

รายงานการวิจัย

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในเนื้อปลา  
(Development of the determination of trace heavy metals in fish)

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร.เฟื่องฟ้า อุ่นอบ

ผศ.ดร.อภิชาติ อิ่มยิ้ม

ผศ.ดร.วัลภา เอื่องไมตรีภิรมย์

ผศ.ดร.ปกรณ์ วรรณสุภากุล

ดร.พุทธรักษา วรรณสุภากุล

สถาบันวิจัยปฏิบัติการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2550 และ  
คณะทำงานขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับสถานที่และ  
เครื่องมือสำหรับทำวิจัย สดท้ายขอขอบคุณสมาชิกทุกท่านของหน่วยวิจัย Environmental Analysis  
Research Unit



เลขหมู่

เลขทะเบียน 014121

วัน, เดือน, ปี ๕ พ. ค. 52

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทคัดย่อภาษาไทย

งานวิจัยนี้พัฒนาเทคนิคที่ใช้ในการสกัดโลหะเพื่อการวิเคราะห์โลหะในตัวอย่างเนื้อปลา โดยเสนอวิธีการสกัดโลหะแคดเมียม ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสีในสารละลายตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง โดยใช้ด่านกัมมันต์ร่วมกับแอมโมเนียมไพโรรีดินไดโทโอคาร์บามาต และวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรเมตรี โดยศึกษาวิธีการสกัดสองวิธีคือ การสกัดโลหะด้วยด่านกัมมันต์ที่เคลือบด้วยแอมโมเนียมไพโรรีดินไดโทโอคาร์บามาต และการสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและแอมโมเนียมไพโรรีดินไดโทโอคาร์บามาตด้วยด่านกัมมันต์ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโลหะ โดยทดสอบกับสารละลายมาตรฐานก่อนจะนำไปใช้กับตัวอย่างเนื้อปลา เมื่อนำวิธีการสกัดโลหะทั้ง 2 วิธีมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างเนื้อปลาพบว่า การสกัดโลหะโดยการทำให้โลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับแอมโมเนียมไพโรรีดินไดโทโอคาร์บามาต ก่อนจะผ่านคอลัมน์บรรจุด่านกัมมันต์ ให้ผลดีกว่า จึงได้พัฒนาวิธีการนี้ต่อไปโดยศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่าง ๆ เช่น อัตราการไหล ปริมาณของแอมโมเนียมไพโรรีดินไดโทโอคาร์บามาต และค่าความเป็นกรด-เบส ต่อการสกัดโลหะ ตรวจสอบการนำไปใช้ได้ของวิธีด้วยการเติมโลหะแคดเมียม ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี ชนิดละ 1  $\mu\text{g}$  ลงในเนื้อปลา 1 g ก่อนจะทำการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วยวิธีการที่นำเสนอ ผลการทดลองพบว่าในการวิเคราะห์โลหะแคดเมียม ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี จะมีความเที่ยงในการวิเคราะห์ (%RSD) ในช่วง 0.6 – 15.3 % มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ (% Recovery) อยู่ในช่วง 82 – 101 % และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 10.1 – 13.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  เนื้อปลา

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## Abstract

A method for metal extraction from sample solution was developed for the determination of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in fish tissue. Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (APDC) and activated carbon were used in metal extraction by solid phase extraction, followed by determination of metal concentrations by atomic absorption spectrometry. Two methods of metal extraction are proposed : (i) metal extraction using column containing activated carbon impregnated with APDC and (ii) extraction of metallic complexes on an activated carbon column. The optimum conditions were investigated and tested with model solutions prior to application to sample solution from fish tissue. It was found that the extraction of metallic complexes on activated carbon column was more efficient than the extraction using impregnated activated carbon column. The method was further developed. The influence of various parameters such as flow rate, amount of APDC and pH on metal extraction was investigated. Finally, the proposed method was validated. The %RSD and % recovery were within the range of 0.6 – 15.3 % and 82 – 101 %, respectively. The method detection limit for the determination of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn was in the range of 10.1 – 13.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  fish tissue.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญเรื่อง

หน้า

### 1. บทนำ

1.1. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโลหะ 1

1.2. การหาปริมาณโลหะหนัก 2

1.3. การกำจัดสิ่งรบกวนการวิเคราะห์และการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะ 3

1.4. การใช้ SPE ในกระบวนการวิเคราะห์หาโลหะปริมาณน้อย 4

### 2. การทดลอง

2.1. การเตรียมตัวอย่างเนื้อปลา 7

2.2. การสกัดโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC 8

2.3. การสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและ APDC ด้วยคอลัมน์บรรจุ  
ถ่านกัมมันต์ 9

### 3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1. การสกัดโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC 10

3.1.1. ผลการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างจากเนื้อปลาด้วยคอลัมน์บรรจุ  
ถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC 10

3.1.2. ผลของความเข้มข้นของ matrix ของสารละลายตัวอย่างต่อการสกัดโลหะ 11

3.1.3. ผลของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ในการย่อยตัวอย่างต่อการสกัดโลหะ 12

3.2. การสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและ APDC ด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์ 14

3.2.1. ผลของปริมาณ APDC ต่อการสกัดโลหะจากสารละลายมาตรฐาน 14

3.2.2. ผลการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างจากเนื้อปลา 16

3.2.3. ผลของอัตราเร็วของการผ่านสารละลายตัวอย่างลงคอลัมน์ต่อประสิทธิภาพ  
การสกัดโลหะ 16

3.2.4. ผลของปริมาณ APDC ต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างเนื้อปลา 17

3.2.5. ผลของ pH ของสารละลายตัวอย่างต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ 19

3.2.6. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method validation) 20

4. สรุปและข้อเสนอแนะ 25

เอกสารอ้างอิง 26

ประวัติผู้วิจัย 30

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 โปรแกรมสำหรับการย่อยเนื้อปลาด้วย Microwave digestion unit	7
ตารางที่ 3.1 ประสิทธิภาพการสกัดโลหะจากสารละลายจากตัวอย่างเนื้อปลาและการชะโลหะออกจาก	11
ตารางที่ 3.2 ประสิทธิภาพในการสกัด Cd, Cu, Ni และ Zn จากสารละลายมาตรฐานโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC	11
ตารางที่ 3.3 ประสิทธิภาพการชะของ Cd, Cu, Ni, Pb และ Zn	13
ตารางที่ 3.4 ผลการชะโลหะออกจากคอลัมน์เมื่อใช้ปริมาณ APDC (1 % w/v) ต่างกัน	15
ตารางที่ 3.5 ผลการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างจากเนื้อปลา	16
ตารางที่ 3.6 ผลของอัตราการผ่านสารตัวอย่างต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ	17
ตารางที่ 3.7 Recovery ของโลหะเมื่อใช้ APDC ในความเข้มข้นต่างกัน	18
ตารางที่ 3.8 Recovery ของโลหะเมื่อทำการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างที่มี pH 5 (1 µg ของโลหะ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II))	20
ตารางที่ 3.9 ความแม่นยำของการวิเคราะห์ ความเที่ยงของการวิเคราะห์ และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์หาปริมาณ โลหะในเนื้อปลาด้วยวิธีที่นำเสนอ	22
ตารางที่ 3.10 Recovery และความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่ยอมรับได้ในการวิเคราะห์สารที่ความเข้มข้นต่างๆ	23
ตารางที่ 3.11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการเพิ่มความเข้มข้นและวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักอื่นๆ	24

## สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 3.1 ผลของความเข้มข้นของ matrix ต่อการสกัดโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุ ถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC (20 $\mu\text{g}$ ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)	12
รูปที่ 3.2 ผลของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อการสกัดโลหะ (20 $\mu\text{g}$ ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)	13
รูปที่ 3.3 ผลของปริมาณ APDC ต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ (20 $\mu\text{g}$ ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)	15
รูปที่ 3.4 ผลของปริมาณ APDC ต่อการสกัดโลหะ (20 $\mu\text{g}$ ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)	18
รูปที่ 3.5 ผลของ pH ของสารละลายตัวอย่างต่อการสกัดโลหะ (1 $\mu\text{g}$ ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)	20

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

APDC	Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate
FAAS	Flame Atomic Absorption Spectrometry
GFAAS	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry
SPE	Solid Phase Extraction



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## บทที่ 1

### บทนำ

ปัจจุบันปัญหาภาวะการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดการสะสมของโลหะหนักในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในแหล่งน้ำนั้น แล้วส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคสัตว์น้ำ อีกทั้งระดับมาตรฐานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำที่ส่งออกหรือบริโภคภายในประเทศมีการกำหนดอย่างรัดกุมขึ้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษา ติดตามและตรวจสอบปัญหาภาวะการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำ รวมทั้งการสะสมของโลหะหนักในสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในแหล่งน้ำนั้นด้วย ซึ่งวิธีที่ใช้ในศึกษา ติดตาม และตรวจสอบปัญหาภาวะการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำและสัตว์น้ำนั้น ควรเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย มีความถูกต้อง และมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ไม่สูงมากนัก เพื่อที่จะได้ทำการตรวจวัดปริมาณของโลหะหนักที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ได้อย่างต่อเนื่อง

ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักจะมีข้อจำกัดในด้านความไวของเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณโลหะหนักซึ่งมีอยู่ในระดับต่ำ (trace analysis) หรือมีสารรบกวนการวิเคราะห์มาก เช่น ในตัวอย่างสิ่งแฉะล้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเพิ่มขั้นตอนการวิเคราะห์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง ก่อนที่จะนำไปตรวจวัดหาปริมาณด้วยเครื่องมือที่เหมาะสม โดยปกติในขั้นตอนการสกัดโลหะใช้เวลาและขั้นตอนมากกว่าในการวัด ดังนั้นเพื่อลดขั้นตอนและระยะเวลาในกระบวนการวิเคราะห์ลง ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงทำการพัฒนาเทคนิคการสกัดโลหะหนักแบบพหุธาตุเพื่อให้สามารถสกัดโลหะหนักได้หลายชนิดในขั้นตอนเดียวโดยใช้เทคนิคเฟสของแข็ง ก่อนที่จะวัดหาปริมาณโลหะหนักในเนื้อปลาด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์บชัน สเปกโทรเมตรี

ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในเนื้อปลา ประกอบไปด้วยขั้นตอนสำคัญสองขั้นตอน คือ ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วยเครื่องมือ โดยจำเป็นต้องคำนึงถึงสิ่งรบกวนในการวิเคราะห์ด้วย

#### 1.1. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโลหะ

การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในอาหารทะเล เริ่มต้นจากกระบวนการเตรียมตัวอย่างซึ่งเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมาก สามารถทำได้โดยการย่อยด้วยกรดแบบที่เป็นทั้งกระบวนการแบบ Wet และ Dry ash procedures เนื่องจากตัวอย่างที่เป็นเนื้อเยื่อสามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยกรด ซึ่งแตกต่างจากตัวอย่างของแข็งทางสิ่งแวดล้อมอื่น เช่น พืช หรือ ดิน ที่ยังเหลือองค์ประกอบที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยกรด อย่างไรก็ตามระยะเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างมักจะยาวนานและใช้เวลามากกว่าขั้นตอนการวิเคราะห์โลหะ ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างมักจะประกอบไปด้วยกระบวนการกำจัดสารอินทรีย์ที่อยู่ในตัวอย่าง การทำ Wet digestion ด้วยกรดเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์

