



โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

- ชื่อโครงการ การหาปริมาณตะกั่วด้วยวิธีการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้ Hollow fiber กับวิธีทางสเปกโตรโฟโตเมตรี
Determination of Pb^{2+} using hollow fiber membrane liquid-phase microextraction with spectrophotometric method
- ชื่อนิสิต นางสาวณิชานันท์ ดวงทอง
- ภาควิชา เคมี
- ปีการศึกษา 2558

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การหาปริมาณตะกั่วด้วยวิธีการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้ Hollow fiber

กับวิธีทางสเปกโตรโฟโตเมตรี

Determination of Pb^{2+} using hollow fiber membrane liquid-phase
microextraction with spectrophotometric method

โดย

นางสาวณิชนันท์ ดวงทอง

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง การหาปริมาณตะกั่วด้วยวิธีการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้ Hollow fiber กับวิธีทางสเปกโตรโฟโตเมตรี

โดย นางสาวณิชานันท์ ดวงทอง

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ



..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.วิทยา เรืองพรวิสุทธิ)



..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปกรณ์ วรรณศุภากุล)



..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ณัฐพงศ์ ไพบูลย์วรชาติ)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดย หัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

คุณภาพการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ต่ำมาก ดี พอใช้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ การหาปริมาณตะกั่วด้วยวิธีการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้ Hollow fiber
กับวิธีทางสเปกโตรโฟโตเมตรี

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวณิชานันท์ ดวงทอง เลขประจำตัว 5533083423

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปกรณ์ วรานุศุภากุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

เนื่องจากโลหะตะกั่วเป็นโลหะที่มีความเป็นพิษสูงและอาจมีผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์และสัตว์ จึงได้มีการพัฒนาวิธีตรวจวัดหาปริมาณตะกั่วในแหล่งน้ำหรือที่ต่าง ๆ ซึ่งการวิเคราะห์จำเป็นต้องใช้ความเข้มข้นของ Pb^{2+} สูงแต่ปริมาณโลหะตะกั่วในธรรมชาติมีอยู่น้อยมาก จึงไม่สามารถตรวจวัดได้ ดังนั้น จึงต้องมีเทคนิคที่ใช้เพิ่มความเข้มข้นของ Pb^{2+} ให้สูงขึ้นก่อนจะนำไปตรวจวัดด้วยเทคนิควิเคราะห์ ซึ่งเทคนิคนี้คือ การสกัดระดับจุลภาคแบบสามวัฏภาคโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง โดยอันดับแรกมีการศึกษาหา chelating agent ที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของตะกั่วเพื่อใช้ในการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมตรี จากการศึกษาพบว่า 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) เป็น chelating agent ที่ดี ให้สีเมื่อจับกับไอออนของตะกั่วโดยต้องใช้บัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl ในการควบคุม pH ให้มีค่าเท่ากับ 10 จากนั้นมีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าว โดยตอนแรกศึกษาในปริมาตรมาก แต่ต่อมาศึกษาในปริมาตรน้อย เนื่องจากหลังการสกัดจะได้สารละลายรับที่มี Pb^{2+} อยู่ซึ่งมีปริมาตรน้อยมากและการจะนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมตรีนั้นใช้ปริมาตรสารน้อยถึงระดับไมโครลิตร ซึ่งพบว่าสภาวะที่ Pb^{2+}/HCl 0.01 M ผสมกับ PAR 0.03 % ในเอทานอล และบัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl ที่จำเป็นต้องใช้ ปริมาตรถึง 50 μL พบว่าบัฟเฟอร์มีความสำคัญในการปรับสภาวะให้ Pb^{2+} -complex ได้สภาวะที่เหมาะสมที่สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วได้ หลังจากนั้นนำสภาวะดังกล่าวไปประยุกต์ใช้กับเทคนิคการสกัดพบว่าเทคนิคการสกัดนี้สามารถนำไปใช้ได้จริงในการเพิ่มความเข้มข้นของ Pb^{2+} ให้สูงขึ้นจากการที่ Pb^{2+} -PAR complex ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงมากเมื่อนำไปตรวจวัด แม้จะเจือจางสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดไปถึง 10 50 และ 300 เท่า และอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปอีกเกี่ยวกับตัวแปรหรือปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ดังนั้น เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงร่วมกับเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมตรีสามารถนำไปใช้ได้จริงในการสกัด Pb^{2+} ในน้ำหรือสารตัวอย่าง

คำสำคัญ : เมมเบรนเส้นใยกลวง การสกัดระดับจุลภาค

Title Determination of Pb^{2+} using hollow fiber membrane liquid-phase microextraction with spectrophotometric method

Student name Miss Nichanun Tuangthong ID 5533083423

Advisor Assistant Professor Dr. Pakorn Varanusupakul

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Academic year 2015

Abstract

Since lead is a trace metal which has high toxic level and can cause terrible effects to human and animals, techniques to determine the amount of lead in reservoirs and nature have been developed. High concentration of lead is required for analysis but its quantity in nature is typically too posing a problem in analysis. Thus techniques that could increase the concentration of Pb^{2+} are important and one is called the three-phase hollow fiber liquid-phase microextraction (three-phase HF-LPME). In this project, chelating agents that could complex with Pb^{2+} ion were studied and 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) was found to be the most appropriate chelating agent for the complexation with Pb^{2+} ion when the NH_3-NH_4Cl buffer was used to control the pH. After studying to find the appropriate condition for the complexation of Pb^{2+} -PAR complex in low volume, it was found that Pb^{2+}/HCl mixed with PAR 0.03 % in ethanol and NH_3-NH_4Cl buffer (50 μL) were needed. Applying this condition with the three-phase HF-LPME, this extraction of Pb^{2+} was successful and gave Pb^{2+} in higher concentration. Despite the dilution of 10, 50 and 300 times in preparing the Pb^{2+} sample solution, the absorbance detected was still high. Thus it must be studied further. It was concluded that three-phase HF-LPME was applicable for the preparation of Pb^{2+} sample solution to give higher concentration for use in the spectrophotometric method for quantitative analysis.

key words : hollow fiber and microextraction

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปกรณ์ วรรณสุภากุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการเป็นอย่างยิ่งที่สละเวลาคอยช่วยเหลือ แนะนำ ให้ความรู้แก่ผู้วิจัยในการทำโครงการ รวมทั้งคอยให้คำปรึกษาตลอดระยะเวลาการทำวิจัยในครั้งนี้ นอกจากนี้ยังคอยดูแลเอาใจใส่ลูกศิษย์อย่างสม่ำเสมอ ทำให้งานวิจัยและรายงานของโครงการวิจัยสามารถดำเนินไปได้ด้วยดี

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.วิทยา เรืองพรวิสุทธิ ประธานกรรมการสอบและอาจารย์ ดร.ณัฐพงศ์ ไพบูลย์วรชาติ กรรมการสอบ สำหรับคำแนะนำและข้อเสนอแนะในการแก้ไขรายงานโครงการวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณพี่ ๆ ทุกคนที่เป็นลูกศิษย์ในระดับปริญญาโทในความดูแลของอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่คอยให้กำลังใจ สนับสนุน ให้คำแนะนำ และคำปรึกษา ตลอดระยะเวลาในการทำโครงการวิจัยนี้

และสุดท้ายผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเพิ่มประสบการณ์ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

	หน้า
1.5.2 การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสม การประเมินของ Hollow fiber supported liquid membrane สำหรับการสกัดและการแยกตะกั่วออกจากสารละลายตัวอย่าง	7
บทที่ 2 ทฤษฎี	8
2.1 Single drop microextraction (SDME)	8
2.2 Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME)	8
2.3 Three-phase hollow fiber membrane liquid-phase microextraction	9
2.3.1 ทฤษฎีพื้นฐานการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสด้วยเมมเบรนเส้นใยกลาง	12
2.3.2 รูปแบบของการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลาง	13
2.3.3 ตัวแปรหรือปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด	15
2.4 Spectrophotometric method	16
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	18
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	18
3.2 สารเคมี	18
3.3 การเตรียมสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 0.01 M	19
3.4 การหาชนิดของ chelating agent	19
3.4.1 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ L-Ascorbic acid	19
3.4.2 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ Rhodamine B	20
3.4.3 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ Oxalic acid	21

	หน้า
3.4.4 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)	22
3.4.5 การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้ในการวิเคราะห์ Pb^{2+} -Par complex	23
3.4.6 การสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลาง	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปราย	26
4.1 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ L-Ascorbic acid	26
4.2 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ Rhodamine B	27
4.3 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้กรดออกซาลิก (Oxalic acid)	27
4.4 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)	28
4.4.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ Pb^{2+} - PAR complex	29
4.5 การสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลาง	33
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	35
ข้อเสนอแนะ	36
เอกสารอ้างอิง	37
ประวัติผู้วิจัย	39

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

หน้า

1.1	โครงสร้าง L-Ascorbic acid	4
1.2	โครงสร้าง Rhodamine B	4
1.3	โครงสร้างกรดออกซาลิก	5
1.4	โครงสร้างของ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) ในรูปแบบต่าง ๆ	5
1.5	ช่วง pH ที่เหมาะสม ในการเกิด Pb^{2+} -PAR complex	6
1.6	กราฟมาตรฐาน (calibration curve using photometer 200) ในการเกิด Pb^{2+} -PAR complex	6
2.1	Single-drop microextraction	8
2.2	Different steps in dispersive liquid-liquid microextraction	9
2.3	รูปแบบการจัดตั้ง three phase HF-LPME	11
2.4	แผนภาพไดอะแกรมการแบ่งเฟสและการเกิด couple transport ใน three phase HF-LPME	11
2.5	Three phase HF-LPME configuration	14
2.6	การส่องผ่าน	16
3.1	ขั้นตอนการสกัด three phase HF-LPME	25

- 4.1 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของกรดแอสคอร์บิก (L-Ascorbic acid) เมื่อมี (สีแดง) และไม่มี Pb^{2+} (สีน้ำเงิน) ($\lambda_{max}=265$ nm) 26
- 4.2 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ Rhodamine B เมื่อมี (สีแดง) และไม่มี Pb^{2+} (สีน้ำเงิน) ที่ ($\lambda_{max}=575$ nm) 27
- 4.3 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น Pb^{2+} (uM) เมื่อใช้ oxalic acid เป็น chelating agent ($\lambda_{max}=233.28$ nm) 28
- 4.4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (uM) (ในน้ำ) เมื่อใช้ PAR เป็น chelating agent ($\lambda_{max}=522.39$ nm) 29
- 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ PAR และ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH 2.21 30
- 4.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ PAR และ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH 3.13 30
- 4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ PAR และ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH 4.38 30
- 4.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ PAR และ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH 5.19 30

	หน้า
4.9 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (uM) เมื่อใช้ PAR เป็น chelating agent ($\lambda_{max}=521$ nm) โดยใช้ปริมาตรสารน้อยระดับไมโครลิตร ในการทดลอง	31
4.10 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (uM) ที่ละลายอยู่ใน HCl 0.01 M โดยใช้ PAR เป็น chelating agent และใช้บัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl 5 uL ในการคุม pH (λ_{max} 521 nm) โดยใช้ปริมาตรสารน้อยระดับไมโครลิตรในการทดลอง	32
4.11 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (uM) ที่ละลายอยู่ใน HCl 0.01 M โดยใช้ PAR เป็น chelating agent และใช้บัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl 50 uL ในการคุม pH (λ_{max} 521 nm) โดยใช้ปริมาตรสารน้อยระดับไมโครลิตรในการทดลอง	33
4.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่น (nm) ของ Pb^{2+} - PAR complex เมื่อใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง ในการเตรียมสารละลาย Pb^{2+} ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น	34

สัญลักษณ์และคำย่อ

μM	ไมโครโมลาร์
g	กรัม
SLM	supported liquid membrane
nm	นาโนเมตร
μL	ไมโครลิตร
M.W.	มวลโมเลกุล
λ	ความยาวคลื่น (nm)
cm	เซนติเมตร
HPLC	High-performance liquid chromatography
AAS	Atomic absorption spectroscopy
GC-FID	Gas chromatography with flame Ionization Detector
W/V	มวลต่อปริมาตร
CE	Capillary electrophoresis
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry

ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

การพบโลหะที่มีปริมาณต่ำปะปนอยู่ตามแหล่งน้ำ หรือ ผิวดิน เป็นเรื่องที่พบได้ปกติ ซึ่งโลหะหนักถือว่าเป็นมลพิษและเป็นสิ่งที่จะต้องคำนึงถึง โลหะหนักบางชนิดถือว่ามีความสำคัญเนื่องจากมีความจำเป็นต่อการดำรงชีพ แต่ถ้ามีในปริมาณสูงเกินไปจะเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้ ดังนั้น จึงต้องมีการตรวจหาปริมาณโลหะหนักที่ปะปนอยู่ เช่น ตามแหล่งน้ำ ผิวดิน ฯลฯ ตะกั่วถือเป็นโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูง และพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำ นอกจากนี้ถ้ามีปริมาณมากจะทำให้เกิดความผิดปกติของระบบเลือด ระบบทางเดินอาหารและระบบประสาท หากได้รับเป็นระยะเวลานานจะทำให้มีความดันเลือดสูง ทำให้ต้องมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ขึ้นมาเพื่อหาปริมาณตะกั่วที่พบในธรรมชาติ^[1] วิธีที่ใช้ในการหาปริมาณตะกั่วในน้ำหรือสารตัวอย่างมีอยู่หลายวิธี เช่น การหาปริมาณตะกั่วในน้ำโดยใช้เทคนิควิเคราะห์ Graphite furnace, Atomic absorption spectroscopy, UV-Visible spectroscopy หรือ Fluorescence เทคนิควิเคราะห์ดังกล่าวต้องใช้สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูงและมีปริมาณน้อยมากในการตรวจวัด แต่ในธรรมชาติมีโลหะตะกั่วปะปนอยู่ซึ่งมีอยู่ในปริมาณน้อยมากจึงทำให้ไม่สามารถตรวจวัดได้ จึงต้องอาศัยเทคนิคหรือวิธีการที่ทำให้ความเข้มข้นของโลหะตะกั่วสูงขึ้นมาก่อนจะนำไปตรวจวัด ซึ่งก็คือ เทคนิคการสกัด (extraction)

