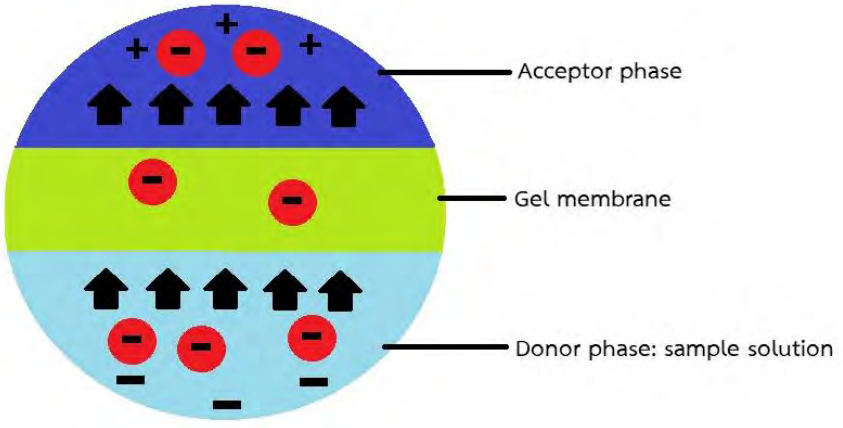
รูป 1.12 เทคนิคการสกัดด้วยอิเล็กโทรเมมเบรน[19]

เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน เป็นเทคนิคการสกัดที่ใช้หลักการของการสกัดด้วยเมมเบรนควบคู่กับการให้ศักย์ไฟฟ้าผ่านสารละลายระหว่างเมมเบรน โดยใช้เมมเบรนชนิดเจล ซึ่งมีวิธีการคือ การให้ศักย์ไฟฟ้าลงไปที่ขั้วไฟฟ้าที่จุ่มอยู่ในสารละลายของเฟสให้และเฟสรับ สารที่มีประจุจะเกิดการเคลื่อนที่อย่างจำเพาะด้วยสนามไฟฟ้าจากเฟสให้ผ่านเมมเบรนไปยังเฟสรับ เทคนิคนี้ช่วยลดระยะเวลาในการสกัด ลดผลของเมทริกซ์ และช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจเพื่อเพิ่มความไวในการตรวจวัด (Sensitivity) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสารที่สนใจในตัวอย่างมีความเข้มข้นอยู่ในปริมาณน้อย (Trace concentration levels) อีกทั้งยังเป็นเทคนิคที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากไม่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด เจลเมมเบรนมีความเสถียร สามารถขึ้นรูปได้ง่ายในความหนาและรูปทรงต่างๆ สามารถสกัดสารที่มีขั้วโดยไม่ต้องผ่านปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อน นอกจากนี้ ยังเป็นเทคนิคที่ให้ค่าการเพิ่มความเข้มข้นและความไวในการตรวจวัดที่สูง[20]

ในงานวิจัยนี้ การสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน แบ่งได้เป็น 3 ส่วน ดังแสดงในรูป 1.13 ซึ่งได้แก่ เฟสให้ (Donor phase) เป็นสารละลายตัวอย่างที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์, เมมเบรน คือ อะกาโรสเจล และเฟสรับ (Acceptor phase) เป็นสารละลายตัวรับโดยหลังการสกัดจะมีสารที่ต้องการวิเคราะห์อยู่ โดยการสกัดจะเกิดดังรูป 1.14



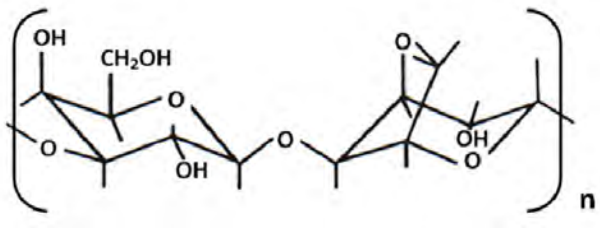
รูป 1.13 การสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน[21]



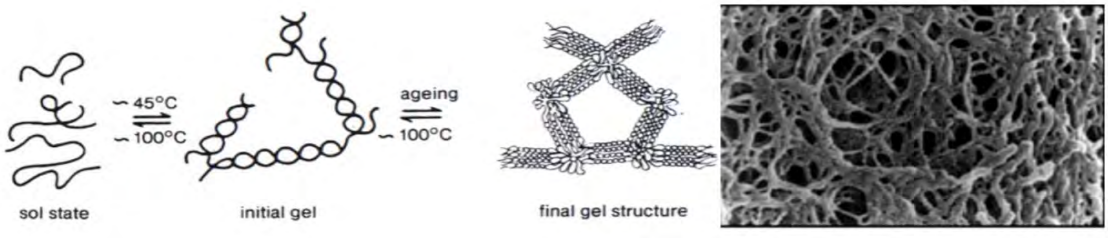
รูป 1.14 กลไกการเคลื่อนที่ของสารที่มีประจุในการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

1.4.3 อะกาโรส

อะกาโรส (Agarose)[22] เป็นพอลิแซคคาไรด์สายยาวมวลโมเลกุลสูงที่ถูกสกัดมาจากผนังเซลล์ของสาหร่ายทะเลสีแดง โครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยมอนอเมอร์ คือ อะกาโรไบโอส (Agarobiose) ที่เกิดจากการจับกันของ D-galactose และ 3,6-anhydro-α-L-galactose ด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic linkage) แบบ β (1→4) ดังรูป 1.15 (ปลายของน้ำตาลกาแลคโทสอาจเกิดการแทนที่ด้วยประจุลบของหมู่ซัลเฟตและหมู่คาร์บอกซิลจากสิ่งเจือปน ทำให้เกิดประจุลบที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ภายในโมเลกุล) อะกาโรสสามารถละลายได้ดีในน้ำเดือด เมื่อทำให้เย็นตัว สายโซ่ของอะกาโรสจะจับกันแบบ Side-by-side ทำให้เกิดเส้นใยแบบเกลียว จากนั้นจึงเกิดการรวมตัวระหว่างเส้นใยแบบ Interlocking network ด้วยพันธะไฮโดรเจน กลายเป็นโครงสร้าง 3 มิติที่มีรูพรุน ดังรูป 1.16 ซึ่งมีลักษณะเป็นเจลที่มีความแข็งแรงที่เกิดจากการจับกันของสายโซ่อะกาโรสจำนวนมากภายในโครงสร้าง



รูป 1.15 โครงสร้างทางเคมีของอะกาโรส[23]



รูป 1.16 โครงสร้างของอะกาโรสเจล[24]

1.4.4 ไอโอเดต

ไอโอเดต มีสูตรโมเลกุล คือ IO_3^- เป็นสปีชีส์หนึ่งที่เปลี่ยนแปลงมาจากไอโอดีน (I_2) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของสารอาหารที่ร่างกายมนุษย์ต้องการ นิยมใช้ในรูปของโพแทสเซียมไอโอเดต (KIO_3) ที่ใช้ในการผลิตเกลือเสริมไอโอดีน ซึ่งมีความเสถียรต่อแสงแดดและความร้อนมากกว่าโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)[25]

ไอโอเดตสามารถเกิดการรวมตัวและสลายตัวได้ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเชิงซ้อนของโมเลกุลไอโอดีน (I_2) นำไปสู่การเกิดไอโอไดด์และกรดไฮโปไอโอดัส (HOI) ดังสมการ (1)

$$I_2 + H_2O \quad \leftrightarrow \quad I^- + HOI + H^+ \qquad (1)$$

จากนั้นเกิดปฏิกิริยา Disproportionation ของ HOI เพื่อให้เกิดไอโอเดตและไอโอไดด์ ดังสมการ (2)

$$3HOI \quad \leftrightarrow \quad 2I^- + IO_3^- + 3H^+ \qquad (2)$$

เมื่อรวมสมการ (1) และ (2) จะได้สมการรวม ดังสมการ (3)

$$3I_2 + 3H_2O \quad \leftrightarrow \quad 5I^- + IO_3^- + 6H^+ \qquad (3)$$

ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (pH ≤ 4) และมีปริมาณของไอโอไดด์มากเกินพอ ไอโอไดด์จะถูกออกซิไดส์อย่างรวดเร็วโดยไอโอเดต และไฮโปไอโอไดต์ กลับไปอยู่ในรูปโมเลกุลไอโอดีน

ปัจจัยที่ส่งผลต่อความเสถียรของไอโอเดต คือ สภาวะความเป็นกรด-เบส โดยในสภาวะกรด (pH 2-5) ไอโอเดดจะมีความเสถียร ไม่มีการเกิดปฏิกิริยารีดักชันและออกซิเดชันจากสิ่งเจือปนในสารละลาย ที่จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปไอโอไดด์และเพอริโอเดต (IO_4^-) ตามลำดับ ในสภาวะเบส (pH 9-11) ไอโอเดตมีความเสถียร แต่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกลายเป็นเพอริโอเดต หากมีโมเลกุลของคลอรีนในสารละลาย นอกจากนี้ ปัจจัยอื่นๆที่ส่งผลต่อความเสถียรของไอโอเดต เช่น ไอโอเดตสามารถเกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิสูง 100 องศาเซลเซียส หรือการมีอยู่ของสิ่งเจือปนที่มีประจุบวกของโลหะ หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)[26]

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีหาปริมาณไอโอเดตโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน สำหรับตรวจวัดด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 อุปกรณ์

1. เครื่องไอออนโครมาโทกราฟ (Ion chromatography, IC) (Dionex Integrion HPIC System)
2. แหล่งกำเนิดไฟฟ้ากระแสตรง (Laboratory DC power supply)
3. สายไฟปากจระเข้ (Alligator clip test lead)
4. ลวดแพลทินัม (Platinum wire)
5. หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ขนาด 1.5 mL (Microcentrifuge tube) (Eppendorf)
6. ใบมีด (Razor)
7. ไมโครเวฟ (Microwave)
8. กระดาษเช็ดทำความสะอาด Kimtech (KIMTECH SCIENCE* KIMWIPES* delicate task wipers)
9. เทปใส (Scotch tape)
10. นาฬิกาจับเวลา (Stopwatch)
11. เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic stirrer) (IKA RCT basic safety control)
12. แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)
13. เครื่องชั่งสาร (Analytical balance)
14. เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter)
15. ขวดบรรจุสารสำหรับสกัดขนาด 10 mL (Headspace vial)
16. ขวดเก็บสารละลาย 30, 250 mL (Insert vial)
17. ปิเปต และ ปิเปตทิปขนาด 10 µL, 100 µL, 1000 µL, 10 mL (Autopipette and tips)
18. ขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00, 250.00 mL (Volumetric flask)
19. เข็มฉีดสารปริมาตร 250 µL (Microsyringe)
20. ช้อนตักสาร (Spatula)
21. เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ (Beaker) , หลอดดูดสาร (Dropper)

2.2 สารเคมี

1. ผงอะกาโรส (Agarose powder)
2. โพแทสเซียมไอโอเดต (KIO_3)
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

4. ไนตริก (HNO_3)
5. น้ำบริสุทธิ์ (Milli-Q water)
6. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมเมมเบรนชนิดเจล

ชั่งผงอะกาโรส 0.2 กรัม และเติมน้ำบริสุทธิ์ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปอุ่นในไมโครเวฟจนสารละลายใสเป็นเนื้อเดียวกัน และทำการปิเปตสารละลายร้อนปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ทำการปิดฝา และนำไปแช่ในตู้เย็นเป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้ได้เมมเบรนชนิดเจลที่มีความคงรูป

2.3.2 การเตรียมสารละลายต่างๆ

2.3.2.1 สารละลายมาตรฐานไอโอเดต

เตรียมสารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้นที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการละลายโพแทสเซียมไอโอเดต 0.0306 กรัม ด้วยน้ำบริสุทธิ์ และปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร

2.3.2.2 สารละลายไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

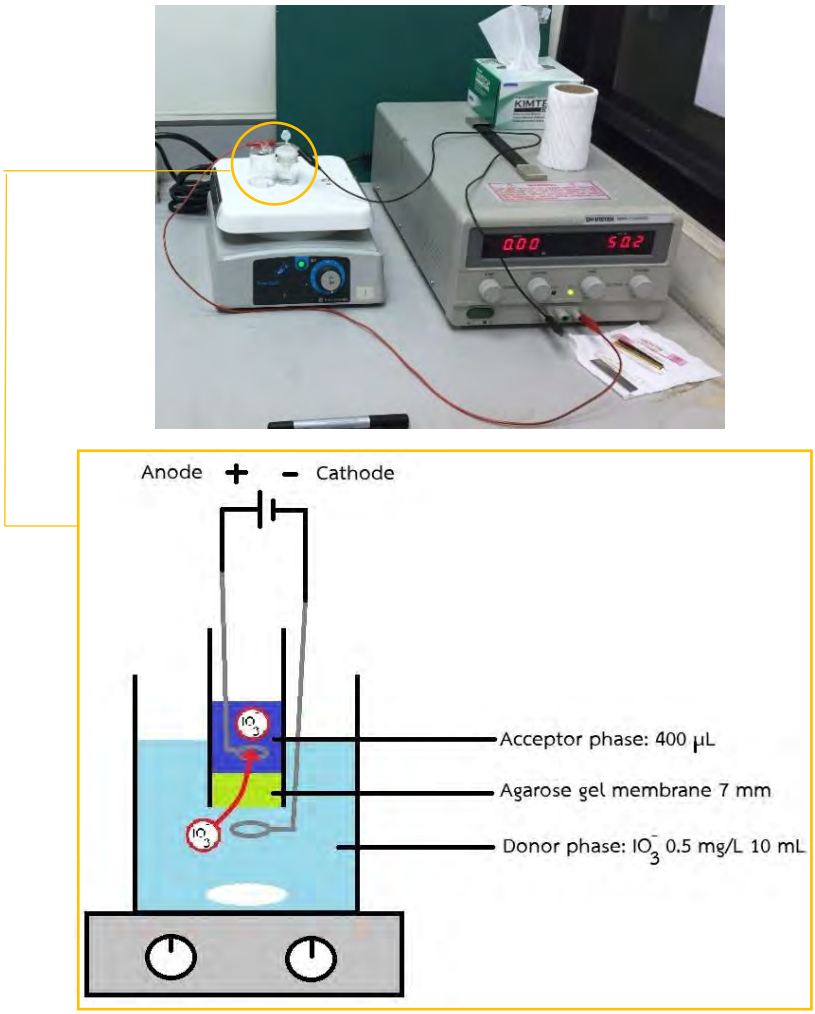
ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดต 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 250.00 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์

2.3.3 การสกัดและเพิ่มความเข้มข้นโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

การสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ในงานวิจัยนี้ใช้อะกาโรสเจลเป็นเมมเบรน โดยที่สารละลายตัวรับเป็นน้ำบริสุทธิ์ และสารละลายตัวให้เป็นสารละลายไอโอเดต ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นสารที่ต้องการวิเคราะห์ และหากต้องการปรับพีเอชของอะกาโรสเจล สารละลายตัวให้และสารละลายตัวรับ สามารถปรับได้ด้วย 0.1 โมลต่อลิตร ไนตริก หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และตรวจวัดด้วยพีเอชมิเตอร์ก่อนผสมลงไปในระบบสกัด

รูป 2.1 แสดงการจัดตั้งการสกัด โดยลำดับแรก ทำการบรรจุสารละลายตัวให้ คือ สารละลายไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวดบรรจุสารสำหรับสกัดขนาด 10 มิลลิลิตร ที่บรรจุแท่งแม่เหล็กกวนสารเอาไว้แล้ว จากนั้นทำการเปิดฝาหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ที่มีเจลบรรจุอยู่ภายในเพื่อลดความดันภายในหลอด และใช้ใบมีดตัดปลายด้านล่างของหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ให้ได้เจลผิวเรียบที่มีความหนา 7 มิลลิเมตร เพื่อใช้เป็นเมมเบรน หลังจากที่ตัดเจลแล้ว เจลจะต้องคงรูป และไม่เลื่อนหลุดออกจากหลอด จากนั้นใช้เทปใสติดลวดแพลทินัมกับตัวหลอดให้แน่น โดยให้ปลายของลวดแพลทินัมที่ขดเป็นรูปตัวยู อยู่ใกล้บริเวณผิวเจล และทำการบรรจุหลอดเจลที่ติดลวดแพลทินัมเรียบร้อยแล้วลงในฝากลวง เพื่อประคองหลอดเจลนี้ไม่ให้เลื่อน

หลุด และนำฝาที่มีหลอดเจลอยู่ภายในไปปิดลงบนขวดบรรจุสารละลายตัวให้ ต่อมาทำการเติมสารละลายตัวรับ คือ น้ำบริสุทธิ์ โดยปิเปตน้ำบริสุทธิ์ปริมาตร 400 µL ลงในหลอดเจล จากนั้นทำการต่อสายไฟเข้ากับลวดแพลทินัมที่จุ่มอยู่ในสารละลายไอโอเดต เพื่อให้เป็นขั้วไฟฟ้าลบ (ขั้วแคโทด) และในส่วนของขั้วไฟฟ้าบวก (ขั้วแอโนด) ทำการต่อสายไฟเข้ากับลวดแพลทินัมที่ปลายขดเป็นรูปตัวยูเช่นเดียวกันอีกเส้นหนึ่ง และนำไปจุ่มในน้ำบริสุทธิ์ที่อยู่เหนือเจลเมมเบรน จากนั้นทำการต่อสายไฟทั้ง 2 เส้น เข้ากับแหล่งกำเนิดไฟฟ้ากระแสตรง หลังจากนั้นจึงเริ่มทำการสกัด โดยเปิดเครื่องกวนสารละลาย และแหล่งกำเนิดไฟฟ้ากระแสตรง เมื่อครบเวลาการสกัดที่กำหนด ให้ทำการดูดสารที่สกัดได้ในเฟสรับลงในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์อีกหลอดหนึ่ง ก่อนจะนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ



รูป 2.1 การจัดตั้งอุปกรณ์สำหรับเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

2.3.4 การวิเคราะห์ไอโอเดตด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

ทำการวิเคราะห์สารที่สกัดได้จากหัวข้อ 2.3.3 โดยการใช้เข็มฉีดสารปริมาตร 250 ไมโครลิตร ดูดสารที่สกัดได้ปริมาตร 150 ไมโครลิตร และทำการฉีดเข้าไปในเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ แสดงดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 สภาวะในการวิเคราะห์ไอโอเดตด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

พารามิเตอร์	สภาวะ
คอลัมน์	Dionex IonPacTM AG 19 ขนาด 4x50 มิลลิเมตร
เฟสเคลื่อนที่	Gradient, โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10-50 มิลลิโมลาร์
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	1 มิลลิลิตรต่อนาที
Suppressor setpoint	124 มิลลิแอมป์
Injection volume	25 ไมโครลิตร
โปรแกรม	Chromeleon 7 chromatography data system
ตัวตรวจวัด	Conductivity detector

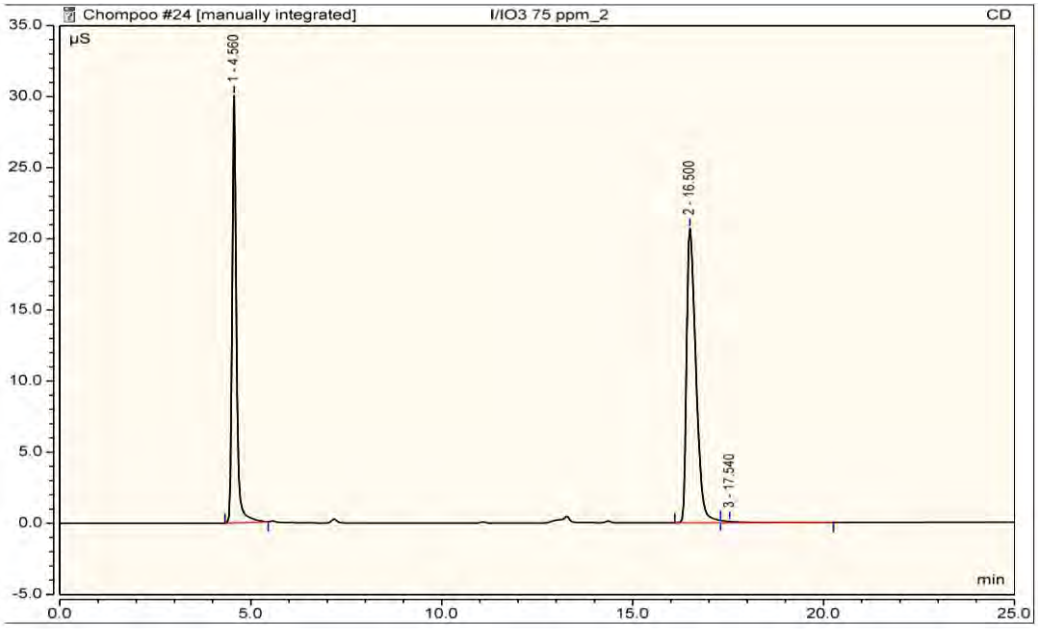
2.3.5 การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน 6 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล ตั้งแต่ 1 ถึง 4 %w/v, ความหนาของอะกาโรสเจล 3, 5, 7, 9 และ 11 มิลลิเมตร, พีเอชของอะกาโรสเจล ตั้งแต่ 3 ถึง 9, พีเอชของสารละลายตัวให้ ตั้งแต่ 4 ถึง 9, พีเอชของสารละลายตัวรับ ตั้งแต่ 4 ถึง 8 และศักย์ไฟฟ้าที่ให้ ตั้งแต่ 20 ถึง 60 โวลต์ โดยทำการศึกษาแต่ละปัจจัยที่ความเข้มข้นไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรในน้ำบริสุทธิ์ ใช้เวลาในการสกัด 10 นาที และทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ตามขั้นตอนในหัวข้อ 2.3.3 ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี จะพิจารณาจากค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดได้

บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การวิเคราะห์ไอโอเดตด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

จากการวิเคราะห์ไอโอเดตที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรในน้ำบริสุทธิ์ และนำไปสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ก่อนตรวจวัดด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยทำการให้ศักย์ไฟฟ้า 50 โวลต์และสกัดเป็นระยะเวลา 10 นาที ใช้เวลาในการวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ 25 นาที โดยทำการวิเคราะห์เทียบกับแบลงค์ ซึ่งเป็นน้ำบริสุทธิ์ที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคเดียวกัน พบว่า เวลาที่ไอโอเดตเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ เท่ากับ 4.560 นาที ดังรูป 3.1 ซึ่งให้พีคของไอโอเดตที่สามารถแยกออกจากพีคขององค์ประกอบอื่นๆภายในเจลเมมเบรนได้ ดังนั้นจึงสามารถทำการวิเคราะห์ไอโอเดตด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี



รูป 3.1 โครมาโทแกรมของสารละลายผสมระหว่างไอโอเดตและไอโอไดด์ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 25 นาที ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยพีคที่ 1 คือ พีคของไอโอเดต ใช้เวลาเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ เท่ากับ 4.560 นาที และพีคที่ 2 คือ พีคของไอโอไดด์ ใช้เวลาเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ เท่ากับ 16.500 นาที

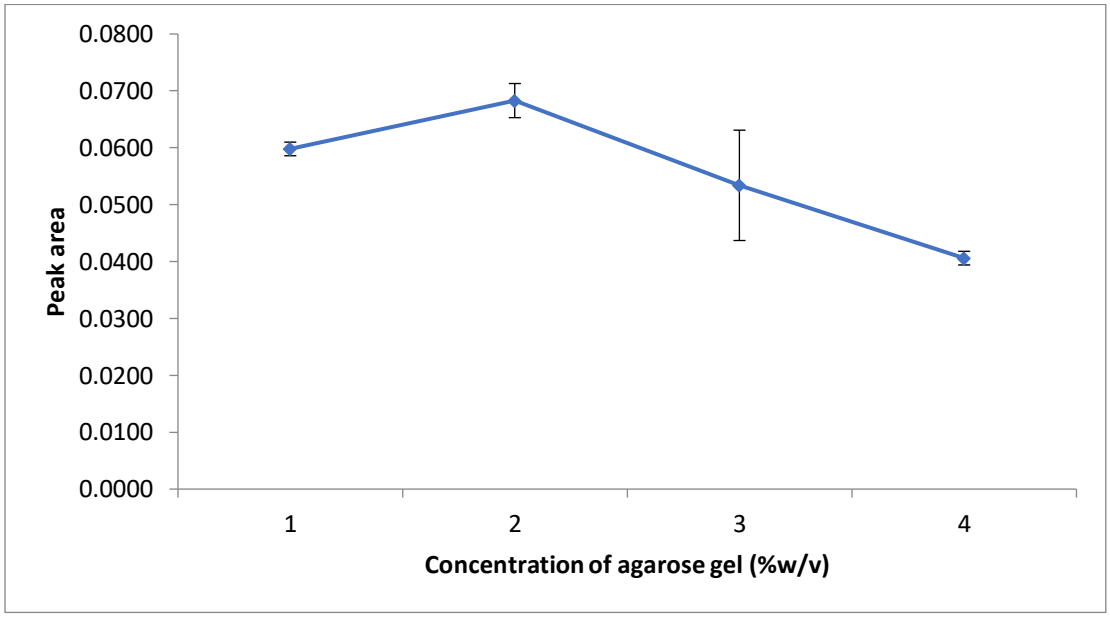
3.2 การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

ในเทคนิคการสกัดด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน การเคลื่อนที่ของสารที่สนใจผ่านเจลเมมเบรนจะเกิดผ่านแรงขับเคลื่อน 2 แรง ได้แก่ Electro-migration และ Electroendosmosis (EEO)[27] แรงทั้ง 2 ชนิด สามารถเกิดขึ้นได้พร้อมกันในระหว่างขั้นตอน

การสกัด โดยที่ Electro-migration จะเป็นแรงขับเคลื่อนให้สารที่สนใจเกิดการเคลื่อนย้ายผ่านเจลเมมเบรนจากเฟสให้ไปยังเฟสรับ ซึ่งเป็นผลดีต่อประสิทธิภาพในการสกัด ในขณะที่ EEO จะเป็นแรงขับเคลื่อนที่ทำให้ของเหลวภายในระบบเคลื่อนที่ผ่านเจลเมมเบรน ซึ่งเกิดจากการมีอยู่ของหมู่ซัลเฟต (SO_4^{2-}) และหมู่คาร์บอกซิล (COO^-)[28] จากสิ่งเจือปน ที่ทำให้เมทริกซ์ของอะกาโรสเจลเมมเบรนมีประจุลบที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เมื่ออยู่ภายใต้สนามไฟฟ้า ไอออนบวกในน้ำที่จับอยู่กับประจุลบดังกล่าวภายในอะกาโรสเจล จะเกิดการเคลื่อนที่ไปยังขั้วแคโทด น้ำจึงถูกดึงให้ไหลออกมาตามไอออนบวกนั้น ซึ่งจะส่งผลต่อปริมาตรของเฟสรับ โดยในระหว่างการสกัด เฟสรับซึ่งเป็นสารละลายที่มีขั้วแอโนดจุ่มอยู่จะมีปริมาตรลดลง ส่งผลต่อการเก็บสารละลายตัวรับหลังสกัดเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ ดังนั้น เพื่อที่จะลดผลของ EEO ในขั้นตอนการสกัด ผู้วิจัยจึงได้เลือกชนิดของเจลเมมเบรนสำหรับการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน คือ อะกาโรสที่มีค่า Electroendosmosis ต่ำ (Low EEO) โดยจากการทดลอง ยังคงพบการลดลงของปริมาตรของเฟสรับ ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่พบได้ในการสกัดด้วยการใช้เจลอิเล็กโทรเมมเบรน

3.2.1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล

ความเข้มข้นของอะกาโรส ส่งผลต่อความคงตัวของเจลเมมเบรนและการเคลื่อนที่ของไอโอเดตผ่านเมมเบรน จึงทำการศึกษาความเข้มข้นของอะกาโรสเจลในน้ำบริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ได้แก่ 1, 2, 3 และ 4 %w/v ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ดังแสดงในรูป 3.2

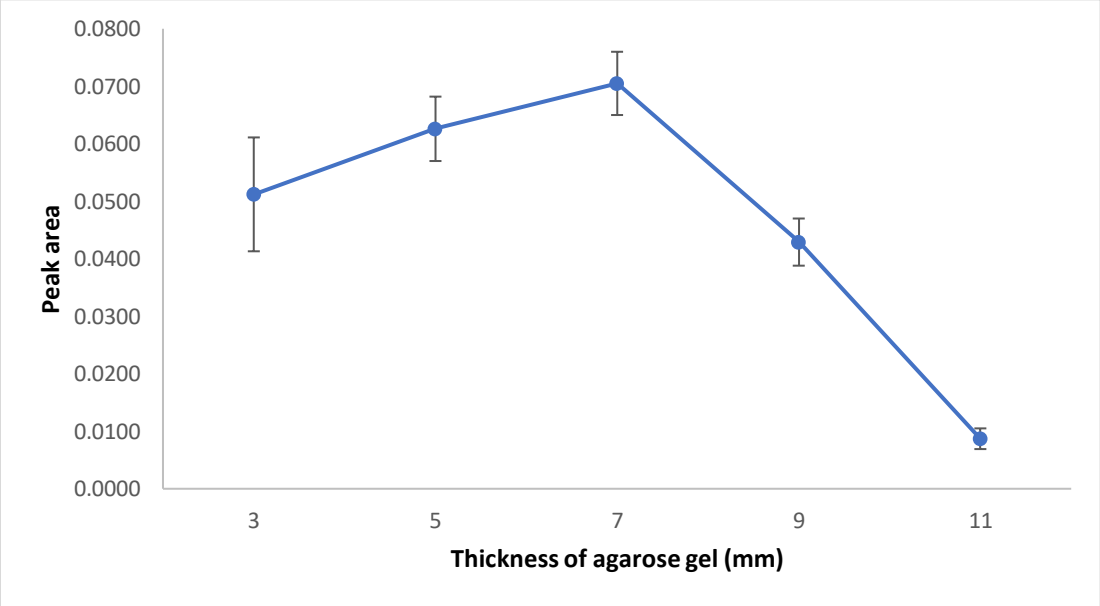


รูป 3.2 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนที่ความเข้มข้นต่างๆของอะกาโรสเจล (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, พีเอชของอะกาโรสเจล สารละลายตัวให้ และสารละลายตัวรับ เท่ากับ 6, ความหนาของอะกาโรสเจล 5 มิลลิเมตร, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)

จากการทดลองพบว่า ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อความเข้มข้นของอะกาโรสเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร และลดลงเมื่อความเข้มข้นของอะกาโรสเพิ่มมากขึ้น สามารถอธิบายได้ว่า ความเข้มข้นของอะกาโรส ส่งผลต่อการรวมตัวกันของสายโซ่อะกาโรสกลายเป็นเจลที่มีโครงสร้างเป็นเกลียว 3 มิติ ซึ่งจะให้ขนาดของรูพรุนและความคงตัวของเมมเบรนที่ต่างกัน เมื่ออะกาโรสมีความเข้มข้นต่ำ ในที่นี้คือ 1 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร จะทำให้เจลเมมเบรนที่เตรียมขึ้นมามีรูพรุนกว้างแต่มีความคงตัวต่ำ เพราะ อะกาโรสมีปริมาณน้อย จึงเกิดการจับกันของสายโซ่อะกาโรสภายในโครงสร้างน้อย ทำให้มีแนวโน้มที่จะเสียสภาพได้ในระหว่างขั้นตอนการสกัด การสกัดไอโอเดตจึงเกิดได้ไม่ดี ในขณะที่ความเข้มข้นของอะกาโรสสูง ในที่นี้ คือ 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร อะกาโรสจะมีปริมาณมากและจับกันได้มาก ทำให้เมมเบรนมีความหนาแน่นสูง ได้เจลเมมเบรนที่มีความคงตัวสูงและมีขนาดของรูพรุนเล็กลง[21] แต่เพราะขนาดของรูพรุนที่เล็ก ทำให้ไอโอเดตเคลื่อนที่ผ่านเจลเมมเบรนได้ยาก หรืออาจเกิดการติดอยู่ในรูพรุนของเมมเบรน ส่งผลให้การสกัดไอโอเดตเกิดได้น้อยลง ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของอะกาโรสที่เหมาะสม คือ 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร

3.2.2 ความหนาของอะกาโรสเจล

ความหนาของอะกาโรสเจลมีบทบาทสำคัญในเรื่องความคงตัวของเจลและระยะทางภายในเจลที่ส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของไอโอเดต โดยในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาความหนาของอะกาโรสเจลที่แตกต่างกัน ได้แก่ 3, 5, 7, 9 และ 11 มิลลิเมตร ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ดังแสดงในรูป 3.3



รูป 3.3 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนที่ความหนาต่างๆของอะกาโรสเจล (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, พีเอชของอะกาโรสเจล สารละลายตัวให้ และสารละลายตัวรับ เท่ากับ 6, ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)

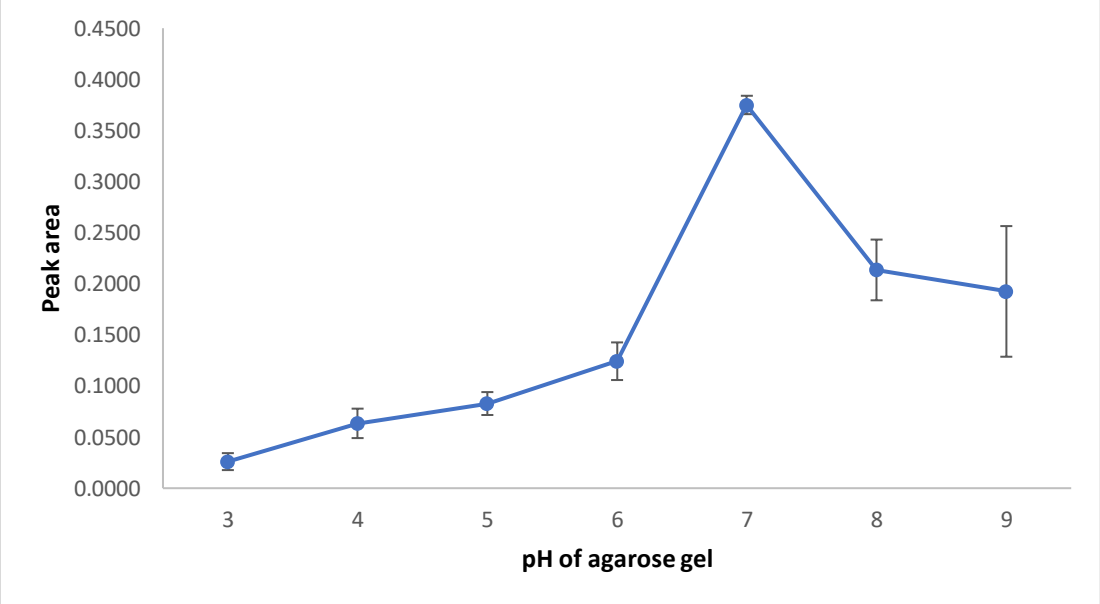
จากการทดลองพบว่า ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อความหนาของอะกาโรสเจลเท่ากับ 7 มิลลิเมตร และลดลงเมื่ออะกาโรสเจลมีความหนามากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจาก การสกัดด้วยอะกาโรสเจลเมมเบรนที่มีความหนาน้อย ในที่นี้คือ 3 และ 5 มิลลิเมตร จะทำให้เจลเมมเบรนมีความไม่เสถียรทางกายภาพ ไม่คงตัวในระหว่างการสกัด ทำให้การสกัดไอโอเดตเกิดได้ไม่ดี ในทางตรงกันข้าม เมื่อใช้เจลเมมเบรนที่มีความหนามากกว่า 7 มิลลิเมตร ในที่นี้ คือ 9 และ 11 มิลลิเมตร จะเป็นการเพิ่มระยะทางที่ไอโอเดตจะต้องเคลื่อนที่ผ่านเจลเมมเบรนไปยังสารละลายตัวรับ ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความหนาของอะกาโรสที่เหมาะสม คือ 7 มิลลิเมตร

3.2.3 พีเอช

เพื่อศึกษาอิทธิพลของไอออนที่ส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของไอโอเดตจากเฟสให้ผ่านเจลเมมเบรนไปยังเฟสรับ จึงทำการศึกษาพีเอชต่างๆภายในเจลเมมเบรน สารละลายลายตัวให้ และสารละลายตัวรับ ดังนี้

3.2.3.1 พีเอชของอะกาโรสเจล

การปรับพีเอชของอะกาโรสเจล จะส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของไอโอเดตภายในเจลเมมเบรนก่อนที่จะออกไปยังสารละลายตัวรับ งานวิจัยนี้จึงศึกษาพีเอชของอะกาโรสเจลที่แตกต่างกัน ได้แก่ พีเอช 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ดังแสดงในรูป 3.4

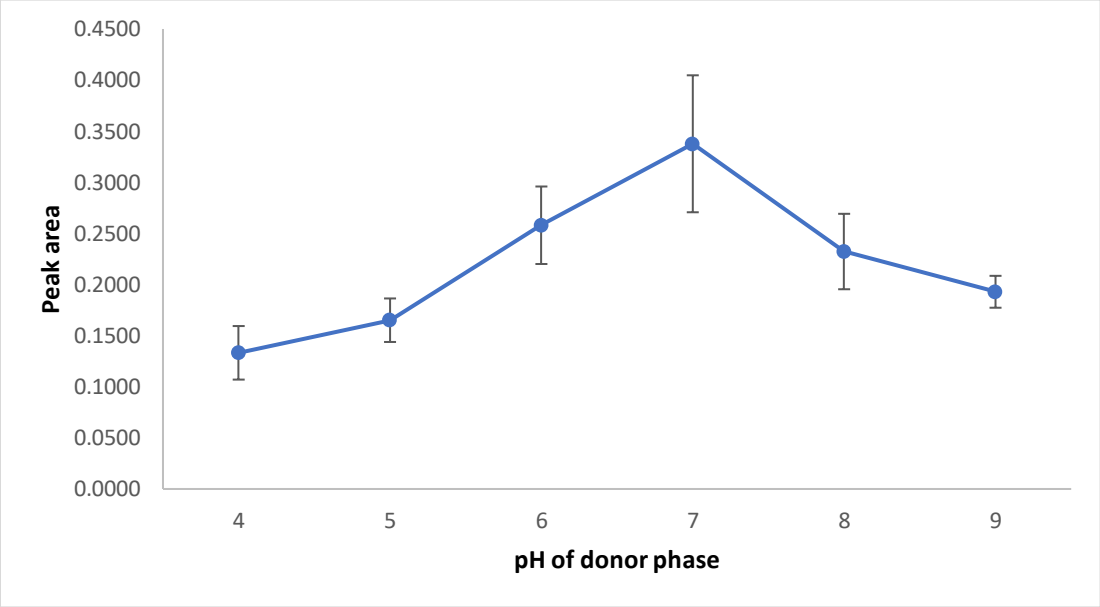


รูป 3.4 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนที่พีเอชต่างๆของอะกาโรสเจล (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, พีเอชของสารละลายตัวให้ และสารละลายตัวรับเท่ากับ 6, ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)

จากการทดลองพบว่า ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อพีเอชของอะกาโรสเจลเท่ากับ 7 และลดลงเมื่ออะกาโรสเจลมีพีเอชสูงขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า การปรับพีเอชของน้ำบริสุทธิ์ที่ใช้ในการเตรียมเจลและทำการเตรียมเจลดังหัวข้อ 2.3.1 เมื่ออะกาโรสรวมตัวกันเป็นเจล จะได้เจลเมมเบรนที่มีลักษณะทางกายภาพเป็นของแข็งกึ่งเหลว (Semisolid) ที่ภายในมีเมทริกซ์เป็นน้ำและไอออนของกรดและเบสที่มาจากการปรับพีเอช ซึ่งการปรับพีเอชให้ต่ำลง จะต้องใช้ปริมาณกรดมากขึ้น ในขณะเดียวกันการปรับพีเอชให้สูงขึ้นจะต้องใช้ปริมาณเบสมากขึ้น ทำให้ภายในเจลเมมเบรนมีความหนาแน่นของไอออนสูง ส่งผลให้ไอออนของไอโอเดตที่มาจากสารละลายตัวให้ เคลื่อนที่ภายในเจลเมมเบรนได้ยากขึ้น จึงออกมายังสารละลายตัวรับในปริมาณน้อย เมื่อเสร็จสิ้นการสกัดและนำสารละลายนี้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ จึงให้ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตต่ำ ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้อะกาโรสเจลที่พีเอชเท่ากับ 7 สำหรับการสกัดด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

3.2.3.2 พีเอชของสารละลายตัวให้

ในการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน การปรับพีเอชของสารละลายตัวให้จะส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของไอโอเดตจากสารละลายตัวให้ไปยังบริเวณผิวหน้าสัมผัสของเจลเมมเบรน ในงานวิจัยนี้จึงศึกษาพีเอชของสารละลายตัวให้ ได้แก่ พีเอช 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ดังแสดงในรูป 3.5



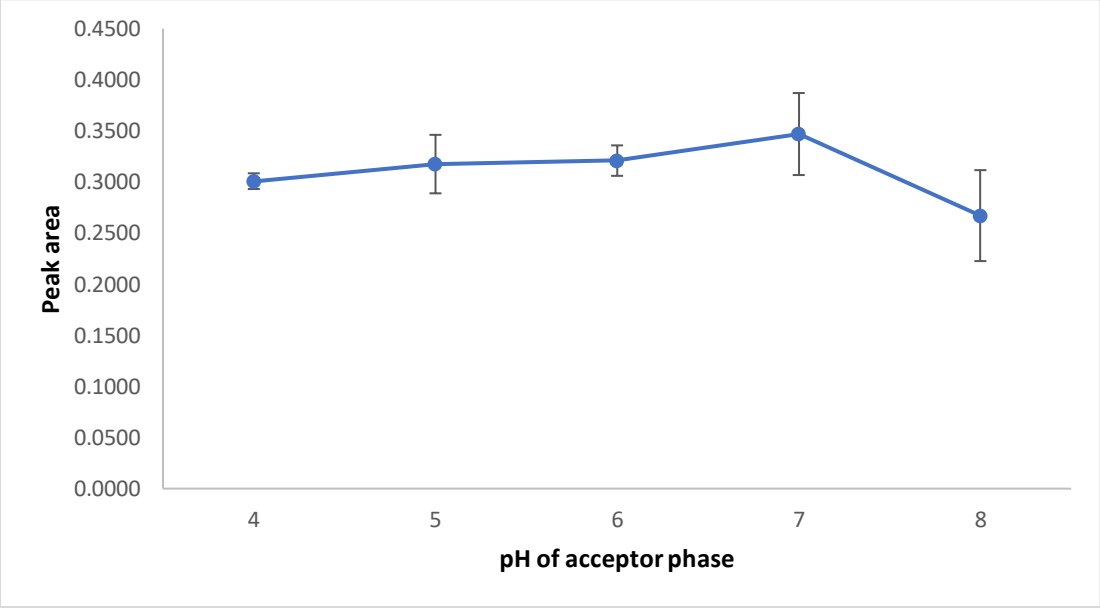
รูป 3.5 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนที่พีเอชต่างๆของสารละลายตัวให้ (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, พีเอชของสารละลายตัวรับเท่ากับ 6, ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, พีเอชของอะกาโรสเจลเท่ากับ 7, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)

จากการทดลองพบว่า ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อพีเอชของสารละลายตัวให้เท่ากับ 7 และลดลงเมื่อสารละลายตัวให้มีพีเอชสูงขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายด้วยเหตุผลที่ว่า การปรับพีเอชของสารละลายตัวให้ ให้มีค่าสูงขึ้นหรือ

ต่ำลง จะทำให้ไอออนของกรดและเบสในสารละลายตัวให้มีปริมาณมากขึ้น ภายในสารละลายตัวให้จึงมีความหนาแน่นของไอออนที่มากขึ้น ส่งผลให้การเคลื่อนที่ของไอโอเดตไปที่ผิวหน้าสัมผัสของเจลเมมเบรนเกิดได้ยากขึ้น นอกจากนี้ บริเวณขั้วแคโทดที่เป็นขั้วลบ ซึ่งอยู่ใกล้ผิวหน้าสัมผัสของเจลเมมเบรน อาจมีไอออนบวกจากกรดและเบสที่เติมลงไปรวมตัวกันอยู่มาก ส่งผลให้ไอโอเดตเคลื่อนที่ไปยังผิวหน้าสัมผัสของเจลได้ยากขึ้นเช่นเดียวกัน การที่ไอโอเดตเคลื่อนที่ไปยังผิวหน้าสัมผัสเจลได้น้อย ก็จะผ่านเจลไปยังสารละลายตัวรับในปริมาณน้อย เมื่อครบเวลาในการสกัดและนำสารละลายตัวรับไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี จึงให้ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตต่ำ ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงกำหนดพีเอชของสารละลายตัวให้ ให้มีค่าเท่ากับ 7

3.2.3.3 พีเอชของสารละลายตัวรับ

การปรับพีเอชของสารละลายตัวรับ มีความสำคัญต่อการเคลื่อนที่ของไอโอเดตผ่านผิวหน้าสัมผัสของเจลเมมเบรนออกมายังสารละลายตัวรับ ในงานวิจัยนี้จึงศึกษาพีเอชของสารละลายตัวรับ ได้แก่ พีเอช 4, 5, 6, 7 และ 8 ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ดังแสดงในรูป 3.6



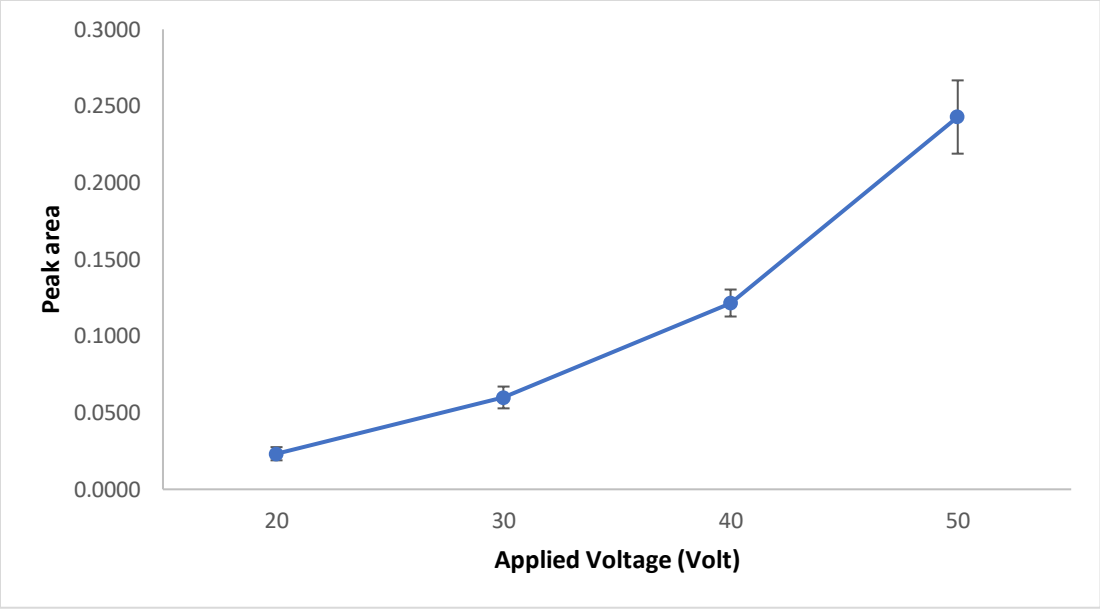
รูป 3.6 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรนที่พีเอชต่างๆของสารละลายตัวรับ (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, พีเอชของอะกาโรสเจลเท่ากับ 7, พีเอชของสารละลายตัวให้เท่ากับ 7, ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ 50 โวลต์, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)

จากการทดลองพบว่า ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อพีเอชของสารละลายตัวรับเท่ากับ 7 และลดลงเมื่อสารละลายตัวรับมีพีเอชสูงขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า การปรับพีเอชของสารละลายตัวรับให้มีค่าต่ำลงด้วยกรด และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นด้วยเบส เป็นการเพิ่มปริมาณของไอออนในสารละลายตัวรับ ทำให้ในสารละลายตัวรับมีความหนาแน่นของไอออนมากขึ้น ไอออนลบของกรดและเบสที่อยู่ในสารละลายตัวรับ อาจมารวมตัวบริเวณผิวหน้าขั้วแอโนดที่เป็นขั้วบวก ซึ่งอยู่เหนือผิวหน้าสัมผัสของเจลเมมเบรนกับสารละลายตัวรับ ทำให้บริเวณขั้วบวกเกิดสภาพเสมือนขั้วลบ จึงต้านการเคลื่อนที่ของไอโอเดตซึ่งเป็น

ไอออนลบที่จะออกมาจากภายในเจลเมมเบรน ส่งผลให้ไอโอเดตผ่านออกมาจากผิวหน้าสัมผัสเจลไปยังสารละลายตัวรับได้น้อย เมื่อสิ้นสุดการสกัดและนำสารละลายตัวรับไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ จึงให้ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตต่ำ ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงกำหนดพีเอชของสารละลายตัวรับ ให้มีค่าเท่ากับ 7

3.2.4 ศักย์ไฟฟ้าที่ให้

ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ในเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดการถ่ายโอนสาร (Mass transfer) ของไอโอเดต โดยทำการศึกษาการให้ศักย์ไฟฟ้าที่ 20, 30, 40, 50 และ 60 โวลต์ ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ดังแสดงในรูป 3.7



รูป 3.7 ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่สกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ที่ค่าศักย์ไฟฟ้าต่างๆ (ไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์, ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร, พีเอชของอะกาโรสเจลเท่ากับ 7, พีเอชของสารละลายตัวให้เท่ากับ 7, พีเอชของสารละลายตัวรับเท่ากับ 7, ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที)

จากการทดลองพบว่า ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตเพิ่มขึ้นเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้า 20, 30, และ 40 โวลต์ และเพิ่มสูงที่สุดเมื่อศักย์ไฟฟ้ามีค่า 50 โวลต์ ดังรูป 3.7 ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า การให้ศักย์ไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ไอโอเดตถูกขับเคลื่อนด้วยแรงทางไฟฟ้าที่มากขึ้น ทำให้ไอโอเดตเกิดการสกัดจากสารละลายตัวให้ผ่านเจลเมมเบรนไปยังสารละลายตัวรับได้เร็วยิ่งขึ้น ในขณะที่การให้ศักย์ไฟฟ้า 60 โวลต์ ทำให้ปริมาตรของสารละลายตัวรับลดลงจนไม่เพียงพอที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ จึงไม่ปรากฏผล ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก ในสารละลายเกิดการเคลื่อนที่ของไอออนที่เร็วเกินไป นำไปสู่การเกิดกระแสไฟฟ้าขึ้นภายในระบบ เป็นผลให้เกิดปฏิกิริยาอิเล็กโทรไลซิสของน้ำที่ขั้วไฟฟ้าแคโทดและแอโนดที่จุ่มอยู่ในสารละลายตัวให้และสารละลายตัวรับ ตามลำดับ ดังสมการ (4) และ (5) โดยสังเกตได้จากการเห็นฟองแก๊สที่ขั้วไฟฟ้าทั้งสองขณะทำการสกัด ซึ่งส่งผลให้ระบบของการสกัดเกิดความไม่เสถียร และเกิดการสูญเสียสารละลายตัวรับ[29]

Cathode in donor solution: $2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2$ (4)

Anode in acceptor solution: $H_2O \longrightarrow 2H^+ + 1/2O_2 + 2e^-$ (5)

3.2.5 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด

จากการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน พบว่า ปัจจัยต่างๆที่ให้ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูงสุดซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด เป็นดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

พารามิเตอร์	สภาวะ
ปริมาตรสารตัวอย่าง	10 มิลลิลิตร
ปริมาตรของสารละลายตัวรับ	400 ไมโครลิตร
ความเข้มข้นของไอโอเดต	0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล	2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร
ความหนาของอะกาโรสเจล	7 มิลลิเมตร
พีเอชของอะกาโรสเจล	7
พีเอชของสารละลายตัวให้	7
พีเอชของสารละลายตัวรับ	7
ศักย์ไฟฟ้าที่ให้	50 โวลต์
ระยะเวลาในการสกัด	10 นาที

3.3 ความเที่ยงของวิธี

ศึกษาความเที่ยงของวิธี โดยพิจารณาค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตที่ได้จากการสกัดไอโอเดตความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นจำนวน 3 ซ้ำ ในขั้นตอนการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ซึ่งแสดงผลของความเที่ยงผ่านค่าเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตของสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด ดังแสดงในตาราง 3.2 พบว่าให้ค่าเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจัดอยู่ในระดับความเที่ยงปานกลาง ตามตาราง 3.3

ตาราง 3.2 เปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตของสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด

พารามิเตอร์	สภาวะ	%RSD
ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล	2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร	4
ความหนาของอะกาโรสเจล	7 มิลลิเมตร	8
พีเอชของอะกาโรสเจล	7	2
พีเอชของสารละลายตัวให้	7	20
พีเอชของสารละลายตัวรับ	7	12
ศักย์ไฟฟ้าที่ให้	50 โวลต์	10

ตาราง 3.3 ระดับความเที่ยงของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน[30]

Concentration level	%RSD		
	Low	Moderate	High
> ppm	1-10	0.1-1	0.01-0.1
Trace analysis (ppm)	10-35	1-10	0.1-1
Ultra-trace analysis (ppb)	>35	10-35	1-10

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นของไอโอเดต โดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี เมื่อทำการศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน โดยศึกษาที่ความเข้มข้นไอโอเดต 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรในน้ำบริสุทธิ์ ใช้เวลาในการสกัด 10 นาที พบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดที่ให้ค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตสูงที่สุด ได้แก่ ความเข้มข้นของอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ความหนาของอะกาโรสเจล 7 มิลลิเมตร พีเอชของอะกาโรสเจลเท่ากับ 7 พีเอชของสารละลายตัวให้เท่ากับ 7 พีเอชของสารละลายตัวรับเท่ากับ 7 และศักย์ไฟฟ้าที่ให้เท่ากับ 50 โวลต์ เมื่อศึกษาความเที่ยงของวิธีจากสภาวะเหมาะสมดังกล่าว พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสัญญาณพื้นที่ใต้พีคของไอโอเดตน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับความเที่ยงปานกลาง จึงขอสรุปว่า เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน ซึ่งเป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย รวดเร็วและมีความจำเพาะสูง การจัดตั้งอุปกรณ์ไม่ซับซ้อน ราคาไม่แพง สามารถสกัดเพื่อการวิเคราะห์สารไอโอเดตได้ อีกทั้งยังสอดคล้องกับหลักการ “เคมีสีเขียว” เพราะไม่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ และใช้อะกาโรสเจลจากธรรมชาติ จึงเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

งานวิจัยนี้ได้รับอุปสรรคจากสถานการณ์ COVID-19 ส่งผลให้ไม่สามารถทำปฏิบัติการตามแผนการวิจัยที่วางไว้ได้ ซึ่งได้แก่ การทดลองในส่วนของการศึกษาระยะเวลาที่มีผลต่อการสกัด และการทดลองในตัวอย่างอาหารจริง ซึ่งประกอบด้วยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีและการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดต ดังนั้น ผู้วิจัยจึงไม่สามารถสรุปผลเกี่ยวกับการเพิ่มความเข้มข้นของไอโอเดตด้วยเทคนิคดังกล่าว

เอกสารอ้างอิง

1. Z. Nie, L. Zheng, W. Feng, C. Liu, Development of anion-exchange high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry methods for the speciation analysis of inorganic selenium and iodine in groundwater, *Analytical Methods,* **2014**, 20, 8380-8387.
2. L. Liu, X. Li, H. Wang, X. Cao, Reduction of iodate in iodated salt to iodide during cooking with iodine as measured by an improved HPLC/ICP-MS method, *Journal of Nutritional Biochemistry,* **2017**, 1, 95-100.
3. H. Doh, H. Park, Speciation of bio-available iodine in abalone (haliotis discus hannai) by high-performance liquid chromatography hyphenated with inductively coupled plasma-mass spectrometry using an in vitro method, *Journal of Food Science,* **2018**, 6, 1579-1587.
4. A. Shishov, M. Chislov, D.V. Nechaeva, L. Moskvin, A. Bulatov, A new approach for microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from human urine samples based on in-situ deep eutectic mixture formation, *Journal of Molecular Liquids,* **2018**, 1, 738-745.
5. K.S. Hasheminasab, A.R. Fakhari, A. Shahsavani, H. Ahmar, A new method for the enhancement of electromembrane extraction efficiency using carbon nanotube reinforced hollow fiber for the determination of acidic drugs in spiked plasma, urine, breast milk and wastewater samples, *Journal of Chromatography A*, **2013**, 1, 1-6.
6. N.A. Mamat, H.H. See, Development and evaluation of electromembrane extraction across a hollow polymer inclusion membrane, *Journal of Chromatography A*, **2015**, 1, 34-39.
7. H. Tabani, A. Shokri, S. Tizro, S. Nojavan, P. Varanusupakul, M. Alexovic, Evaluation of dispersive liquid–liquid microextraction by coupling with green-based agarose gel-electromembrane extraction: an efficient method to the tandem extraction of basic drugs from biological fluids, *Talanta*, **2019**, 1, 329-335.
8. S. Wang, T. Xie, X. Dong, J. Hu, L. Men, J. Cao, Determination of iodine species in seafood by ionic liquid-based in-line solid-phase extraction-capillary electrophoresis, *Food Analytical Methods*, **2019**, 10, 2139-2149.
9. J. Akhoundzadeh, M. Chamsaz, S.R. Yazdinezhad, M.H. Arbaz-zavvar, Head-space single drop microextraction combined with gas chromatography with an electron capture detector for determination of iodine in infant formulas, *Analytical Methods*, **2013**, 3, 778-783.
10. N. Altunay, R. Gurkan, A new micellar mediated cloud-point extraction procedure for sensitive and selective determination of trace amounts of total iodine in milk-based nutritional products by means of indirect spectrophotometry, *Food Analytical Methods*, **2016**, 2, 505-518.
11. Introduction to ion chromatography [Online]. The CHROMacademy Essential Guide . Available from: http://www.chromacademy.com/ion_chromatography.html [April 16, 2020].

12. Ion chromatography [Online]. (n.d.) Available from: https://www.thermofisher.com/us/en/home/industrial/chromatography/ion-chromatography-ic.html [April 16, 2020].
13. B. Corain, M. Zecca, P. Canton, P. Centomo, Synthesis and catalytic activity of metal nanoclusters inside functional resins: an endeavour lasting 15 years, *Philosophical Transactions of The Royal Society A-Mathematical Physical and Engineering Sciences*, **2010**, 1915, 1495-1507.
14. S. Ghosh, K. Dhole, M.K. Tripathy, R. Kumar, R.S. Sharma, FTIR spectroscopy in the characterization of the mixture of nuclear grade cation and anion exchange resins, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **2015**, 2, 917-923.
15. B. Hu, B. Chen, M. He, K. Nan, Y. Xu, C. Xu, Chapter four – separation methods applied to arsenic speciation, Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier B.V., **2019**, pp. 89-144.
16. M. Guardia, S. Armenta, Chapter 5 – greening sample treatments, Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier B.V., **2011**, pp. 87-120.
17. W.A. Khan, M.B. Arain, Y. Yamini, N. Shah, T.G. Kazi, S. Pedersen-Bjergaard, M. Tajik, Hollow fiber-based liquid phase microextraction followed by analytical instrumental techniques for quantitative analysis of heavy metal ions and pharmaceuticals, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **2020**, 2, 109-122.
18. C. Huang, Z. Chen, A. Gjelstad, S. Pedersen-Bjergaard, X. Shen, Electromembrane extraction, TrAC Trends in Analytical Chemistry, Elsevier B.V., **2017**, pp. 47-56.
19. N. Chanthasakda, S. Nitiyanontakit, P. Varanusupakul, Electro-enhanced hollow fiber membrane liquid phase microextraction of Cr(VI) oxoanions in drinking water samples, *Talanta*, **2016**, 1, 680-685.
20. H. Tabani, F.D. Zare, W. Alahmad, P. Varanusupakul, Determination of Cr(III) and Cr(VI) in water by dual-gel electromembrane extraction and a microfluidic paper-based device, *Environmental Chemistry Letters*, **2020**, 1, 187-196.
21. H. Tabani, S. Asadi, S. Nojavan, M. Parsa, Introduction of agarose gel as a green membrane in electromembrane extraction: an efficient procedure for the extraction of basic drugs with a wide range of polarities, *Journal of Chromatography A*, **2017**, 1, 47-55.
22. H.K. Mayer, G. Fiechter, Chapter 10 – electrophoretic techniques, Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier B.V., **2013**, pp. 251-278.
23. Scheme 1. chemical structure of agarose [Online]. (n.d.) Available from: https://www.researchgate.net/figure/Scheme-1-Chemical-structure-of-agarose_fig1_307805158 [April 25, 2020].
24. Techniques in molecular biology – agarose gels (horizontal gel electrophoresis) [Online]. (n.d.) Available from: http://home.sandiego.edu/~josephprovost/AGAROSE%20GELS.pdf [April 25, 2020].
25. M. Gupta, A. Dsouza, Salting-out homogeneous liquid-liquid microextraction for the spectrophotometric determination of iodate in food grade salt, *Journal of Food Composition and Analysis*, **2020**, 1.

26. R. Cripps, L. Venuat, H. Bruchertseifer, Quick analytical method for the determination of iodide and iodate ions in aqueous solutions, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **2003**, 2, 357-360.
27. H. Tabani, K. Khodaei, P. Varanusupakul, M. Alexovic, Gel electromembrane extraction: study of various gel types and compositions toward diminishing the electroendosmosis flow, *Microchemical Journal*, **2020**, 1.
28. Fundamental principles of electrophoresis - the agarose matrix [Online]. (n.d.) Available from: https://www.nationaldiagnostics.com/electrophoresis/article/agarose-matrix [May 22, 2020].
29. S. Sedehi, H. Tabani, S. Nojavan, Electro-driven extraction of polar compounds using agarose gel as new membrane: determination of amino acids in fruit juice and human plasma samples, *Talanta*, **2018**, 1, 318-325.
30. Validation and verification of analytical procedures [Online]. USP Pharmacopeial Education. Available from: https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm386366.pdf [April 18, 2020].

ภาคผนวก

ตาราง A-1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของอะกาโรสเจลที่ใช้เป็นเมมเบรนในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

Concentration of agarose gel (%w/v)	Peak area (μS*min)	Average	%RSD
1	0.0609 0.0586 0.0599	0.0598	1.9285
2	0.0718 0.0669 0.0663	0.0683	4.4154
3	0.0578 0.0601 0.0423	0.0534	18.1300
4	0.0392 0.0413 0.0414	0.0406	3.0574

ตาราง A-2 ความหนาของอะกาโรสเจลในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

Thickness of agarose gel (mm)	Peak area (μS*min)	Average	%RSD
3	0.0605 0.0522 0.0408	0.0512	19.3301
5	0.0683 0.0572 0.0624	0.0626	8.8670
7	0.0688 0.0766 0.0660	0.0705	7.7952
9	0.0392 0.0474 0.0422	0.0429	9.6636
11	0.0084 0.0070 0.0106	0.0087	20.9395

ตาราง A-3 พีเอชของอะกาโรสเจลในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

pH of agarose gel	Peak area (μS*min)	Average	%RSD
3	0.0201 0.0355 0.0225	0.0260	31.8274
4	0.0611 0.0502 0.0788	0.0634	22.7787
5	0.0793 0.0737 0.0953	0.0828	13.5435
6	0.1381 0.1313 0.1033	0.1242	14.8470
7	0.3647 0.3818 0.3781	0.3749	2.4000
8	0.2065 0.2461 0.1879	0.2135	13.9226
9	0.1206 0.2141 0.2427	0.1925	33.1798

ตาราง A-4 พีเอชของสารละลายตัวให้ในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

pH of donor phase	Peak area (μS*min)	Average	%RSD
4	0.1439 0.1523 0.1033	0.1332	19.6777
5	0.1440 0.1865 0.1647	0.1651	12.8750
6	0.2157 0.2696 0.2888	0.2580	14.6872
7	0.2909 0.3078 0.4144	0.3377	19.8281
8	0.2739 0.2037 0.2193	0.2323	15.8680
9	0.1826 0.1853 0.2108	0.1929	8.0666

ตาราง A-5 พีเอชของสารละลายตัวรับในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

pH of acceptor phase	Peak area (μS*min)	Average	%RSD
4	0.2956 0.2972 0.3097	0.3008	2.5663
5	0.3054 0.3502 0.2969	0.3175	9.0193
6	0.3233 0.3345 0.3049	0.3209	4.6573
7	0.3513 0.3048 0.3847	0.3469	11.5667
8	0.3060 0.2186 0.2766	0.2671	16.6524

ตาราง A-6 ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ในการสกัดไอโอเดตโดยใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยเจลอิเล็กโทรเมมเบรน

Applied voltage (volt)	Peak area (μS*min)	Average	%RSD
20	0.0279 0.0225 0.0193	0.0232	18.7087
30	0.0636 0.0644 0.0518	0.0599	11.7714
40	0.1113 0.1268 0.1263	0.1215	7.2515
50	0.2197 0.2674 0.2414	0.2428	9.8348

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวธนกร รื่นภาคพจน์ เกิดเมื่อวันที่ 24 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2541 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเบญจมราชาลัย ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2559 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2559 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 237 แขวงวัดราชบพิธ เขตพระนคร จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10200 อีเมล Chompoo6340@hotmail.com