ด้วยเทคนิค Atomic spectrometry โดยตัวอย่างจะถูกย่อยด้วยกรดก่อนนำไปวิเคราะห์ และกรดที่นิยมใช้คือ  $\text{HNO}_3$  เพราะจะไม่ทำให้เกิดเกลือของโลหะที่ไม่ละลายน้ำ และยังสามารถใช้ร่วมกับ Hydrogen peroxide เพื่อเพิ่มความสามารถในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ [1] นอกจากนี้ยังสามารถใช้กรด  $\text{HNO}_3$  ร่วมกับกรดอื่นๆ ได้ เช่น  $\text{HCl}$ ,  $\text{HClO}_4$  และ  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ [2] ซึ่งการเลือกชนิดของกรดจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง

การทำการย่อยด้วยกรดแบบ Wet Digestion จะทำในภาชนะเปิด โดยเติมกรดลงในตัวอย่างและให้ความร้อนให้สารผสมเดือดอย่างช้าๆ และเติมกรดเพิ่มได้เพื่อป้องกันไม่ให้สารตัวอย่างแห้ง เมื่อการย่อยเกิดอย่างสมบูรณ์ สามารถปล่อยให้สารละลายระเหยจนเกือบแห้งแล้วค่อยเติมกรดเจือจางและปรับปริมาตรเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป หากมีของแข็งที่ไม่ละลายจำเป็นต้องกรองออกก่อน นอกจากนี้การทำ Wet Digestion สามารถทำในระบบปิดโดยทำให้ของผสมร้อนขึ้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ หรือที่เรียกว่า Microwave Digestion โดยภาชนะที่ใช้บรรจุจะต้องทนกรด ทนความร้อน และทนความดันได้ และมีส่วนที่สามารถปลดปล่อยไอของกรดเพื่อลดความดันที่เกิดขึ้นภายในภาชนะ (Pressure relief valve) อุณหภูมิของสารตัวอย่างจะขึ้นกับพลังงานของคลื่นไมโครเวฟที่ให้ ซึ่งการย่อยโดยใช้คลื่นไมโครเวฟจะใช้ระยะเวลาสั้นกว่าการทำในภาชนะเปิด โดยมีการเสนอวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีนี้ใน AOAC Official Method 999.10 [3] สำหรับการวิเคราะห์เนื้อปลา

Dry Ashing เป็นการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หา Nonvolatile metals โดยในวิธีนี้จะใส่ตัวอย่างในภาชนะที่ทนความร้อนสูงและนำภาชนะดังกล่าวไปเผาในเตาเผา ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้เผาอาจสูงถึง  $400 - 450^\circ\text{C}$  [1] โดยจะใช้เวลาในการเผานาน [4] เถ้าที่ได้จะถูกละลายด้วยกรด  $\text{HNO}_3$  ก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะ ซึ่งวิธีนี้ได้ระบุไว้ใน AOAC Official Method 999.11 [5] สำหรับการวิเคราะห์หา Cu, Fe และ Zn ในตัวอย่างปลาด้วยเทคนิค Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

นอกเหนือจากวิธีการย่อยและเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมแล้ว ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักจำเป็นต้องมีการทำ Quality Control เพื่อประกันคุณภาพของการวิเคราะห์ ซึ่งรวมถึง Contamination Control, การทำ Digestion Blanks, การทำ Spiked test portions, การทำซ้ำ การใช้ Standard Reference Materials ที่เหมาะสม และคำนวณหา Recovery [4]

## 1.2. การหาปริมาณโลหะหนัก

การเลือกเทคนิคสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักจะขึ้นอยู่กับปริมาณของโลหะหนักในตัวอย่าง ความง่ายในการทำการวิเคราะห์ จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้และความชำนาญของผู้ทำการวิเคราะห์ ด้วยเหตุนี้จึงมีเทคนิคเพียงไม่กี่ชนิดที่ถูกพัฒนาขึ้นมาสำหรับการวิเคราะห์อาหารทะเลที่ต้องการความรวดเร็ว โดยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปีที่นิยมใช้กัน ได้แก่ Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS), Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS), Inductively

Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES), Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) และ X-ray Fluorescence Spectrometry (XRF)

FAAS เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีนิยมใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในปลา เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่ายและประหยัด ซึ่ง AOAC Official Method 999.10 ได้ใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์เช่นกัน [3] อย่างไรก็ตาม ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of Detection) ของเทคนิค FAAS ยังไม่ต่ำพอสำหรับการวิเคราะห์ธาตุบางชนิด ซึ่งในกรณีนี้จำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่น เช่น GFAAS ซึ่งมีความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity) ที่ดีกว่า แต่เทคนิคนี้ก็ยังมีข้อเสียคือ หากในสารละลายของตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์มีองค์ประกอบอื่นๆ (Matrix) ที่ไม่ใช่โลหะที่ต้องการวิเคราะห์อยู่ในปริมาณมาก ก็จะส่งผลกระทบต่อสัญญาณการวิเคราะห์ได้ (Matrix Effect) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำจัด matrix ดังกล่าวออกก่อน นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ ICP-AES สำหรับการวิเคราะห์หาโลหะใน shellfish ด้วย [4] โดยเทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ได้หลายธาตุในเวลาเดียวกัน เป็นการประหยัดเวลาและเพิ่มจำนวนตัวอย่างของการวิเคราะห์ได้เป็นจำนวนมาก โดย Sensitivity ของเทคนิค ICP-AES จะดีและเทียบได้กับ GFAAS และ FAAS สำหรับธาตุบางตัว นอกจากนี้ ICP-MS ก็เป็นเทคนิคที่มี Sensitivity ในการวิเคราะห์ที่ดีมากแต่ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง ส่วนเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์โลหะปริมาณน้อยใน Shellfish ได้แก่ Voltammetry, Polarography นอกจากนี้ยังสามารถใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ร่วมกับ detector ที่เป็น Electrochemical และ Spectrophotometric detection [4] ได้เช่นกัน

ในงานวิจัยนี้ เลือกใช้เทคนิค GFAAS สำหรับการวิเคราะห์โลหะในเนื้อปลา เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่มีอยู่ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ แต่ข้อเสียของเทคนิคนี้คือ GFAAS จะพบปัญหาสิ่งรบกวนจากตัวอย่าง ซึ่งส่งผลให้มีความผิดพลาดในการวิเคราะห์โลหะที่มีความเข้มข้นต่ำมากๆ ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเพิ่มขึ้นขั้นตอนการกำจัดสิ่งรบกวนเข้าไปในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง เพื่อให้การวิเคราะห์ถูกต้องมากขึ้น

### 1.3 การกำจัดสิ่งรบกวนการวิเคราะห์และการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะ

วิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อกำจัดสิ่งรบกวนการวิเคราะห์และเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของโลหะที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ การตกตะกอนร่วม (Coprecipitation) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Liquid-liquid extraction, LLE) และการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction, SPE)

การสกัดด้วยตัวทำละลายใช้ประโยชน์ในการแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากตัวรบกวนอื่นๆ โดยอาศัยการ Partition ของสารระหว่างเฟสของเหลวสองเฟสที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน [6] การใช้ LLE ก่อนที่จะวิเคราะห์ด้วย FAAS เป็นที่นิยมใช้กันทั่วไปในการหาโลหะปริมาณน้อยในน้ำ โดยให้

โลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ Chelating agent ในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ ตัวอย่างของ Chelating agent ที่นิยมใช้ ได้แก่ Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (APDC) และ Dithizone [7]

มีรายงานการใช้ APDC ในการสกัด Cr, Cd และ Pb สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโลหะดังกล่าว ในตัวอย่างปลา [8] และ Cd สำหรับการวิเคราะห์สิ่งมีชีวิตจากทะเล [9] ในขณะที่ Dithizone ถูกนำไปใช้ในการสกัด Pb ในการวิเคราะห์อาหาร [10] โดยวิธีมาตรฐานสำหรับหาโลหะปริมาณต่ำในตัวอย่างน้ำจะใช้ APDC ในการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะก่อนที่จะสกัดสารประกอบเชิงซ้อนด้วย methyl isobutyl ketone (MIBK) และวิเคราะห์หาปริมาณด้วย FAAS [6] ข้อเสียของวิธีการนี้คือใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นจำนวนมาก (300 – 500 mL) และต้องระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกเพื่อให้สารเข้มข้นขึ้นก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ ซึ่งทำให้กระบวนการวิเคราะห์ใช้เวลานาน [11]

กระบวนการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (SPE) เป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับค่านิยม เนื่องจากลดปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ ซึ่งเป็นการลดอันตรายในการทดลองและประหยัดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ รวมถึงลดระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างลงด้วย โดย SPE นิยมนำมาใช้ในการสกัดโลหะเพื่อแยกโลหะออกจากสิ่งรบกวนการวิเคราะห์และเพิ่มความเข้มข้นของโลหะหนักในตัวอย่างน้ำ ในงานวิจัยนี้สนใจใช้เทคนิค SPE ในการสกัดโลหะออกจากสารละลายที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างเนื้อปลา โดยใช้ร่วมกับ APDC เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดและใช้ถ่านกัมมันต์เป็นเฟสของแข็ง

#### 1.4 การใช้ SPE ในกระบวนการวิเคราะห์หาโลหะปริมาณน้อย

มีการนำตัวดูดซับหลายชนิดมาเป็นเฟสของแข็งสำหรับเทคนิค SPE โดยมีการใช้เฟสของแข็งที่มาจากทั้งธรรมชาติและวัสดุสังเคราะห์ เช่น ซิลิกา คาร์บอน เซลลูโลส และ โพลิเมอร์ ซึ่งเฟสดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้ทั้งแบบที่ไม่ถูกดัดแปรและแบบที่ถูกดัดแปรด้วยวิธีทางเคมีและฟิสิกส์

ในช่วงสองทศวรรษที่ผ่านมา ได้มีการใช้เฟสของแข็งที่เป็นซิลิกาที่มีคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนไอออนสำหรับทำการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะจากตัวอย่างชนิดต่างๆ โดยโลหะจะมีแรงกระทำกับพื้นผิวของซิลิกาแบบอ่อนๆ เนื่องจากความเป็นกรดอ่อนของหมู่ Silanol บนพื้นผิวซิลิกา รวมทั้งอะตอมของออกซิเจนบนพื้นผิวก็เป็นตัวให้อิเล็กตรอนที่ไม่ดีนัก ดังนั้นจึงได้มีการปรับปรุงพื้นผิวของซิลิกาเจลโดยการเติมหมู่ Chelating agent ลงไปเพื่อให้มีประสิทธิภาพและความจำเพาะเจาะจงมากขึ้นในการจับกับโลหะ [12] เช่น มีการเติมหมู่ dithizone [13], 2-mercapto-5-phenylamino-1,3,4-thiadiazole [14], 1,8-Dihydroxyanthraquinone ลงบนพื้นผิวของซิลิกาเจล และนำตัวดูดซับดังกล่าวมาใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของ Pb, Zn และ Cd ในตัวอย่างน้ำได้ดิน น้ำประปา และน้ำจากแม่น้ำ [15] นอกจากนี้ซิลิกาที่ดัดแปรด้วยหมู่ N-propylsalicylaldimine และ 3-aminopropyltriethoxysilane ก็ถูกนำมาใช้ในการแยก Cd, Cr, Cu, Mn และ Pb ที่มีอยู่ในระดับต่ำจากตัวอย่างน้ำจากธรรมชาติ ซิลิกาที่มีหมู่ C<sub>18</sub> บนพื้นผิวก็สามารถใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะได้

เช่นกัน แต่จำเป็นต้องเติมหมู่ Chelating agent ลงไปในตัวอย่างน้ำก่อนเพื่อไปเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะ ก่อนที่จะนำมาผ่านคอลัมน์ของซิลิกาที่มี  $C_{18}$  ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวก็จะถูกจับไว้บนเฟสของซิลิกาดังกล่าวได้ ตัวอย่างของ Chelating agent ที่ใช้ร่วมกับซิลิกาที่มี  $C_{18}$  คือ APDC [16] และ 1,10-phenanthroline [17]

อย่างไรก็ตามแม้ว่าซิลิกาเจลที่ถูกรับปรุงพื้นผิวจะได้รับความสนใจและนิยมใช้อย่างกว้างขวาง แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในการใช้เฟสดังกล่าวเช่นกัน นั่นคือซิลิกาเจลจะสามารถใช้งานได้ในช่วง pH ที่จำกัด และไม่สามารถใช้ได้ทั้งที่ pH ต่ำกว่า 2 หรือสูงกว่า 8 เนื่องจากพื้นผิวของซิลิกาอาจจะเกิดการไฮโดรไลซิสได้ [12] ดังนั้นจึงได้มีการนำตัวดูดซับที่เป็นพอลิเมอร์เข้ามาใช้แทนซิลิกา เนื่องจากสามารถใช้งานได้ในช่วง pH ที่กว้างกว่า แต่ก็มีข้อเสียตรงที่ต้องใช้เวลานานในขั้นตอนการปรับสภาพพื้นผิว (Conditioning Step) ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์เนื่องจากต้องมีการทำความสะอาดพื้นผิวอย่างดี ก่อนที่จะนำมาใช้ [12]

ตัวอย่างการนำพอลิเมอร์ได้แก่ งานวิจัยของ Ferreira และคณะ ที่ใช้ Amberlite XAD-2 (polystyrene-divenylbenzene polymer) ที่ปรับปรุงด้วย 2-(2-benzothiazolylazo)-2-p-cresol (BTAC) มาใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของ Pb [18] และ Ni [19] ในตัวอย่างมาตรฐาน (reference materials) นอกจากนี้ยังมีการใช้ Polytetrafluoroethylene polymers (PTFE) เป็นเฟสของแข็งที่จะจับโลหะหนักที่เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ Chelating agent อย่าง APDC, DDTC หรือ dithizone ด้วยเช่นกัน

นอกจากเฟสของแข็งที่ได้ยกตัวอย่างมาข้างต้น ด้านกัมมันต์ก็เป็นวัสดุอีกชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องมาจากประสิทธิภาพที่ดีในการดูดซับสารอินทรีย์และสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ มีการศึกษาการนำด้านกัมมันต์มาใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นของโลหะและพบว่าสามารถเพิ่มความเข้มข้นได้ดี ได้ Concentration Factor ที่สูงและสามารถใช้ได้กับสารตัวอย่างหลากหลาย [20] โดยทั่วไปแล้วการเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับของไอออนของโลหะบนด้านกัมมันต์สามารถทำได้โดยใช้ Chelating Agents หรือ Precipitating Agents [21] ซึ่งกลไกการดูดซับยังไม่ชัดเจน โดยที่การดูดซับของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะหนักบนด้านกัมมันต์สามารถอธิบายได้ด้วย Langmuir และ Freundlich equation ขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะหนัก และจากการศึกษาสมมูลของการดูดซับ พบว่าค่า pH เป็นตัวแปรสำคัญที่มีผลต่อการเกิดการดูดซับ [22]

มีการนำด้านกัมมันต์มาใช้ในการกระบวนการวิเคราะห์โลหะในน้ำ ยกตัวอย่างเช่น Yunes และคณะ [23] ได้ใช้คอลัมน์ที่บรรจุด้านกัมมันต์ในการดูดซับและเพิ่มความเข้มข้นของ Ni โดยไม่มีการใช้ Complexing agent ในขณะที่ Narin และคณะ [24] ได้วิเคราะห์ Cu, Mn, Cd, Pb, Ni และ Cr ในน้ำธรรมชาติด้วย FAAS หลังจากทำการเพิ่มความเข้มข้นด้วยการทำให้โลหะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ pyrocatechol violet และดูดซับไว้บนด้านกัมมันต์ นอกจากนี้ มีการใช้ Chelating agents หลายชนิดร่วมกับด้านกัมมันต์เพื่อสกัดโลหะและเพิ่มความเข้มข้นของโลหะในตัวอย่างน้ำ เช่น APDC [25], 8-hydroxyquinoline [26] และ o,o-diethyl-dithiophosphate [27] นอกจากนี้ตัวอย่างที่เป็นน้ำแล้ว ยังมีการใช้

ถ่านกัมมันต์กับตัวอย่างชนิดอื่นๆเช่นกัน เช่น De Pena และคณะ [28] ได้หาปริมาณ Pb ในนมด้วยการใช้ APDC และ dithizone ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนก่อนที่จะทำให้เกิดการดูดซับบนถ่านกัมมันต์

จากผลการค้นเอกสารเบื้องต้นพบว่า เทคนิค SPE เป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการสกัดโลหะออกจากตัวอย่างรวมทั้งสามารถช่วยเพิ่มความเข้มข้นของโลหะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้เฟสของแข็งที่เป็นถ่านกัมมันต์ร่วมกับ Chelating agent ที่เป็น APDC นั้นจะสามารถวิเคราะห์โลหะได้หลายชนิดในเวลาเดียวกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการสกัดโลหะ Cu, Cd, Ni, Pb, และ Zn ในสารละลายที่ได้จากตัวอย่างเนื้อปลา โดยทำการทดลองเบื้องต้นกับสารละลายมาตรฐานของโลหะ และเมื่อได้ภาวะที่เหมาะสมจึงนำไปใช้กับสารละลายที่ได้จากการทำ Wet Digestion หรือ Acid Digestion ของเนื้อปลาก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Atomic Absorption Spectrometry เพื่อเสนอเป็นวิธีการวิเคราะห์โลหะดังกล่าวในเนื้อปลา



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 2

### การทดลอง

ในงานวิจัยนี้ ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ โลหะในเนื้อปลา โดยสกัดโลหะออกจากสารละลาย ด้วยวิธีการสกัดด้วยเฟสของแข็งและใช้ถ่านกัมมันต์เป็นเฟสของแข็งร่วมกับ Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (APDC) และวิเคราะห์ปริมาณโลหะด้วยเทคนิค Atomic Absorption Spectrometry (AAS) เช่น Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS) และ Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS) โดยศึกษาวิธีการสกัดโลหะในตัวอย่างด้วยเฟสของแข็งสองวิธี คือ การสกัดโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC และ การสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและ APDC ในตัวอย่างด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์ โดยใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างแบบการย่อยด้วยการดสองวิธีคือ การย่อยแบบ Wet Digestion และการย่อยแบบ Microwave Digestion

#### 2.1. การเตรียมตัวอย่างเนื้อปลา

เนื้อปลาที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นเนื้อปลากะพง วิธีการเตรียมตัวอย่างจากเนื้อปลา แบ่งเป็นสองวิธีคือ การเตรียมตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Microwave (Microwave digestion) และการเตรียมตัวอย่างแบบ Wet digestion โดยดัดแปลงจาก AOAC Official Method 999.10 [3]

##### 2.1.1. วิธี Microwave digestion

ใช้เนื้อปลาหนัก 1.0 g ผสมกับกรดไนตริกเข้มข้น 5 mL หรือสารละลายผสมระหว่างกรดไนตริกเข้มข้น 2 mL และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30%) 2 mL ทำการย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง Microwave digestion unit รุ่น Paar Physica (Perkin-Elmer) โดยโปรแกรมสำหรับการย่อยเนื้อปลาแสดงดังตารางที่ 2.1 หลังย่อยจะได้สารละลายใส ถ้าสังเกตพบตะกอนต้องทำการกรอง หลังจากนั้นเติม (spike) สารละลายโลหะมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นลงไปเพื่อใช้เป็นปริมาณมาตรฐานในการตรวจติดตามประสิทธิภาพของการสกัดโลหะ จากนั้นปรับ pH ของสารละลายให้เป็น pH ที่ต้องการด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำปราศจากไอออนให้เป็น 50 mL

ตารางที่ 2.1 โปรแกรมสำหรับการย่อยเนื้อปลาด้วย Microwave digestion unit

ขั้นที่	Power (watts)	เวลา (นาที)
1	100	5
2	600	5
3	1000	5
4	0	15

หมายเหตุ ขั้นที่ 4 เป็นการลดอุณหภูมิของภาชนะที่ใส่สารตัวอย่างหลังเสร็จกระบวนการย่อย

### 2.1.2. วิธี Wet digestion

การเตรียมสารตัวอย่างด้วยวิธีย่อยเนื้อปลาแบบ Wet digestion ทำโดยการย่อยแบบเปิด โดยใช้เนื้อปลา 1.0 g ใส่ในบีกเกอร์ เติมกรดไนตริกเข้มข้น 5 mL และทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้นเติมกรดไนตริกเข้มข้นอีก 10 mL และให้ความร้อนอย่างช้าๆเป็นเวลา 1 ชั่วโมงให้เหลือสารละลายปริมาตร 3 – 5 mL เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30%) ในปริมาณที่ต้องการ (0 – 10 mL) และให้ความร้อนอีกเป็นเวลาประมาณ 30 นาทีจนกระทั่งสารละลายเหลือ 2-3 mL ทำการกรองหากมีตะกอน แล้วเติมสารละลายโลหะมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นลงไปเพื่อใช้เป็นปริมาณมาตรฐานในการตรวจติดตามประสิทธิภาพของการสกัดโลหะ ปรับ pH ด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำปราศจากไอออนให้เป็น 50 mL

### 2.2. การสกัดโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุอานกัมมันต์เคลือบด้วย APDC

ในการสกัดโลหะเริ่มจากใช้คอลัมน์ที่บรรจุอานกัมมันต์ 0.1 g ผ่านสารละลาย APDC 1% w/v ปริมาตร 10 mL ด้วยอัตราการไหล 1 mL/min จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยน้ำปราศจากไอออน 5 mL เพื่อล้าง APDC ที่เหลือ แล้วผ่านสารละลายที่เตรียมได้จากการย่อยเนื้อปลาและเติมสารละลายมาตรฐานโลหะเพื่อติดตามประสิทธิภาพของการสกัดโลหะลงคอลัมน์ด้วยอัตราการไหล 1 mL/min เก็บสารละลายที่ผ่านจากคอลัมน์เพื่อไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโลหะที่ไม่ถูกจับไว้ในคอลัมน์ด้วยเครื่อง FAAS จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยน้ำปราศจากไอออน 5 mL และ 1 M กรดไนตริกในอะซีโตน 10 mL ด้วยอัตราการไหล 0.6 mL/min นำสารละลายที่ได้จากการชะทั้งหมดมาระเหยให้เหลือปริมาตรประมาณ 1 mL และเจือจางด้วย 1% กรดไนตริกให้ได้ปริมาตร 10 mL ในขวดวัดปริมาตรและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วยเครื่อง FAAS คำนวณหาประสิทธิภาพการสกัดโลหะ (% sorption) และประสิทธิภาพการชะโลหะ (% elution) ดังสมการ (2.1) และ (2.2) ตามลำดับ

$$\%sorption = \frac{N_s - N_f}{N_s} \times 100 \quad (2.1)$$

เมื่อ  $N_s$  คือ ปริมาณโลหะในสารละลายเริ่มต้น ( $\mu\text{g}$ )

$N_f$  คือ ปริมาณโลหะที่เหลือในสารละลายที่ผ่านคอลัมน์ ( $\mu\text{g}$ )

$$\%elution = \frac{N_e}{N_a} \times 100 \quad (2.2)$$

เมื่อ  $N_e$  คือ ปริมาณโลหะที่ถูกชะออกมาจากคอลัมน์ด้วยตัวชะ ( $\mu\text{g}$ )

$N_a$  คือ ปริมาณโลหะที่ถูกดูดซับไว้ในคอลัมน์ ( $\mu\text{g}$ )



### 2.3. การสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและ APDC ด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์