การสกัดเป็นวิธีการเตรียมสารที่สนใจให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น โดยจะใช้ตัวทำละลายที่มีปริมาณน้อยในการสกัด สารที่สนใจที่นำมาใช้ตอนแรกอาจมีความเข้มข้นต่ำละลายอยู่ในสารละลายที่มีปริมาตรมาก เมื่อนำไปสกัดจะได้สารที่สนใจเข้าไปอยู่ในตัวทำละลายที่มีปริมาตรน้อยมาก ทำให้ได้ความเข้มข้นของสารที่สนใจที่สูงขึ้น โดยเทคนิคการสกัดมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ liquid-liquid (phase) extraction ซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่ใช้วัฏภาคทั้งหมดเป็นของเหลว solid-phase extraction เป็นวิธีการสกัดที่มีวัฏภาคหนึ่งเป็นของเหลว อีกวัฏภาคหนึ่งเป็นของแข็ง สำหรับเทคนิคการสกัดแบบจุลภาค (microextraction) เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเทคนิคนี้ใช้ปริมาตรตัวทำละลายน้อยกว่าซึ่งจะสัมพันธ์กับปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ โดยจะสกัดสารที่สนใจทั้งหมดให้เข้ามาอยู่ในตัวทำละลายปริมาตรน้อยดังกล่าว ทำให้สารที่สนใจที่สกัดได้มีความเข้มข้นสูงเกินกว่าเดิม วิธีนี้เป็นวิธีที่เรียบง่าย ประหยัด ไม่สิ้นเปลืองสารเคมี อีกทั้งใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อยมากในการทำการทดลอง การสกัดระดับจุลภาคมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การสกัดแบบ liquid-liquid

microextraction (LLE), liquid phase microextraction (LPME) สำหรับ single-drop microextraction (SDME) ซึ่งเป็นก็คือเทคนิคการสกัดแบบ LPME เทคนิคนี้มีข้อดีคือใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อยมาก ถึงระดับไมโครลิตร การสกัดสารอาศัยตัวทำละลายอินทรีย์ที่หยดออกมาจาก syringe needle ที่จุ่มลงในสารตัวอย่าง หลังการสกัด จะได้สารที่สนใจเข้าไปอยู่ในหยดของเหลว ทำให้ความเข้มข้นสูงขึ้น แต่ข้อเสียของเทคนิคนี้คือหยดสามารถถูกทำลายและไม่เสถียร หยดอาจตกจากปลาย syringe ได้ อีกเทคนิคหนึ่งคือ dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) เป็นเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคซึ่งมีศักยภาพสูง อาศัยการเกิดขึ้นของ cloudy solution ข้อเสียของเทคนิคนี้คือ ตัวทำละลายที่ทำหน้าที่เป็นตัวสกัดซึ่งมีน้ำหนักมากกว่าน้ำและมีความเป็นพิษมากกว่าไฮโดรคาร์บอน นอกจากนี้การใช้ร่วมกับ GC-FID ก็มีปัญหาคือ อาจเกิดการทำลายสารได้ เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง (Three-phase hollow fiber liquid phase microextraction) เป็นวิธีการสกัดที่ใช้เส้นใยกลวงที่ทำมาจากวัสดุที่เป็นโพลีเมอร์ใช้พุงตัวทำละลายที่มีปริมาตรน้อยได้และใช้ในการสกัดสารที่มีปริมาณน้อยมากและสามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ การสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสนั้นจะใช้ทุกเฟสเป็นของเหลว เฟสแรก คือ เฟสให้ (donor phase) ที่เป็นชั้นของสารละลายตัวอย่างที่มีสารที่สนใจ ซึ่งสารที่สนใจจะต้องสามารถเกิดการแตกตัวเป็นไอออนในสารละลายตัวอย่าง เฟสที่สอง คือ เฟสอินทรีย์ที่มีตัวทำละลายอินทรีย์แทรกซึมอยู่ตามรูพรุนของเมมเบรนเส้นใยกลวง และเฟสที่สาม คือ เฟสรับ (acceptor phase) ซึ่งเป็นชั้นสารละลายที่ใช้รับสารที่สนใจจากเฟสให้ โดยสารที่สนใจจะแทรกซึมผ่านรูพรุนของเมมเบรนเส้นใยกลวงในเฟสอินทรีย์และเข้าสู่เฟสรับที่มีสารละลายรับอยู่ในท่อของเส้นใยกลวง เมื่อสารที่สนใจถูกสกัดออกมาอยู่ในเฟสรับ จะนำสารละลายในเฟสรับมาใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ chelating agent ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนจะให้สี สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และจะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของโลหะตะกั่วด้วยเทคนิควิเคราะห์^[15] การสกัดแบบนี้มีประสิทธิภาพดีเนื่องจากการสกัดที่ใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยมากในการสกัดสารที่สนใจ เนื่องจากในท้ายที่สุดชั้นสารละลายรับต้องการให้ได้สารที่สนใจที่มีความเข้มข้นสูง ทั้งนี้ต่างจากการสกัดแบบปกติที่คำนึงถึงปริมาณสารที่สนใจเพียงอย่างเดียว ซึ่งวิธีนี้สามารถใช้ร่วมกับเทคนิค GC-MS, HPLC, AAS, UV-visible spectroscopy, Fluorescence ในการวิเคราะห์ปริมาณสารที่สนใจ การสกัดแบบนี้ได้รับการพัฒนามาอีกทีเนื่องจากปัญหาของการสกัดระดับจุลภาคแบบ single drop microextraction ที่หยดของเหลวไม่คงที่เมื่อใช้ความเร็วในการคนสูง ๆ ทำให้สารที่ถูกสกัดอาจถูกขับออกไประหว่างกระบวนการได้

จากการที่ตะกั่วสามารถแตกตัวเป็นไอออนได้เมื่ออยู่ในสารละลายและสามารถจับกับ chelating agent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสี ดังนั้นเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง

จึงเป็นเทคนิคที่เหมาะสมและสามารถนำไปใช้ได้ในการเตรียมความเข้มข้นของตะกั่วให้สูงขึ้นเพื่อใช้ร่วมกับเทคนิควิเคราะห์ทางสเปกโตรโฟโตเมตรีในการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

การพัฒนาวิธีในการหาปริมาณตะกั่วในน้ำหรือสารตัวอย่างด้วยการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงและตรวจวัดด้วยเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมตรี

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

ศึกษาและหา chelating agents ที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของตะกั่ว โดย chelating agent ที่จะนำมาจับกับไอออนของตะกั่วจะต้องให้สารประกอบเชิงซ้อนของไอออนตะกั่วที่มีสีที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมตรี และศึกษาวิธีการสกัดระดับจุลภาคของตะกั่วในน้ำหรือสารละลายตัวอย่างโดยอาศัยการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสที่ต้องใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง และพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของ chelating agent กับไอออนของตะกั่วที่สามารถนำไปใช้กับการสกัดแบบสามเฟสได้

1.4 ประโยชน์ที่ได้จากงานวิจัย

สามารถพัฒนาเทคนิคในการหาปริมาณตะกั่วในน้ำหรือสารตัวอย่างที่อาศัยการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงและเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมตรี

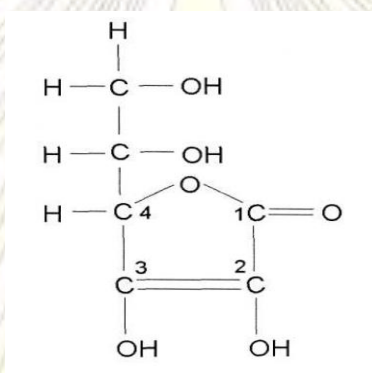
1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยเทคนิค UV-Visible spectroscopy จำเป็นต้องใช้ chelating agent ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงรังสียูวีหรือแสงขาว โดยเมื่อตะกั่วจับกับ chelating agent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนจะต้องสามารถดูดกลืนแสงได้และมีค่าการดูดกลืนแสงที่สูงขึ้นเมื่อมีปริมาณสารเพิ่มขึ้นจึงจะสามารถวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วที่ใส่ลงไปได้ ดังนั้น จึงต้องมีการศึกษา chelating agents ที่สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับตะกั่วและให้สีได้

1.5.1 Chelating agent ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วโดยเทคนิค UV-Visible spectroscopy

1.5.1.1 L-Ascorbic acid

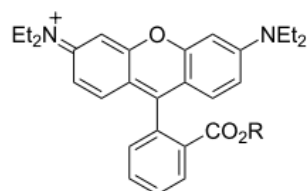
L-Ascorbic acid เป็นรูปแบบหนึ่งของวิตามิน C สามารถดูโครงสร้าง L-Ascorbic acid จากรูปที่ 1.1 ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะได้ เช่น ทองแดง โปรท เป็นต้น โดยปกติจะไม่มีสี สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะและสามารถตรวจวัดได้ในช่วงรังสี UV ที่ความยาวคลื่น 190-350 nm^[5]



รูปที่ 1.1 โครงสร้าง L-Ascorbic acid^[5]

1.5.1.2 Rhodamine B

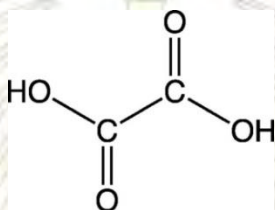
Rhodamine B เป็นสารประกอบทางเคมีและเป็นสีย้อม สามารถดูโครงสร้างจากรูปที่ 1.2 อนุพันธ์ของ Rhodamine B ส่วนใหญ่จะถูกใช้ในการสร้าง Fluorescence chemosensor และใช้ในการหาปริมาณโลหะชนิดต่าง ๆ^[6]



รูปที่ 1.2 โครงสร้าง Rhodamine B^[6]

1.5.1.3 Oxalic acid

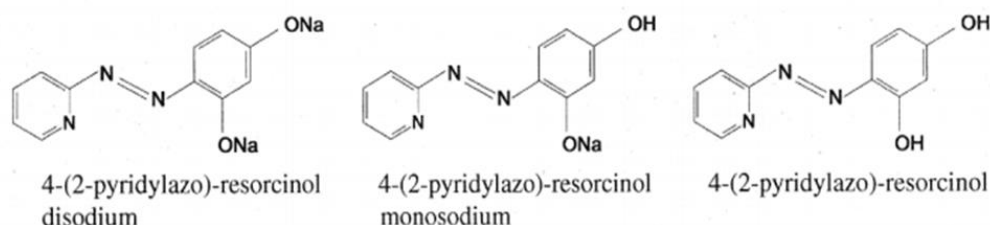
กรดออกซาลิก หรือ oxalic acid ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$)^[7] เป็นสารประกอบอินทรีย์ซึ่งปกติอยู่ในรูปของแข็ง (crystalline solid) จะไม่มีสีเมื่ออยู่ในน้ำ ทำหน้าที่เป็น chelating agent ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของโลหะ สามารถนำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วยเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมตรีได้เช่นกัน ดูโครงสร้างได้จากรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.3 โครงสร้างกรดออกซาลิก (oxalic acid)^[7]

1.5.1.4 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)

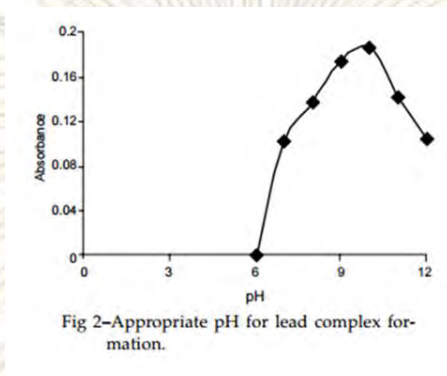
4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) เป็นหนึ่งใน chelating agents ที่นิยมใช้มากที่สุดในการหาปริมาณความเข้มข้นของโลหะหลายชนิด มีคุณสมบัติที่สำคัญในการเป็น sensor^[8] โครงสร้างของ PAR ในรูปแบบต่าง ๆ ดูได้จากรูปที่ 1.4



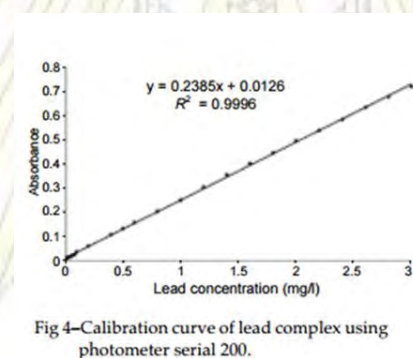
รูปที่ 1.4 โครงสร้างของ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) ในรูปแบบต่าง ๆ^[8]

เนื่องจาก 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) สามารถจับกับโลหะในการสร้างสารประกอบเชิงซ้อนได้ อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการจับกันระหว่างโลหะกับ PAR คือ 1: 2 ส่วนไอออนของโลหะที่สามารถจับกับ PAR ได้ คือ Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} และ Pb^{2+}

การหาปริมาณตะกั่วโดยใช้ PAR เป็น chelating agent สามารถทำได้ โดยต้องมีบัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ ในการควบคุม pH ให้อยู่ในสถานะเป็นเบส (รูปที่ 1.5) โดยใช้เทคนิค UV-visible spectroscopy ในวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 1.6)



รูปที่ 1.5 ช่วง pH ที่เหมาะสมในการเกิด Pb^{2+} -PAR complex^[9]



รูปที่ 1.6 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ Pb^{2+} (mg/l) (calibration curve using photometer 200) ในการเกิด Pb^{2+} -PAR complex^[9]

โดย Pornpimol Kongtip และผู้ร่วมงานได้ศึกษาค่าของ pH ที่เหมาะสมในการเกิด Pb^{2+} -PAR complex พบว่าที่ pH 10 สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นมีความเสถียรและให้ $\lambda_{\text{max}} = 525 \text{ nm}$ โดย Pb^{2+} -PAR complex มีสีชมพูที่ pH 10

1.5.2 การทดสอบหาสถานะที่เหมาะสม การประเมินและการตรวจสอบลักษณะของ Hollow fiber supported liquid membrane สำหรับการสกัดและการแยกตะกั่วออกจากสารละลายตัวอย่าง

เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงเป็นวิธีที่จะนำมาใช้ในการเตรียมสารละลายของตะกั่วให้มีความเข้มข้นสูงขึ้นจากเดิมและจะนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วด้วยเทคนิควิเคราะห์ Inductively coupled plasma mass spectrometry ซึ่งเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคนี้เป็นการ

สกัดแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง โดยมีการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของการทดลองในด้านของตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดและการประเมินประสิทธิภาพการสกัด โดยงานวิจัยนี้จะใช้สารตัวอย่างเป็นสารละลายที่มีไอออนของตะกั่วและมีไอออนของโลหะชนิดอื่น ๆ ปะปนอยู่ และจะนำสารละลายตัวอย่างที่มีไอออนของตะกั่วไปผ่านการสกัดโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง ซึ่งใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็น 1-Phenylhexane และ Kelex 100 เป็นตัวพาที่ละลายอยู่ใน 1-Phenylhexane^[1] เนื่องจาก Kelex 100 สามารถจับกับไอออนของตะกั่วเกิดเป็น ion pair complex ซึ่ง Kelex 100 จะขนส่งไอออนของตะกั่วที่อยู่ในสารละลายตัวอย่างในเฟสให้ไปยังสารละลายในเฟสรับ โดยสารละลายในเฟสรับคือกรดฟอร์มิกหรือกรดซิตริก ซึ่งกรดทั้งสองชนิดนี้จะทำหน้าที่เป็น chelating agent ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของตะกั่ว และสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นสามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิค ICP-MS^[1] โดยงานวิจัยบอกให้ทราบถึงค่าการเพิ่มความเข้มข้น (Enrichment factor) ว่าหลังสกัดค่าความเข้มข้นของตะกั่วเพิ่มขึ้นสูงมากจากเดิมที่อยู่ในสารละลายตัวอย่าง นอกจากนี้ยังบอกให้ทราบเกี่ยวกับการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ทั้งตัวแปรหรือปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดซึ่งประกอบด้วย การเลือกชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ที่อยู่ในเฟสอินทรีย์ เวลาในการสกัด ความยาวของเมมเบรนเส้นใยกลวง ผลต่างของ pH และความเข้มข้นของสารที่ใช้สกัด สารละลายรับที่ใช้ และพูดถึงการประเมินประสิทธิภาพของการสกัดซึ่งดูได้จาก pH ของสารละลายตัวอย่างในเฟสให้ ไอออนของโลหะชนิดอื่นที่ปะปนอยู่ที่ยอมรับกระบวนการสกัด ความแตกต่างของชนิดของลิแกนด์ ความเข้มข้นที่แตกต่างกันของไอออนของตะกั่ว และอุณหภูมิที่ใช้ในการ ซึ่งเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคที่ได้รับการพัฒนานี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วได้^[1]

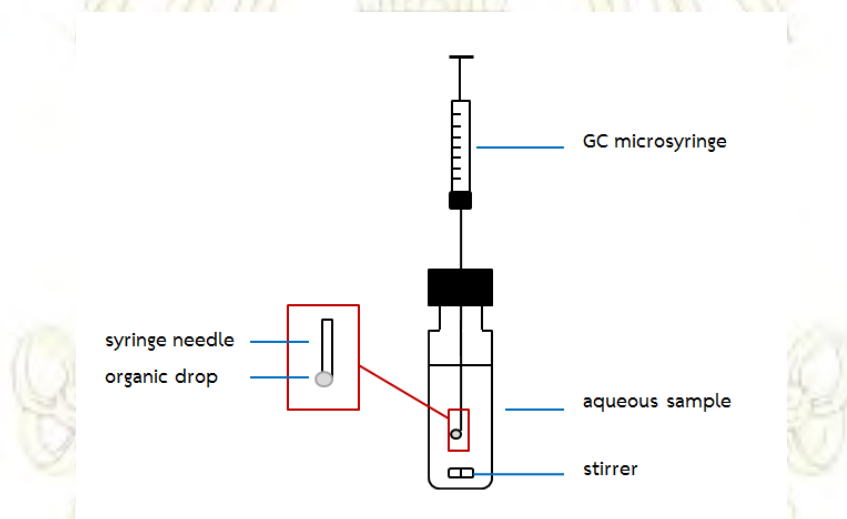
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ทฤษฎี

2.1. Single drop microextraction (SDME)

เทคนิค SDME เป็นเทคนิคการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อยระดับ microliter ซึ่งเป็นการลดปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด วิธีการคือสกัดสารที่สนใจด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่หยดออกมาจาก syringe needle ซึ่งจุ่มลงในสารตัวอย่าง จะได้สารที่สนใจเข้าไปอยู่ในหยดของเหลว หลังการสกัด หยดของเหลวจะถูกดึงกลับไป syringe ซึ่งต่อมาจะใช้ syringe ฉีดหยดดังกล่าวเข้าสู่ระบบการแยกเพื่อทำการแยกต่อไป แต่ข้อเสียของเทคนิคนี้คือ หยดสามารถถูกทำลายและไม่เสถียร หยดอาจตกจากปลาย syringe ได้^[10] สามารถดูวิธีการจัดตั้ง SDME ได้จากรูปที่ 2.1

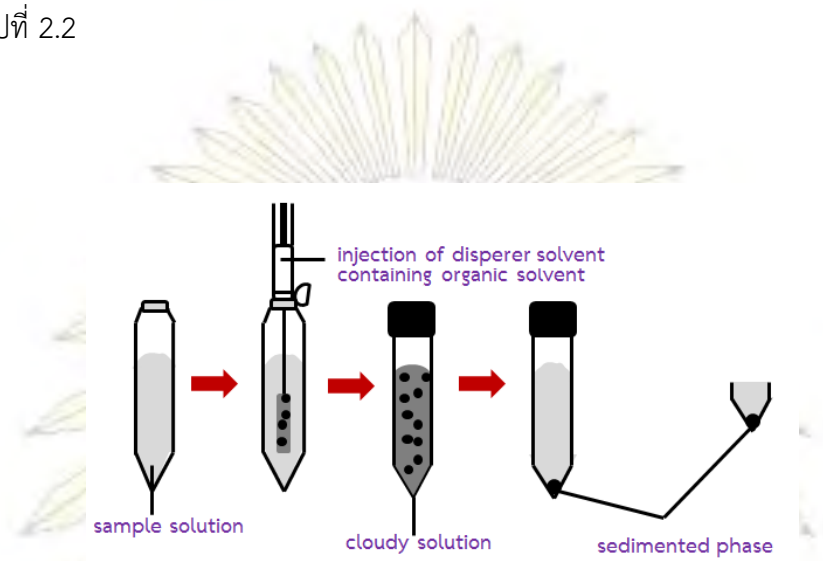


รูปที่ 2.1 Single drop microextraction configuration

2.2 Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME)

เป็นเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคอีกแบบหนึ่งซึ่งมีศักยภาพสูง มีการเกิดขึ้นของ Cloudy solution และมีการฉีดตัวทำละลายเข้าไปในสารละลายที่มีสารที่สนใจปนอยู่ ข้อเสียของเทคนิคนี้คือ Chlorinated solvents ที่ทำหน้าที่เป็นตัวสกัดมีน้ำหนักมากกว่าน้ำและมีความเป็นพิษมากกว่าไฮโดรคาร์บอน นอกจากนี้หากใช้เทคนิคนี้ร่วมกับ Gas chromatography with Flame Ionization Detector (GC-FID) อาจจะมี

ปัญหาคือ อาจเกิดการทำลายสารได้และให้ประสิทธิภาพการแยกต่ำกว่า HPLC^[11] สามารถดูวิธีการจัดตั้ง DLLME ได้จากรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 Different steps in dispersive liquid-liquid microextraction

2.3 Three-phase hollow fiber membrane liquid-phase microextraction (three-phase HF-LPME)

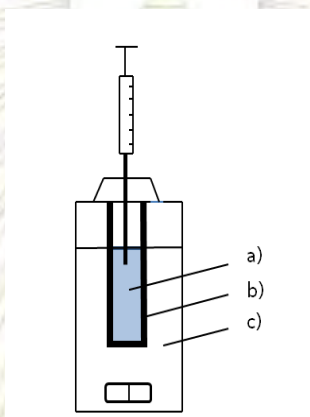
Three-phase hollow fiber membrane liquid-phase microextraction เป็นการสกัดระดับจุลภาคของสารที่สนใจโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงหรือที่เรียกว่า Hollow fiber ซึ่งทำจากวัสดุโพลีเมอร์แบบไม่มีขั้วคือโพรลีโอพิลีน (Polypropylene) เมมเบรนเหล่านี้จะทำหน้าที่พุงของเหลวในชั้นสารอินทรีย์ไว้ โดยการสกัดระดับจุลภาคนี้มีวัฏภาคทั้งหมดเป็นของเหลว โดยเมื่อนำเส้นใยกลวงไปจุ่มลงในตัวทำละลายอินทรีย์เป็นระยะเวลาหนึ่ง ตัวทำละลายจะแทรกซึมเข้าไปในรูพรุนของเมมเบรนเส้นใยกลวงและถูกกักอยู่ในรูพรุนด้วย Capillary force ทำให้ไม่สามารถขยับไปไหนได้ การสกัดแบบนี้ สารที่สนใจจะถูกสกัดจากสารละลายตัวอย่างเข้าไปในตัวทำละลายอินทรีย์ที่อยู่ในรูพรุนที่ผนังเมมเบรน Supported liquid membrane (SLM) และเข้าสู่สารละลายรับที่อยู่ภายในท่อของเส้นใยกลวง โดยหากสารละลายรับเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดเดียวกันกับที่อยู่ใน supported liquid membrane (SLM) การสกัดแบบนี้จะเรียกว่า two-phase HF-LPME ถ้าสารละลายรับสามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ หรือเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายและเป็นคนละชนิดกับที่อยู่ใน SLM จะเรียกว่า three-phase HF-LPME

Three-phase HF-LPME เป็นการสกัดระดับจุลภาคที่แบ่งเป็น 3 เฟส คือ เฟสให้ (donor phase), เฟสอินทรีย์ (organic phase) และ เฟสรับ (acceptor phase) วิธีการจัดตั้งการสกัดสามารถดูได้จากรูปภาพที่ 2.3 ส่วนแผนภาพไดอะแกรมการแบ่งเฟส three phase HF-LPME ดูได้จากรูปภาพที่ 2.4 โดยวิธีในการ

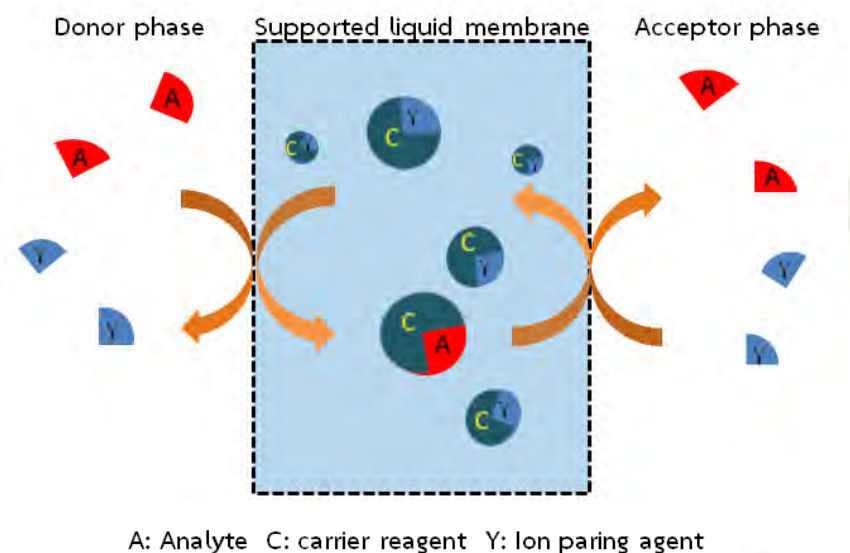
สกัดนั้น ชั้นแรกจะต้องนำเส้นใยกลวงที่เตรียมไว้ไปจุ่มลงในสารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายให้ (donor solution) ที่มีสารที่สนใจ โดยทิ้งไว้ระยะหนึ่ง สารที่สนใจจะถูกสกัดเข้าสู่เฟสรับซึ่งเป็นชั้นที่มีสารละลายรับ โดยสารละลายรับ (acceptor solution) จะอยู่ภายในท่อของเส้นใยกลวง การที่เส้นใยกลวงมีรูพรุนขนาดเล็กมากทำให้สามารถกั้นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่และอนุภาคต่างๆที่อยู่ในสารละลายให้ที่อาจจะผ่านเข้าสู่รูพรุนที่ผนังเมมเบรนได้ และในขณะเดียวกันองค์ประกอบที่อยู่ในสารละลายให้จะไม่สามารถผ่านเข้าสู่เมมเบรนเส้นใยกลวงได้เนื่องจากเส้นใยกลวงนี้มีความสามารถในการละลายต่ำ (low solubility) ในเฟสอินทรีย์ จึงทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพและมีสิ่งปนเปื้อน (impurity) น้อย

Three phase HF-LPME เป็นระบบการสกัดซึ่งมีเฟสรับเป็นสารละลายที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ โดยที่สารที่สนใจจะถูกสกัดจากสารละลายตัวอย่างในเฟสให้ ผ่าน SLM และเข้าสู่สารละลายรับที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ที่อยู่ภายในท่อของเส้นใยกลวง โดยระบบนี้สารที่สนใจต้องมีความเป็นกรดหรือเบส คือต้องสามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ สำหรับการสกัดสารที่มีความเป็นเบส ต้องมีการปรับ pH ในสารละลายตัวอย่างให้อยู่ในสถานะที่เป็นเบสเพื่อลดความสามารถในการละลายของสารที่สนใจ ส่วนในสารละลายรับต้องปรับ pH ให้ต่ำเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายของสารที่สนใจ ซึ่งการปรับดังกล่าวจะทำให้เกิดการขนส่งสารที่สนใจไปยังสารละลายรับได้ และสารที่สนใจที่มีความเป็นเบสจะถูกสกัดผ่านเฟสอินทรีย์ไปยังเฟสรับโดยไม่เกิดการสกัดย้อนกลับเข้าไปในเฟสอินทรีย์ สำหรับสารที่สนใจที่มีความเป็นกรด การปรับ pH จะตรงกันข้ามกับในสารที่สนใจที่มีความเป็นเบส นอกจากผลต่างของ pH ของเฟสให้กับเฟสรับยังต้องคำนึงถึงตัวพาในการรับส่งสารที่สนใจจากเฟสให้ไปยังเฟสรับ เนื่องจากคุณสมบัติทางธรรมชาติของสารที่สนใจบางชนิดทำให้สารที่สนใจมีค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวต่ำ ทำให้สารที่สนใจจะถูกสกัดได้ยากขึ้น ตัวพาจึงมีบทบาทสำคัญในการขนส่งสารที่สนใจไปยังเฟสรับ ซึ่งจะใช้วิธีการขนส่งแบบ couple-transport ซึ่งดูได้จากรูปที่ 2.4 โดยตัวพาจะจับกับสารที่สนใจที่บริเวณรอยต่อระหว่างเฟสให้กับเฟสอินทรีย์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ion pair complex และขนส่งสารที่สนใจผ่านเฟสอินทรีย์ไปยังเฟสรับ โดยที่บริเวณรอยต่อของเฟสอินทรีย์และเฟสรับจะมีการปลดปล่อยสารที่สนใจให้เป็นอิสระจาก ion pair complex ทำให้สารที่สนใจเข้าไปอยู่ในสารละลายรับ ในขณะที่ counter ions จำนวนมากเกินพอที่อยู่ในสารละลายรับจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับตัวพาที่บริเวณรอยต่อเกิดเป็น ion pair complex อีกชนิดหนึ่งซึ่งจะถูกสกัดกลับไปทีสารละลายให้ หลังจากนั้นตัวพาจะปล่อย counter ions เข้าสู่สารละลายให้และจับกับสารที่สนใจเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและจะเกิดการขนส่งสารที่สนใจไปยังเฟสรับอีกครั้ง ซึ่งจะเกิดเป็นวงจรเกิดซ้ำไปมา สำหรับสารที่สนใจที่เป็นเบส ส่วนใหญ่จะใช้ตัวพาเป็นกรดคาร์บอกซิลิก เช่น Octanoic acid ซึ่งการสกัดแบบนี้สารละลายรับจะถูกฉีดเข้าไปโดยตรงใน HPLC และ CE การสกัดแบบนี้จึงมีประสิทธิภาพดีและใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยมากในการสกัด

สารที่สนใจ และในท้ายที่สุดชิ้นสารละลายในเฟสรับ จะต้องการให้ได้สารที่สนใจที่มีความเข้มข้นสูง ทั้งนี้ต่างจากการสกัดแบบปกติที่คำนึงถึงปริมาณสารที่สนใจเพียงอย่างเดียว การสกัดแบบนี้ได้รับการพัฒนามาจากการสกัดระดับจุลภาคแบบ single drop microextraction ที่หยดของเหลวไม่คงที่เมื่อใช้ความเร็วในการคนสูง ๆ ทำให้สารที่ถูกสกัดอาจถูกขับออกไประหว่างกระบวนการได้ การสกัดแบบ three-phase HF-LPME จึงมีข้อดีคือ เป็นเทคนิคมีประสิทธิภาพในการสกัดสูง เรียบง่าย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ใช้อุปกรณ์ราคาไม่แพง^[12]



รูปที่ 2.3 รูปแบบการจัดตั้ง three phase HF-LPME (a) acceptor solution (b) supported liquid membrane (c) sample solution



รูปที่ 2.4 แผนภาพไดอะแกรมการแบ่งเฟสและการเกิด couple transport ใน three phase HF-LPME

2.3.1 ทฤษฎีพื้นฐานการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง

$$D_{org/sample} = \frac{C_{eq, org}}{C_{eq, sample}} = \alpha_D \cdot K_{org/sample} \quad (1)$$

$$D_{org/acceptor} = \frac{C_{eq, org}}{C_{eq, acceptor}} = \alpha_A \cdot K_{org/acceptor} \quad (2)$$

$D_{org/sample}$ แทนค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารที่สนใจระหว่างเฟสอินทรีย์กับสารละลายตัวอย่าง $D_{org/acceptor}$ แทนค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารที่สนใจระหว่างเฟสอินทรีย์กับสารละลายรับ $K_{org/sample}$ แทนค่าคงที่สมดุลหรือสัดส่วนของสารที่สนใจ (analyte) ระหว่างเฟสอินทรีย์กับสารละลายรับ $K_{org/acceptor}$ แทนค่าคงที่สมดุลหรือสัดส่วนของสารที่สนใจ (analyte) ระหว่างเฟสอินทรีย์กับสารละลายรับ $C_{eq, sample}$, $C_{eq, org}$, $C_{eq, acceptor}$ แทนความเข้มข้นของสารที่สนใจที่สมดุลในเฟสให้ เฟสอินทรีย์และเฟสรับตามลำดับ α_D แทนสัดส่วนที่สามารถสกัดได้จากความเข้มข้นทั้งหมดที่อยู่ในสารละลายตัวอย่างและ α_A แทนสัดส่วนที่สกัดได้อยู่ในเฟสรับโดยสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (1) และ (2) และสามารถรวมสมการระหว่าง aqueous phase ทั้งสองได้สมการที่ 3 ดังนี้

$$D_{acceptor/sample} = \frac{C_{eq, acceptor}}{C_{eq, sample}} = \frac{D_{org/sample}}{D_{org/acceptor}} = \frac{\alpha_D \cdot K_{org/sample}}{\alpha_A \cdot K_{org/acceptor}} \quad (3)$$

หากค่า ionic strength และตัวแปรอื่นๆที่นอกเหนือจาก pH มีค่าใกล้เคียงกันในสารละลายตัวอย่างและในสารละลายรับ จะได้ว่า $K_{org/sample} = K_{org/acceptor}$ จะสามารถจัดรูปสมการใหม่ได้เป็นสมการที่ 4

$$D_{acceptor/sample} = \frac{C_{eq, acceptor}}{C_{eq, sample}} \quad (4)$$

จากสมการที่ (1) และ (2) ในตอนแรก และเมื่อพิจารณาพลในระบบ three phase HF-LPME จะสามารถนำมาจัดใหม่ในรูปของสมการของค่าประสิทธิภาพการสกัด (E) โดยสมการนี้อยู่ภายใต้ภาวะสมดุล

$$E = \frac{D_{acceptor/sample} \cdot V_{acceptor}}{D_{acceptor/sample} \cdot V_{acceptor} + D_{org/sample} \cdot V_{SLM} + V_{sample}} \quad (5)$$

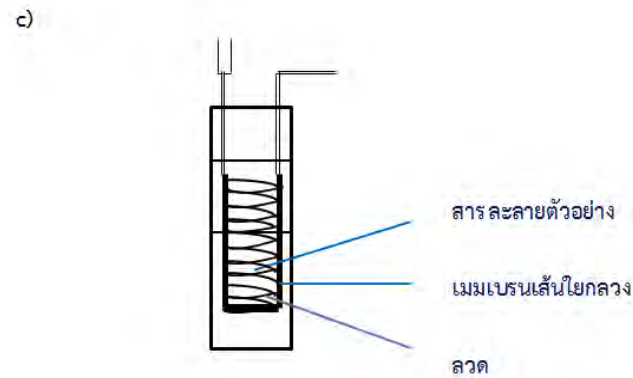
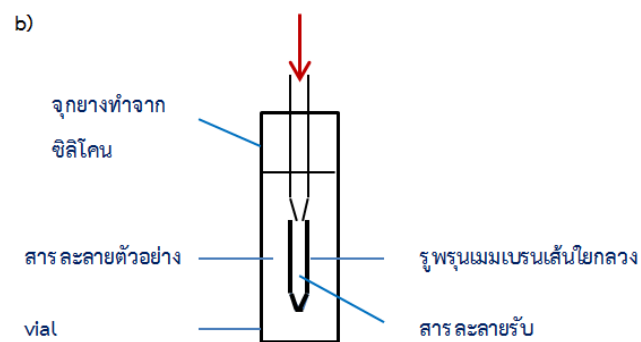
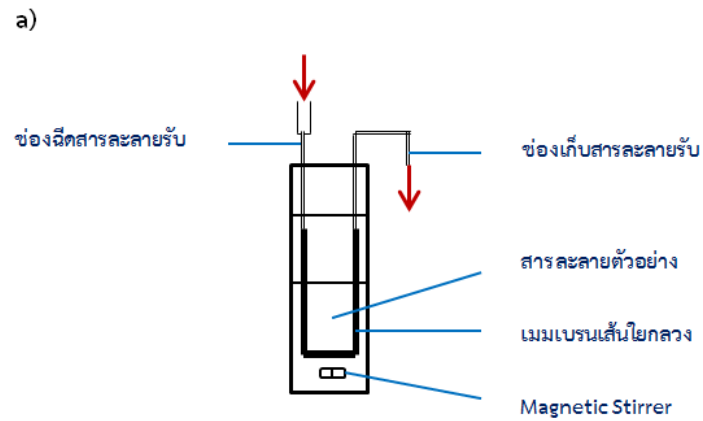
V_{acceptor} แทนปริมาตรของสารละลายในเฟสรับที่อยู่ในท่อของเส้นใยกลวง ส่วน V_{SLM} แทนปริมาตรของชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ (organic phase) ที่อยู่ในรูพรุนที่ผนังเมมเบรนเส้นใยกลวง จากสมการที่ (5) อาจสรุปได้ว่าประสิทธิภาพของการสกัดใน three phase HF-LPME ขึ้นอยู่กับค่า D ซึ่งก็คือค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารที่สนใจ นอกจากนั้นยังขึ้นกับปริมาตรของตัวทำละลายในเฟสอินทรีย์ และสารละลายในเฟสรับ ตามลำดับ การที่สารที่สนใจมีค่าประสิทธิภาพในการสกัดสูง ถือเป็นข้อดีและการที่จะมีค่าสูงได้ก็มาจากการเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมและค่า pH ในชั้นสารละลาย สำหรับการวิเคราะห์สารที่เป็นเบสที่ได้กล่าวไว้ในทฤษฎี three phase HF-LPME ตอนต้น ค่า pH ในสารละลายตัวอย่างควรมีค่าสูง (ควรมีค่าสูงกว่าสามเท่าของ pK_b ของสารที่สนใจ) ส่วน pH ในชั้นเฟสรับควรมีค่าต่ำ (ควรมีค่าต่ำกว่า 3 เท่าของ pK_b ของสารที่สนใจ) แต่ถ้าสารที่วิเคราะห์เป็นกรดจะตรงข้ามกันกับที่กล่าวมา และเพื่อให้มีประสิทธิภาพการสกัดสูง V_{sample} และ V_{SLM} ควรมีค่าน้อยที่สุดเท่าที่เป็นไปได้ ค่าการเพิ่มความเข้มข้น หรือ Enrichment factor (EF) ของสารที่สนใจใน three phase HF-LPME สามารถคำนวณได้จากสมการต่อไปคือ

$$EF = \frac{C_{\text{acceptor, end}}}{C_{\text{initial}}} = \frac{V_{\text{sample}} \cdot E}{V_{\text{acceptor}}} \quad (6)$$

$C_{\text{acceptor, end}}$ แทนความเข้มข้นของสารตัวอย่าง A ในเฟสรับ เมื่อการสกัดสิ้นสุด ($C_{\text{acceptor, end}} = C_{\text{eq, acceptor}}$) และ C_{initial} คือความเข้มข้นของสารตัวอย่าง A ในชั้นสารละลายตัวอย่างตอนเริ่มการสกัด^[12]

2.3.2 รูปแบบของการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง

รูปแบบของการสกัด three-phase HF-LPME (Three phase HF-LPME configuration) สามารถแบ่งได้เป็นสามรูปแบบ คือ a) U-shaped configuration ซึ่งแบบนี้จะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างเส้นใยกลวงและสารละลายตัวอย่าง แบบ b) rod like และ c) long fiber configuration



รูปที่ 2.5 Three phase HF-LPME configuration a) U-shaped configuration b) rod-like configuration c) long fiber configuration

ในการสกัดระดับจุลภาคโดยใช้เส้นใยกลวง ต้องมีการหาสภาวะที่เหมาะสมของการทดลองก่อน ซึ่งจะประกอบด้วยตัวแปรที่สำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด^[12]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3.3 ตัวแปรหรือปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด

ตัวแปรหรือปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ได้แก่ การเลือกชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ เวลาที่ใช้ในการสกัด ความยาวของเส้นใยกลวง ผลของสารละลายรับ ความเร็วในการคน อุณหภูมิ และปริมาตรสารละลายตัวอย่างกับปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์ โดยการสกัดนั้น ภายในเฟสอินทรีย์จะมีตัวทำละลายอินทรีย์บรรจุอยู่ ซึ่งตัวพาจะต้องสามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ คุณสมบัติของตัวพาที่ดี คือการเป็นตัวสกัดที่มีความจำเพาะเจาะจงกับสารที่สนใจและมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนโปรตรอนจากการใช้แรงขับเคลื่อนในการสกัด โดยแรงขับเคลื่อนนี้เป็นผลมาจากความแตกต่างของ pH ในเฟสให้และเฟสรับ สำหรับการสกัดระดับจุลภาคนิยมใช้ 1-phenyl hexane หรือ 1-Octanol เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ตัวแปรที่สองคือเวลาที่ใช้ในการสกัด ซึ่งควรให้มิต่ำน้อยที่สุดเท่าที่เป็นไปได้ ตัวแปรที่สามคือ ความยาวของเส้นใยกลวง ซึ่งความยาวจะส่งผลต่อการกระจายตัวของสารละลายรับในท่อของเส้นใยกลวงเอง ทำให้มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ตัวแปรที่สี่คือผลของสารละลายรับ เนื่องจากการสกัดผ่านรูพรุนเมมเบรนเส้นใยกลวงจะต้องอาศัยกลไกที่ชื่อว่า counter transport ซึ่งก็คือกลไกที่ใช้แรงขับเคลื่อน (แรงที่เกิดจากผลต่างของความเข้มข้นของโปรตรอน) ในการเดินทางไปยังเฟสให้ของโปรตรอนที่อยู่ในเฟสรับ ซึ่งแรงนี้จะทำให้เกิดการขนส่งสารที่สนใจจากเฟสรับไปยังเฟสให้ได้ (การขนส่งสารที่สนใจจากเฟสให้ไปยังเฟสรับโดยต้องอาศัยการขนส่งของโปรตรอนจากเฟสรับไปยังเฟสให้ จะเรียกว่า การขนส่งแบบ couple transport) ยิ่งแรงขับเคลื่อนสูงและอยู่ได้นานจะทำให้การสกัดเกิดได้ดี โดย chelating agent ต่างชนิดกันหรือชนิดเดียวกัน แต่ความเข้มข้นต่างกันอาจมีผลต่อการสกัดสารที่สนใจ ตัวแปรที่ห้าคือความเร็วในการคน ในขั้นตอนการสกัดของ three phase HF-LPME จะใช้ที่ตั้งที่เอาไว้คนสารในการคนสารที่สนใจ การคนจะช่วยให้การถ่ายโอนมวลในเฟสให้และช่วยลดเวลาในการสกัด ทำให้การสกัดเข้าถึงจุดสมดุลเร็วขึ้น ดังนั้นการคนสารละลายตัวอย่างจึงมีความสำคัญในการถึงจุดสมดุลระหว่างเฟสให้และเฟสอินทรีย์ ตัวแปรที่หกคืออุณหภูมิ อุณหภูมิส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ใน 2 ด้าน ด้านแรก คือ มีผลต่ออัตราการถ่ายโอนมวลของสารที่สนใจ และด้านที่สองคือมีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่างเฟสอินทรีย์และเฟสให้ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการถ่ายโอนมวลของสารที่สนใจจะเพิ่มขึ้น แต่ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวจะลดลง ตัวแปรสุดท้ายคือปริมาตรสารละลายตัวอย่างกับปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์ ปริมาตรสารละลายตัวอย่างกับปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์เป็นอีกสองตัวแปรที่มีความสำคัญส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดใน three phase HF-LPME ซึ่งหากเพิ่มอัตราส่วนระหว่างปริมาตรสารละลายตัวอย่างกับปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์ในเฟสให้และเฟสรับตามลำดับ จะทำให้ค่าการเพิ่มความเข้มข้น (Enrichment factor) ของสารที่สนใจเพิ่มขึ้นได้^[1,13]

2.4 Spectrophotometric method

Spectrophotometric method หรือวิธีการทางสเปกโตรโฟโตเมตรี คือ วิธีที่ใช้ในการวัดสาร ว่ามีความเข้มแสงหรือการดูดกลืนแสงมากน้อยเพียงใด โดยจะให้แสงไปยังสารตัวอย่าง สารตัวอย่างจะเกิดการดูดกลืนแสงในช่วงของความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารตัวอย่าง^[14]

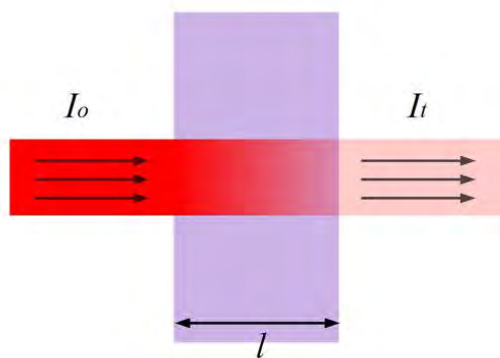
$$\text{Transmittance (T)} = I_t/I_0$$

T: เป็นสัดส่วนปริมาณแสงที่ผ่านออกมา (I_t) ต่อปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่าง (I_0)

$$\text{Absorbance (A)} = -\log(T) = \log(I_0/I_t)$$

I_t : ค่าความเข้มแสงหลังจากที่แสงส่องผ่านตัวอย่างใน cuvette

I_0 : ค่าความเข้มแสงก่อนที่แสงส่องผ่านตัวอย่างใน cuvette



รูปที่ 2.6 การส่องผ่าน^[10]

Beer-Lambert's Law : เมื่อเราวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย ปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายและความหนาของสารละลายที่ลำแสงต้องผ่าน โดยเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารตัวอย่างมาพล็อตจะได้กราฟเส้นตรงคือ ซึ่งจะได้ความสัมพันธ์ดังสมการต่อไปนี้

$$A = \epsilon lc$$

A : ค่าการดูดกลืนแสง (ไม่มีหน่วย)

ϵ : ค่า molar absorptivity

l: ความยาว (cm) ของ cuvette

c: ความเข้มข้น (M)

ตัวอย่างของ Spectrophotometric method เช่น UV-Visible Spectroscopy



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.1 Fiber optic UV-Visible spectrophotometer
- 3.1.2 Autopipettes and tips, 10, 100, 1000 μL และ 10 mL
- 3.1.3 Polypropylene hollow fiber membrane
- 3.1.4 pH meter
- 3.1.5 Syringe

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 Lead(II)nitrate ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$)
- 3.2.2 L-Ascorbic acid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)
- 3.2.3 Rhodamine B
- 3.2.4 โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol)
- 3.2.5 กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) 85 %
- 3.2.6 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)
- 3.2.7 Oxalic acid ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$)
- 3.2.8 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)
- 3.2.9 สารละลายแอมโมเนีย (NH_4OH) 25 %
- 3.2.10 แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)

3.2.11 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) 1 M

3.2.12 Bis(2-ethylhexyl) phosphate

3.2.13 1-Octanol

3.3 การเตรียมสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 0.01 M

3.3.1. สารละลายสต็อกของ $Pb(NO_3)_2$ 0.01 M

ละลาย $Pb(NO_3)_2$ 0.3312 g ใน deionized water 100 mL (ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL)

3.4 การหาชนิดของ chelating agent ที่ใช้ในเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับตะกั่ว ซึ่งจะใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโดยอาศัยเทคนิค UV-Visible spectroscopy ในการตรวจวัด โดย chelating agent ที่จะนำมาทดสอบมี 4 ชนิดด้วยกัน คือ L-Ascorbic acid, Rhodamine B, Oxalic acid และ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)

3.4.1 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ L-Ascorbic acid^[5]

3.4.1.1 การเตรียมสารละลายทางเคมี

3.4.1.1.1 สารละลายสต็อกของ L-Ascorbic acid 0.01 M

ละลาย L-Ascorbic acid 0.1755 g ใน deionized water 100 mL (ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL)

3.4.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วย L-Ascorbic acid โดยใช้ UV-Visible spectroscopy

เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยปิเปตสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 0.01 M ปริมาตร 1 mL ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL และปิเปตสารละลาย L-Ascorbic acid 0.01 M 1 mL ใส่ขวดวัดปริมาตร จากนั้นปรับสารละลายด้วย deionized water จนถึงขีดวัดปริมาตร ส่วนแบล็กเตรียมเหมือนสารละลายมาตรฐาน แต่ไม่ใส่สารละลาย $Pb(NO_3)_2$ และนำไปฉีดเข้าเครื่อง UV-Visible spectrophotometer เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 265 nm และสร้างกราฟมาตรฐานต่อไป

3.4.2 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ Rhodamine B^[6]

3.4.2.1 การเตรียมสารละลายเคมี

3.4.2.1.1 สารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 4.8 μM

ชั่ง $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 0.1070 g ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับด้วย deionized water จนถึงขีดวัดปริมาตร

3.4.2.1.2 Rhodamine B 0.05 % w/v

ชั่ง Rhodamine B 0.0500 g ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับด้วย deionized water จนถึงขีดวัดปริมาตร

3.4.2.1.3 KI-ascorbate aqueous solution (KI 1.205 M และ L-Ascorbic acid 0.1136 M)

ชั่ง KI มา 2 g และ L-Ascorbic acid 0.2 g ละลายผสมกันในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 mL ปรับด้วย deionized water จนถึงขีดวัดปริมาตร

3.4.2.1.4 Polyvinyl alcohol (PVA) 2 %

ชั่ง PVA (M.W. 72000 g/mol) มา 2 g ละลายในน้ำ 100 mL จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที

3.4.2.1.5 H_3PO_4 7.5 M

ปิเปต H_3PO_4 85 % มา 10 mL จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 20 mL ด้วย deionized water และผสมให้เข้ากัน

3.4.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วย Rhodamine B โดยใช้ UV-Visible spectroscopy

เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยการปิเปตสารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 4.8 μM มา 8.00 mL ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL จากนั้นเติม H_3PO_4 7.5 M 2 mL สารละลาย KI-ascorbate 3 mL และสารละลาย Polyvinyl alcohol 2 % 5 mL เติมน้ำจนมีปริมาตร 30 mL ต่อจากนั้นใส่ Rhodamine B 0.05 % w/v 5 mL ปรับปริมาตรด้วย deionized water จนเป็น 50 mL ผสมให้เข้ากัน ส่วนแบล็กค์ เตรียมเหมือนสารละลายมาตรฐานแต่ไม่มีการใส่สารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณ Pb^{2+} ด้วยการฉีด

สารละลายมาตรฐานเข้า UV-Visible spectrophotometer เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 nm

3.4.3 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ Oxalic acid

3.4.3.1 การเตรียมสารละลายเคมี

3.4.3.1.1 สารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 0.001 M

เจือจางสารละลายสต็อก $Pb(NO_3)_2$ 10 เท่า โดยปิเปตสารละลายสต็อกของ $Pb(NO_3)_2$ 0.01 M มา 10.00 mL ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วปรับจนถึงขีดปริมาตรด้วย deionized water

3.4.3.1.2 สารละลายสต็อกของกรดออกซาลิก 0.02 M

ชั่งของแข็งกรดออกซาลิกมา 0.2525 กรัม ละลายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL และปรับจนถึงขีดวัดปริมาตรด้วย deionized water

3.4.3.1.3 สารละลายกรดออกซาลิก 0.002 M

ปิเปตสารละลายสต็อกของกรดออกซาลิก 0.02 M มา 10.00 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วย deionized water

3.4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วย Oxalic acid โดยใช้ UV-Visible spectroscopy

เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ โดยปิเปตกรดออกซาลิก 0.002 M 6.00 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ขวดที่ 1-6 แล้วปิเปตสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 0.001 M มา 1.00, 2.00, 3.00 และ 4.00 mL ลงไปในขวดที่ 1- 4 ตามลำดับ ส่วนขวดที่ 5 และ 6 ปิเปตสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 0.01 M 1.00 และ 4.00 mL ลงไปตามลำดับ และปรับปริมาตรให้เป็น 10 mL ด้วย deionized water และเตรียมขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL อีกขวด ไว้สำหรับใส่กรดออกซาลิก 0.002 M 6.00 mL ที่ปรับปริมาตรด้วย deionized water เช่นกัน เพื่อใช้เป็นแบล็ก จากนั้นนำสารละลายแต่ละขวดไปฉีดเข้าสู่เครื่อง UV-Visible spectrophotometer เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 235 และสร้างกราฟมาตรฐานต่อไป

3.4.4 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)

3.4.4.1 การเตรียมสารละลายทางเคมี

3.4.4.1.1 สารละลายของ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 2.4×10^{-4} M

ปิเปตสารละลายสต็อกของ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 0.01 M 2.40 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับจนถึงขีดวัดปริมาตรด้วย deionized water

3.4.4.1.2 สารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 4.8, 9.6, 14.4, 24, 36, 48, 60, 66, 72 และ 84 μM

ปิเปต $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 2.4×10^{-4} M มา 1.00, 2.00, 3.00, 5.00, 7.50, 10.00, 12.50, 13.75, 15.00 และ 17.50 mL ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ที่เตรียมไว้ 10 ขวด (ความเข้มข้นละขวด) และปรับให้ถึงขีดวัดปริมาตรด้วย deionized water

3.4.4.1.3 บัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ (NH_4Cl 1.233 M และสารละลาย NH_3 2.957 M)

ละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 3.3 g ในน้ำ 20 mL และผสมกับสารละลายแอมโมเนีย (NH_4OH) 25 % 20.7 mL ผสมให้เข้ากันและปรับปริมาตรให้เป็น 50 mL

3.4.4.2 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วด้วย 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) โดยใช้ UV-Visible spectroscopy

เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยปิเปต PAR 0.03 % 333 μM ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ขวดที่ 1-10 ตามลำดับ จากนั้น ปิเปตบัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ 670 μL ลงไปในแต่ละขวด และ ปิเปตสารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ความเข้มข้น 4.8, 9.6, 14.4, 24, 36, 48, 60, 66, 72 และ 84 μM 6.67 mL ใส่ขวดวัดปริมาตร ขวดที่ 1-10 ตามลำดับ และปรับให้ถึงขีดวัดปริมาตรด้วย deionized water ส่วนแบล็งค์เตรียมเหมือนกับสารละลายมาตรฐานเพียงแต่ไม่ใส่สารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ จากนั้นนำแบล็งค์และสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ ฉีดเข้าสู่เครื่อง UV-Visible spectrophotometer เพื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 525 nm (ทำจนครบทั้ง 15 ขวด) และข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

3.4.4.3 ศึกษาผลของ pH ในช่วงที่เป็นกรดของ Pb^{2+} - PAR complex

3.4.4.3.1 การเตรียมสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 36 μ M และ HCl 0.1 0.01 0.001 และ 0.0001 M

3.4.4.3.1.1 สารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 36 μ M

3.4.4.3.1.2 ไฮโดรคลอริก (HCl) 0.1 0.01 0.001 และ 0.0001 M

- เตรียม HCl 0.1 0.01 0.001 0.0001 M

ปิเปต HCl 1 M มา 1 mL 100 μ L 10 μ L และ 1 μ L ตามลำดับ ลงในบีกเกอร์ 10 mL ใบที่ 1, 2, 3 และ 4 ที่เตรียมไว้ตามลำดับและปรับจนมีปริมาตรเป็น 10 mL ด้วย deionized water

3.4.4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วโดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer

เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยปิเปตสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ 36 μ M มา 6.67 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL จากนั้นปิเปต 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) 0.03 % 333 μ L และ HCl ความเข้มข้น 0.1 M มา 670 μ L ใส่ในขวดวัดปริมาตรตามลำดับ ปรับจนถึงขีดวัดปริมาตรด้วย deionized water นำไปวัด pH ด้วยเครื่อง pH meter จดบันทึกค่า pH ก่อนจะนำไปฉีดเข้าสู่เครื่อง UV-visible spectrophotometer เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสง และทำซ้ำเช่นเดียวกัน โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของ HCl เป็น 0.01, 0.001 และ 0.0001 M ตามลำดับ ส่วนการเตรียมแบล็งค์ทำเช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายมาตรฐานเพียงแต่ไม่ใส่สารละลาย $Pb(NO_3)_2$

3.4.5 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Pb^{2+} -PAR complex

3.4.5.1 สารละลายตัวอย่างเป็น Pb^{2+} ในน้ำและใช้ปริมาตรสารละลายระดับไมโครลิตร

เตรียมแบล็งค์โดยผสม H_2O 5 mL ผสมกับบัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl 0.5 mL และ PAR 0.03% ในเอทานอล 0.25 mL ในบีกเกอร์ขนาด 10 mL ส่วนการเตรียมสารละลายมาตรฐาน เตรียมโดยปิเปตสารละลาย Pb^{2+} (ใน H_2O) 50 μ L (ค่าความเข้มข้น 5 ค่า) ผสมกับบัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl 5 μ L และ PAR 0.03% ในเอทานอล 2.50 μ L ใน insert vial

3.4.5.2 สารละลายตัวอย่างเป็น Pb^{2+} ใน HCl 0.01 M และใช้ปริมาตรสารละลายระดับไมโครลิตร

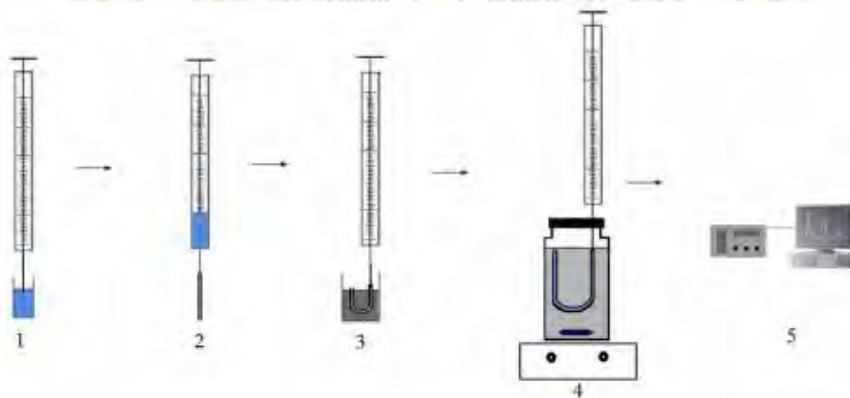
การเตรียมแบล็กเตรียมโดยผสม HCl 0.01 M 5 mL กับบัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl 0.5 mL และ PAR 0.03 % ในเอทานอล 0.25 mL ในบีกเกอร์ขนาด 10 mL ส่วนการเตรียมสารละลายมาตรฐานเตรียมโดยปิเปตสารละลาย Pb^{2+} (ใน HCl 0.01 M) 50 μ L (ค่าความเข้มข้น 5 ค่า) ผสมกับบัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl 5 μ L และ PAR 0.03 % ในเอทานอล 2.50 μ L ใน insert vial

3.4.6 การสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง

1. เตรียมสารละลายตัวอย่าง Pb^{2+} ในน้ำ ความเข้มข้น 60 μ M และเจือจาง 10 เท่าให้เป็น 6 μ M
2. เตรียมเมมเบรนเส้นใยกลวงโดยตัดให้มีความยาวเส้นละ 10 cm
3. เตรียม bis(2-ethylhexyl) phosphate 5 % ใน 1-octanol : ปิเปต bis(2-ethylhexyl) phosphate มา 1.25 mL ใส่ในขวด vial ขนาด 30 mL ผสมกับ 1-octanol 23.75 mL ให้มีปริมาตรรวมเป็น 25 mL ปิดฝา เขย่าให้ผสมกัน (bis(2-ethylhexyl) phosphate ทำหน้าที่เป็นตัวพา ส่วน 1-octanol ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์)
4. จุ่มเส้นใยกลวงลงในขวด vial ที่เตรียมได้จาก ข้อ 3. เป็นเวลา 1-3 นาที
5. นำเส้นใยกลวงจากข้อ 4. มาใส่ฟองอากาศและตัวทำละลายอินทรีย์ที่อาจติดอยู่ในท่อของเส้นใยกลวง โดยใช้ syringe ขนาด 5 mL (ไล่ประมาณ 4-5 รอบ หรือ จนกว่าฟองอากาศจะหมด)
6. ใช้ syringe ขนาด 40 μ L ฉีด HCl 0.01 M ปริมาตร 28 μ L ลงไปในท่อของเส้นใยกลวง
7. นำเส้นใยกลวงที่ได้จาก ข้อ 6. ไปจุ่มลงในขวด vial ขนาด 25 mL ที่มีสารละลายตัวอย่างที่มี Pb^{2+} ความเข้มข้น 6 μ M โดยขดเส้นใยกลวงเป็นรูปตัวยูต่อกับฝาที่มีเข็มเจาะอยู่สองอัน
8. นำขวด vial จากข้อ 7. ไปทำการคนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็ว 500 rpm เป็นเวลา 30 นาที (ขั้นตอนที่ Pb^{2+} ถูกสกัดจากสารละลายตัวอย่างเข้าไปในท่อของเส้นใยกลวง)
9. หลังจากนั้น นำ syringe มาไล่สารละลายที่อยู่ภายในท่อของเส้นใยกลวงที่ผ่านการสกัดจากข้อ 8. ลงใน insert vial (ปริมาตรสารละลายที่ได้ประมาณ 25 – 28 μ L)
10. ปิเปตบัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl 50 μ L และ PAR 0.03 % ในเอทานอล ปริมาตร 2.5 μ L ลงใส่ใน insert vial จากข้อ 9. จากนั้นผสมให้เข้ากันโดยใช้เข็ม syringe ช่วย

11. ทำการวิเคราะห์ปริมาณ Pb^{2+} โดยเทคนิค UV-Visible spectroscopy โดยการฉีดสารละลายจากข้อ 10. เข้าสู่ UV-Visible spectrophotometer เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงและนำไปสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่น (nm)
12. ทำซ้ำ ข้อ 1.-11. อีก 2 ขวด (ขั้นตอนการสกัดดูจากรูปที่ 3.1)

ข้อควรระวัง การใส่ฟองอากาศ การฉีดสารละลายเข้าท่อของเส้นใยกลาง ตลอดจนการใส่สารละลายที่อยู่ในท่อออกจากเส้นใยกลางควรทำโดยระมัดระวังและรอบคอบ เนื่องจากการใช้เข็ม syringe อาจทำให้เส้นใยกลางฉีกขาดและต้องเตรียมเส้นใยกลางใหม่)



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัด HF-LPME : (1) จุ่ม syringe สารละลายรับและดูดสารละลายรับขึ้นมา (2) ฉีดสารละลายรับลงในท่อของเส้นใยกลาง (3) งอเส้นใยกลางที่ติดอยู่กับปลาย syringe ให้เป็นรูปตัวยูและจุ่มลงในสารละลายตัวอย่าง (4) การคนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็ก และ (5) การวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ เช่น UV-Visible spectrophotometer^[5]

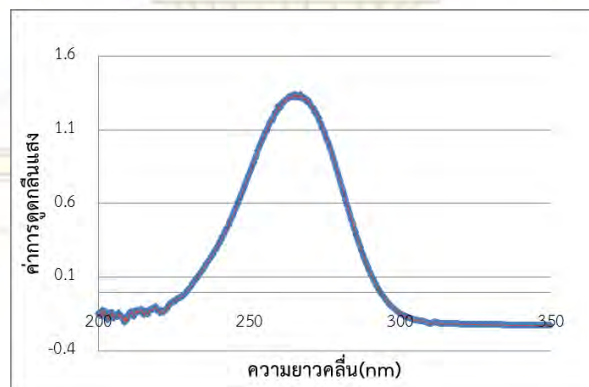
บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปราย

4.1 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ L-Ascorbic acid

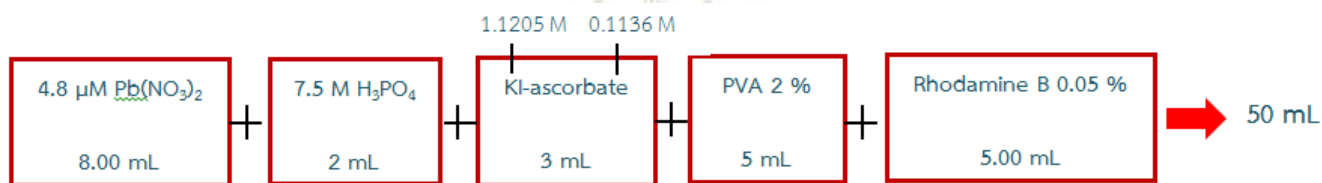


จากผลการทดลองจะได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของกรดแอสคอร์บิก (L-Ascorbic acid) ดังรูป 4.1 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Pb^{2+} ลงไป ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ (สีสารละลาย) และค่าการดูดกลืนแสงก็ไม่เพิ่มขึ้น ($\lambda_{\text{max}}=265$ nm) เมื่อไปนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง อีกทั้ง L-Ascorbic ยังสามารถจับได้กับโลหะหลายชนิด เช่น ทองแดง เป็นต้น จากผลการทดลองสารประกอบเชิงซ้อนของ Pb^{2+} -L-Ascorbic acid เป็นสารละลายใสไม่มีสี จึงไม่สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพได้ และไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Pb^{2+} และการวิเคราะห์จึงไม่เลือก L-Ascorbic acid เป็น chelating agent

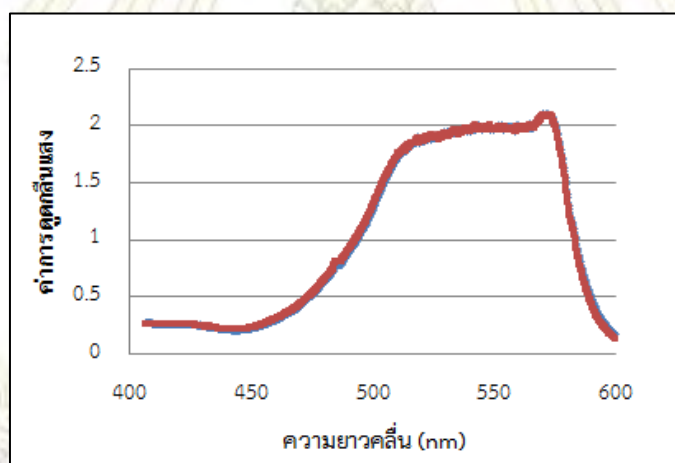


รูปที่ 4.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของกรดแอสคอร์บิก (L-Ascorbic acid) เมื่อมี(สีแดง)และไม่มี Pb^{2+} (สีน้ำเงิน) ที่ ($\lambda_{\text{max}}=265$ nm)

4.2 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ Rhodamine B



เมื่อนำแบลิ่งค์ (Rhodamine B) และสารละลายมาตรฐาน (Rhodamine B+Pb²⁺) ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง จะได้สเปกตรัมดังรูปที่ 4.2 และ 4.3 พบว่าไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น แสดงว่า การเติม Pb²⁺ ลงไปไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นของ Rhodamine B อีกทั้งจากการสังเกตลักษณะทางภาพภาพเทียบระหว่าง เมื่อมีการเติม Pb²⁺ ลงไป ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย คือ สารละลายยังคงมีสีชมพูเช่นเดิม ดังนั้น จึงไม่เลือกใช้ Rhodamine B เป็น chelating agent ในการหาวิเคราะห์หาปริมาณ Pb²⁺

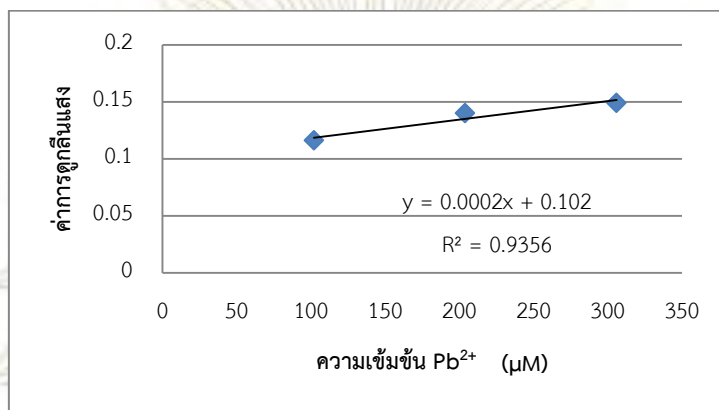


รูปที่ 4.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ Rhodamine B เมื่อมี (สีแดง) และไม่มี Pb²⁺ (สีน้ำเงิน) ที่ ($\lambda_{max}=575$ nm)

4.3 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้กรดออกซาลิก (Oxalic acid)

จากผลการทดลองจะได้กราฟมาตรฐานรูปที่ 4.3 ที่มีสมการ $y = 0.002x + 0.102$ $R^2=0.9356$ ($\lambda_{max}=233.28$ nm) เมื่อ y แทนค่าการดูดกลืนแสง x แทนความเข้มข้นของ Pb²⁺ (μ M) เมื่อความเข้มข้นของ Pb²⁺ เพิ่มขึ้น จะให้ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแต่เพิ่มขึ้นน้อยมาก วิธีนี้ถือว่ามีความ sensitivity ต่ำมาก นอกจากนั้นจะไม่นำความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงจากขดที่ 4, 5 และ 6 มาคิดรวม เนื่องจากทั้ง 3 ขดมีตะกอนขาวขุ่น PbC₂O₄ เกิดขึ้นในสารละลายจำนวนมาก และจากการคำนวณ ขดที่ 3 เป็นขดที่เป็นจุดยุติ

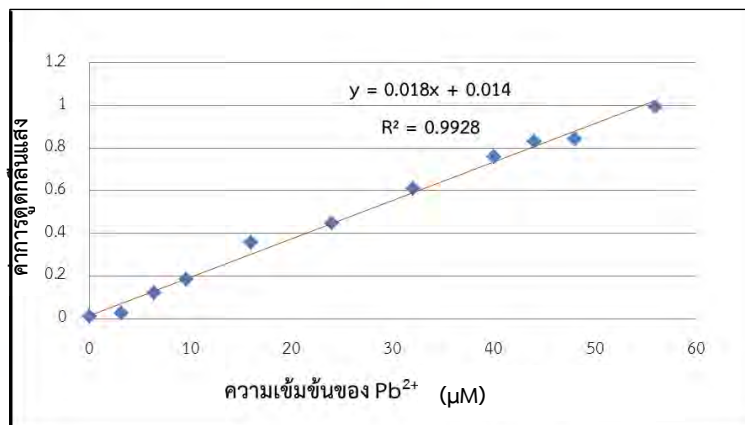
ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาพอดีกันระหว่างจำนวนโมลของ Pb^{2+} กับกรดออกซาลิก จากผลการทดลองพบว่า ขวดที่ 3 เป็นสารละลายใส จึงแน่ใจได้ว่า จุดนี้คือจุดยุติ จากผลการทดลองและการอภิปราย จึงไม่เลือกใช้กรดออกซาลิกเป็น chelating agent



รูปที่ 4.3 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น Pb^{2+} (μM) เมื่อใช้ oxalic acid เป็น chelating agent ($\lambda_{max}=233.28$ nm)

4.4 การตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยใช้ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)

จากผลการทดลองได้กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (μM) (ในน้ำ) รูปที่ 4.4 มีกราฟเป็นเส้นตรงมีสมการเป็น $y = 0.018x + 0.014$ $R^2=0.9928$ ($\lambda_{max}=522.39$ nm) โดยใช้แบลิ่งค์เป็นน้ำผสมกับ PAR 0.03 % และบัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl จะเห็นได้ว่ายิ่งความเข้มข้นของ Pb^{2+} เพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงยิ่งเพิ่มขึ้น วิธีนี้มี sensitivity ค่อนข้างดี เนื่องจากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นที่ละ $10 \mu M$ ค่าการดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลงไป $0.018 \mu M^{-1}$ ดังนั้น 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) จึงเป็น chelating agent ที่ดี และเหมาะสมจะนำมาใช้ในการตรวจวัดปริมาณตะกั่วหลังจากผ่านการสกัดระดับจุลภาคโดยเมมเบรนเส้นใยกลวง แต่เนื่องจากการใช้ NH_3-NH_4Cl เป็นบัฟเฟอร์ในการควบคุม pH ของสารละลาย จึงมีค่า pH อยู่ในช่วงที่เป็นเบส

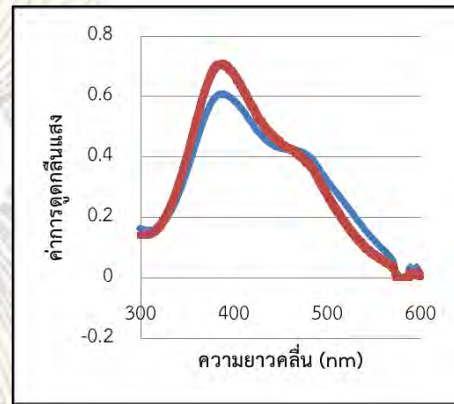
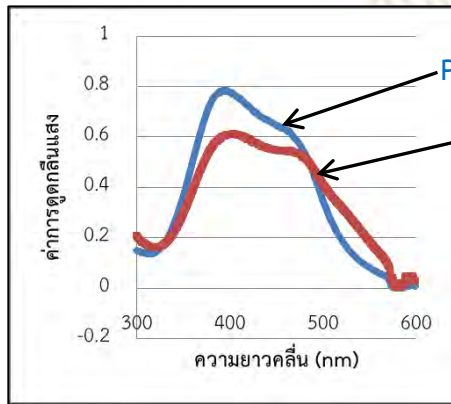


รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (μM) (ในน้ำ) เมื่อใช้ PAR เป็น chelating agent ($\lambda_{max}=522.39$ nm)

4.4.1 การหาสถานะที่เหมาะสมสำหรับ Pb^{2+} -PAR complex

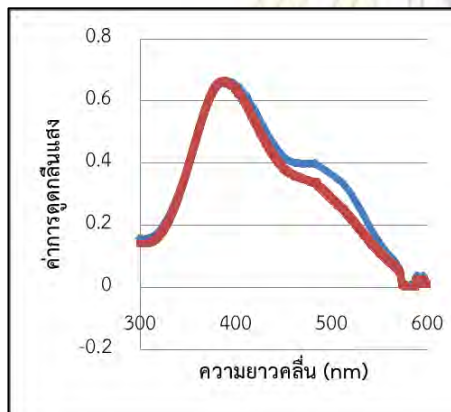
เมื่อใช้ PAR เป็น chelating agent ในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วต้องใช้บัฟเฟอร์เบสในการควบคุม pH ให้ได้ประมาณ 10 แต่หากคำนึงถึงเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงปกติ ในการสกัดเพื่อเตรียมสารละลายตัวอย่างของไอออนของตะกั่วให้มีความเข้มข้นสูงชันั้น จะใช้สารละลายรับเป็นกรด เช่น กรดฟอร์มิก ซึ่งกรดจะทำหน้าที่เป็น chelating agent ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของตะกั่วซึ่งจะถูกตรวจวัดด้วยเครื่องมือวิเคราะห์^[1] เมื่อคำนึงถึง pH ของสารละลายตัวอย่างที่มีไอออนของตะกั่วที่มี pH สูงกว่าในสารละลายรับที่เป็นกรดฟอร์มิก ความแตกต่างของ pH จะทำให้เกิดการขนส่งโปรตรอนที่อยู่ในสารละลายรับไปยังสารละลายตัวอย่างโดยมีตัวพาเป็นตัวขนส่ง สารละลายรับจึงควรมี pH ต่ำและมีโปรตรอนอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นจากหลักการนี้ จะใช้กรดเป็นสารละลายรับซึ่งก็คือ HCl เมื่อสกัดไอออนของตะกั่วมาอยู่ใน HCl ได้แล้วจะนำไปผสมกับ PAR 0.03 % ในเอทานอล ก่อนจะนำไปวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วที่มีอยู่ในสารละลาย แต่เนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมาไม่มีการพูดถึงการทดลองศึกษา Pb^{2+} -PAR complex ในช่วงที่เป็นกรด เพียงแต่บอกว่า Pb^{2+} -PAR complex มีความเสถียรในช่วง pH 10 และสารประกอบเชิงซ้อนนี้สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ตั้งแต่ที่ pH 6 ขึ้นไป ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษา pH ของ Pb^{2+} -PAR complex ในช่วงที่เป็นกรด ในโครงการวิจัยนี้จะศึกษา pH ต่างกัน โดยใช้ HCl 0.1 0.01 0.001 และ 0.0001 M จากผลการทดลองจะได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH = 2.21, 3.13, 4.38 และ 5.19 ดังรูปที่ 4.5 - 4.8 ตามลำดับ โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของ PAR และ Pb^{2+} คงที่ ซึ่งจะเห็นว่าที่ pH = 2.21 เมื่อ Pb^{2+} จับกับ PAR ค่าการดูดกลืนแสงจะลดลง แต่ที่ pH 3.13 4.28 และ 5.19 จะเพิ่มขึ้น เท่าเดิมและลดลง ตามลำดับ ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงมีความแปรปรวนเมื่อเปลี่ยนค่า pH จาก 2.21 ถึง 5.19 ทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าค่ามีการ

เปลี่ยนแปลงไปในทิศทางใด ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วโดยใช้ PAR เป็น chelating agent ในสถานะที่เป็นกรดจึงไม่สามารถนำไปใช้ในการตรวจวัดได้

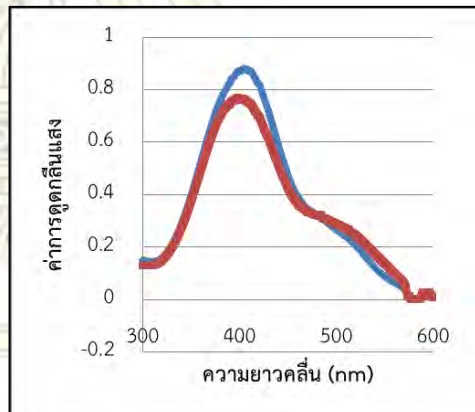


รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ PAR และ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH 2.21

รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ PAR และ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH 3.13



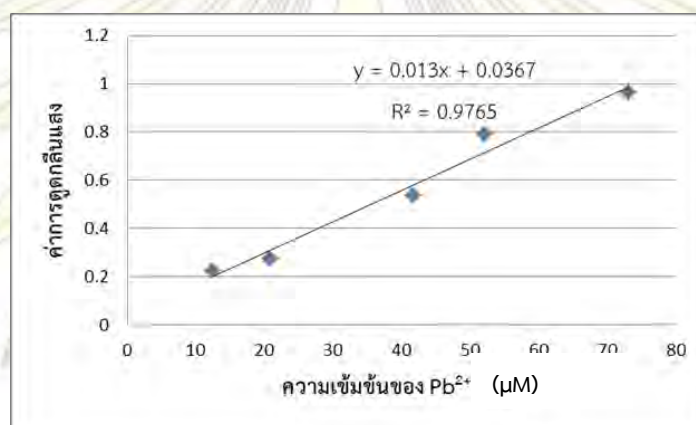
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ PAR และ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH 4.38



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความยาวคลื่น (nm) ของ PAR และ Pb^{2+} -PAR complex ที่ pH 5.19

จากการที่ Pb^{2+} -PAR complex มีความเสถียรในสถานะที่เป็นเบส (pH 10) และการที่สารละลายที่ได้หลังจากการสกัดมีปริมาณน้อยมาก จึงได้ทำการทดลองศึกษา Pb^{2+} -PAR complex ที่ใช้บัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl ในการควบคุม pH (ไม่มีกรด HCl) และทำเหมือนเดิมทุกอย่างเพียงแต่ใช้ปริมาตรของสารแต่ละตัวในระดับไมโครลิตร จะได้กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ Pb^{2+}

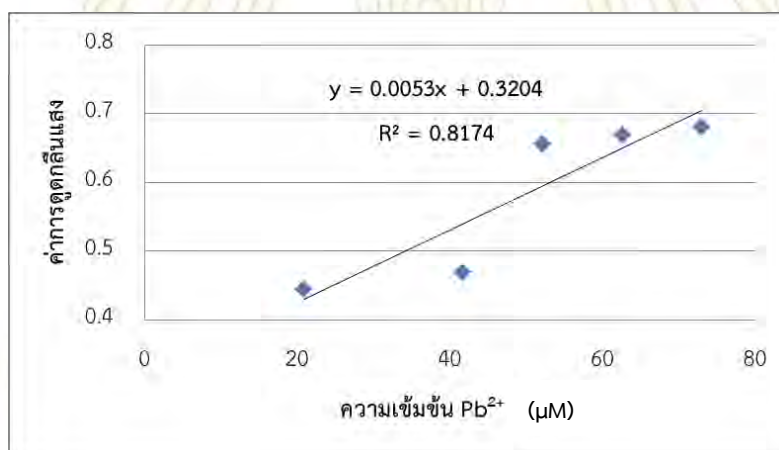
(μM) ดังรูปที่ 4.9 ที่สมการเส้นตรงเป็น $y = 0.013x + 0.0367$ $R^2=0.9765$ ที่ $\lambda_{\text{max}}=521$ nm พบว่าค่า λ_{max} มีค่าเปลี่ยนไปเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานรูปที่ 4.4 ที่มีสมการเส้นตรง $y = 0.018x + 0.014$ $R^2=0.9928$ ($\lambda_{\text{max}}=522.39$ nm) จะเห็นได้ว่ากราฟทั้งสองมีความชันใกล้เคียงกัน โดยค่า R^2 ที่วิเคราะห์โดยใช้สารละลายปริมาตรสูง (จากกราฟรูปที่ 4.4) มีค่าเท่ากับ 0.9928 ส่วน R^2 ที่วิเคราะห์โดยใช้สารละลายปริมาตรน้อยในระดับไมโครลิตร (จากรูปที่ 4.9) มีค่าเท่ากับ 0.9765 มี % error = $(0.9928 - 0.9765)/0.9928 = 0.01641$ ซึ่งถือว่ามีค่าน้อย ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในน้ำโดยเปลี่ยนจากปริมาตรสูงเป็นปริมาตรน้อยระดับไมโครลิตรจึงสามารถนำไปใช้ได้จริง



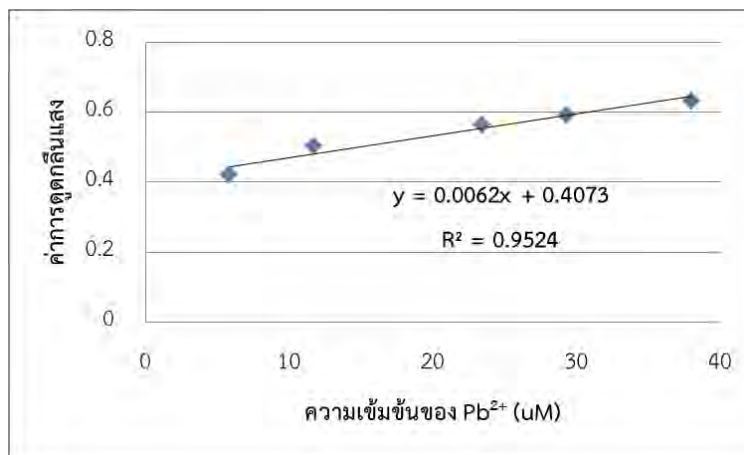
รูปที่ 4.9 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (μM) เมื่อใช้ PAR เป็น chelating agent ($\lambda_{\text{max}}=521$ nm) โดยใช้ปริมาตรสารน้อยระดับไมโครลิตรในการทดลอง

นอกจากความเสถียรของ Pb^{2+} -PAR complex ในสภาวะที่เป็นเบสกับสารละลายที่ได้หลังจากการสกัดจะมีค่าน้อยมาก หากคำนึงถึงสารละลายรับที่อยู่ภายในท่อของเส้นใยกลางที่ใช้ในการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสต้องมีสภาวะเป็นกรดและมีโปรตรอนละลายอยู่จำนวนมากด้วย ดังนั้น จึงมีการศึกษาและตรวจวัดปริมาณตะกั่วโดยนำ Pb^{2+} ที่ละลายอยู่ใน HCl 0.01 M 50 μL มาผสมกับ PAR 0.03 % 2.5 μL ที่ละลายอยู่ในเอทานอลและบัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ 5 μL (ได้สารละลายมาตรฐาน) ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยเทียบกับแบล็งค์ที่เตรียมเหมือนกันกับสารละลายมาตรฐานแต่ใช้ HCl 0.01 M 50 μL แทน HCl 0.01 M ที่มี Pb^{2+} ละลายอยู่ จะได้กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ Pb^{2+} (μM) ดังรูปที่ 4.10 จะเห็นได้ว่ากราฟที่ได้ไม่เป็นเส้นตรง แสดงว่าเมื่อ Pb^{2+} -PAR complex ที่เตรียมสารละลาย Pb^{2+} ในกรด HCl 0.01 M ถึงแม้จะมี $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ ช่วยควบคุมค่า pH ให้คงที่แต่ยังไม่สามารถคุมค่า pH ให้นิ่งได้ ดังนั้น จึงมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยทำการทดลองเหมือนเดิมทุกอย่างแต่เพิ่มปริมาตร $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ ให้เป็น 50 μL และจากเดิมที่ใช้แบล็งค์เป็น HCl 0.01 M ผสมกับ PAR 0.03 % ในเอทานอลและ

บัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ จะเปลี่ยนเป็น HCl 0.01 M ผสมกับเอทานอลที่ไม่มี PAR และบัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ แทน เนื่องจากพบว่าสัญญาณของ baseline ในแบล็กที่มี PAR นั้นสัญญาณไม่คงที่ จากผลการทดลองจะได้กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (μM) ดังรูปที่ 4.11 กราฟที่ได้เป็นเส้นตรงมีสมการเป็น $y = 0.0062x + 0.4073$ $R^2 = 0.9524$ แสดงว่าจากการทดลองที่ใช้ Pb^{2+} ที่ละลายอยู่ใน HCl 0.01 M (ปริมาตรสารละลาย 50 μL) ผสมกับ PAR 0.03 % ในเอทานอล 2.5 μL และบัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ 5 μL กรดไฮโดรคลอริกมีผลทำให้ค่า pH เปลี่ยนแปลงจริงและบัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ (NH_4Cl 1.233 M และสารละลาย NH_3 2.957 M) เพียง 5 μL ไม่สามารถคุม pH ให้คงที่ได้ ถึงแม้บัฟเฟอร์จะมีความเข้มข้นสูงก็ตาม ส่วนในการทดลองที่ใช้ Pb^{2+} ที่ละลายอยู่ใน HCl 0.01 M (ปริมาตรสารละลาย 50 μL) ผสมกับ PAR 0.03 % ในเอทานอล 2.5 μL และบัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ 50 μL เป็นสารละลายมาตรฐานที่นำไปใช้ในการตรวจวัด ทำให้ทราบว่า การเพิ่มปริมาตรบัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ เป็น 50 μL ทำให้สามารถคุมค่า pH ได้ ทำให้สัญญาณ baseline นิ่งและทำให้ได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง ซึ่งจะนำสภาวะที่ได้นี้ไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วและไปใช้ร่วมกับเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง



รูปที่ 4.10 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb^{2+} (μM) ที่ละลายอยู่ใน HCl 0.01 M โดยใช้ PAR เป็น chelating agent และใช้บัฟเฟอร์ $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ 5 μL ในการคุม pH (λ_{max} 521 nm) โดยใช้ปริมาตรสารน้อยระดับไมโครลิตรในการทดลอง

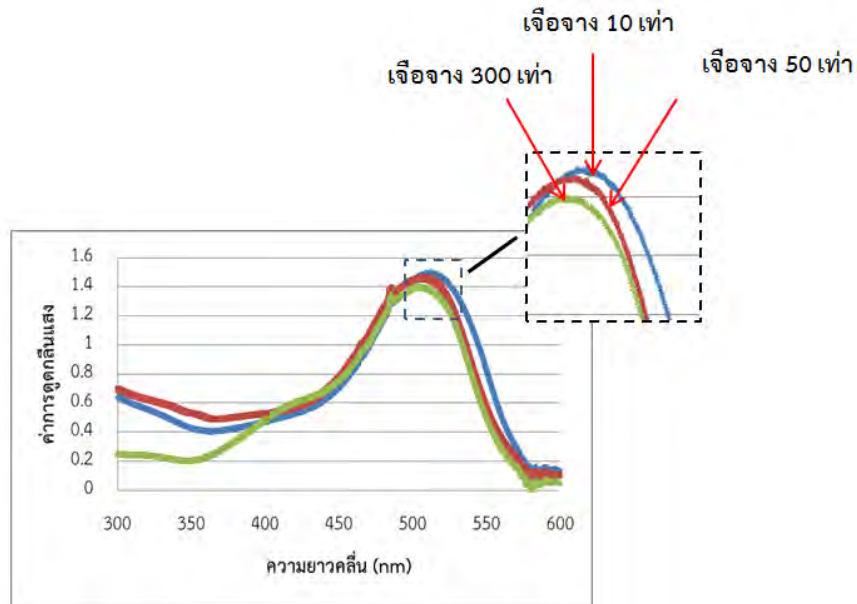


รูปที่ 4.11 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ Pb²⁺ (μM) ที่ละลายอยู่ใน HCl 0.01 M โดยใช้ PAR เป็น chelating agent และใช้บัฟเฟอร์ NH₃-NH₄Cl 50 μL ในการคุม pH (λ_{max} 521 nm) โดยใช้ปริมาตรสารน้อยระดับไมโครลิตรในการทดลอง

4.5 การสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวง

จากการใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงในการเตรียมสารละลาย Pb²⁺ ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น โดยใช้ bis(2-ethylhexyl) phosphate เป็นตัวพาที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ 1-octanol และใช้สารละลายรับเป็น HCl 0.01 M โดยก่อนจะนำไปผ่านการสกัดจะเจือจางสารละลายตัวอย่าง Pb²⁺ ในน้ำให้มีความเข้มข้นลดลง เนื่องจากทราบว่าหลังการสกัด Pb²⁺ ที่เข้าไปอยู่ในสารละลายรับ HCl 0.01 M จะมีความเข้มข้นสูงขึ้น และเมื่อนำไปเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ PAR 0.03 % ในเอทานอลที่มีบัฟเฟอร์ NH₃-NH₄Cl ควบคุม pH (จากสถานะที่หาได้) ก่อนนำไปตรวจวัด จะนำค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้ไปเทียบกับกราฟรูป 4.11 ซึ่งเป็นกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วที่ไม่ผ่านการสกัดระดับจุลภาคซึ่งจะได้ผลการทดลองดังกราฟรูปที่ 4.12 จะเห็นได้ว่าสเปกตรัมของ Pb²⁺-PAR complex ที่ได้จากสารละลายตัวอย่าง Pb²⁺ ที่ผ่านการเจือจาง 10 เท่าและนำไปผ่านการสกัดมีค่าการดูดกลืนแสงสูงถึง 1.4 และมีความยาวคลื่นสูงสุดที่ประมาณ 510 nm แสดงว่าพิกที่ที่เกิดขึ้นเป็นพิกของ Pb²⁺-PAR complex จริงและการสกัดสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ Pb²⁺ ให้สูงขึ้นได้จริงและสูงขึ้นมาก หลังจากนั้นเปลี่ยนเป็นเจือจาง 50 เท่า และ 300 เท่า พบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะค่อย ๆ ลดลงแต่ลดลงน้อยมาก ดังรูปที่ 4.12 แสดงว่าค่าการเพิ่มความเข้มข้นของ Pb²⁺ สูงมากแต่จะยังไม่สามารถคำนวณค่าการเพิ่มความเข้มข้นได้ เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมที่ได้จากรูป 4.12 เกิน 1 (ปกติค่าการดูดกลืนแสงต้องอยู่ในช่วง 0 ถึง 1) ทำให้ไม่สามารถนำไปสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ Pb²⁺ (uM) กับค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งกราฟมาตรฐานที่ได้จะต้องนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานรูป 4.11 และคำนวณค่าการเพิ่มความ

เข้มข้นออกมาว่ามีค่าเพิ่มขึ้นก็เท่า จึงอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการเจือจางสารละลายตัวอย่างที่มี Pb^{2+} มากกว่านี้ และอาจต้องลดเวลาในการสกัดเพื่อดูว่าหากสกัดเป็นเวลาน้อย ค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงมากน้อยแค่ไหนและจะต้องนำไปสร้างกราฟมาตรฐานต่อไป เพื่อคำนวณค่าการเพิ่มความเข้มข้นออกมา



รูปที่ 4.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่น (nm) ของ Pb^{2+} - PAR complex เมื่อใช้เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงในการเตรียมสารละลาย Pb^{2+} ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาและวิเคราะห์หาชนิดของ chelating agent ที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของตะกั่วเพื่อใช้ UV-Visible spectroscopy ในการวิเคราะห์ปริมาณ Pb^{2+} โดยทดลองกับ chelating 4 ชนิดคือ L-Ascorbic acid, Rhodamine B, Oxalic acid และ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) พบว่า chelating agent ที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองคือ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR)

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (โดยการทดลองจะใช้สารปริมาณน้อยระดับไมโครลิตร) ระหว่างไอออนของตะกั่วที่ละลายอยู่ใน HCl 0.01 M และ PAR 0.03 % ในเอทานอล จะต้องใช้บัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl ซึ่งต้องใช้ปริมาณมากพอที่จะสามารถคุม pH ได้หมดเพื่อไม่ให้ HCl มามีอิทธิพลทำให้ pH เกิดการเปลี่ยนแปลง

เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบสามเฟสโดยใช้เมมเบรนเส้นใยกลวงสามารถนำไปใช้ได้จริงในการเตรียมสารละลายตัวอย่าง Pb^{2+} ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้นเพื่อใช้ร่วมกับเทคนิควิเคราะห์ UV-Visible spectroscopy ในการตรวจวัดปริมาณตะกั่วในน้ำ ซึ่งเมื่อตรวจวัดได้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงมาก และเมื่อเจือจางสารละลายตัวอย่าง 10-300 เท่า ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากการสกัดลดลงเพียงเล็กน้อย จึงอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอแนะ

ในการทำการทดลอง หลังจากผสมสารละลายที่มี Pb^{2+} กับ PAR 0.03 % ในเอทานอล และ บัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl มีข้อควรระวังหลายจุด คือ

1. ต้องรีบนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงทันที เนื่องจากเมื่อเวลาผ่านไปค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อน Pb^{2+} -PAR จะลดลงจากการที่สารประกอบเชิงซ้อนสลายตัว
2. ด้านการสกัด ผู้วิจัยต้องฝึกฝนการใช้เครื่องมือที่ใช้การทดลองให้ชำนาญ ก่อนจะไปสกัดจริง
3. ผู้วิจัยต้องมีความรอบคอบและระมัดระวังในการใส่ฟองอากาศหรือตัวทำละลายอินทรีย์ที่ค้างอยู่ภายในท่อของเส้นใยกลวง
4. ผู้วิจัยต้องมีความรอบคอบและระมัดระวังในการฉีดสารละลายรับเข้าไปในท่อของเส้นใยกลวง และการใส่สารละลายที่ได้จากการสกัดภายในท่อลงใน insert vial
5. ผู้วิจัยต้องมีความรอบคอบและระมัดระวังในการผสมระหว่างสารละลายที่มี Pb^{2+} ที่ได้จากการสกัดกับ PAR 0.03 % ในเอทานอลและบัฟเฟอร์ NH_3-NH_4Cl ใน vial ต้องแน่ใจว่าผสมดีแล้ว
6. ผู้วิจัยต้องมีความรอบคอบและระมัดระวังในการล้างเข็ม syringe ที่ใช้ในการฉีดเข้าเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ซึ่งต้องล้างให้สะอาดทุกครั้งก่อนและหลังการใช้งาน
7. ผู้วิจัยต้องมีความรอบคอบและระมัดระวังในการล้าง flow cell เนื่องจากต้องล้างให้สะอาดเพื่อไม่ให้มีสารตกค้างภายใน

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Bautista-Flores, A. N.; San Miguel, E. R.; Gyves, J.; Jönsson, J. A. Optimization, evaluation, and characterization of a hollow fiber supported liquid membrane for sampling and speciation of lead(II) from aqueous solutions. *J. Membr Sci.* **2010**, *363*, 180-187.
2. Vic̃kac̃kaite , V.; Padarauskas, A. Ionic liquids in microextraction techniques. *Cent. Eur. J. Chem.* **2012**, *10*, 652–674.
3. Pedersen-Bjergaard, S.; Rasmussen, K. E. Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction. *J. Chromatogr. A.* **2008**, *1184*, 132–142.
4. Lee, J.; Lee, H. K.; Rasmussen, K. E.; Pedersen-Bjergaard, S. Environmental and bioanalytical applications of hollow fiber membrane liquid-phase microextraction: a review. *Anal. Chim. Acta.* **2008**, *624*, 253–268.
5. Kleszczewska, E. The Spectrophotometry Determination of Chelate Complex: L-Ascorbic Acid with Cuprum (II) and Mercury (II) in Alkaline Solution. *POL. J. Environ. Stud.* **1999**, *8*, 313-318.
6. Mottram, L. F.; Forbes, S.; Ackley, B. D.; Peterson, B. R. Hydrophobic analogues of rhodamine B and rhodamine 101 : potent fluorescent probes of mitochondria in living *C. elegans*. *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 2156-2165.
7. Bhat, M. A.; Mukhtar, F.; Chisti, H.; Shah, S. A. Removal of heavy metal ions from waste water by using oxalic acid : an alternative method. *Int. J. Sci. Technol. Educ. Res.* **2014**, *3*, 61-64.
8. Ramadan, A. A.; Mandil, H.; Kamel, A. A. Spectrophotometric Determination of Copper(II) with 4-(2-Pyridylazo)-resorcinol Disodium in Pharmaceuticals. *Asian J. Chem.* **2009**, *21*, 7367-7374.

9. Kongtip, P.; Borisut, P.; Yoosook, W.; Osiri, P.; Rojanavipart, P. Development of an airborne lead analysis kit and its application. *Se. Asian J. Trop. Med.* **2010**, *41*, 1500-1511.
10. Jeannot, M. A.; Cantwell, F. F. Solvent microextraction into a single drop. *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 2236-2340.
11. Zeinei Jahromi, E.; Bidari, A.; Assadi, Y.; Milani Hosseini, M. R.; Jamali, M. R. Dispersive liquid-liquid microextraction. *Anal. Chim. Acta.* **2007**, 305.
12. Ghambarian, M.; Yamini, Y.; Esrafil, A.; Developments in hollow fiber based liquid-phase microextraction : principles and applications. *Microchim. Acta.* **2012**, *177*, 271-294.
13. Rodríguez, J. A.; Aguilar-Arteaga, K.; Díez, C.; Barrado, E. Recent Advances in the Extraction of Triazines from Water Samples. **2013**
14. Peter, A.; Paula, J. Optical Spectroscopy and Photobiology. *Phys. Chem. for Life Sci.* **2006**, *2*, 463-513.



มหาวิทยาลัยราชภัฏ
สกลนคร
วิทยาเขตบ้านม่วง
วิทยาเขตบ้านม่วง

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวณิชานันท์ ตวงทอง เกิดเมื่อวันที่ 15 ตุลาคม พ.ศ. 2536 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมปลาย สายวิทย์-คณิต จากโรงเรียนสามเสนวิทยาลัย จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2554 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2554 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ คือ 18/106 คอนโดเดอะคอมพลีท ถนนราชปรารภ เขตราชเทวี แขวงพญาไท จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10400

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย