บทที่ 3

วิธีทำการทดลอง (EXPERIMENTAL PROCEDURE)

3.1 สารตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

สารตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองนี้มี 2 อย่างคือ แผ่นเหล็กอาบดีบุก และอาหารกระป๋อง สำหรับแผ่นเหล็กอาบดีบุกนั้นได้มาจากบริษัท Thai Tin Plate เป็นแผ่นเหล็กอาบดีบุกที่ผลิตขึ้นเพื่อใช้ทำกระป๋องสำหรับบรรจุอาหาร ส่วนอาหารกระป๋องได้ซื้อจากตลาดโดยการสุ่มตัวอย่าง ส่วนใหญ่เลือกวิเคราะห์หาดีบุกจากอาหารกระป๋องจำพวกน้ำผลไม้ และผลไม้กระป๋องชนิดต่าง ๆ กันจากบริษัทผู้ผลิตต่าง ๆ กันด้วย เนื่องจากอาหารกระป๋องประเภทนี้เป็นที่นิยมรับประทานกันมาก เพราะราคาถูก และเป็นกรดมากกว่าอาหารคาวอื่น ๆ

3.2 การศึกษาหาปริมาณของดีบุก

3.2.1 การเตรียมสารละลายต่าง ๆ

สารละลายที่จะต้องใช้ในการทดลองโดยเตรียมขึ้นมีดังต่อไปนี้

(ก) กรดซัลฟูริกเข้มข้นประมาณ 9 นอร์มัล โดยเตรียมจากกรดซัลฟูริกเข้มข้น 98.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

(ข) สารละลายโปตัสเซียมไอโอไดด์เข้มข้นประมาณ 5 โมลาร์ โดยเตรียมขึ้นใหม่ ๆ ทุกครั้งที่ใช้ จากโปตัสเซียมไอโอไดด์

(ค) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นประมาณ 5 โมลาร์และ 2 โมลาร์ โดยเตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์

(ง) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นประมาณ 5 โมลาร์ โดยเตรียมจากกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 35.4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

(จ) สารละลายกรดแอสคอบิกเข้มข้นประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

(ฉ) สารละลายกรดแลคติก 95 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

(ช) สารละลาย catechol violet 0.05 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตร และจะต้องเตรียมขึ้นใหม่ ๆ ทุกครั้งที่ใช้

(ซ) สารละลาย CTAB 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

(ฌ) น้ำกลั่นที่ทำให้เป็นกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (acidified water) มี pH 2.2

(ญ) สารละลายดีบุก (IV) มาตรฐานเข้มข้น 500 ppm ซึ่งเตรียมได้โดยชั่งผงดีบุกบริสุทธิ์หนัก 0.2500 กรัม แล้วละลายในกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตรใน Kjeldahl flask นำไปตั้งไฟจนกระทั่งเกิดควันสีขาวของซัลเฟอร์ไตรออกไซด์ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วทำให้มีปริมาตรประมาณ 200 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นอีก 40 มิลลิลิตร เมื่อสารละลายเย็นลงแล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร

(ฏ) สารละลายดีบุก (IV) มาตรฐานเข้มข้น 100 ppm

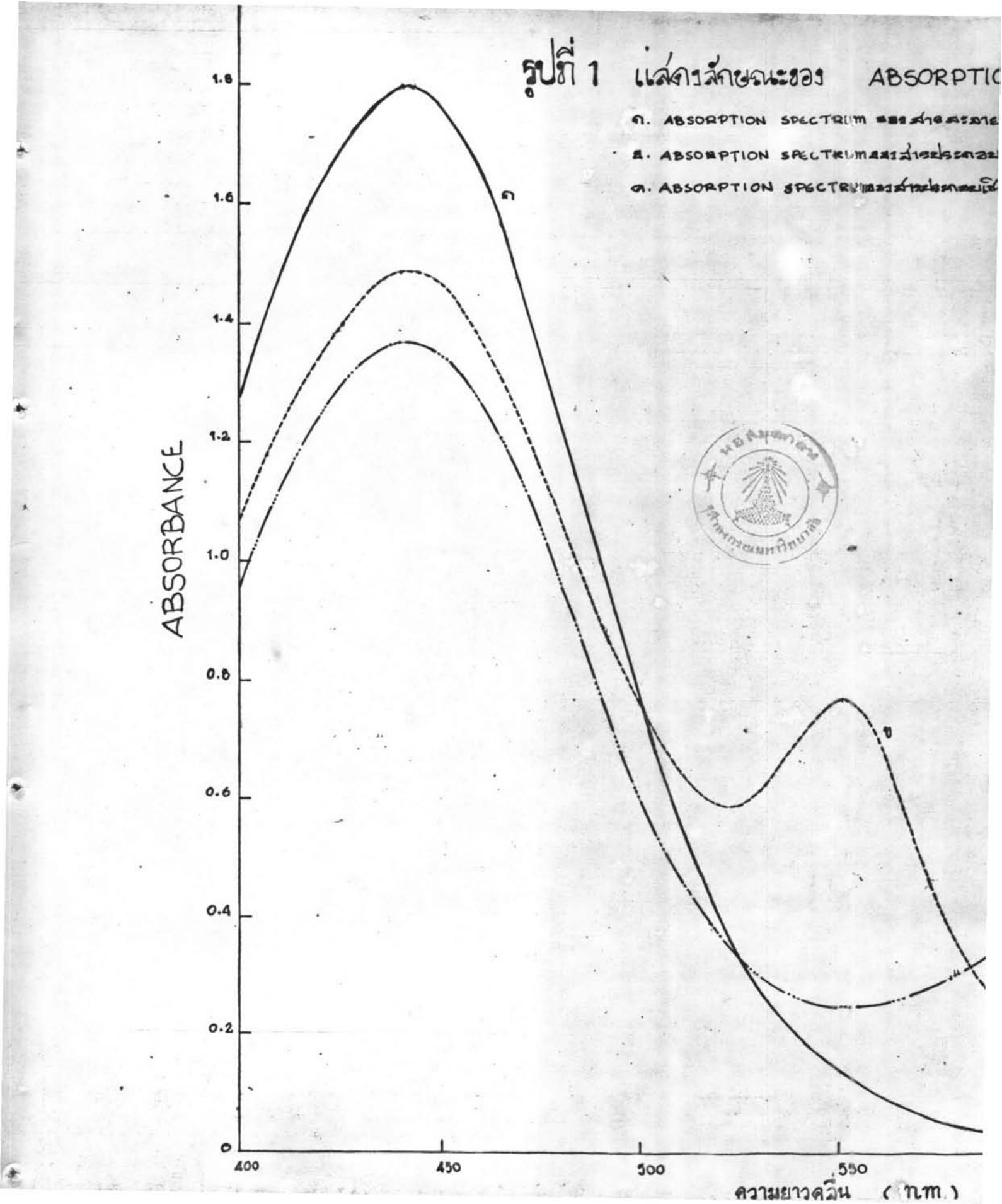
ใช้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 500 ppm จำนวน 10 มิลลิลิตร ทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร

(ฏ) สารละลายดีบุก (IV) มาตรฐานเข้มข้น 10 ppm

ใช้สารละลายดีบุกมาตรฐานเข้มข้น 100 ppm จำนวน 10 มิลลิลิตร ทำให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตรด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 25 เปอร์เซ็นต์ในขวดวัดปริมาตร

3.2.2 <u>การศึกษา absorption spectra ของสารละลาย catechol violet</u>

ใช้สารละลาย catechol violet 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ทำให้มี pH 2.2 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 5 โมลาร์และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 โมลาร์ หลังจากนั้นทำให้สารละลายมีปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรด้วย acidified water ในขวดวัดปริมาตร แล้วนำสารละลายที่ได้นี้ไปวัดค่าของ


รูปที่ 1 แสดงลักษณะของ ABSORPTIO
ก. ABSORPTION SPECTRUM
ข. ABSORPTION SPECTRUM
ค. ABSORPTION SPECTRU
ABSORBANCE
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
ก
ข
400
450
500
550
ความยาวคลื่น (nm.)

absorbance จากความยาวคลื่น 400 nm ถึง 700 nm โดยเทียบกับน้ำกลั่น จะได้ลักษณะของ absorption spectrum ก ดังรูปที่ 1 ปรากฏว่า catechol violet ดูดกลืนแสงได้มากที่สุด (maximum absorption)ที่ความยาวคลื่น 443.5 nm

3.2.3 การศึกษา absorption spectra ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างดีบุก (IV) กับ catechol violet

ใช้สารละลายดีบุกมาตรฐานเข้มข้น 10 ppm จำนวน 3 มิลลิลิตรใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย catechol violet จำนวน 2 มิลลิลิตรลงไป จากนั้นทำให้สารละลายมีปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร และมี pH 2.2 ตามวิธีข้างบน แล้วนำไปวัดค่าของ absorbance เช่นเดียวกันจะได้ลักษณะของ absorption spectrum ข ดังรูปที่ 1 ปรากฏว่าสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างดีบุก(IV)กับ catechol violet ดูดกลืนแสงมากที่สุด ที่ความยาวคลื่น 552 nm

3.2.4 การศึกษา absorption spectra ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างดีบุก (IV) กับ catechol violet และ CTAB

ใช้สารละลายดีบุกมาตรฐานเข้มข้น 10 ppm. จำนวน 3 มิลลิลิตรใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร สารละลาย catechol violet จำนวน 2 มิลลิลิตร และสารละลาย CTAB 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำให้สารละลายมีปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร และมี pH 2.2 ตามวิธีข้างบนแล้วนำไปวัดค่าของ absorbance อีกเช่นเดียวกัน จะได้ลักษณะของ absorption spectrum ค ดังรูปที่ 1 ปรากฏว่าสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างดีบุก (IV) catechol violet กับ CTAB ดูดกลืนแสงมากที่สุด ที่ความยาวคลื่น 662.5 nm

3.2.5 การทำกราฟมาตรฐานเพื่อใช้หาปริมาณของดีบุก

ใช้สารละลายดีบุก (IV) มาตรฐานเข้มข้น 10 ppm จำนวน 0 - 3 มิลลิลิตร (0 - 30 ไมโครกรัม) ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลาย

catechol violet จำนวน 2 มิลลิลิตร คนให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเติมสารละลาย CTAB จำนวน 1 มิลลิลิตร คนให้ดีอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นนำสารละลายมาทำให้มี pH 2.2 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5 โมลาร์ แล้วทำให้มีปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรด้วย acidified water ในขวดวัดปริมาตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 40 นาทีก่อนนำไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 662.5 nm ด้วย cell ขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ค่า absorbance ที่วัดได้แสดงอยู่ในตารางที่ 2 สร้างกราฟระหว่างปริมาณดีบุก (IV) เป็นไมโครกรัม กับค่า absorbance ที่วัดได้ จะได้กราฟเส้นตรงในช่วงปริมาณดีบุก 4 - 30 ไมโครกรัม ตามรูปที่ 2 (เส้น ก)

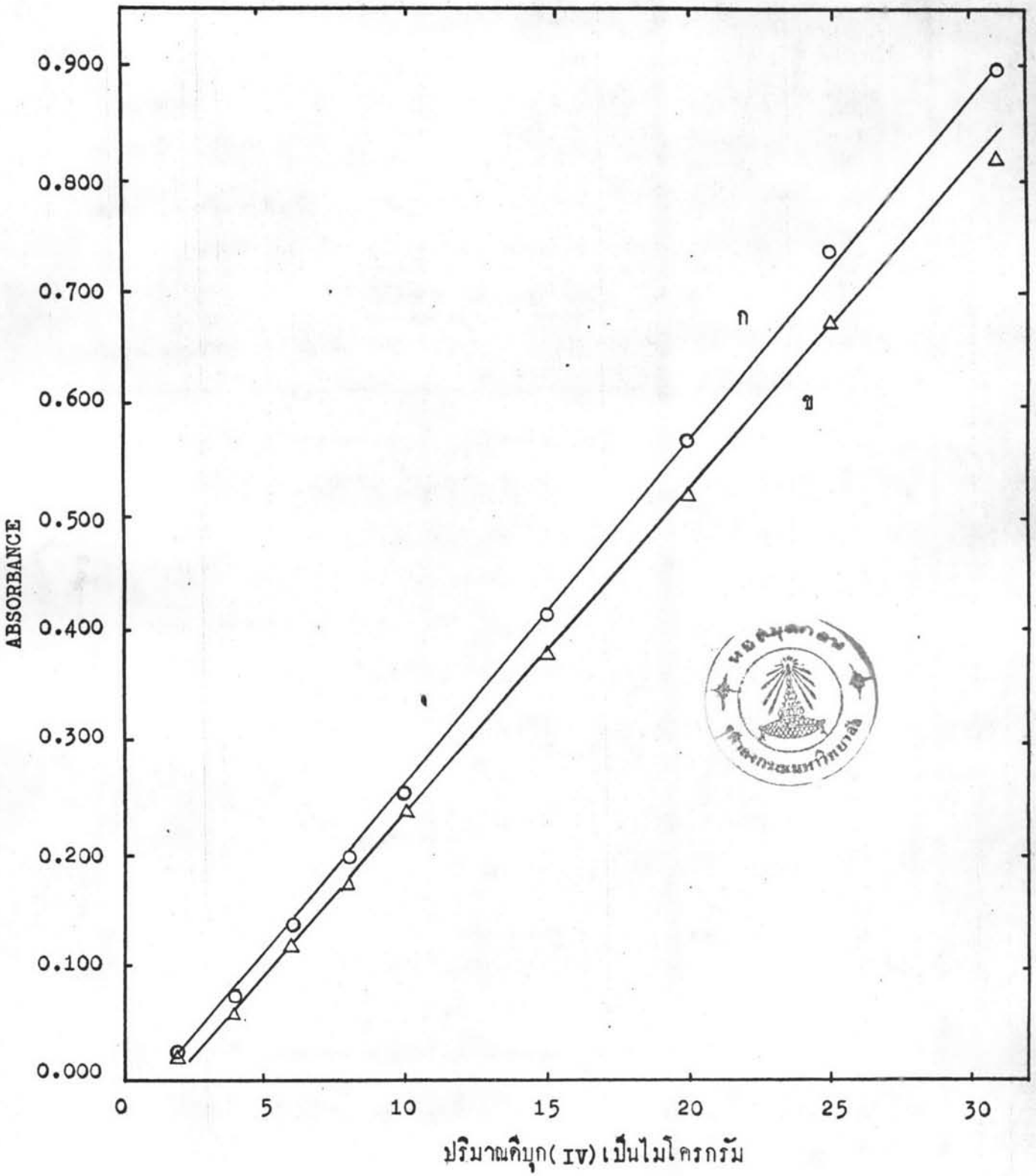
ตารางที่ 2

แสดงการเปรียบเทียบค่า absorbance ของสารละลายดีบุกมาตรฐานที่ไม่ได้สกัดและที่สกัดด้วยโทลูอีน

ปริมาณดีบุก (ไมโครกรัม)	absorbance		เปอร์เซ็นต์การสกัดดีบุก
	ไม่ได้สกัดด้วยโทลูอีน	ที่สกัดด้วยโทลูอีน	
0	0.008	0.012	-
2	0.024	0.021	87.5
4	0.070	0.060	85.7
6	0.139	0.122	87.8
8	0.196	0.176	89.8
10	0.259	0.241	93.1
15	0.413	0.379	91.8
20	0.569	0.520	91.4
25	0.734	0.672	90.2
30	0.896	0.814	90.8

3.2.6 การสกัดเพื่อแยกเอาดีบุกออกจากสารเจือปนอื่น ๆ

วิธีการสกัดเพื่อแยกเอาดีบุกที่ต้องการออกจากสารเจือปนอื่น ๆ นั้น ต้องเป็นวิธีที่ค่อนข้างเฉพาะให้มากที่สุด สำหรับการหาปริมาณดีบุกโดยใช้สารcatechol violet นั้น Ross และ White (26)ได้อธิบายถึงการสกัดซึ่งใช้ได้ดีมากสำหรับดีบุกจากสารละลายที่เป็นกรดโดยใช้สารละลายของ tris-(2-ethylhexyl) phosphine oxide ใน



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานที่ใช้หาปริมาณของคีบุกและแสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการสกัดคีบุก(IV)ด้วยโทลูอีน

ก. ค่า ABSORBANCE ของสารละลายคีบุก(IV)มาตรฐานเมื่อไม่ได้สกัดด้วยโทลูอีน

ข. ค่า ABSORBANCE ของสารละลายคีบุก(IV)มาตรฐานเมื่อสกัดด้วยโทลูอีน

cyclohexane เมื่อสกัดแล้วทำให้เจือจางด้วย ethanol จากนั้นเติม catechol violet เพื่อทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับดีบุก

Gilbert และ Sandell (31) ได้อธิบายถึงวิธีสกัดดีบุก (IV) ไอโอไดด์ โดยใช้ benzene ซึ่งสามารถแยกดีบุกจากธาตุอื่น ๆ ได้หลายชนิด วิธีที่ดีที่สุดในการสกัดดีบุกนั้นเป็นวิธีของ Tanaka (32) พบว่าหลังจากการย่อยและทำลายสารอินทรีย์ด้วยกรดซัลฟูริกแล้วสกัดดีบุก (IV) ไอโอไดด์ด้วย benzene ออกจากสารละลายกรดซัลฟูริก ซึ่งมีความเข้มข้นมากกว่า 8 นอร์มัล โดยมีสารละลายโปตัสเซียมไอโอไดด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์อยู่ด้วย วิธีนี้ใช้ได้ดีในการแยกดีบุกออกจากสารละลายที่มีสารเจือปนอื่น ๆ

สำหรับการหาปริมาณของดีบุกครั้งนี้ ผู้เขียนใช้วิธีสกัดดีบุก (IV) ไอโอไดด์ ออกจากสารละลายกรดซัลฟูริกแล้วหาปริมาณดีบุกโดยใช้ catechol violet ตามวิธีข้างต้น แต่มีข้อแก้ไขเพิ่มเติมให้ดีขึ้นตามวิธีของ Newman และ Jones (29) คือเลือกใช้ toluene แทน benzene เพราะมีพิษน้อยกว่าและแยกเอาดีบุก (IV) ออกจากธาตุอื่น ๆ หลายตัวที่มีปฏิกิริยากับ catechol violet ได้ดีกว่า Tanaka (32) สกัดดีบุกออกจากชั้นของ benzene โดยนำสารละลายมาเขย่ากับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง ซึ่งไม่สามารถสกัดให้กลับคืนมาได้ทั้งหมด Newman และ Jones (29) จึงเปลี่ยนมาใช้วิธีสกัดดีบุกจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางแทน เพราะดีบุก (IV) จะถูกเปลี่ยนเป็น stannate ซึ่งละลายได้ดีในน้ำ และวิธีนี้ได้รับการรับรองจาก The Analytical Method Committee of the Society for Analytical Chemistry สำหรับใช้หาปริมาณดีบุกได้ถึง 0 - 30 ไมโครกรัม

3.2.7 <u>การทดลองเพื่อสกัดดีบุก</u>

นำสารละลายตัวอย่างที่มีดีบุก (IV) อยู่ ใส่ลงในกรวยแยก แล้วทำให้มีปริมาณกรดซัลฟูริกประมาณ 9 นอร์มัลหรือ 25 เปอร์เซ็นต์ และให้มีปริมาตรทั้งหมดประมาณ 25 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดแอสคอบิก 5 เปอร์เซ็นต์ลงไป 5 มิลลิลิตร สารละลายโปตัสเซียมไอโอไดด์ข้น 5 โมลาร์ลงไป 2.5 มิลลิลิตร และโทลูอีน 10 มิลลิลิตร (หลัง

จากเติมสารละลายแต่ละอย่างแล้วควรเขย่าให้เข้ากันดีก่อนเติมสารละลายอื่นต่อไป) เขย่าแรง ๆ ประมาณ 2 นาที หลังจากตั้งไว้ให้แยกชั้นกันดีแล้ว ไขชั้นของน้ำส่วนล่างลงสู่กรวยแยกอีกอันหนึ่ง เติมโทลูอีน 10 มิลลิลิตรลงในกรวยแยกอันที่สองนี้ เขย่าอีกครั้งหนึ่ง เมื่อแยกชั้นกันดีแล้วไขส่วนล่างทิ้งไป รวมชั้นของโทลูอีนลงในกรวยแยกอันแรกแล้วล้างโทลูอีนที่แยกได้ด้วย 5 มิลลิลิตรของสารละลายผสมระหว่างไปตัสเซียมไอโอไดด์ขั้น 5 โมลาร์กับกรดซัลฟูริก 25 เปอร์เซ็นต์ (ใช้อัตราส่วน 1 : 10 โดยปริมาตร) จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ขั้น 2 โมลาร์จำนวน 5 มิลลิลิตรลงไปแล้วเขย่าประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายแยกเป็นสองชั้น แล้วไขชั้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตรที่มีกรดไฮโดรคลอริกขั้น 5 โมลาร์จำนวน 5 มิลลิลิตรอย่างช้า ๆ และให้สารละลายถูกคนตลอดเวลาด้วยเครื่องคนไฟฟ้า (magnetic stirrer) เขย่าชั้นของโทลูอีนกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ขั้น 2 โมลาร์จำนวน 2 มิลลิลิตรอีก 2 ครั้ง เพื่อสกัดเอาดีบุกออกให้หมด รวมชั้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในบีกเกอร์เดียวกันนั้น ขณะนี้สารละลายจะมีสีเหลืองของไอโอดีนปนอยู่ เติมสารละลายกรดแอสคอบิก 5 เปอร์เซ็นต์ลงไปทีละหยดจนกระทั่งสีของไอโอดีนหมดไป (จำเป็นต้องทำลายไอโอดีนให้หมดไป เพราะไอโอดีนสามารถออกซิไดซ์ catechol violet ได้ง่าย) แล้วเติมให้มากเกินพออีก 1 หยด หลังจากนั้นเติมกรดแลคติกจำนวน 1 มิลลิลิตรเพื่อเป็น masking agentสำหรับโมลิบดินัม โคบอลท์ โครเมียม วานาเดียมที่อาจพบอยู่ในเหล็ก (33) เติมสารละลาย catechol violet 2 มิลลิลิตร สารละลาย CTAB 1 มิลลิลิตร (หลังจากเติมสารละลายแต่ละอย่าง ต้องเขย่าให้เข้ากันดีก่อนเติมสารละลายอื่นต่อไป) นำสารละลายที่ได้นั้นมาทำให้มี pH 2.2 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ขั้น 5 โมลาร์ แล้วทำให้มีปริมาตร 25 มิลลิลิตรด้วย acidified water ในขวดวัดปริมาตร ตั้งทิ้งไว้ให้ปฏิกิริยาสมบูรณ์ประมาณ 40 นาทีแล้วนำไปวัดค่าของ absorbanceที่ความยาวคลื่น 662.5 nm ด้วย cell ขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ค่า absorbance แสดงอยู่ในตารางที่ 2 และแสดงการเปรียบเทียบค่า absorbance ของสารละลายดีบุกมาตรฐานที่ไม่ได้สกัดและที่สกัดด้วยโทลูอีน เพื่อศึกษาถูความสามารถของการสกัดดีบุกออกจากสารละลาย สร้างกราฟระหว่างดีบุก (IV) เป็นไมโครกรัมกับค่า

absorbance ของสารละลายดีบุก (IV) มาตรฐานหลังจากสกัดด้วยโทลูอีน จะได้กราฟเส้นตรงตามรูปที่ 2(เส้น ข)

3.3 การหาปริมาณของดีบุกในอาหารกระป๋อง

3.3.1 การทำลายสารอินทรีย์ในอาหารกระป๋อง

ก่อนหาปริมาณดีบุกในอาหารกระป๋องจำเป็นจะต้องทำลายสารอินทรีย์ของอาหารนั้นเสียก่อน ซึ่งอาจทำได้ 2 วิธีคือ wet oxidation และ ash oxidation วิธีแรกใช้กรดไนตริกผสมกับกรดซัลฟูริก ซึ่งนิยมใช้มากในการหาปริมาณของดีบุก หรืออาจใช้กรดซัลฟูริกอย่างเดียวก็ได้ แต่ต้องใช้เวลาในการออกซิไดซ์มากกว่า นอกจากนี้กรดไนตริกยังช่วยออกซิไดซ์สารที่มีสีเช่น carotenoids ซึ่งมีอยู่ในอาหารได้อีกด้วย วิธีการออกซิไดซ์แบบหลังก็ใช้ได้ แต่จะมีปัญหาคือการเกิดออกไซด์ของดีบุก (IV) ซึ่งทำให้ไม่ละลาย สำหรับอีกวิธีหนึ่งนั้นโลหะจะสามารถละลายไปอยู่ในสารละลายได้โดยนำ ash ไปหลอมกับ alkali จากนั้นนำไปละลายในกรด แต่ผลการวิเคราะห์วิธีหลังจะได้ค่าน้อยกว่าวิธีแรก (30)

วิธีทำ ใช้สารตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (5 - 6 กรัม) ใส่ลงใน Kjeldahl flask เติมกรดไนตริกเข้มข้น 3 - 5 มิลลิลิตร กรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 - 30 มิลลิลิตร และโปตัสเซียมซัลเฟต 5 - 8 กรัม นำไปต้มให้เดือดจนกระทั่งเกิดควันสีขาวของซัลเฟอร์ไตรออกไซด์ เมื่อเย็นแล้วเติมน้ำกลั่นทำให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร สารละลายที่ได้นี้จะนำไปใช้ในการหาปริมาณดีบุก ด้วยวิธีสกัดต่อไป ในการสกัดแต่ละครั้งปริมาณดีบุกในสารละลายต้องไม่เกิน 30 ไมโครกรัม

3.4 การศึกษาการละลายของดีบุกในตัวกลาง (medium)ต่าง ๆ กัน

ใช้แผ่นเหล็กอาบดีบุกขนาด 3X3 ซม.^{2} แช่ลงในสารละลายของกรดและด่างชนิดต่าง ๆ ได้แก่สารละลายกรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟูริก กรดอะซีติก (กรดน้ำส้ม) กรดซิตริก และกรดทาร์ทาริก ที่มีความเป็นกรดต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ pH 2 ถึง pH 5 นอกจาก

นี้ยังใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ pH ตั้งแต่ 8 ถึง 12 และในสารละลายผสม กรดอะซีติกกับเกลือแกง กรดอะซีติกกับโปตัสเซียมไนเตรท (ดินประสิว) กรดอะซีติกกับน้ำตาล กรดซิตริกกับเกลือแกง กรดซิตริกกับน้ำตาล และในสารละลายน้ำตาลอย่างเดียว โดยใช้สารละลายหรือสารละลายผสมเหล่านี้อย่างละ 30 มิลลิลิตรใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร วางแผ่นเหล็กอาบดีบุกขนาด 3X3 ซม.^{2} ลงไปในบีกเกอร์นั้นแล้วนำไปใส่ใน desiccator ดูดอากาศออกจนเกือบเป็นสูญญากาศ ตั้งทิ้งไว้ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน เช่น 7 วัน 14 วัน 30 วัน จนถึง 240 วัน เมื่อครบกำหนดเวลาตามต้องการแล้ว นำบีกเกอร์ออกจาก desiccator เอาแผ่นเหล็กอาบดีบุกออก เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำทำให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร นำสารละลายที่ได้นี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณของดีบุกต่อไปอีกครั้งหนึ่งด้วยวิธีสกัด ในการสกัดแต่ละครั้งปริมาณดีบุกในสารละลายต้องไม่เกิน 30 ไมโครกรัม