ในการศึกษานี้ได้ทดลองเบื้องต้นกับสารละลายมาตรฐาน โลหะเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโลหะ Cu, Cd, Pb, Ni และ Zn ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้สกัดโลหะในสารละลายที่เตรียมจากเนื้อปลา

#### 2.3.1. การสกัดโลหะจากสารละลายมาตรฐานโลหะ

เตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะ (50 mL) ที่มีโลหะแต่ละชนิดปริมาณ 20  $\mu\text{g}$  ปรับ pH ให้มีค่าประมาณ 5 ด้วยสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตเข้มข้น 0.2 M จากนั้นเติมสารละลาย APDC เข้มข้น 1% w/v เพื่อให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและ APDC ในสารละลายก่อนนำไปสกัดด้วยคอลัมน์ที่บรรจุถ่านกัมมันต์ 0.1 g โดยทำการปรับสภาพคอลัมน์ (conditioning) ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์แอมโมเนียมอะซิเตต (pH 5) เข้มข้น 0.2 M จากนั้นผ่านสารละลายที่มีสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะลงในคอลัมน์ด้วยอัตราการไหล 1 mL/min และทำการชะโลหะที่ถูกจับไว้ในคอลัมน์ด้วยสารละลายกรดไนตริก 1 M ในอะซิโตนปริมาตร 10 mL ใช้อัตราการไหล 0.6 mL/min เก็บสารละลายที่ได้จากการชะและนำไประเหยให้เหลือปริมาตรประมาณ 1 mL และปรับปริมาตรให้เป็น 10 mL ด้วยสารละลายกรดไนตริก 1 % ตรวจวัดหาความเข้มข้นของโลหะในสารละลายดังกล่าวด้วยเครื่อง FAAS และ GFAAS

#### 2.3.2. การสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างจากเนื้อปลา

ในการทดลองนี้เตรียมตัวอย่างจากเนื้อปลา ใช้วิธี Microwave digestion เพื่อลดเวลาในการเตรียมตัวอย่างโดยใช้โปรแกรมดังที่ระบุไว้ในตารางที่ 2.1 และใช้สารละลายในการย่อยคือสารละลายผสมระหว่างกรดไนตริกเข้มข้น 2 mL และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30%) 2 mL ต่อเนื้อปลา 1 g เมื่อได้สารละลายตัวอย่างแล้ว ทำการเติมสารละลายมาตรฐานโลหะแต่ละชนิดลงไปเพื่อติดตามประสิทธิภาพของการสกัดโลหะ โดยปริมาณโลหะที่ใช้คือชนิดละ 20  $\mu\text{g}$  จากนั้นทำการทดลองเหมือนที่ระบุไว้ในหัวข้อ 2.3.1.

### บทที่ 3

#### ผลการทดลองและอภิปรายผล

ในงานวิจัยนี้นำเสนอวิธีการวิเคราะห์โลหะในเนื้อปลาโดยทำการสกัดโลหะในสารละลายที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างเนื้อปลาด้วยเทคนิค SPE ก่อนจะวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วย FAAS หรือ GFAAS และเสนอวิธีการสกัดโลหะสองวิธี คือ การสกัดโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC และ การสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและ APDC ในตัวอย่างด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์ โดยศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ การสกัดโลหะ และเลือกวิธีที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดใน การสกัดโลหะ เพื่อทำการวิเคราะห์โลหะในเนื้อปลาและทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการต่อไป

#### 3.1. การสกัดโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC

วิธีการทดลองที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เป็นวิธีสำหรับสกัดโลหะในสารละลายโดยใช้ถ่านกัมมันต์ร่วมกับ APDC โดยเคลือบ (Impregnation) ถ่านกัมมันต์ให้ชุ่มด้วยสารที่เสถียรแล้วเพื่อใช้เป็นเฟสของแข็งสำหรับสกัดโลหะ แล้วผ่านสารละลายตัวอย่างเพื่อทำการสกัดโลหะไว้บนเฟสของแข็ง ทำการชะโลหะด้วยตัวชะที่เหมาะสมก่อนนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วยเครื่อง FAAS หรือ GFAAS โดยคณะทำงานได้ศึกษาและนำวิธีการดังกล่าวไปใช้ในการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของโลหะจากสารละลายมาตรฐานและจากตัวอย่างน้ำ [29] พบว่าสามารถใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงนำวิธีการทดลองดังกล่าวมาใช้เป็นวิธีต้นแบบสำหรับการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในเนื้อปลา

#### 3.1.1. ผลการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างจากเนื้อปลาด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC

ในการทดลองนี้ เตรียมสารตัวอย่างจากเนื้อปลาด้วยวิธี Microwave digestion โดยใช้กรดไนตริกเข้มข้นในการย่อยโดยไม่เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งจะได้สารละลายใส ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะที่มีอยู่ในตัวอย่างพบว่าไม่สามารถตรวจพบโลหะในสารละลายตัวอย่างได้ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวิเคราะห์ได้คือ 2.3, 2.1, 2.7, 2.0 และ 2.5  $\mu\text{g/L}$  สำหรับการวิเคราะห์ธาตุ Cd, Cu, Ni, Pb และ Zn ตามลำดับ จึงทำการเติมสารละลายมาตรฐานโลหะลงไปเพื่อติดตามประสิทธิภาพการสกัด โดยเติมโลหะลงไปชนิดละ 20  $\mu\text{g}$  ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.1

จากผลการทดลองพบว่า มีเพียง Cu เท่านั้นที่ถูกสกัดได้ดีจากสารละลายตัวอย่างด้วยคอลัมน์ที่ใช้และถูกชะออกจากคอลัมน์ได้ดีเช่นกัน ในขณะที่โลหะตัวอื่นๆ ไม่ถูกสกัดไว้ด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการเคลือบด้วย APDC ซึ่งผลการทดลองที่ได้แตกต่างจากผลการทดลองในงานวิจัยก่อนหน้านี้เมื่อใช้ระบบคอลัมน์ดังกล่าวในการสกัดโลหะจากสารละลายมาตรฐานโลหะ [29] ซึ่งผลจากงานวิจัยก่อนหน้านี้นี้พบว่า % Recovery ของโลหะ Cd, Cu, Ni และ Zn จะสูงกว่า 96% (ตารางที่ 3.2) ในขณะที่

เมื่อเปลี่ยนจากสารละลายมาตรฐานโลหะเป็นสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากเนื้อปลา โลหะดังกล่าวไม่ถูกสกัดไว้ด้วยเฟสของแข็ง อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบอื่นๆของสารละลาย (matrix) ที่ได้จากการย่อยเนื้อปลามีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ จึงได้ทำการศึกษาผลของ matrix ดังกล่าวต่อไป

ตารางที่ 3.1 ประสิทธิภาพการสกัด โลหะจากสารละลายจากตัวอย่างเนื้อปลาและการชะ โลหะออกจากคอลัมน์

โลหะ	% Sorption <sup>a</sup>	% Elution <sup>a</sup>
Cd	n.d.	-
Cu	> 99.8	96.3 ± 2.2
Ni	n.d.	-
Pb	n.d.	-
Zn	n.d.	-

<sup>a</sup> Mean value ± SD, n = 4

ตารางที่ 3.2 ประสิทธิภาพในการสกัด Cd, Cu, Ni และ Zn จากสารละลายมาตรฐาน โลหะด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์เคลือบด้วย APDC [29]

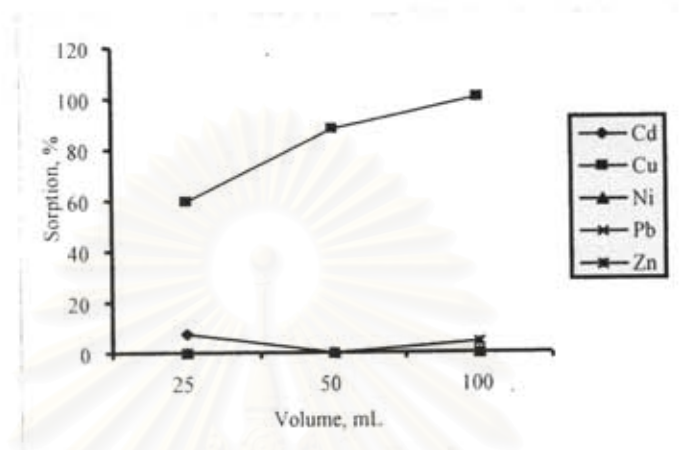
Element	Recovery <sup>a</sup> (%)	R.S.D. (%)
Cd	96.9	4.5
Cu	101.7	2.4
Ni	99.5	4.7
Zn	104.8	4.5

<sup>a</sup> mean value, n = 3

### 3.1.2. ผลของความเข้มข้นของ matrix ของสารละลายตัวอย่างต่อการสกัดโลหะ

ในการทดลองนี้ สิ่งที่ต้องส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างเนื้อปลา คือ matrix ของสารละลายตัวอย่าง ซึ่งในกรณีนี้คือ กรดไนตริกและ matrix จากเนื้อปลาเอง โดยในการศึกษาผลของ matrix จะทำการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของ matrix ต่างกัน โดยทำการเตรียมตัวอย่างด้วยการย่อยเนื้อปลา 1.0 g ด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 5 mL ด้วยวิธี Microwave digestion จากนั้นทำการเติมสารละลายมาตรฐาน โลหะลงในสารละลายตัวอย่างเพื่อติดตาม

ประสิทธิภาพการสกัด โดยเติมโลหะชนิดละ 20  $\mu\text{g}$  และนำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาเจือจางให้มี ปริมาตรสุดท้ายเป็น 25, 50 และ 100 mL ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นของ matrix ในสารละลายเป็น 20, 10 และ 5 % v/v ตามลำดับ และทำการทดลองสกัดโลหะ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.1



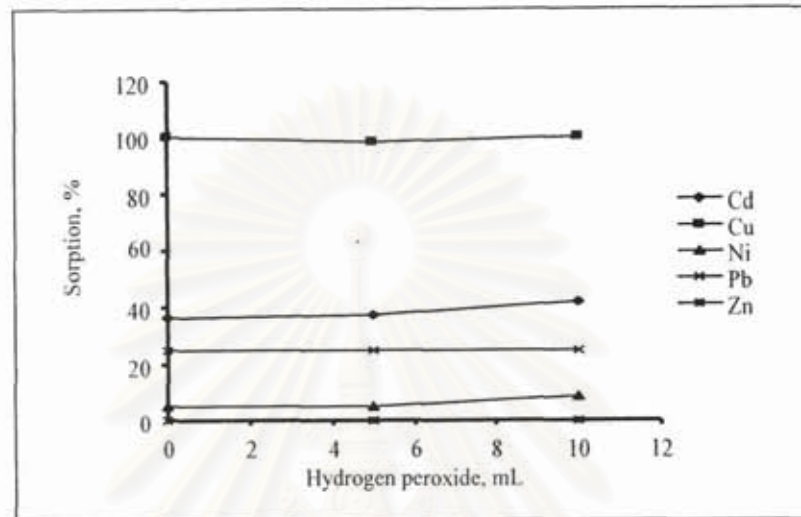
รูปที่ 3.1 ผลของความเข้มข้นของ matrix ต่อการสกัดโลหะด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์ เคลือบด้วย APDC (20  $\mu\text{g}$  ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)

จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของ matrix มีผลต่อการสกัด Cu ไว้บนเฟสของแข็ง เมื่อ ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างเพิ่มขึ้น หรือเมื่อความเข้มข้นของ matrix น้อยลง Cu จะถูกสกัด ไว้บนเฟสของแข็งได้มากขึ้น และเมื่อปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างเป็น 100 mL หรือความ เข้มข้นของ matrix เป็น 5 % v/v ประสิทธิภาพในการสกัด Cu ด้วยเฟสของแข็งจะดีที่สุดและสามารถ สกัดได้เกือบ 100 % ของปริมาณ Cu ที่เติมลงไป ในสารละลายตัวอย่าง ในขณะที่โลหะตัวอื่นยังคงไม่ถูก สกัดไว้ด้วยเฟสของแข็ง ผลการทดลองดังกล่าวเป็นดั่งบ่งชี้ว่า matrix ที่มาจากสารละลายตัวอย่างมีผล ต่อประสิทธิภาพในการสกัด โลหะ จึงมีความจำเป็นต้องกำจัด matrix ก่อนที่จะนำสารละลายตัวอย่างมา สกัดโลหะด้วยเฟสของแข็ง และ matrix หลักที่น่าจะเป็นคือกรดไนตริกที่ใช้ย่อยตัวอย่างและ สารประกอบอินทรีย์จากเนื้อปลาที่ยังตกค้างอยู่ โดยการทดลองถัดไปจะทำการเพิ่มไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ลงไป ในกรดไนตริกเข้มข้นเพื่อช่วยในการย่อย เนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นตัวออก ชิไดส์ที่ดีตัวหนึ่งที่น่าจะใช้ในการออกชิไดส์สารประกอบอินทรีย์

### 3.1.3. ผลของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ในการย่อยตัวอย่างต่อการสกัดโลหะ

ในการทดลองนี้จะทำการย่อยเนื้อปลาโดยวิธี Wet digestion โดยจะเติมไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ลงไป ปริมาณ 0-10 mL ร่วมกับกรดไนตริกเข้มข้น และเติมสารละลายมาตรฐานโลหะลงใน สารละลายตัวอย่างเพื่อติดตามประสิทธิภาพการสกัด โดยเติมโลหะชนิดละ 20  $\mu\text{g}$  ลงในสารละลาย

ตัวอย่างที่เตรียมได้ และทำการทดลองเหมือนวิธีที่ระบุไว้ในวิธีการทดลอง ผลการสกัดโลหะและการชะโลหะแสดงดังรูปที่ 3.2 และตารางที่ 3.3 ตามลำดับ



รูปที่ 3.2 ผลของปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อการสกัดโลหะ (20 µg ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)

ตารางที่ 3.3 ประสิทธิภาพการชะของ Cd, Cu, Ni, Pb และ Zn

Element	Elution <sup>a</sup> , %		
	no H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 5 mL	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10 mL
Cd	30.1 (30.1-30.2)	37.6 (36.0-39.2)	41.9 (40.1-43.7)
Cu	102.2 (100.6-103.9)	97.9 (98.7-97.0)	98.9 (98.1-99.7)
Ni	n.d.	n.d.	n.d.
Pb	n.d.	n.d.	n.d.
Zn	n.d.	n.d.	n.d.

<sup>a</sup> Mean value (range), n = 2

n.d. = non detectable

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อไม่มีการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถสกัด Cu, Cd, Pb และ Ni จากสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยโดยวิธี Wet digestion (รูปที่ 3.2) ซึ่งดีกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยแบบ Microwave digestion แต่ประสิทธิภาพการสกัด

ของโลหะ Cd, Pb และ Ni ยังคงต่ำมาก ในขณะที่การเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงไปร่วมกับกรดไนตริกไม่ส่งผลต่อการสกัดแต่อย่างใด และผลการทดลองในตารางที่ 3.3 แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการชะออกของโลหะดังกล่าวออกจากคอลัมน์ยังไม่ดีพอที่จะนำวิธีนี้ไปทำการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในตัวอย่างไม่อปลา

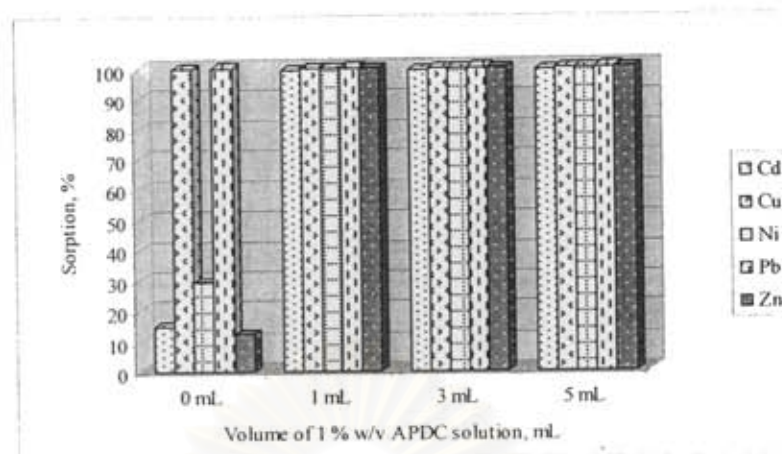
จากผลการทดลองที่ผ่านมาพบว่า วิธีการสกัดโลหะหนักโดยอาศัยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการเคลือบด้วย APDC นั้นไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการสกัดโลหะเพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในเนื้อปลา จึงได้ทดลองวิธีการใหม่โดยการทำให้โลหะในสารละลายตัวอย่างเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ APDC ก่อนที่จะนำไปสกัดด้วยถ่านกัมมันต์

### 3.2. การสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและ APDC ด้วยคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์

ในการศึกษานี้ได้ทดลองเบื้องต้นกับสารละลายมาตรฐานโลหะเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโลหะ Cu, Cd, Pb, Ni และ Zn ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้กับสารละลายที่เตรียมจากเนื้อปลา

#### 3.2.1. ผลของปริมาณ APDC ต่อการสกัดโลหะจากสารละลาย มาตรฐาน

ปริมาณ APDC เป็นตัวแปรหนึ่งที่มีความสำคัญที่จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ เนื่องจากหากเติม APDC น้อยเกินไป การเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะทั้งหมดในสารละลายจะเกิดได้ไม่สมบูรณ์ ซึ่งจะส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดโลหะ นอกจากนี้ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่า ถ่านกัมมันต์ดูดซับเฉพาะโลหะ Cu และ Pb ได้ดี และดูดซับโลหะอื่นได้เล็กน้อย ดังนั้นจำเป็นต้องทำให้โลหะทั้งหมดในสารละลายอยู่ในรูปที่ไม่มีขั้วหรือในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนก่อน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดโลหะด้วยถ่านกัมมันต์ แต่ในกรณีที่เติม APDC มากเกินไป ปริมาณ APDC อิสระที่เหลืออยู่มากเกินไปอาจจะไปแข่งขันกับสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะกับ APDC ในการจับกับถ่านกัมมันต์ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสารประกอบเชิงซ้อนถูกจับไว้ด้วยถ่านกัมมันต์ได้น้อยลง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทราบปริมาณ APDC ที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง โดยในการทดลองนี้ใช้สารละลาย APDC 1% w/v ปริมาตรระหว่าง 1 – 5 mL เติมลงในสารละลายที่มีโลหะชนิดละ 20 µg และทำการวิเคราะห์ตามกระบวนการที่ระบุไว้ในข้อ 2.3.1 ผลการสกัดโลหะแสดงดังรูปที่ 3.3 เปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่ใช้ APDC และผลการชะโลหะออกจากคอลัมน์แสดงในตารางที่ 3.4



รูปที่ 3.3 ผลของปริมาณ APDC ต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ (20 µg ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)

ตารางที่ 3.4 ผลการชะโลหะออกจากคอลัมน์เมื่อใช้ปริมาณ APDC (1 % w/v) ต่างกัน

Element	% Elution <sup>a</sup>			
	APDC 0 mL	APDC 1 mL	APDC 3 mL	APDC 5 mL
Cd	n.d.	103.5 (99.3-107.8)	98.7 (97.3-100.2)	97.9 (95.0-100.8)
Cu	97.8 (96.5-99.1)	106.0 (103.6-108.5)	98.1 (95.1-101.2)	97.4 (96.1-98.8)
Ni	n.d.	98.5 (95.6-101.4)	104.3 (103.8-104.9)	89.9 (87.4-92.5)
Pb	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Zn	n.d.	95.7 (94.3-97.1)	105.5 (104.0-107.0)	99.8 (97.8-101.9)

<sup>a</sup> Mean value (range), n = 2

จากรูปที่ 3.3 พบว่าการใช้ APDC ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะก่อนจะนำไปสกัดด้วยคอลัมน์ที่บรรจุถ่านกัมมันต์เป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดของโลหะ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Cd, Ni และ Zn และเมื่อใช้ปริมาตรของสารละลาย APDC 1% w/v ในช่วง 1 – 5 mL พบว่าสามารถสกัดโลหะทุกชนิดได้อย่างสมบูรณ์ จึงเลือกใช้สารละลาย APDC 1 mL สำหรับการทดลองต่อไป และปริมาณดังกล่าวน่าจะเพียงพอสำหรับเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะที่มีปริมาณต่ำในเนื้อปลา ผลการชะโลหะ ผลการทดลองในตารางที่ 3.4 แสดงให้เห็นว่าปริมาณ APDC ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพชะโลหะออกจากคอลัมน์ และผลการชะของโลหะ Cd, Cu, Ni และ Zn สูงกว่า 95 % แต่ภาวะในการทดลองนี้ยังไม่เหมาะสมที่จะชะตะกั่วจากคอลัมน์ได้

### 3.2.2. ผลการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างจากเนื้อปลา

ในการทดลองนี้เตรียมตัวอย่างจากเนื้อปลาโดยใช้วิธี Microwave digestion เพื่อลดเวลาในการเตรียมตัวอย่าง โดยใช้โปรแกรมดังที่ระบุไว้ในตารางที่ 2.1 และใช้สารละลายในการย่อยคือสารละลายผสมระหว่างกรดไนตริกเข้มข้น 2 mL และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30%) 2 mL ต่อเนื้อปลา 1 g เมื่อได้สารละลายตัวอย่างแล้ว ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะที่มีอยู่ในตัวอย่างพบว่าไม่สามารถตรวจพบโลหะในสารละลายตัวอย่างได้ โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวิเคราะห์ได้คือ 2.3, 2.1, 2.7, 2.0 และ 2.5  $\mu\text{g/L}$  สำหรับการวิเคราะห์ธาตุ Cd, Cu, Ni, Pb และ Zn ตามลำดับ จึงเติมสารละลายมาตรฐานโลหะลงในสารละลายตัวอย่างเพื่อติดตามประสิทธิภาพการสกัด โดยเติมโลหะชนิดละ 20  $\mu\text{g}$  ลงในสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ จากนั้นทำการทดลองเหมือนที่ระบุไว้ในหัวข้อ 2.3.1 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 ผลการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างจากเนื้อปลา

Element	% Sorption	% Elution <sup>a</sup>
Cd	> 99.5	106.6 $\pm$ 4.7
Cu	> 99.8	99.9 $\pm$ 8.4
Ni	> 99.9	100.0 $\pm$ 3.9
Pb	> 99.9	32.6 $\pm$ 2.4
Zn	> 99.3	97.2 $\pm$ 7.4

<sup>a</sup> Mean value  $\pm$  SD, n=11

จากตารางที่ 3.5 พบว่าวิธีการทดลองดังกล่าวสามารถสกัดโลหะทุกชนิดในสารละลายตัวอย่างจากเนื้อปลาได้เป็นอย่างดี และสามารถที่จะชะโลหะจากคอลัมน์เพื่อไปวิเคราะห์หาปริมาณได้มากกว่า 97 % ยกเว้น Pb ซึ่งสามารถชะได้เพียง 33 % เท่านั้น ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาต่อไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชะให้สูงขึ้น

### 3.2.3. ผลของอัตราเร็วของการผ่านสารละลายตัวอย่างลงคอลัมน์ต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ

ในการทดลองนี้ได้ศึกษาผลของอัตราเร็วของการผ่านสารละลายลงคอลัมน์ (sample loading flow rate) ต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ โดยได้ศึกษาอัตราเร็วของการผ่านสารละลายตัวอย่างในช่วง 1-10 mL/min โดยยังคงใช้อัตราเร็วในการผ่านตัวชะในขั้นตอนการชะเป็น 0.6 mL/min เตรียมสารละลายตัวอย่างด้วยการย่อยเนื้อปลาด้วยวิธี Microwave digestion ทำการเติมสารละลายมาตรฐาน



โลหะหนักลงไปเพื่อติดตามประสิทธิภาพการสกัดและเติมโลหะชนิดละ 20 µg ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.6 โดยประสิทธิภาพของการสกัดและชะโลหะแสดงโดยค่า % Recovery จำนวนตามสมการที่ (3.1) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอัตราเร็วของการผ่านสารละลายในช่วงที่ศึกษาไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดโลหะหนัก โดย % Recovery อยู่ในช่วง 95-104 % สำหรับ Cd, Cu, Ni และ Zn ในขณะที่การวิเคราะห์ Pb ยังคงให้ผลที่ไม่ดี ซึ่งคาดว่าเป็นผลมาจากภาวะในขั้นตอนการชะที่ยังไม่เหมาะสม ดังนั้นในการทดลองถัดไปจะใช้อัตราเร็วในการผ่านสารละลายตัวอย่างเป็น 10 mL/min เพื่อลดระยะเวลาในการทดลอง

$$\% \text{Recovery} = \frac{N_{\text{total}} - N_{\text{sample}}}{N_{\text{spiked}}} \times 100 \quad (3.1)$$

- เมื่อ  $N_{\text{total}}$  คือ ปริมาณ โลหะที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมดในสารละลาย (µg)  
 $N_{\text{sample}}$  คือ ปริมาณ โลหะที่มีอยู่ในสารตัวอย่างจริงก่อนจะทำการเติมสารละลายมาตรฐาน (µg)  
 $N_{\text{spiked}}$  คือ ปริมาณ โลหะจากสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในสารตัวอย่าง (µg)

ตารางที่ 3.6 ผลของอัตราการผ่านสารตัวอย่างต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ

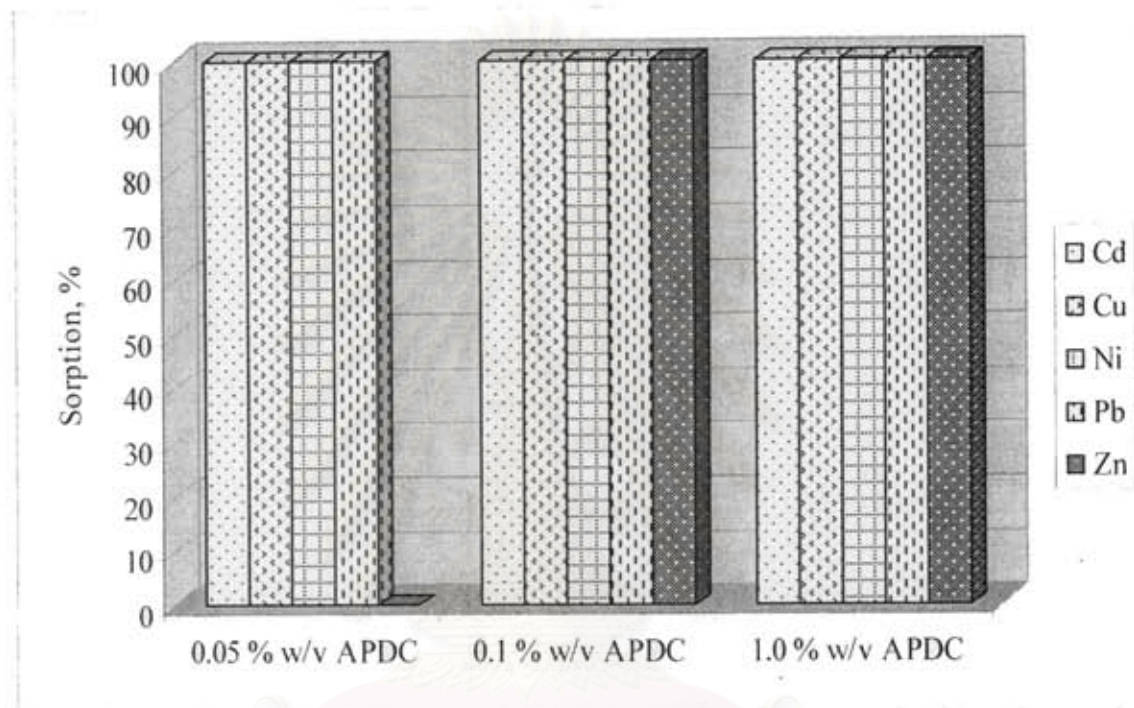
Elements	Recovery <sup>a</sup> , %		
	1 mL min <sup>-1</sup>	5 mL min <sup>-1</sup>	10 mL min <sup>-1</sup>
Cd	97.5 ± 3.6	95.4 ± 2.5	101.2 ± 2.7
Cu	97.2 ± 2.5	101.5 ± 3.1	96.5 ± 4.1
Ni	97.5 ± 3.5	96.9 ± 2.5	98.3 ± 1.9
Pb	36.5 ± 1.3	35.5 ± 2.7	30.3 ± 2.9
Zn	103.3 ± 4.1	104.6 ± 2.6	102.5 ± 3.5

<sup>a</sup> Mean value ± SD, n = 3

### 3.2.4. ผลของปริมาณ APDC ต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างเนื้อปลา

การศึกษาขั้นต่อไปคือการดูผลของปริมาณ APDC ที่ใช้ ซึ่งในวิธีการที่นำเสนอมา มีการเติมสารละลาย APDC เข้มข้น 1% w/v ในปริมาตร 1 mL ลงในสารละลายตัวอย่าง 50 mL ซึ่งการเติม APDC มากเกินไปอาจจะไม่ส่งผลให้ประสิทธิภาพของการสกัดดีขึ้น รวมทั้งเป็นการสิ้นเปลือง แต่อย่างไรก็ตามปริมาณ APDC ควรจะเพียงพอสำหรับการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะทั้งหมดที่อยู่ในสารละลาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของ APDC ที่ใช้ ในการทดลองนี้ได้ทดลอง

เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย APDC ที่ใช้ในช่วง 0.05 – 1.0 % w/v โดยทำการเตรียมตัวอย่างเนื้อปลาด้วยวิธี Microwave digestion ก่อนจะเติมสารละลายมาตรฐานโลหะหนักลงไปเพื่อติดตามประสิทธิภาพการสกัด โดยเติมโลหะชนิดละ 20 µg ประสิทธิภาพของการสกัดและ % Recovery แสดงดังรูปที่ 3.4 และตารางที่ 3.7 ตามลำดับ



รูปที่ 3.4 ผลของปริมาณ APDC ต่อการสกัด โลหะ (20 µg ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)

ตารางที่ 3.7 Recovery ของโลหะเมื่อใช้ APDC ในความเข้มข้นต่างกัน

Elements	Recovery <sup>a</sup> , %		
	0.05% w/v APDC	0.1% w/v APDC	1.0% w/v APDC
Cd	104.1 (102.6-105.7)	97.6 (96.7-98.6)	96.5 (95.2-97.8)
Cu	96.3 (93.7-99.0)	100.8 (100.2-101.5)	97.6 (96.6-98.7)
Ni	98.7 (97.6-99.8)	98.5 (95.5-101.5)	99.9 (98.6-101.3)
Pb	40.2 (39.2-41.2)	42.1 (42.1-42.2)	42.1 (41.1-43.2)
Zn	n.d.	103.3 (101.3-105.3)	105.6 (104.6-106.6)

<sup>a</sup> Mean value(range), n=2

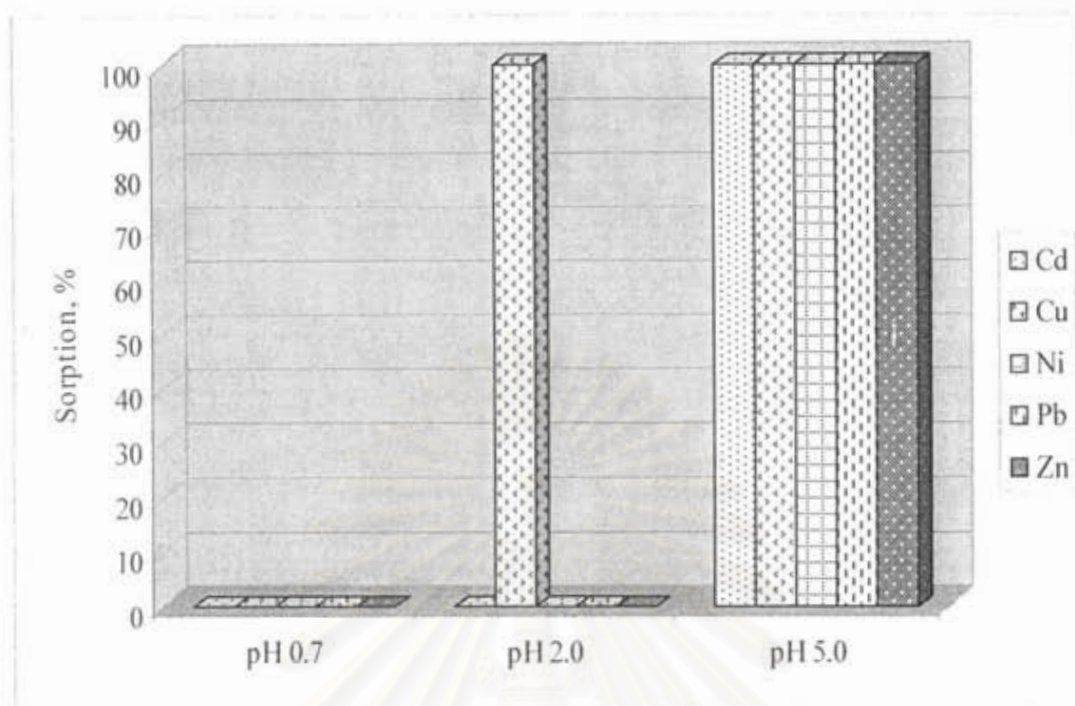
n.d. = not detectable

ผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้สารละลาย APDC ความเข้มข้น 0.05 % w/v เดิมในสารละลายมีปริมาณโลหะอยู่ชนิดละ 20 µg จะส่งผลให้โลหะ Cd, Cu, Ni และ Pb ถูกสกัดด้วยคอลัมน์ได้ดี ในขณะที่ Zn ไม่ถูกสกัดไว้ด้วยคอลัมน์เลย และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย APDC เป็น 0.1 % และ 1.0 % w/v โลหะทุกตัวสามารถถูกสกัดไว้ได้ทั้งหมดด้วยคอลัมน์ ดังนั้นในการทดลองถัดไปจะลดความเข้มข้นของ APDC ลงมาเป็น 0.1 % w/v โดยความเข้มข้นนี้เพียงพอสำหรับการวิเคราะห์โลหะในเนื้อปลาในธรรมชาติ เนื่องจากน่าจะมีปริมาณโลหะแต่ละชนิดน้อยกว่า 20 µg/g เนื้อปลา และเมื่อพิจารณาถึงการชะโลหะที่ติดอยู่ในคอลัมน์ ซึ่งในวิธีการทดลองนี้จะใช้กรดไนตริก 1 M ในอะซิโตน ปริมาตร 10 mL เป็นตัวชะ พบว่า % Recovery ของ Cd, Cu, Ni และ Zn จะสูงกว่า 96 % ในขณะที่การชะ Pb ยังคงให้ผลที่ต่ำเพียง 40%

### 3.2.5. ผลของ pH ของสารละลายตัวอย่างต่อประสิทธิภาพการสกัดโลหะ

วิธีการสกัดโลหะในงานวิจัยนี้ได้จากการพัฒนาการทดลองกับสารละลายมาตรฐาน โลหะโดยได้ทำการปรับค่า pH ของสารละลายตัวอย่างให้เป็น pH 5 ก่อนทำการสกัดด้วยคอลัมน์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆที่ผ่านมา พบว่ายังมีข้อขัดแย้งเรื่องค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโลหะ โดยจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ทดลองใช้ค่า pH ของสารละลายเป็น pH 1 [30], pH 2 [31] และ pH 5 [32] ซึ่งเมื่อพิจารณาการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยเนื้อปลา จะพบว่าการสกัดโลหะที่ pH ต่ำจะสะดวกกว่าในแง่ของการเตรียมตัวอย่าง เนื่องจากไม่ต้องเติมบัฟเฟอร์ลงไปจำนวนมากเพื่อปรับ pH ของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อย รวมทั้งเป็นการลดการปนเปื้อนจากสารเคมีด้วย ในงานวิจัยนี้จึงศึกษาหา pH ที่เหมาะสมกับการสกัดโลหะ และศึกษาค่า pH ดังต่อไปนี้ pH 0.7 ซึ่งเป็น pH ของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยเนื้อปลา pH 2 และ pH 5 โดยเติมสารละลายมาตรฐานโลหะหนักลงไปในสารละลายตัวอย่างเพื่อติดตามประสิทธิภาพการสกัด และเติมโลหะชนิดละ 1 µg ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3.5

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อ pH ของสารละลายเป็น pH 0.7 โลหะจะไม่ถูกสกัดไว้ในคอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์ และที่ pH 2 มีเพียง Cu เท่านั้นที่ถูกสกัดออกมาจากสารละลายได้ ในขณะที่เมื่อสารละลายตัวอย่างมี pH 5 จะทำให้โลหะทุกตัวในสารละลายถูกสกัดไว้ด้วยคอลัมน์ถ่านกัมมันต์ได้ดี ดังนั้น pH ที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและ APDC ก็คือ pH 5 นอกจากนี้ผลการทดลองในส่วนของการชะเมื่อทำการทดลองโดยใช้สารละลายตัวอย่างที่มี pH 5 แสดงไว้ในตาราง 3.8 โดยพบว่า % Recovery ของ Cd, Cu, Ni และ Zn อยู่ในช่วง 84 – 111 % และประสิทธิภาพการชะโลหะ Pb ยังคงต่ำ (56%)



รูปที่ 3.5 ผลของ pH ของสารละลายตัวอย่างต่อการสกัด โลหะ (1  $\mu\text{g}$  ของ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II), n=2)

ตารางที่ 3.8 Recovery ของโลหะเมื่อทำการสกัดโลหะจากสารละลายตัวอย่างที่มี pH 5 (1  $\mu\text{g}$  ของโลหะ Cd(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) และ Zn(II))

Elements	Recovery <sup>a</sup> , %
Cd	100.6 (97.5-103.8)
Cu	84.3 (80.6-88.1)
Ni	93.5 (93.4-93.7)
Pb	56.0 (53.0-59.0)
Zn	111.2 (110.8-111.6)

<sup>a</sup> Mean value(range), n = 2

### 3.2.6. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method validation)

จากการทดลองที่ผ่านมา จะเห็นว่าประสิทธิภาพการชะของโลหะ Pb ยังคงอยู่ในระดับต่ำเกินกว่าที่จะยอมรับได้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำขั้นตอนการปรับสภาพพื้นผิวเฟสของแข็ง หรือ Conditioning step เข้ามาใช้ร่วมด้วยในการสกัดโลหะ ซึ่งพบว่าช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์โลหะได้ดี โดยสารละลายที่จะนำมาปรับสภาพพื้นผิวของเฟสของแข็งจะต้องเหมาะสมกับชนิดของเฟส

ของแข็งที่ใช้เพื่อให้พื้นผิวอยู่ในสภาพที่เหมาะสมที่สุดในการดูดซับโลหะ และนอกจากนี้สารละลายที่ใช้ปรับสภาพพื้นผิวควรมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารละลายตัวอย่างที่จะผ่านคอลัมน์หลังจากนั้นด้วย ยกตัวอย่างเช่น มีค่า pH หรือ ความแรงของไอออน (Ionic strength) ที่คล้ายกับสารละลายตัวอย่าง เป็นต้น [33] ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองเพิ่มขึ้นขั้นตอนการปรับสภาพพื้นผิวของถ่านกัมมันต์ก่อนที่จะทำการสกัดโลหะที่อยู่ในสารละลายตัวอย่าง โดยเลือกใช้สารละลายสำหรับปรับสภาพพื้นผิวเป็นอะซีโตนและตามด้วยบัฟเฟอร์แอมโมเนียมอะซิเตด ก่อนที่จะผ่านสารละลายตัวอย่างเพื่อทำการสกัดโลหะ

และเพื่อเป็นการพิสูจน์ว่าวิธีการที่นำเสนอสามารถนำไปใช้ได้จริง จำเป็นจะต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ก่อน (Method validation) โดยวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะที่นำเสนอในงานวิจัยนี้เริ่มจากการเตรียมตัวอย่างเนื้อปลา การสกัดโลหะด้วยเฟสของแข็ง และการวิเคราะห์หาปริมาณด้วย FAAS หรือ GFAAS โดยมีรายละเอียดในแต่ละขั้นตอนดังต่อไปนี้

#### ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเนื้อปลา

นำเนื้อปลาสดมาในน้ำหนักที่แน่นอนใกล้เคียง 1.0 g เติมสารละลายมาตรฐานโลหะ Cd, Cu, Ni, Pb และ Zn ลงไปในเนื้อปลา (โลหะละ 1 µg) จากนั้นเติมกรดไนตริกเข้มข้น 2 mL และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30% อีก 2 mL นำของผสมไปย่อยด้วยเครื่องไมโครเวฟ ปรับ pH ของสารละลายตัวอย่างที่ได้ให้เป็น pH 5 ด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ก่อนที่จะปรับปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่างให้เป็น 50 mL

#### ขั้นตอนการสกัดโลหะและการวิเคราะห์ปริมาณ

เติมสารละลาย APDC เข้มข้น 0.1 %w/v ปริมาตร 1 mL ลงในสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50 mL เพื่อให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะกับ APDC ก่อนที่จะทำการสกัดด้วยเฟสของแข็ง จากนั้นเตรียมคอลัมน์เฟสของแข็ง โดยการบรรจุถ่านกัมมันต์ 0.1 g ลงในคอลัมน์ ทำการปรับสภาพพื้นผิวถ่านกัมมันต์ด้วยการผ่านอะซีโตนปริมาตร 5 mL และบัฟเฟอร์แอมโมเนียมอะซิเตดเข้มข้น 0.2 M (pH 5) จากนั้นผ่านสารละลายตัวอย่างที่มีสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะลงคอลัมน์ด้วยอัตราการไหล 10 mL/min และชะโลหะที่อยู่ในคอลัมน์ด้วยสารละลายกรดไนตริก 1 M ในอะซีโตนปริมาตร 10 mL ด้วยอัตราการไหล 0.6 mL/min นำสารละลายที่ได้จากการชะมาระเหยเอาตัวทำละลายออกจนมีปริมาตรประมาณ 1 mL และปรับปริมาตรให้เป็น 5 mL ในขวดวัดปริมาตรด้วยสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 1% นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วย GFAAS

ทำการวิเคราะห์ซ้ำและคำนวณค่า % Recovery และ %RSD เพื่อตรวจสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ รวมถึงคำนวณหาขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Method Detection limit,

MDL) จากขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ (Instrument detection limit, IDL) ที่หาจากการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโลหะในสารละลายที่เป็น Method blank โดย IDL จะเท่ากับสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นที่วัดได้จาก Method blank ดังแสดงการคำนวณในสมการที่ (3.2) และ (3.3) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.9

$$IDL (\mu\text{g/L}) = 3 \times SD \text{ method blank } (\mu\text{g/L}) \quad (3.2)$$

$$MDL = IDL(\mu\text{g/L}) \times V_{\text{eluent}} (\text{L})/\text{weight of sample (kg)} \quad (3.3)$$

โดย  $V_{\text{eluent}}$  คือ ปริมาตรของตัวชะที่ใช้ในการชะโลหะออกจากคอลัมน์ ซึ่งในวิธีการนี้คือ 5.00 mL

ตารางที่ 3.9 ความแม่นยำของการวิเคราะห์ ความเที่ยงของการวิเคราะห์ และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในเนื้อปลาด้วยวิธีที่นำเสนอ

Elements	Recovery <sup>a</sup> , %	RSD, %	MDL ( $\mu\text{g/kg}$ )
Cd	97.4 ± 4.4	4.5	11.7
Cu	92.5 ± 14.1	15.3	10.6
Ni	81.9 ± 0.5	0.6	13.4
Pb	88.3 ± 4.7	5.3	10.1
Zn	101.1 ± 6.0	5.9	12.7

<sup>a</sup> Mean value ± SD, n = 4

% RSD = (SD×100)/mean value

จากผลการทดลองพบว่า % Recovery ของ Pb เพิ่มขึ้นเป็น 88% ในขณะที่ Recovery ของโลหะตัวอื่นอยู่ในช่วง 82 – 101% และเมื่อพิจารณาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) จาก %RSD พบว่าจะมีค่าอยู่ในช่วง 0.6 – 15.3 % โดยค่าความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่ยอมรับได้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโลหะ [34] แสดงดังตารางที่ 3.10 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าความแม่นยำของการวิเคราะห์อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ นั่นคือ %Recovery อยู่ในช่วง 80-110 และเมื่อพิจารณาความเที่ยงในการวิเคราะห์ พบว่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ Cd, Ni, Pb และ Zn อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ นั่นคือ %RSD ไม่เกิน 11% ในขณะที่การวิเคราะห์ Cu ยังคงมีความเที่ยงในการวิเคราะห์ต่ำและจำเป็นต้องศึกษาต่อไป เมื่อพิจารณาถึงขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ พบว่าวิธีการที่นำเสนอมีขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 10 – 13  $\mu\text{g/kg}$  เนื้อปลา

ตารางที่ 3.10 Recovery และความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่ยอมรับได้ในการวิเคราะห์สารที่ความเข้มข้นต่างๆ [34]

Analyte, %	Analyte ratio	Unit	Mean recovery, %	RSD, %
100	1	100%	98-102	1.3
10	$10^{-1}$	10%	98-102	2.8
1	$10^{-2}$	1%	97-103	2.7
0.1	$10^{-3}$	0.1%	95-105	3.7
0.01	$10^{-4}$	100 ppm	90-107	5.3
0.001	$10^{-5}$	10 ppm	80-110	7.3
0.0001	$10^{-6}$	1 ppm	80-110	11
0.00001	$10^{-7}$	100 ppb	80-110	15
0.000001	$10^{-8}$	10 ppb	60-115	21
0.0000001	$10^{-9}$	1 ppb	40-120	30

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ที่นำเสนอในงานวิจัยนี้กับผลของงานวิจัยอื่นที่ได้ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณ โลหะหนัก โดยอาศัยการเพิ่มความเข้มข้นและวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางอะตอมมิกสเปกโตรสโกปี (ตารางที่ 3.11) พบว่า วิธีการที่นำเสนอในงานวิจัยนี้มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์อยู่ในระดับปานกลางเมื่อเทียบวิธีการอื่นๆ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการเพิ่มความเข้มข้นและวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนัก  
อื่นๆ

Element	Sample	Material	System /Instrument	LOD <sup>a</sup> (µg/L)	LOD <sup>b</sup> (µg/kg sample)	Ref.
Pb	seafood	Polyurethane polyurethane foam loaded with 2-(2-benzothiazolylazo)-2-p-cresol	Online / FAAS	1.0	17.5	[35]
Fe, Cu, Ni, Co, Cr(III),Zn	Fish tissue	activated carbon loaded with bis salicyl aldehyde, 1,3 propan diimine (BSPDI)	FAAS	0.02- 0.80	0.56- 0.66	[36]
Co, Cd, Pb, Mn, Cr(III), Ni	Canned fish	<i>Bacillus thuringiensis var. israelensis</i> immobilized on Chromosorb 101	FAAS	0.37- 2.85	2.96- 22.8	[37]
Pb	Plant sample	octadecyl bonded silica membrane disk modified with Cyanex302	FAAS	1.0	20	[38]
Cu	Food (bean, peanut, soybean)	Amberlite XAD-2 functionalized with β-nitroso-α-naphthol	Online /FAAS	1.1	- <sup>c</sup>	[39]
Ni	Food (spinach leaves, rice flour)	Amberlite XAD-2 loaded with 2-(2-benzothiazolylazo)-2-p-cresol (BTAC)	Online /FAAS	1.1	- <sup>c</sup>	[40]
Cd, Cu, Ni, Pb, Zn	Fish tissue	Activated carbon	GFAAS	2.01- 2.68	10.1- 13.4	งานวิ จัยนี้

<sup>a</sup> วิเคราะห์และคำนวณค่าโดยใช้ method blank


<sup>b</sup> คำนวณโดยใช้ LOD จาก method blank และเทียบกับน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีการ  
อื่นๆ ตามสมการ

<sup>c</sup> ไม่สามารถคำนวณได้จากข้อมูลในเอกสารอ้างอิงดังกล่าว

FAAS คือ Flame atomic absorption spectrometer

Online/FAAS คือ ระบบ preconcentration ที่ต่อแบบ online กับเครื่อง Flame atomic absorption  
spectrometer





ต้นฉบับไม่มีหน้า 25-26

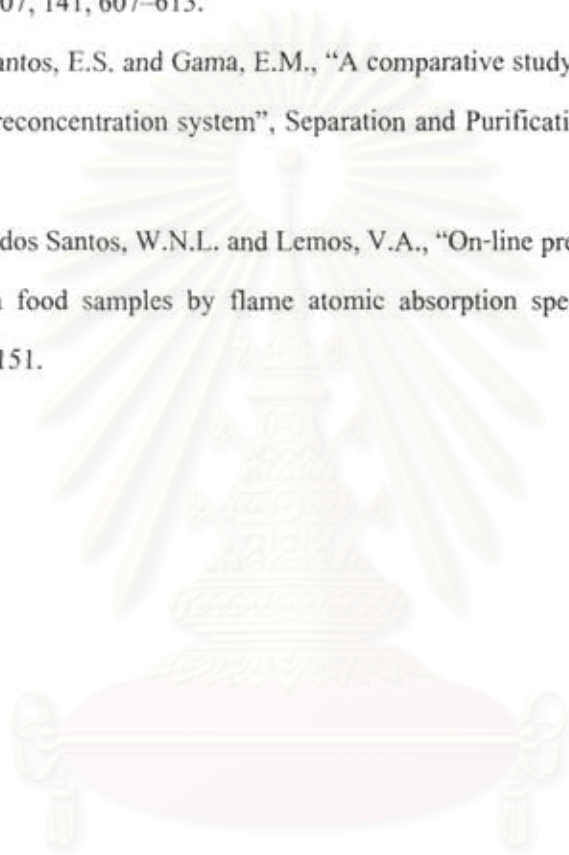
NO PAGE 25-26 IN ORIGINAL

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

15. Goswami, A. and Singh, A.K., "1,8-Dihydroxyanthraquinone anchored on silica gel: synthesis and application as solid phase extraction for lead(II), zinc(II) and cadmium(II) prior to their determination by flame atomic absorption spectrometry", *Talanta*, 2002, 58, 669-678.
16. Hutchinson, S.; Kearney, G.A.; Horne, E.; Lynch, B. and Glennon, M.A.; McKervey, M.A. and Harris, S.J., "Solid phase extraction of metal ions using immobilized chelating calixarene tetrahydroxamates", *Anal. Chim. Acta*, 1994, 291, 269.
17. Ali, A.; Yin, X.; Shen, H.; Ye, Y. and Gu, X., "1,10-Phenanthroline as complexing agent for on-line sorbent extraction/preconcentration for flow injection-flame atomic absorption spectrometry", *Anal. Chim. Acta*, 1999, 392, 283-289.
18. Ferreira, S.L.C.; Lemos, V.A.; Santelli, R.E.; Ganzarolli, E. and Curtius, A.J., "An automated on-line flow system for the preconcentration and determination of lead by flame atomic absorption spectrometry", *Microchem. J.*, 2001, 68, 41-46.
19. Ferreira, S.L.C.; Santos, W.N.L.D. and Lemos, V.A., "On-line preconcentration system for nickel determination in food samples by flame atomic absorption spectrometry", *Anal. Chem. Acta*, 2001, 445, 145-151.
20. Liu, Z. and Huang, S., "Determination of copper in sea water by preconcentration and electrothermal atomic absorption spectrometry", *Anal. Chim. Acta*, 1992, 267, 31-37.
21. Yunes, N.; Moyano, S.; Cerutti, S.; Gasquez, J.A. and Martinez, L.D., "On-line preconcentration and determination of nickel in natural water samples by flow injection-inductively coupled plasma optical emission spectrometry", *Talanta*, 2003, 59, 943-947.
22. Piperki, E.; Berndt, H. and Jackwerth, E., "Investigations on the sorption of metal chelates on activated carbon", *Anal. Chim. Acta*, 1978, 100, 589-596.
23. Yunes, N.; Moyano, S.; Cerutti, S.; Gasquez, J.A. and Martinez, L.D., "On-line preconcentration and determination of nickel in natural water samples by flow injection-inductively coupled plasma optical emission spectrometry", *Talanta*, 59, 2003, 934-949.
24. Narin, I.; Soylak, M.; Elci, L. and Dogan, M., "Determination of trace metal ions by AAS in natural water samples after preconcentration of pyrocatechol violet complexes on an activated carbon", *Talanta*, 2000, 52, 1041-1046.
25. Santelli, R.E.; Gallego, M. and Valcarcel, M., "Preconcentration and atomic absorption determination of copper traces in waters by on-line adsorption-elution on an activated carbon minicolumn", *Talanta*, 1994, 41, 817-823.

26. Cerutti, S.; Silva, M.F.; Gasquez, J.A.; Olsina, R.A. and Martinez, L.D., "On-line preconcentration/determination of cadmium in drinking water on activated carbon using 8-hydroxyquinoline in a flow injection system coupled to an inductively coupled plasma optical emission spectrometer", *Spectrochim. Acta Part B*, 2003, 58, 43-50.
27. Quinaia, S.P.; De Silva, J.B.B.; Rollemberg, M.D.C.E. and Curtius, A.J., "Preconcentration of lead complexed with O,O-dithiophosphate by column solid-phase extraction using different sorbents in a flow injection system coupled to a flame atomic absorption spectrometer", *Talanta*, 2001, 54, 687-696.
28. De Pena, Y.P.; Gallego, M. and Valcarcel, M., "On-line sorbent extraction, preconcentration and determination of lead by atomic absorption spectrometry", *Talanta*, 1995, 42, 211-218.
29. Daorattanachai, P.; Unob, F. and Imyim A. "Multi-element preconcentration of heavy metal ions from aqueous solution by APDC impregnated activated carbon", *Talanta*, 2005, 67, 59-64.
30. De Pena, Y.P.; Gallego, M. and Valcarcel, M., "On-line sorbent extraction, preconcentration and determination of lead by atomic absorption spectrometry", *Talanta*, 1995, 42, 211-218.
31. Anthemidis, A.N.; Zachariadis, G.A. and Stratis, J.A., "On-line solid phase extraction system using PTFE packed column for the flame atomic absorption spectrometric determination of copper in water samples", *Talanta*, 2001, 54, 935-942.
32. Liu, Z. and Huang, S., "Determination of copper in sea water by preconcentration and electrothermal atomic absorption spectrometry", *Anal. Chim. Acta*, 1992, 267, 31-37.
33. Simpson, N.J.K., *Solid phase extraction; Principles, techniques and applications USA*: Marcel Dekker, Inc., 2000.
34. Huber, L., *Validation and qualification in analytical laboratories Illinois*: Interpharm Press, Inc., 1999.
35. Lemos, V.A. and Ferreira, S.L.C., "On-line preconcentration system for lead determination in seafood samples by flame atomic absorption spectrometry using polyurethane foam loaded with 2-(2-benzothiazolylazo)-2-p-cresol", *Anal. Chim. Acta*, 2001, 441, 281-289.
36. Ghaedi, M.; Shokrollahi, A.; Kianfar, A.H.; Mirsadeghi, A.S.; Pourfarokhi, A. and Soylak, M., "The determination of some heavy metals in food samples by flame atomic absorption spectrometry after their separation-preconcentration on bis salicyl aldehyde, 1,3 propan diimine (BSPDI) loaded on activated carbon", *J. Hazard. Mat.*, 2008, 154, 128-134.

37. Mendil, D.; Tuzen, M.; Usta, C. and Soylak, M., "Bacillus thuringiensis var. israelensis immobilized on Chromosorb 101: A new solid phase extractant for preconcentration of heavy metal ions in environmental samples", *J. Hazard. Mat.*, 2008, 150, 357–363.
38. Karve, M. and Rajgor, R.V., "Solid phase extraction of lead on octadecyl bonded silica membrane disk modified with Cyanex302 and determination by flame atomic absorption spectrometry", *J. Hazard. Mat.*, 2007, 141, 607–613.
39. Lemos, V.A.; Santos, E.S. and Gama, E.M., "A comparative study of two sorbents for copper in a flow injection preconcentration system", *Separation and Purification Technology*, 2007, 56, 212–219.
40. Ferreira, S.L.C; dos Santos, W.N.L. and Lemos, V.A., "On-line preconcentration system for nickel determination in food samples by flame atomic absorption spectrometry", *Anal. Chim. Acta*, 2001, 445, 145–151.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ-สกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ อิมขิม

(Assist. Prof. Dr. Apichat Imyim)

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม. 10330

โทรศัพท์ 0-2218-7607 โทรสาร 02 254 1309 E-mail : iapichat@chula.ac.th

2. ชื่อ-สกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เฟื่องฟ้า อุ๋นอบ

(Assist. Prof. Dr. Fuangfa Unob)

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม. 10330

โทรศัพท์ 0-2218-7609 โทรสาร 02 254 1309 E-mail : Fuangfa.U@chula.ac.th

3. ชื่อ-สกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลภา เอื้องไมตรีภิมรย์

(Assist. Prof. Dr. Wanlapa Aeungmaitrepirom )

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม. 10330

โทรศัพท์ 0-2218-7607 โทรสาร 02 254 1309 E-mail : wanlapa@sc.chula.ac.th

4. ชื่อ-สกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปกรณ์ วรานุกุล

(Assist. Prof. Dr. Pakorn Varanusupakul)

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม. 10330

โทรศัพท์ 0-2218-7612 โทรสาร 02 254 1309 E-mail : pakorn.v@chula.ac.th

5. ชื่อ-สกุล ดร.พุทธรักษา วรานุสุภากุล

(Dr. Puttaruksa Varanusupakul)

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม. 10330

โทรศัพท์ 0-2218-7612 โทรสาร 02 254 1309 E-mail : puttaruksa.w@chula.ac.th



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย