โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การสกัดระดับจุลภาคแบบกระจายสำหรับการตรวจวัดตะกั่วและดีบุกในอาหารกระป๋องประเภทน้ำ

Dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of Pb^{2+} and Sn^{2+} in aqueous based canned foods

ชื่อนิสิต นางสาวทิพย์สุดา ทับโพธิ์

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสกัดระดับจุลภาคแบบกระจายสำหรับการตรวจวัดตะกั่วและดีบุก ในอาหารกระป๋องประเภทน้ำ

Dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of Pb^{2+} and Sn^{2+} in aqueous based canned foods

โดย

นางสาวทิพย์สุดา ทับโพธิ์

รายงานนี้เป็นสวนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

โครงการ การสกัดระดับจุลภาคแบบกระจายสำหรับการตรวจวัดตะกั่วและดีบุก ในอาหารกระป๋องประเภทน้ำ

โดย นางสาวทิพย์สุดา ทับโพธิ์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธรรมนูญ หนูจักร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ม.ล. ศิริพัสตร์ ไชยันต์)

..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. วิทยา เรืองพรวิสุทธิ์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

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

วันที่ ..... เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ☑ ดีมาก ☐ ดี ☐ พอใช้

ชื่อโครงการ การสกัดระดับจุลภาคแบบกระจายสำหรับการตรวจวัดตะกั่วและดีบุกในอาหารกระป๋องประเภทน้ำ

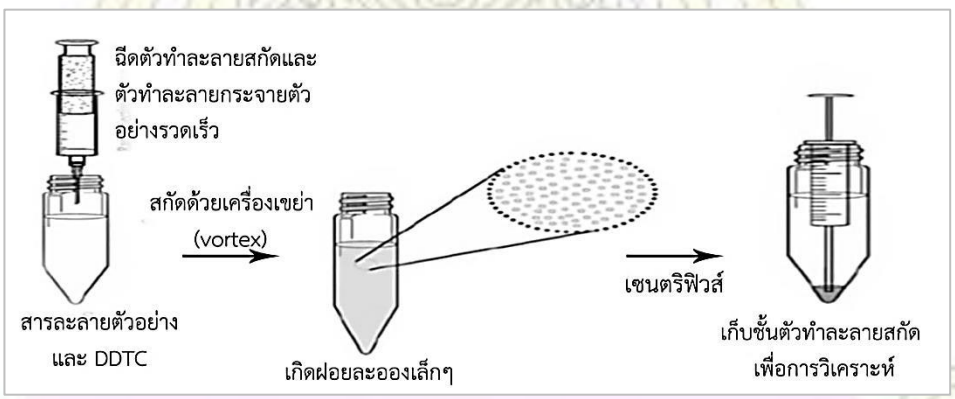
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวทิพย์สุดา ทับโพธิ์ เลขประจำตัว 5633078423

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ม.ล. ศิริพัสตร์ ไชยันต์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

การแปรรูปอาหารและถนอมอาหารอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนในอาหารขึ้นได้ งานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาวิธีสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (DLLME) สำหรับการตรวจวัดด้วยเทคนิค inductively coupled plasma - optical emission spectrometer (ICP-OES) ในอาหารกระป๋องประเภทน้ำ ซึ่ง Codex Committee Food Additives and Contaminants (CCFAC) และองค์การอนามัยโลกได้กำหนดปริมาณการปนเปื้อนขั้นต่ำของตะกั่วและดีบุกในอาหารกระป๋องไว้ที่ 1 และ 250 ppm ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกพร้อมกันด้วยเทคนิค DLLME โดยใช้โซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต 8.0 % (w/w) เป็นคีเลต ตัวทำละลายสกัด คือ คลอโรฟอร์ม 500 µL และตัวทำละลายกระจายตัว คือ เมทานอล 800 µL เวลาในการเซนตริฟิวส์ 3 นาที สกัดที่ 45 ˚C สามารถเพิ่มความเข้มข้นสำหรับตะกั่วและดีบุกได้ 43.3 และ 4.05 เท่า ตามลำดับ



เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย

คำสำคัญ: เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย, ICP-OES, ตะกั่ว, ดีบุก, DDTC

Project Title Dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of Pb^{2+} and Sn^{2+} in aqueous based canned foods

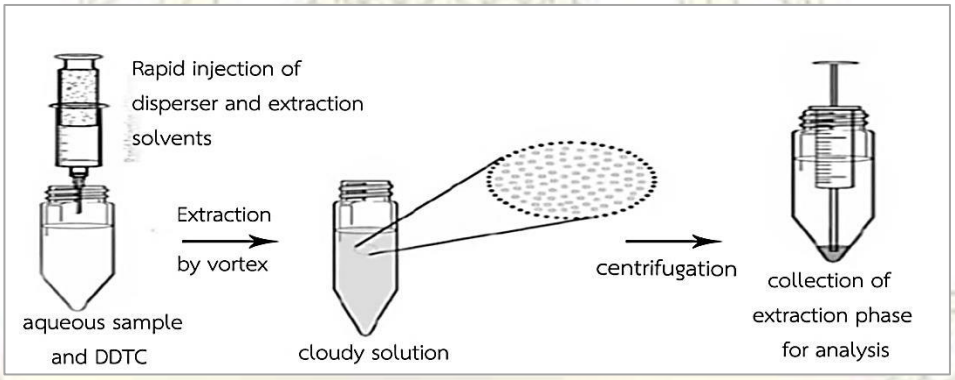
Student Name Miss Tipsuda Tubpo Student ID 5633078423

Advisor Name Assistant Professor M.L. Siripastr Jayanta

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

Food processing and preservation can cause unintended contamination in food. This project developed a dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) method for simultaneous extraction of Pb^{2+} and Sn^{2+} for the detection by inductively coupled plasma – optical emission spectroscopy (ICP-OES) in aqueous based canned foods. The Codex Committee Food Additives and Contaminants (CCFAC) and World Health Organization (WHO) set maximum concentration limits for Pb^{2+} and Sn^{2+} at 1 and 250 ppm, respectively. Simultaneous extraction conditions are: 8.0 % (w/w) sodium diethyldithiocarbamate (DDTC) as a chelating agent, 500 µL of chloroform as extraction solvent, 800 µL of methanol as disperser solvent, 3 minutes of centrifuge and 45°C of extraction temperature. The optimized method provides 43.3 and 4.05 folds enrichment for Pb^{2+} and Sn^{2+}, respectively.



Dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME

Keywords: DLLME, ICP-OES, Pb^{2+}, Sn^{2+}, DDTC

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความอนุเคราะห์และความช่วยเหลือเป็นอย่างดีของ ผู้ช่วยศาสตร์จารย์ ม.ล. ศิริพัสตร์ ไชยันต์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์เป็นอย่างสูง สำหรับคำแนะนำต่างๆ ความช่วยเหลือในด้านความสะดวกสบายของเครื่องมือและอุปกรณ์ที่จำเป็นในการวิจัย อีกทั้งสละเวลาช่วยเหลือในการทำรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ธรรมนูญ หนูจักร และ ศาสตราจารย์ ดร. วิทยา เรืองพรวิสุทธิ์ ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบและสละเวลาในการตรวจแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้และสนับสนุนสารเคมี ได้แก่ เลดไนเตรทและทินคลอไรด์ ขอขอบคุณคณาจารย์ในภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัยสามารถนำความรู้มาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เปิดโอกาสและอนุมัติเงินสนับสนุนในการทำงานวิจัยโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ขอขอบคุณบริษัท ซายน์สเปค จำกัด ในการให้บริการเครื่องมือ inductively coupled plasma – optical emission spectroscopy (ICP-OES) ในการวิจัยครั้งนี้ โดยความดูแลของ รองศาสตราจารย์ ดร. ณรงค์ ประไพรักษ์สิทธิ์ และขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อภิชาติ อิ่มยิ้ม ที่มีความอนุเคราะห์ให้ใช้เครื่อง ICP-OES อีก 1 เครื่อง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูปภาพ	ฌ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
1.3 วัตถุประสงค์	3
1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	3
1.4.1 การสกัด	3
1.4.1.1 การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว	3
1.4.1.2 เทคนิค DLLME	4
1.4.1.2.1 สภาวะของการสกัด	5
1.4.1.2.2 ค่าที่เกี่ยวข้องกับการสกัด	7
1.4.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES	7
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	9
บทที่ 2 การทดลอง	10
2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์	10
2.2 รายการสารเคมี	11
2.3 วิธีการทดลอง	11
2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วและดีบุก	11
2.3.2 เตรียมสารละลายโซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (DDTC)	12
2.3.3 การเตรียมสารละลายกรดไนตริก (HNO_3)	12
2.3.4 การสร้างกราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่วและดีบุก	12
2.3.5 การสกัดด้วยเทคนิค DLLME	13

2.3.5.1 ขั้นตอนการสกัดด้วยเทคนิค DLLME 13
2.3.5.2 หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดด้วยเทคนิค DLLME 13
2.3.6 การวิเคราะห์ด้วย ICP-OES 15
2.3.7 การคำนวณความเข้มข้นของตะกั่วและดีบุก %RSD และ %recovery 15
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 16
3.1 กราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่วและดีบุก 16
3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดตะกั่วและดีบุก 16
3.2.1 ปริมาณโซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (DDTC) ที่เหมาะสม 17
3.2.2 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว 18
3.2.3 อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว 19
3.2.4 เวลาในการเซนตริฟิวส์ 20
3.2.5 อุณหภูมิในการสกัด 21
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 22
เอกสารอ้างอิง 23
ภาคผนวก 24
ประวัติผู้วิจัย 35

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1.1 คุณสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายสกัด 5
1.2 คุณสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายกระจายตัว 6
2.1 ปริมาตรตะกั่วและดีบุกในการทำกราฟเทียบมาตรฐาน 12
2.2 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว 14
2.3 อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว 14
2.4 สภาวะของการวิเคราะห์ตะกั่วและดีบุกด้วยเครื่อง ICP-OES 15
4.1 พารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกพร้อมกันด้วยเทคนิค DLLME ในน้ำ 22

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
1.1 สารประกอบเชิงซ้อนของ DDTC กับตะกั่วและดีบุก	2
1.2 เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว	4
1.3 เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย	4
1.4 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES	8
1.5 เส้นแรงแม่เหล็กที่ขนานตามยาวของท่อควอตซ์	8
1.6 ภาพรวมของ ICP-torch	9
3.1 ปริมาณ DDTC ที่เหมาะสมต่อการสกัดตะกั่วและดีบุก	17
3.2 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุก	18
3.3 อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุก	19
3.4 เวลาในการเซนตริฟิวส์ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุก	20
3.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุก	21

สัญลักษณ์และคำย่อ

DLLME	การสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (Dispersive liquid-liquid microextraction)
ICP-OES	inductively couple plasma - optical emission spectrometer
µL	ไมโครลิตร
ppm	ส่วนในล้านส่วน
g/cm^3	กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
% (w/w)	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
% (v/v)	เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร
L/min	ลิตรต่อนาที
rpm	รอบต่อนาที
EF	ค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor)

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

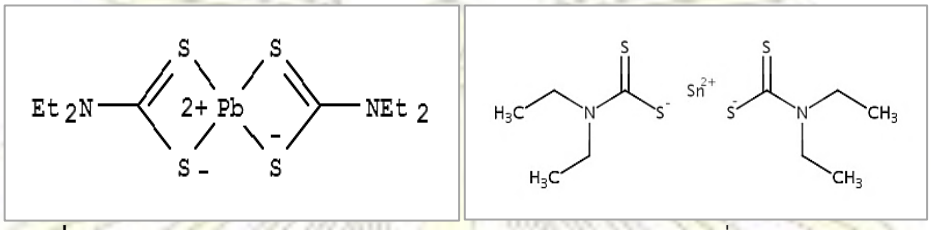
การแปรรูปอาหารมีจุดประสงค์เพื่อถนอมอาหารให้เก็บได้นานยิ่งขึ้น และเพื่อเพิ่มรสชาติของอาหารให้น่ารับประทานโดยจัดเก็บไว้ในบรรจุภัณฑ์หลากชนิด เช่น กระป๋อง ปี๊บ ขวด พลาสติก เป็นต้น บรรจุภัณฑ์อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนในอาหารได้ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธีการวิเคราะห์ตะกั่วและดีบุกในอาหารกระป๋องประเภทน้ำ โดยอาหารกระป๋องที่สนใจในงานวิจัยนี้ คือ หน่อไม้ปี๊บ วิธีการสกัดเลือกใช้การสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย ที่ใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าการสกัดแบบเดิมๆ เช่น การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว และมีประสิทธิภาพการสกัดสูง

การปนเปื้อนของตะกั่วและดีบุกในอาหารกระป๋องเกิดจากตัวกระป๋องเคลือบดีบุก พิษของดีบุกที่ปนเปื้อนในอาหารอาจก่อให้เกิดความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร เช่น อาการลำไส้เคลื่อนตัวมากขึ้น ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง หรืออาจเกิดอาการตาพร่ามัวได้ เพื่อป้องกันอันตรายจากการปนเปื้อนของดีบุกในอาหารกระป๋อง Codex Committee Food Additives and Contaminants (CCFAC) และองค์การอนามัยโลก ได้กำหนดระดับการปนเปื้อนขั้นต่ำไว้ที่ 250 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม หรือส่วนในล้านส่วน (ppm)[1] ส่วนการปนเปื้อนของตะกั่วมักเกิดจากภาชนะที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ตะกั่วเป็นโลหะหนักที่มีพิษสูง ผลกระทบของตะกั่วต่อร่างกายมีทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง กล่าวคือ เมื่อได้รับตะกั่วเข้าสู่ร่างกายอาจทำให้เกิดอาการปวดท้อง น้ำหนักลด เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ประสาทหลอน ซึม ไม่รู้สึกตัว ชัก มือและเท้าตกเป็นอัมพาต สลบ และอาจเสียชีวิตได้ โดยตะกั่วถูกกำหนดปริมาณให้มีในอาหารได้ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม หรือส่วนในล้านส่วน (ppm)[1]

1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (liquid-liquid extraction, LLE)[2] เป็นเทคนิคการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์สกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์จากตัวอย่าง ข้อเสียของวิธีการนี้ คือ มีหลายขั้นตอน ใช้ตัวทำละลายปริมาณมาก ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และมีค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียสูง งานวิจัยนี้จึงเลือกเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextracton, DLLME)[2] ซึ่งมีข้อดีคือ ใช้ตัวทำละลายระดับไมโครลิตร มีประสิทธิภาพการสกัด (%recovery) และค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) สูง ขั้นตอนและวิธีการสกัด สะดวก รวดเร็ว และมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่ำกว่าเทคนิค LLE เนื่องจากใช้ตัวทำละลายสกัดระดับไมโครลิตรและค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียต่ำ

เนื่องจากเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย โดยทั่วไปใช้ตัวทำละลายสกัดประเภทมีขั้วน้อยซึ่งไม่เหมาะสมในการสกัดไอออนตะกั่วและดีบุก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องปรับวิธีการสกัดโดยใช้คีเลต ที่จับตะกั่วและดีบุกให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายสกัดก่อน คีเลตที่เลือกใช้ในงานวิจัยนี้ คือ โซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (sodium diethyldithiocarbamate, DDTC) ซึ่งสามารถจับกับตะกั่วและดีบุกเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 แสดงการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ DDTC กับ ตะกั่ว (ภาพซ้าย) และ DDTC กับดีบุก (ภาพขวา)

ปี 2015 Seeger[3] และคณะวิเคราะห์ทองแดงและเหล็กในไวน์แดงและไวน์ขาว โดยใช้ DDTC เป็นคีเลต ตัวทำละลายสกัด คือ 1,2-ไดคลอโรเบนซีน ตัวทำละลายกระจายตัว คือ เมทานอล วิเคราะห์ด้วยเทคนิค flame atomic absorption spectrometry (F-AAS) ได้ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) ของทองแดงและเหล็ก คือ 6.3 และ 2.4 µg/L ตามลำดับ

ปี 2015 Rosa[4] และคณะวิเคราะห์แคดเมียมและตะกั่วในน้ำผึ้ง โดยใช้ DDTC เป็นคีเลต ใช้คาร์บอนเตตระคลอไรด์ เป็นตัวทำละลายสกัดทั้งแคดเมียมและตะกั่ว และใช้อะซิโตไนไตรล์และอะซิโตน เป็นตัวทำละลายกระจายตัวของแคดเมียมและตะกั่ว เมื่อตรวจวัดด้วยเทคนิค inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) พบว่าได้ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) ของแคดเมียมและตะกั่ว คือ 20 และ 140 ng/g ตามลำดับ

ปี 2017 Mandlate[6] และคณะวิเคราะห์แคดเมียมและตะกั่วในน้ำอัดลม โดยใช้ DDTC เป็นคีเลต ใช้คาร์บอนเตตระคลอไรด์ เป็นตัวทำละลายสกัดทั้งแคดเมียมและตะกั่ว อะซิโตไนไตรล์และอะซิโตน เป็นตัวทำละลายกระจายตัวของแคดเมียมและตะกั่ว ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF-AAS) ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) ของแคดเมียมและตะกั่ว คือ 0.006, 0.072 ng/L ตามลำดับ %RSD ของแคดเมียมและตะกั่วต่ำกว่า 10 และ 7 % ตามลำดับ

การค้นคว้าข้อมูลพบว่าสามารถวิเคราะห์ตะกั่วและดีบุกได้ด้วยเทคนิค flame atomic absorption spectroscopy (FAAS)[3] ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้เปลวไฟในการออกซิไดซ์สารที่ต้องการวิเคราะห์ให้กลายเป็นไอออนแล้วตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี โดยต้องทำการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างซ้ำทีละธาตุ และใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน งานวิจัยนี้จึงสนใจเทคนิค inductively coupled plasma -

optical emission spectroscopy (ICP-OES)[5] เนื่องจากสามารถวิเคราะห์ธาตุได้พร้อมๆกันถึง 6 ชนิดต่อครั้ง เทคนิค ICP-OES ใช้พลาสมาที่อุณหภูมิสูงแต่ไม่ก่อให้เกิดการสันดาปหรือการเผาไหม้ และมีความเร็วในการวิเคราะห์สูง จึงมีอันตรายน้อยกว่าเทคนิค FAAS สามารถวิเคราะห์ธาตุได้ 3 ถึง 5 ธาตุต่อนาที เครื่องมือ ICP-OES ประกอบด้วยควอตซ์ที่มีท่อทองแดงกลวงอยู่ที่ภายในบรรจุแก๊สเฉื่อย เช่น แก๊สอาร์กอน ที่ต่อกับเครื่องกำเนิดคลื่นวิทยุทำให้แก๊สอาร์กอนแตกตัวให้อิเล็กตรอน เกิดการเหนี่ยวนำเป็นพลาสมา ICP-OES มีข้อได้เปรียบ คือ ใช้ตัวอย่างน้อย ไม่เกิดการสันดาป ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย

ปี 2017 Biata[7] และคณะวิเคราะห์พลวงและดีบุกในเครื่องดื่มด้วยเทคนิค inductively coupled plasma - optical emission spectroscopy (ICP-OES) โดยสกัดด้วยเทคนิค fast ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid phase microextraction (UA-IL-DLLME) ได้ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) ของแคดเมียมและตะกั่ว คือ 1.2 - 2.5 ng/L ตามลำดับ %RSD ของพลวง คือ
2.1 - 2.5 % และ ดีบุก คือ 3.9 - 4.7 %

ข้อมูลรายงานการวิจัยแสดงให้เห็นว่าเทคนิค ICP-OES มีประสิทธิภาพในการตรวจวัดที่สูงกว่า F-AAS เนื่องจากค่า LOD ที่ได้จากเทคนิค ICP-OES มีค่าต่ำกว่า

1.3 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการสกัดตะกั่วและดีบุกในตัวอย่างอาหารกระป๋องประเภทน้ำด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) และตรวจวัดด้วยเทคนิค inductively coupled plasma - optical emission spectroscopy (ICP-OES)

1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

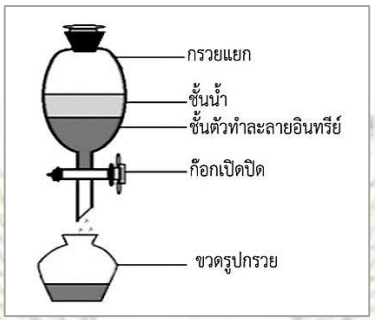
1.4.1 การสกัด

การสกัด คือ การแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากสารตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง โดยงานวิจัยนี้ทำการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว

1.4.1.1 การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (liquid-liquid extraction: LLE)

เทคนิคการสกัดเพื่อแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากสารละลายตัวอย่างโดยใช้กรวยแยกสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์โดยตัวทำละลายอินทรีย์ หลักการสกัดอาศัยการไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันของ 2 ชั้น คือ ชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำ เมื่อเขย่ากรวยแยกชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำเกิดการสัมผัสกันก่อให้สารที่ต้องการวิเคราะห์แพร่จากชั้นน้ำไปยังชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ การเขย่าอาจก่อให้เกิดอิมัลชันที่ลดประสิทธิภาพของการสกัดเนื่องจาก 2 ชั้นแยกกันไม่สมบูรณ์ จึงต้องมีการเติมเกลือหรือทำการเซนตริฟิวส์เพื่อแยกอิมัลชัน

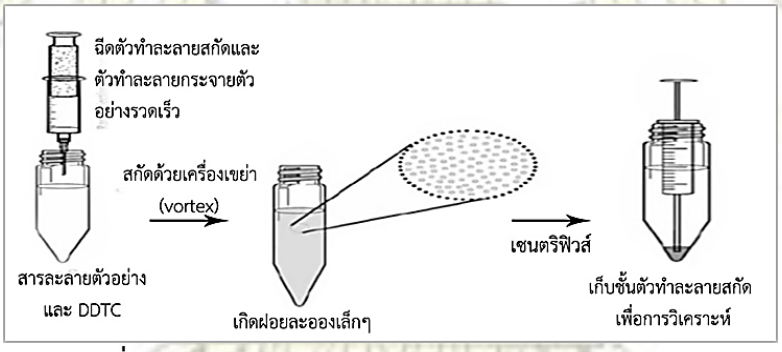
ข้อเสียของเทคนิคนี้ คือ การใช้ตัวทำละลายในปริมาณมาก ทำให้มีค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียสูงและจำเป็นต้องทำการสกัดหลายครั้งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัด



รูปที่ 1.2 แสดงเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว

1.4.1.2 เทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction: DLLME)

การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลวในระดับไมโครลิตรแบบกระจาย ประกอบด้วยของเหลว 3 ชนิด คือ ตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) ตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) และน้ำ โดยผสมตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวในอัตราส่วนที่เหมาะสม จากนั้นฉีดอย่างรวดเร็วไปในชั้นน้ำ (สารละลายตัวอย่าง) ซึ่งตัวทำละลายกระจายตัวจะกระจายในชั้นน้ำและตัวทำละลายสกัด ชั้นน้ำล้อมรอบตัวทำละลายสกัด ทำให้เกิดเป็นฝอยละอองเล็กๆคล้ายการเกิดอิมัลชัน เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำกับตัวทำละลายสกัด ทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์แพร่จากน้ำไปยังตัวทำละลายสกัดได้มากขึ้น หลังจากนั้นจะนำไปเซนตริฟิวส์เพื่อแยกชั้นระหว่างชั้นน้ำและชั้นตัวทำละลายสกัด



รูปที่ 1.3 แสดงเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย

ข้อดีของการสกัดด้วยเทคนิคนี้ คือ ใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อย ให้ค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) สูง ค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียต่ำ

1.4.1.2.1 สภาวะของการสกัด

ก. ตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) ต้องสามารถสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ดีและมีค่าการละลายน้ำต่ำ มักเลือกตัวทำละลายสกัดที่มีค่าความหนาแน่นสูงกว่าน้ำ เพื่อให้ง่ายต่อการแยกน้ำออก เนื่องจากตัวทำละลายสกัดจะอยู่ชั้นล่างหลังเซนตริฟิวส์ ตัวทำละลายสกัดที่นิยม คือสารประกอบไฮโดรคาร์บอนระเหยง่ายที่มีอะตอมของคลอรีนในโมเลกุล (halogenated compound) โดยตัวทำละลายสกัดที่เลือกศึกษาในงานวิจัยนี้ คือ คลอโรฟอร์มและไดคลอโรมีเทน

ตารางที่ 1.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายสกัด (extraction solvent)

ชนิดของตัวทำละลายสกัด (extraction solvent)	**คุณสมบัติทางกายภาพ**			
	จุดเดือด (°C)	**จุดหลอมเหลว (°C)**	**ความหนาแน่น (g/cm^3)**	**ค่าการละลายน้ำ (g/100 mL ที่ 20 °C)**
คลอโรฟอร์ม	61.2	63.5	1.49	5.54
ไดคลอโรมีเทน	40	-96.7	1.32	12

ข. ปริมาณของตัวทำละลายสกัด จะมีผลต่อค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) เนื่องจากสารที่ต้องการวิเคราะห์จะแพร่จากชั้นน้ำ (สารละลายตัวอย่าง) ไปยังตัวทำละลายสกัด เนื่องจากอัตราส่วนปริมาตรของตัวทำละลายสกัดและสารตัวอย่างมีค่าต่ำ ประสิทธิภาพของการสกัดเมื่อพิจารณาจากค่า EF หรืออัตราส่วนของความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวทำละลายสกัดต่อความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในสารละลายตัวอย่างจึงสูงด้วย วิธีวิเคราะห์นี้จึงเหมาะกับการวิเคราะห์สารที่มีความเข้มข้นต่ำ (trace analysis)

ค. ตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) จะต้องละลายทั้งในน้ำและตัวทำละลายสกัดได้ดีเพื่อก่อให้เกิดการแตกตัวเป็นฝอยละอองเล็กๆ (cloudy solution) ในการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำกับตัวทำละลายสกัด ทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์แพร่จากน้ำไปยังตัวทำละลายสกัดดีขึ้น ตัวทำละลายกระจายตัวที่เลือกศึกษางานวิจัยนี้ คือ อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และอะซิโตไนไตรล์

ตารางที่ 1.2 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent)

ชนิดของตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent)	คุณสมบัติทางกายภาพ			
	จุดเดือด (°C)	จุดหลอมเหลว (°C)	ความหนาแน่น (g/cm^3)	ค่าการละลายน้ำ (g/100 mL ที่ 20 °C)
อะซิโตน	-94.9	56.53	0.79	ผสมเข้ากันได้
อะซิโตไนไตรล์	81.3	-46	0.786	ผสมเข้ากันได้
เอทานอล	78.24	-114.14	0.789	ผสมเข้ากันได้
เมทานอล	64.7	-97	0.7918	ผสมเข้ากันได้

ง. ปริมาณของตัวทำละลายกระจายตัว มีผลต่อการเกิดเป็นหยดละอองเล็กๆ (fine droplets) และการกระจายตัวในชั้นน้ำ ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดโดยจะพิจารณาจากค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) และประสิทธิภาพของการสกัด

จ. เวลาในการเซนตริฟิวส์ มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัด เนื่องจากมีผลต่อการแยกชั้นของตัวทำละลายสกัดและชั้นน้ำ ทำให้การแพร่ของสารที่ต้องการวิเคราะห์จากชั้นน้ำไปยังชั้นตัวทำละลายสกัดสมบูรณ์

ช. อุณหภูมิในการสกัด

อุณหภูมิมีผลต่อค่าคงที่การแพร่ (diffusion constant, D) โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้การแพร่ของสารที่ต้องการวิเคราะห์จากชั้นน้ำไปยังชั้นตัวทำละลายสกัดสูงขึ้น จากสมการ Stokes–Einstein ดังนี้

$$D = \frac{RT}{6\Pi\eta r} \qquad (1.1)$$

โดย D คือ ค่าคงที่ของการแพร่

R คือ ค่าคงที่ของแก๊ส

T คือ อุณหภูมิ (เคลวิน, K)

η คือ ความหนืดพลวัตร (นิวตัน·วินาทีต่อตารางเมตร, $N \cdot s/m^2$)

r คือ รัศมีของอนุภาคของเหลว (เมตร, m)

1.4.1.2.2 ค่าที่เกี่ยวข้องกับการสกัด

ค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) คือ อัตราส่วนของความเข้มข้นของสารที่สกัดออกมาได้ในตัวทำละลายสกัดต่อความเข้มข้นของสารในสารละลายตัวอย่าง

$$EF = \frac{C_{sed}}{C_{sample}} \quad (1.2)$$

C_{sed} คือ ความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวทำละลายสกัด

C_{sample} คือ ความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในสารละลายตัวอย่าง

ประสิทธิภาพของการสกัด (%Recovery)

$$\%R = \frac{V_{sed}}{V_{sample}} \times EF \times 100 \quad (1.3)$$

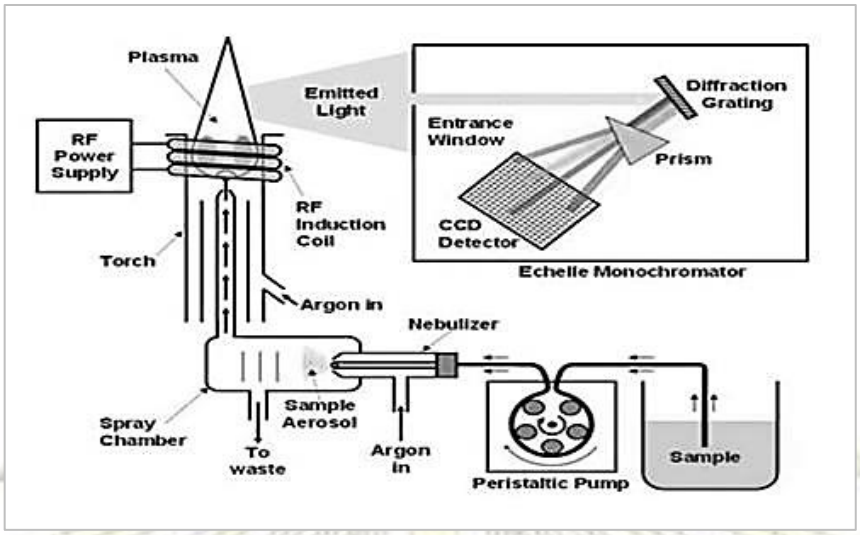
V_{sed} คือ ปริมาตรของตัวทำละลายที่สกัดออกมาได้

V_{sample} คือ ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง

1.4.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค inductively coupled plasma - optical emission spectroscopy (ICP-OES)

เป็นเทคนิคที่นำสารละลายตัวอย่างไปยังเครื่องมือโดยทำให้เป็นฝอยเล็กๆ (nebulizer) โดยอุปกรณ์ที่ทำให้ความชื้นในรูปฝอยละออง เกิดเป็นละอองลอยและมีแรงอัลตราโซนิกส์ ช่วยสลายของเหลวเป็นละอองลอยโดยการสั่นส่งไปยังพลาสมา ซึ่งมีสมบัติคล้ายเปลวไฟ มีอุณหภูมิสูงถึง 10000 ºC แต่ไม่เกิดการเผาไหม้ ทำให้เกิดฝอยละอองซ้ำๆ กลายเป็นไอ เกิดละออง เกิดไอออน และกระตุ้นอะตอมของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์จะอยู่ในสภาวะกระตุ้น และมีไอออนถูกปล่อยออกมา โดยวัดความเข้มของอิเล็กตรอนของเส้นส่งออกที่ความยาวคลื่นต่างๆ โดยความเข้มของอิเล็กตรอนจะแปรผันกับสัญญาณอิเล็กทรอนิกส์ตามความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์

ระบบสเปรย์น้ำ (spray chamber) ต่อระหว่างพลาสมา (plasma) และ torch มีหน้าที่แยกหยดขนาดใหญ่จากละอองลอย และทำให้การเกิดละอองเล็กๆระหว่างการปั๊มสารละลาย

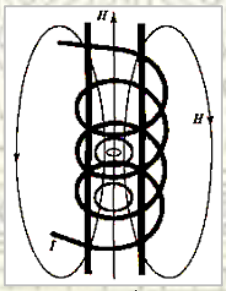


รูปที่ 1.4 แสดงการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค inductivetive coupled pasma - optical emission spectroscopy (ICP-OES)

ICP ประกอบด้วยท่อควอตซ์ มีท่อทองแดงกลวงตัวนำไฟฟ้าขดรอบ ภายในท่อควอตซ์มีแก๊สเฉื่อย เช่น อาร์กอนไหลผ่านขดท่อทองแดงต่อกับเครื่องกำเนิดในความถี่วิทยุ (radio frequency generator, RF generator) ความถี่ที่ใช้อยู่ระหว่าง 4-50 MHz โดยส่วนใหญ่ใช้ 27 MHz เมื่อมีการให้ประกายไฟฟ้าเพื่อทำให้แก๊สอาร์กอนแตกตัวให้ e^-

$$Ar \rightarrow Ar^+ + e^- \qquad (1.4)$$

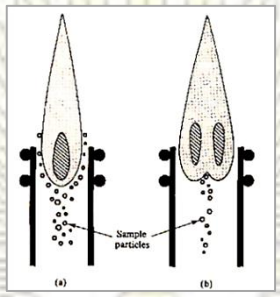
e^- จะถูกเหนี่ยวนำและเกิดเป็นพลาสมา



รูปที่ 1.5 แสดงเส้นแรงแม่เหล็กที่ขนานตามยาวของท่อควอตซ์

การที่ท่อทองแดงต่อกับเครื่องกำเนิดความถี่วิทยุจะก่อให้เกิดสนามแม่เหล็กภายในท่อควอตซ์ ดังรูปที่ 1.5 โดยมีเส้นแรงแม่เหล็กขนานไปตามด้านยาวของท่อควอตซ์ และในขณะเดียวกัน เกิดสนามไฟฟ้าที่มีเส้นแรงเป็นวงกลมภายในท่อควอตซ์ อิเล็กตรอนที่เกิดจากการแตกตัวของแก๊สอาร์กอนปริมาณเล็กน้อย จะถูกเร่งให้มีพลังงานสูงและเคลื่อนที่เร็วขึ้นด้วยสนามแม่เหล็ก-ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นภายในท่อควอตซ์ เมื่ออิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงนี้ชนกับอะตอมอื่นของแก๊สอาร์กอนจะถ่ายเทพลังงาน ทำให้แก๊สเกิดการไอออไนซ์เพิ่มในขณะเดียวกันการ

เคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน ที่มีประจุเป็นวงกลมสูงขึ้นตามท่อควอตซ์จะถูกต้านทานจากสนามแม่เหล็ก ลักษณะเช่นนี้จะทำให้ความร้อนที่เกิดจากการต้านทานไฟฟ้าที่ให้ความร้อนสูงมาก



รูปที่ 1.6 แสดงภาพรวมของ ICP torch

รูปนี้แสดงให้เห็นภาพรวมทั้งหมดของ ICP torch สารละลายตัวอย่างจะถูกนำเข้ามาด้วยแรงผลักดันของแก๊สอาร์กอน ทางท่อตรงกลาง (อัตราของแก๊สอาร์กอนประมาณ 1 ลิตรต่อนาที) เข้าสู่ตรงกลางของพลาสมา ในขณะเดียวกันจะมีแก๊สอาร์กอน ที่มีอัตราการไหลสูงประมาณ 10 ลิตรต่อนาที เข้ามาหล่อทางท่อรอบนอกเพื่อทำให้พลาสมา นิ่ง มีรูปร่างคงที่ และแยกพลาสมาจากสิ่งแวดล้อม

ตัวตรวจวัด (detector) เป็นตัววัดความเข้มของอิเล็กตรอนของเส้นส่งออก ซึ่งมีความสัมพันธ์กับช่วงความยาวคลื่นและความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์

ท่อระบายน้ำ คือ ตัวพาสารละลายตัวอย่างจากระบบสเปรย์น้ำไปยังที่ขวดของเสีย (waste)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 มีความรู้และเข้าใจเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) ในการสกัดตะกั่วและดีบุกออกจากสารละลายตัวอย่าง

1.5.2 สามารถวิเคราะห์ตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิค inductively coupled plasma - optical emission spectroscopy (ICP-OES)

1.5.3 ฝึกทักษะ กระบวนการคิด และสามารถแก้ไขปัญหาได้อย่างเป็นระบบ

บทที่ 2
การทดลอง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 เครื่องมือ

2.1.1.1 inductively couple plasma - optical emission spectrometer, ICP-OES (Thermo scientific, iCAP 6000 Series, USA)

2.1.1.2 เครื่องเขย่า (Vortex genie 2, Scientific Industries, USA)

2.1.1.3 เครื่องเซนตริฟิวส์ (รุ่น UNIVERSAL 320R, Hettich, Germany)

2.1.1.4 เครื่องชั่งดิจิตอล (Mettler Toledo, Thailand)

2.1.1.5 อ่างน้ำร้อน (Memmert, Schwabach, Germany)

2.1.1.6 water bath (Schott, Instrument GmbH, Germany)

2.1.2 อุปกรณ์

2.1.2.1 ไมโครปิเปตต์

2.1.2.2 กระบอกฉีดยา ขนาด 3, 10 mL

2.1.2.3 บีกเกอร์ ขนาด 50, 100 mL

2.1.2.4 หลอดเซนตริฟิวส์ ขนาด 15 mL

2.1.2.5 กระดาษ pH

2.1.2.6 พาราฟิล์ม

2.1.2.7 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10, 100, 1000 mL

2.1.2.8 กระบอกตวง ขนาด 10, 25, 50 mL

2.1.2.9 ถุงมือ

2.1.2.10 ขวดแก้วฝาเกลียว ขนาด 100, 1000 mL

2.1.2.11 หลอดหยด

2.1.2.12 เทอร์โมมิเตอร์

2.1.2.13 ขวดฉีดน้ำกลั่น

2.1.2.14 syringe filter, ชนิด PTFE ขนาด 0.45 µm

2.2 สารเคมี

2.2.1 อะซิโตน (99.8%, ACS, Merck, Germany)

2.2.2 อะซิโตไนไตรล์ (99.7%, ACS, Merck, Germany)

2.2.3 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (28–30%, ACS, J.T.Baker, USA)

2.2.4 คลอโรฟอร์ม (99.0%, PCB analysis, Cica, Japan)

2.2.5 ไดคลอโรมีเทน (99.8%, A.R., Lab-scan, Thailand)

2.2.6 เอทานอล (99.9%, ACS, Merck, Germany)

2.2.7 เลดไนเตรท (1000 ppm, ACS, Metrohm, Switzerland)

2.2.8 เมทานอล (99.9%, ACS, Merck, Germany)

2.2.9 กรดไนตริก (65%, ACS, Merck, Germany)

2.2.10 โซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (99%, Pro analysis, Merck, Darmstadt)

2.2.11 ทินคลอไรด์ (1000 ppm, ACS, Carlo ErBa, Rodano)

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วและดีบุก

2.3.1.1 การเตรียมสารละลายตะกั่ว (Pb^{2+} solution) ความเข้มข้น 1 ppm

ปิเปตสารละลายเลดไนเตรท $Pb(NO_3)_2$ ความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 1 mL ลงในขวดวัดปริมาตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q จนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000.00 mL

2.3.1.2 สารละลายดีบุก (Sn^{2+} solution) ความเข้มข้น 1000 ppm

ทินคลอไรด์ ($SnCl_2 \cdot 2H_2O$) มวลโมเลกุล 225.63 g/mol

Sn มวลโมเลกุล 118.710 g/mol

การเตรียมสารละลายดีบุก 1000 ppm

ปริมาตรสารละลาย 1000 mL มีดีบุก 1000 mg (1.000 g)

Sn 118.710 g ใน $SnCl_2 \cdot H_2O$		225.63	g
Sn 1.000 g ใน $SnCl_2 \cdot H_2O$	$\frac{1.000 \times 225.63}{118.710}$ =	1.9007	g
ดังนั้น ต้องชั่งทินคลอไรด์มา		1.9007	g

ชั่งทินคลอไรด์ 1.9007 g ละลายด้วยกรดไนตริก (nitric acid, HNO_3) ความเข้มข้น 5 % (v/v) แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q จนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000.00 mL

2.3.1.3 สารละลายดีบุกความเข้มข้น 50 ppm

ปิเปตสารละลายมาตรฐานดีบุกความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 50 mL ลงในขวดวัดปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q จนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000.00 mL

2.3.2 เตรียมสารละลายโซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (sodium diethyldithiocarbamate, DDTC) ความเข้มข้น 10.0 % (w/w)

2.3.2.1. การเตรียมสารละลาย DDTC ความเข้มข้น 10.0 % (w/w)

ชั่ง DDTC หนัก 1.000 g ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q จนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100.00 mL

2.3.3 การเตรียมสารละลายกรดไนตริก (nitric acid, HNO_3) ความเข้มข้น 5 % (v/v)

ปิเปตกรดไนตริก ปริมาตร 76.92 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q จนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000.00 mL

2.3.4 การสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน (calibration curve) ของตะกั่วและดีบุก เพื่อใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาตรของตะกั่วและดีบุก ความเข้มข้น 1000 ppm ที่ใช้สร้างกราฟเทียบมาตรฐานแต่ละจุด

จุดที่	ความเข้มข้น (ppm)		ปริมาตร 1000 ppm ที่ปิเปตมา (µL)	
	$[Pb^{2+}]$	$[Sn^{2+}]$	Pb^{2+}	Sn^{2+}
1	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.25	1.00	25.00	100.00
3	0.50	5.00	50.00	500.00
4	1.00	10.00	100.00	1000.00
5	1.25	50.00	125.00	5000.00
6	1.50	75.00	150.00	7500.00
7	2.00	100.00	200.00	10000.00

ปิเปตตะกั่วและดีบุกความเข้มข้น 1000 ppm มาปริมาตรตามตารางที่ 2.1 แล้วปรับปริมาตรเป็น 10.00 mL ให้ได้ความเข้มข้นของตะกั่ว 0.25, 0.50, 1.00 และ 1.50 ppm และความเข้มข้นของดีบุก 1.00, 5.00, 10.00, 50.00, 75.00 และ 100.00 ppm เพื่อสร้างกราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่วและดีบุกระหว่างค่า intensity กับ ความเข้มข้น

2.3.5 การสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

2.3.5.1 ขั้นตอนการสกัดด้วยเทคนิค DLLME

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานตะกั่วและดีบุก ปริมาตร 10.00 mL ลงในหลอดเซนตริฟิวส์ ขนาด 15 mL
2. เติม DDTC ปริมาตร 1.00 mL
3. เขย่าด้วยเครื่องเขย่า (vortex) เป็นเวลา 30 วินาที
4. อุ่นด้วยอุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นเวลา 10 นาที
5. ผสมตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) และตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) ในหลอดฉีดยาขนาด 3 mL
6. ฉีดตัวทำละลายผสมอย่างรวดเร็วลงในสารละลายตัวอย่างข้างต้น
7. เขย่าด้วยเครื่องเขย่า (vortex) เป็นเวลา 30 วินาที
8. นำไปเซนตริฟิวส์ที่ 4600 rpm
9. แยกเอาชั้นน้ำออกจากตัวทำละลายสกัด ล้างชั้นตัวทำละลายสกัดด้วยน้ำ MIlli-Q ปริมาตร 5 mL 1 ครั้ง นำไปเซนตริฟิวส์แล้วทิ้งน้ำที่ล้าง
10. ระเหยตัวทำละลายสกัดในอ่างน้ำร้อนที่ 65 ˚C
11. เจือจางสารละลายในข้อ 10 ด้วยสารละลายกรดไนตริก 5 %(v/v) จนมีปริมาตร 10.00 mL
12. กรองสารละลายตัวอย่างด้วย PTFE membrane ก่อนนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง ICP-OES

2.3.5.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

2.3.5.2.1 หาปริมาณของ DDTC
2.3.5.2.2 หาชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว
2.3.5.2.3 หาอัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว
2.3.5.2.4 หาเวลาในการเซนตริฟิวส์
2.3.5.2.5 หาอุณหภูมิในการสกัด

2.3.5.2.1 หาปริมาณโซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (sodium diethyldithiocarbamate, DDTC) ที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ความเข้มข้นของ DDTC ที่ใช้ศึกษา คือ 6.0, 6.5, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 10.0 % (w/w) ตามลำดับ

2.3.5.2.2 หาชนิดตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) และตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) ที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ตารางที่ 2.2 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ทำการศึกษา

ตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) (500 µL)	**ตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) (1000 µL)**
คลอโรฟอร์ม	อะซิโตน เอทานอล เมทานอล อะซิโตไนไตร์ล
ไดคลอโรมีเทน	อะซิโตน เอทานอล เมทานอล อะซิโตไนไตร์ล

2.3.5.2.3 หาอัตราส่วนตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) และตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) ที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ตารางที่ 2.3 อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ทำการศึกษา

ตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) (µL)	**ตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) (µL)**
200	300, 500, 700, 800, 1000
500	300, 500, 700, 800, 1000

2.3.5.2.4 หาเวลาในการเซนตริฟิวส์ที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

หาเวลาในการเซนตริฟิวส์ที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 นาที

2.3.5.2.5 หาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ในการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดจะให้ความร้อนแก่สารละลายตัวอย่างที่ผสมกับ DDTC ที่อุณหภูมิห้อง 40 และ 50°C

2.3.6 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค inductively couple plasma - optical emission spectrometer (ICP-OES)

ตารางที่ 2.4 สภาวะของการวิเคราะห์ตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิค ICP-OES

λ_{max} ของตะกั่ว	220.3 nm
λ_{max} ของดีบุก	189.9 nm
Selection method	axial
RF Power	1150 W
Pump Rate	50 rpm
Auxiliary Gas Flow (Ar)	0.5 L/min
Nebulizer Gas Flow (Ar)	0.50 L/min
Coolant Gas Flow (Ar)	12 L/min
Purge Gas Flow (N_2)	Boost

2.3.7. การคำนวณ %RSD และ %recovery ของตะกั่วและดีบุก

2.3.7.1 การคำนวณ %RSD

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\ \% \qquad (2.1)$$

2.3.7.2 การคำนวณ %recovery

$$\%recovery = \frac{\text{ความเข้มข้นที่สกัดออกมาได้}}{\text{ความเข้มข้นที่ใส่ลงไป}} \times 100\ \% \qquad (2.2)$$

บทที่ 3
ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.1 กราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่วและดีบุก

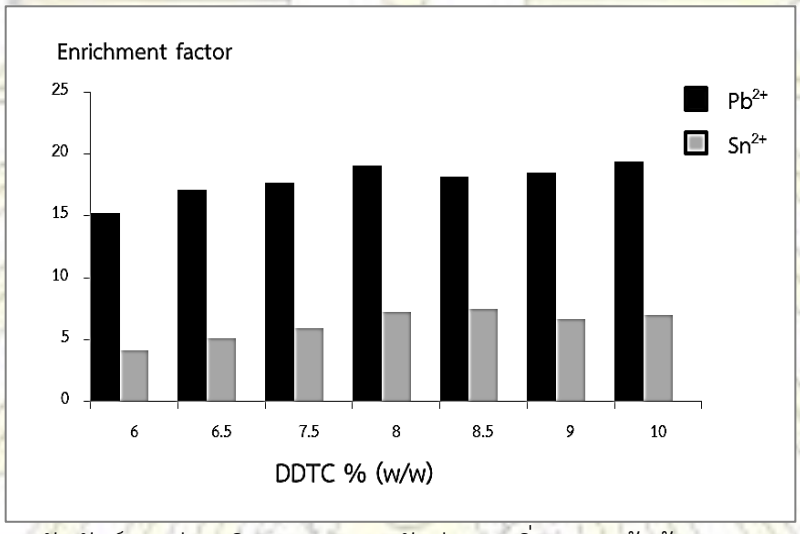
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) ของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานของตะกั่วและดีบุก โดยตะกั่วมีค่ามากกว่า 0.995 ระหว่าง 0 - 2 ppm และดีบุกมีค่ามากกว่า 0.997 ระหว่าง 0 - 100 ppm ด้วยเทคนิค ICP-OES โดยแสดงกราฟเทียบมาตรฐานในภาคผนวกข้อที่ 1

3.2 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

มีการประเมินสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย ดังนี้ ปริมาณของตัวคีเลต (โซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต, DDTC) ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว เวลาในการเซนตริฟิวส์ และอุณหภูมิในการสกัด

3.2.1 ปริมาณโซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (sodium diethyldithiocarbamate, DDTC) ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

โซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (DDTC) คือ คีเลตที่ใช้ในการจับกับตะกั่วและดีบุก เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน เพื่อเพิ่มการละลายของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวทำละลายสกัด ปริมาณ DDTC มีผลต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนและประสิทธิภาพการสกัด



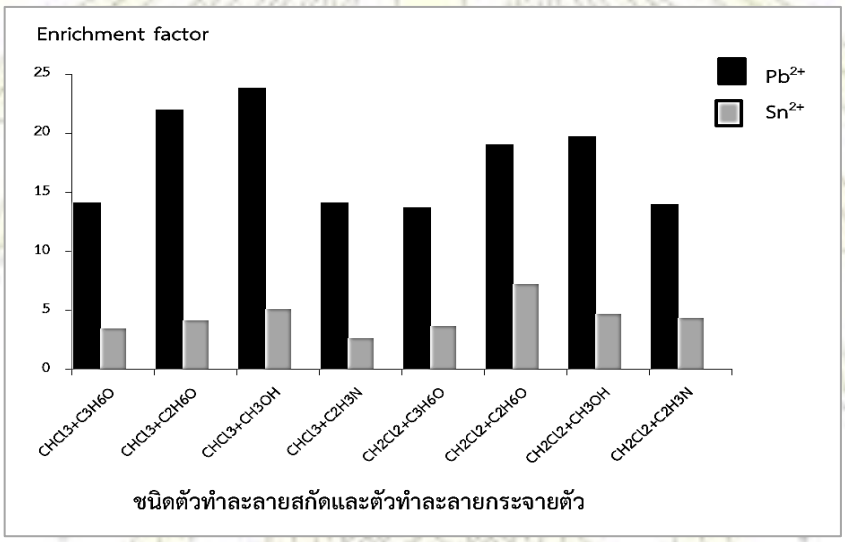
รูปที่ 3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ DDTC กับค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) ของการสกัดตะกั่วและดีบุก โดยเทคนิค DLLME (n=1) สภาวะในการสกัด: สารละลายตัวอย่าง 10.00 mL ที่สภาวะตัวทำละลายสกัด (ไดคลอโรมีเทน) 500 µL ตัวทำละลายกระจายตัว (เอทานอล) 1000 µL เวลาเซนตริฟิวส์ 2 นาที สกัดที่อุณหภูมิห้อง (V_{sample} = 10 mL, V_{sed} = 500 µL)

รูปที่ 3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) กับปริมาณ DDTC ได้ EF สูงสุดที่ 19.0 เท่า ในการสกัดตะกั่ว เมื่อใช้ DDTC 8.0 % (w/w) และได้ EF สูงสุด 7.44 เท่า ในการสกัดดีบุก เมื่อใช้ DDTC 8.5 % (w/w) เนื่องจากงานวิจัยนี้เน้นความเข้มข้นระดับต่ำ โดย CCFAC และองค์การอนามัยโลกกำหนดให้มีตะกั่วไม่เกิน 1 ppm ดังนั้นจึงเลือกสภาวะในการสกัดพร้อมกัน (simultaneous extraction) ที่สามารถสกัดตะกั่วได้ดี คือใช้ DDTC 8.0 % (w/w) ซึ่งจะได้ค่า EF ของตะกั่วและดีบุก 19.0 และ 7.24 เท่า ตามลำดับ

3.2.2 ชนิดตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) และตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุก โดยตัวทำละลายสกัดต้องสามารถแยกตัวจากชั้นน้ำได้ดีและมีค่าการละลายน้ำต่ำ อีกทั้งควรมีความหนาแน่นสูงกว่าน้ำ เพื่อให้แยกตัวทำละลายสกัดออกจากชั้นน้ำได้ง่าย ส่วนตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสม ควรกระจายตัวได้ดีทั้งในน้ำและตัวทำละลายสกัด

งานวิจัยนี้ได้ทำการเปรียบเทียบตัวทำละลายสกัด คือ ไดคลอโรมีเทนและคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 500 µL และตัวทำละลายกระจายตัว คือ อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และอะซิโตไนไตรล์ ปริมาตร 1000 µL โดยใช้ DDTC 8.0 % (w/w) ปริมาตร 1 mL เซนตริฟิวส์ที่เวลา 2 นาที และสกัดที่อุณหภูมิห้อง



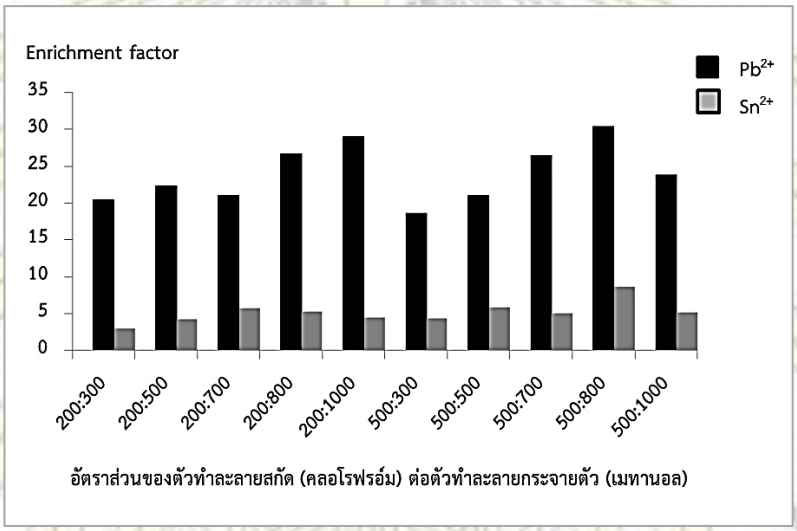
รูปที่ 3.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวกับค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) ในการสกัดตะกั่วและดีบุก ด้วยเทคนิค DLLME (n=1) สภาวะในการสกัด: ความเข้มข้นของ DDTC 8.0 % (w/w) ในสารละลายตัวอย่าง 10.00 mL ใช้ตัวทำละลายสกัด 500 µL ตัวทำละลายกระจายตัว 1000 µL เซนตริฟิวส์ 2 นาที สกัดที่อุณหภูมิห้อง (V_{sample} = 10 mL, V_{sed} = 500 µL)

รูปที่ 3.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) กับชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำลายกระจายตัว พบ EF สูงสุดที่ 23.8 เท่า ในการสกัดตะกั่ว เมื่อใช้คลอโรฟอร์มและเมทานอล และได้ EF สูงสุด 7.24 เท่า ในการสกัดดีบุก เมื่อใช้ไดคลอโรมีเทนและเอทานอล เนื่องจากงานวิจัยนี้เน้นระดับความเข้มข้นต่ำ โดย CCFAC และองค์การอนามัยโลกได้กำหนดให้มีตะกั่วไม่เกิน 1 ppm จึงเลือกสภาวะในการสกัดพร้อมกัน (simultaneous extraction) ที่สามารถสกัดตะกั่วได้ดี คือใช้ตัวทำละลายสกัด คือ

คลอโรฟอร์ม และตัวทำละลายกระจายตัว คือ เมทานอล ได้ค่า EF ของตะกั่วและดีบุก เท่ากับ 23.8 และ 5.14 เท่า ตามลำดับ

3.2.3 อัตราส่วนตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) และตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent) ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ปริมาณของตัวทำละลายสกัดมีผลต่อค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) และประสิทธิภาพของการสกัด จากการศึกษาตัวทำละลายชนิดต่างๆตามตารางที่ 2.2 ได้ค่าการเพิ่มความเข้มข้นสูงสุดตามรูปที่ 3.3

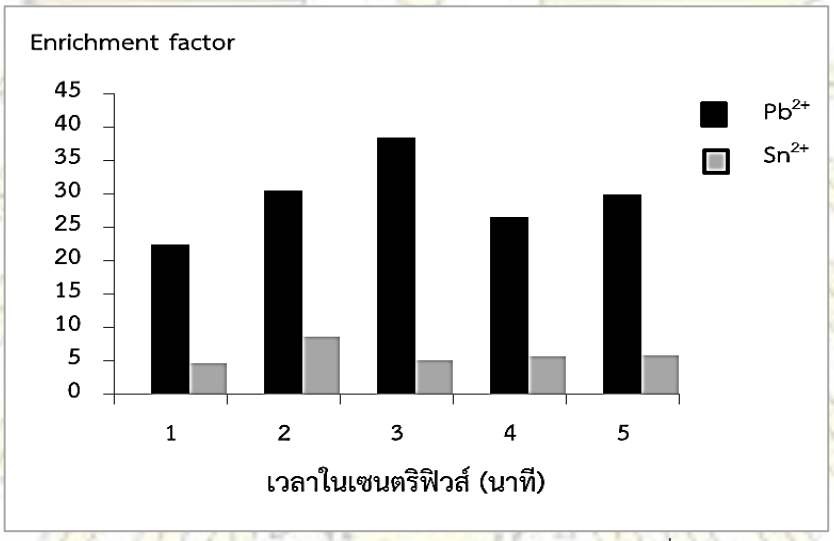


รูปที่ 3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวกับค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) ในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิค DLLME (n=1) สภาวะในการสกัด: DDTC 8.0 % (w/w) ในสารละลายตัวอย่าง 10.00 mL ใช้ตัวทำละลายสกัด (คลอโรฟอร์ม) ตัวทำละลายกระจายตัว (เมทานอล) เซนตริฟิวส์ 2 นาที สกัดที่อุณหภูมิห้อง (V_{sample} = 10 mL, V_{sed} = 500 µL)

รูปที่ 3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) กับอัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำลายกระจายตัว ได้ค่า EF สูงสุด เมื่อใช้ตัวทำละลายสกัด 500 µL และตัวทำละลายกระจายตัว 800 µL โดยได้ค่าการเพิ่มความเข้มข้นของตะกั่วและดีบุก 30.4 เท่า 8.58 เท่า ตามลำดับ

3.2.4 เวลาในการเซนตริฟิวส์ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุก ด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

เวลาที่เหมาะสมของการเซนตริฟิวส์ เพื่อแยกตัวทำละลายสกัดออกจากชั้นน้ำ จะส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัด โดยศึกษาเวลาในการเซนตริฟิวส์ ที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 นาที โดยใช้ตัวทำละลายสกัด คือ คลอโรฟอร์ม ปริมาตร 500 µL และตัวทำละลายกระจายตัว คือ เมทานอล ปริมาตร 800 µL DDTC ความเข้มข้น 8.0 % (w/w) และสกัดที่อุณหภูมิห้อง

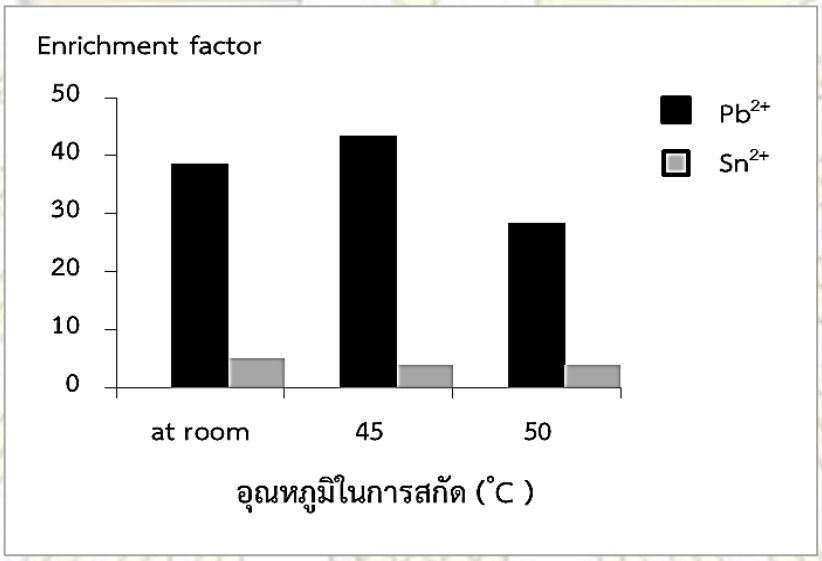


รูปที่ 3.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการเซนตริฟิวส์และค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) ในการสกัดตะกั่วและดีบุก ด้วยเทคนิค DLLME (n=1) สภาวะในการสกัด: DDTC 8.0 % (w/w) ในสารละลายตัวอย่าง 10.00 mL ใช้ตัวทำละลายสกัด (คลอโรฟอร์ม) 500 µL ตัวทำละลายกระจายตัว (เมทานอล) 800 µL และสกัดที่อุณหภูมิห้อง (V_{sample} = 10 mL, V_{sed} = 500 µL)

รูปที่ 3.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) กับเวลาในการเซนตริฟิวส์ พบว่า EF สูงสุดที่ 38.3 เท่า ในการสกัดตะกั่วที่ 3 นาที และได้ EF สูงสุด 8.62 เท่า ในการสกัดดีบุก ที่เวลา 2 นาที เนื่องจากงานวิจัยนี้เน้นความเข้มข้นระดับต่ำ โดย CCFAC และองค์การอนามัยโลกได้กำหนดให้มีตะกั่วไม่เกิน 1 ppm จึงเลือกสภาวะในการสกัดพร้อมกัน (simultaneous extraction) ที่สามารถสกัดตะกั่วได้ดี คือใช้เวลาในการเซนตริฟิวส์ 3 นาที ได้ค่า EF ของตะกั่วและดีบุก เท่ากับ 38.3 และ 5.06 เท่า ตามลำดับ

3.2.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุก ด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

สมการ Stokes – Einstein (1.2) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิมีผลต่อการกระจายตัวของตะกั่วและดีบุกจากชั้นน้ำไปยังตัวทำละลายสกัดโดยมีการเปรียบเทียบอุณหภูมิการสกัดที่ อุณหภูมิห้อง 40 และ 50 °C ใช้ตัวทำละลายสกัด คือ คลอโรฟอร์ม ปริมาตร 500 µL และใช้ตัวทำละลายกระจายตัว คือ เมทานอล ปริมาตร 800 µL โดยใช้ DDTC 8.0 % (w/w) เวลาเซนตริฟิวส์ 3 นาที



รูปที่ 3.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิในการสกัดและค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) ในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิค DLLME (n=1) สภาวะของการสกัด: DDTC 8.0 % (w/w) ในสารละลายตัวอย่าง 10 mL ใช้ตัวทำละลายสกัด (คลอโรฟอร์ม) 500 µL ตัวทำละลายกระจายตัว (เมทานอล) 800 µL เซนตริฟิวส์ 3 นาที (V_{sample} = 10 mL, V_{sed} = 500 µL)

รูปที่ 3.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) กับอุณหภูมิในการสกัด พบว่า EF สูงสุดที่ 5.10 เท่า ในการสกัดตะกั่วที่ 45 °C และได้ EF สูงสุด 43.3 เท่า ในการสกัดดีบุกที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากงานวิจัยนี้เน้นความเข้มข้นระดับต่ำ โดย CCFAC และองค์การอนามัยโลกได้กำหนดให้ตะกั่วไม่เกิน 1 ppm จึงเลือกสภาวะในการสกัดพร้อมกัน (simultaneous extraction) ที่สามารถสกัดตะกั่วได้ดี คือ ใช้อุณหภูมิในการสกัด 45 ˚C ได้ค่า EF ของตะกั่วและดีบุก เท่ากับ 43.3 และ 4.05 เท่า ตามลำดับ

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

1. 1. การสกัดตะกั่วและดีบุกในอาหารกระป๋องประเภทน้ำด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) ตามด้วยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค inductively couple plasma - optical emission spectrometer (ICP-OES) พบสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกในน้ำ ดังนี้

ตารางที่ 4.1 แสดงพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกพร้อมกันด้วยเทคนิค DLLME ในน้ำ

คีเลต	8.0 % (w/w) DDTC
ตัวทำละลายสกัด	คลอโรฟอร์ม 500 µL
ตัวทำละลายกระจายตัว	เมทานอล 800 µL
สารละลายตัวอย่าง	10.00 mL
เวลาในการเซนตริฟิวส์	3 นาที
อุณหภูมิในการสกัด	45 °C

2. จากข้อจำกัดของงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอแนะนำศึกษาพารามิเตอร์อื่นที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดเพิ่มเติม เช่น ความเป็นกรด-เบสของสารละลายตัวอย่าง ที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ DDTC กับตะกั่วและดีบุก เวลาในการเขย่า (vortex) และความเร็วรอบของการเซนตริฟิวส์ (rpm)
3. กระบวนการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด สามารถใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ อื่นๆ เช่น UV-VIS หรือ AAS สำหรับการวิเคราะห์เพื่อประเมินพารามิเตอร์ในการสกัดที่เหมาะสม
4. งานวิจัยนี้ยังมิได้มีการทดสอบในเมทริกซ์อาหารตามที่ได้ตั้งวัตถุประสงค์ไว้ ดังนั้นก่อนที่จะนำงานวิจัยนี้ไปใช้วิเคราะห์ปริมาณตะกั่วและดีบุกในอาหารกระป๋องประเภทน้ำจะต้องมีการศึกษาและประเมินวิธีการวิเคราะห์ในเมทริกซ์อาหารก่อน
5. เมื่อได้สภาวะในการสกัดที่เหมาะสมแล้วสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิคการวิเคราะห์อื่นๆที่มีความไวสูงเพื่อลดค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์

เอกสารอ้างอิง

[1] สำนักคณะกรรมการอาหารและยา. (2546, กรกฎาคม 16). ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 273) พ.ศ. 2546 เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน (ฉบับที่ 2). *ราชกิจจานุเบกษา*, p. 10.

[2] John M. Kokosa, Andrzej Przyjazyn and Michael A. Jeannot. (2009). *Solvent microextraction theory and practice.* New York: John Wiley & Sons., ISBN 978-0-470-27859-8.

[3] Tassia S. Seeger, et al. (2015). Feasibility of dispersive liquid-liquid microextraction for extraction and preconcentration of Cu and Fe in red and white wine and determination by flame atomic absorbtion spectrometry. *Spectrochimica Acta part B*, 136-140.

[4] Francisco C. Rosa, et al. (2015). Dispersive liquid–liquid microextraction: An efficient approach for the extaction of Cd and Pb from honey and determination by flame atomic absorbtion spectrometry. *Microchemical Journal*, 211-217.

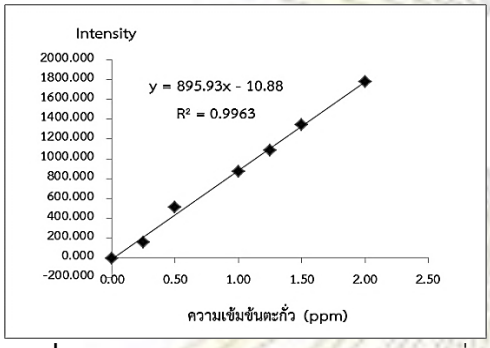
[5] Joao B. Pereira Junior, et al. (2016). Evaluation of inorganic elements in cat's claw teas using ICP OES and GF AAS. *Food Chemistry*, 331-337.

[6] Jaime S. Mandlate, et al. (2017). Determination of cadmium and lead at sub-ppt level in soft drinks. *Food Chemistry*, 907-912.

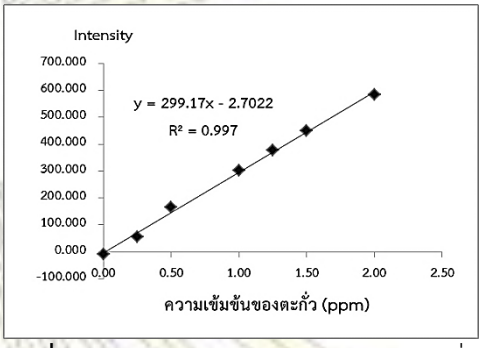
[7] N. Raphael Biata, et al. (2017). Determination of antimony and tin in beverages using inductively. *Food Chemistry*, 904-911.

ภาคผนวก

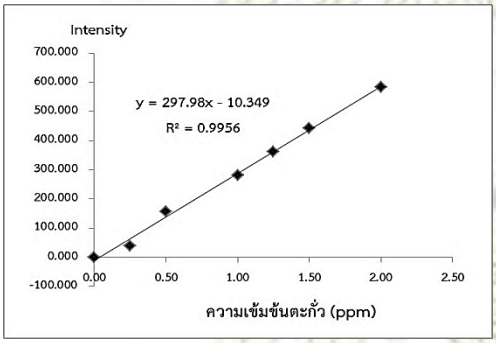
1. **กราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่ว** ที่ความเข้มข้น 0.00 - 2.00 ppm โดยใช้แบลงค์เป็นน้ำ Milli-Q วิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES ที่ความยาวคลื่น 220.3 nm ได้ค่า intensity, ค่าเฉลี่ย, SD และ %RSD ของ intensity (n=3)



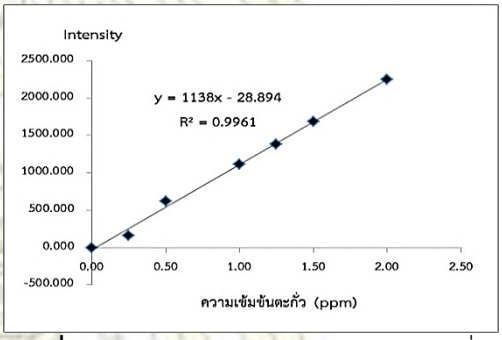
รูปที่ ก 1.1 กราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่ว ครั้งที่ 1



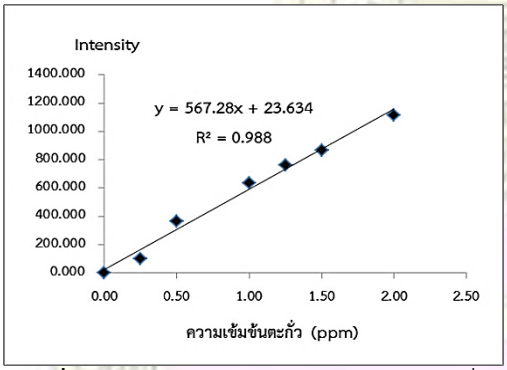
รูปที่ ก 1.2 กราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่ว ครั้งที่ 2



รูปที่ ก 1.3 กราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่ว ครั้งที่ 3

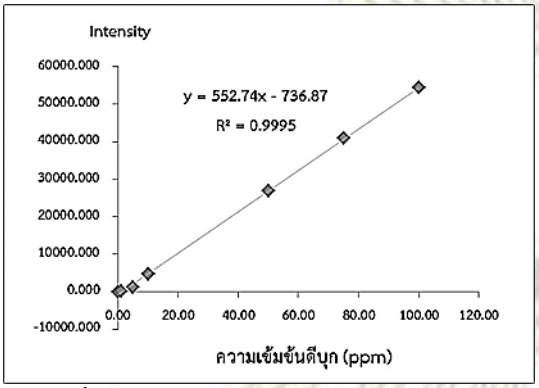


รูปที่ ก 1.4 กราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่ว ครั้งที่ 4

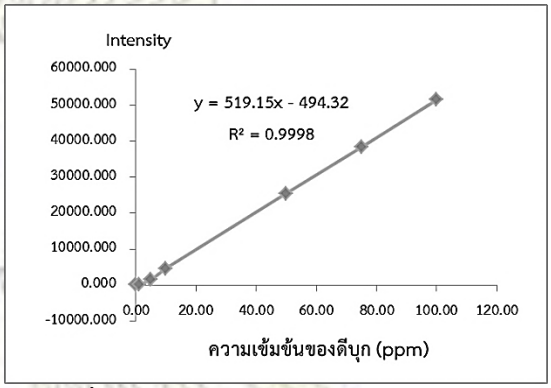


รูปที่ ก 1.5 กราฟเทียบมาตรฐานของตะกั่ว ครั้งที่ 5

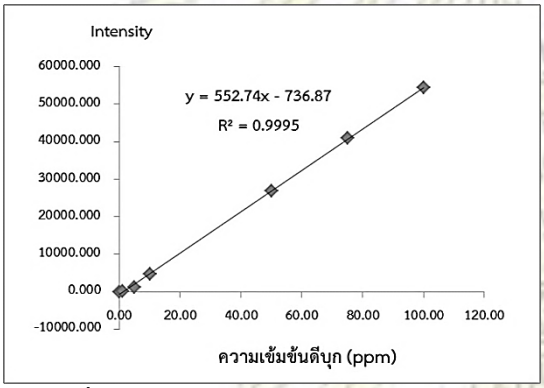
2. **กราฟเทียบมาตรฐานของดีบุก** ที่ความเข้มข้น 0.00 - 100.00 ppm โดยใช้แบลงค์เป็นน้ำ Milli-Q วิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES ที่ความยาวคลื่น 189.9 nm ได้ค่า intensity, ค่าเฉลี่ย, SD และ %RSD ของ intensity (n=3)



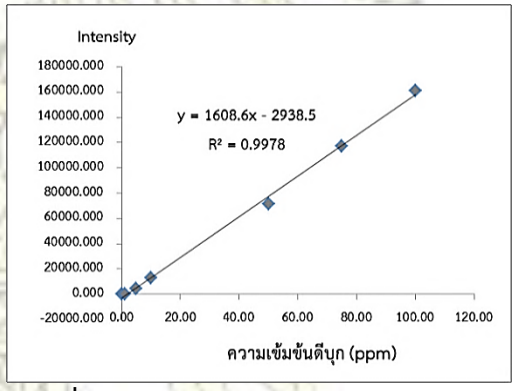
รูปที่ ก 2.1 กราฟเทียบมาตรฐานของดีบุก ครั้งที่ 1



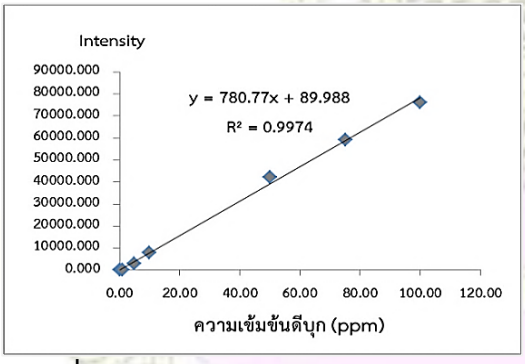
รูปที่ ก 2.2 กราฟเทียบมาตรฐานของดีบุก ครั้งที่ 2



รูปที่ ก 2.3 กราฟเทียบมาตรฐานของดีบุก ครั้งที่ 3



รูปที่ ก 2.4 กราฟเทียบมาตรฐานของดีบุก ครั้งที่ 4



รูปที่ ก 2.5 กราฟเทียบมาตรฐานของดีบุก ครั้งที่ 5

3. **สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดตะกั่วและดีบุก**

3.1 ปริมาณโซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมต (sodium diethyldithiocarbamate, DDTC) ที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ตารางที่ ก 3.1.1 แสดงค่าที่ใช้ในการหาปริมาณของ DDTC ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่ว

DDTC	Intensity of Pb^{2+}						$[Pb^{2+}]$	$[Pb^{2+}]$	%	EF
% (w/w)	1	2	3	AVG	Sd	%RSD	ppm	in org 500 µL (ppm)	recovery	
6.00	222.8	225.3	226.0	224.7	1.7	0.75	0.760	15.20	76.0	15.2
6.50	252.0	254.3	253.9	253.4	1.2	0.49	0.856	17.12	85.6	17.1
7.50	261.2	261.3	260.9	261.1	0.2	0.08	0.882	17.64	88.2	17.6
8.00	281.3	281.3	282.7	281.8	0.8	0.29	0.951	19.02	95.1	19.0
8.50	267.4	268.3	270.3	268.7	1.5	0.55	0.907	18.14	90.7	18.1
9.00	272.4	273.7	274.9	273.7	1.3	0.46	0.924	18.48	92.4	18.5
10.00	288.5	287.2	287.0	287.6	0.8	0.28	0.970	19.41	97.0	19.4

ตารางที่ ก 3.1.2 แสดงค่าที่ใช้ในการหาปริมาณของ DDTC ที่เหมาะสมในการสกัดดีบุก

DDTC % (w/w)	Intensity of Sn^{2+}						$[Sn^{2+}]$ ppm	$[Sn^{2+}]$ in org 500 µL (ppm)	% recovery	EF
	1	2	3	AVG	Sd	%RSD				
6.00	4912	4901	4893	4902	10	0.20	10.39	207.9	20.8	4.16
6.50	6115	6171	6172	6153	33	0.53	12.80	256.1	25.6	5.12
7.50	7187	7214	7246	7216	30	0.41	14.85	297.0	29.7	5.94
8.00	8872	8900	8947	8906	38	0.43	18.11	362.1	36.2	7.24
8.50	9127	9167	9179	9158	27	0.30	18.59	371.8	37.2	7.44
9.00	8081	8154	8226	8154	73	0.89	16.66	333.1	33.3	6.66
10.00	8527	8564	8513	8535	26	0.31	17.40	347.8	34.8	6.96

3.2 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ตารางที่ ก 3.2.1 แสดงค่าที่ใช้ในการหาชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่ว

ตัวทำละลาย		Intensity of Pb^{2+}					$[Pb^{2+}]$	$[Pb^{2+}]$	%	EF
		1	2	3	AVG	%RSD	(ppm)	in org 500 µL (ppm)	recovery	
สกัด	กระจายตัว									
$CHCl_3$	C_3H_6O	195.9	195.2	195.5	195.5	0.18	0.663	13.6	66.3	14.1
	C_2H_6O	305.8	307.4	309.2	307.5	0.55	1.037	20.7	103	22.0
	CH_3OH	335.3	331.0	332.3	332.9	0.66	1.122	22.4	112	23.8
	C_2H_3N	198.2	195.9	196.8	197.0	0.58	0.667	13.3	66.7	14.1
CH_2Cl_2	C_3H_6O	189.9	191.2	191.2	190.8	0.39	0.647	12.9	64.7	13.7
	C_2H_6O	265.6	264.7	264.9	265.1	0.18	0.895	17.9	89.5	19.0
	CH_3OH	273.4	275.7	273.2	274.1	0.51	0.925	18.5	92.5	19.7
	C_2H_3N	190.0	190.6	204.4	195.0	4.2	0.661	13.2	66.1	14.0

ตารางที่ ก 3.2.2 แสดงค่าที่ใช้ในการหาชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดดีบุก

ตัวทำละลาย		Intensity of Pb^{2+}					[Sn^{2+}]	[Sn^{2+}]	%	EF
สกัด	กระจายตัว	1	2	3	AVG	%RSD	(ppm)	in org 500 µL (ppm)	recovery	
$CHCl_3$	C_3H_6O	2832	2838	2835	2835	0.11	6.41	128.3	12.8	3.47
	C_2H_6O	3443	3462	3479	3461	0.52	7.62	152.4	15.2	4.14
	CH_3OH	4418	4417	4432	4422	0.20	9.47	189.4	18.9	5.14
	C_2H_3N	2053	2046	2055	2051	0.23	4.90	98.07	9.80	2.66
CH_2Cl_2	C_3H_6O	3024	3043	3059	3042	0.58	6.81	136.2	13.6	3.70
	C_2H_6O	6417	6419	6465	6434	0.42	13.35	266.9	26.7	7.24
	CH_3OH	3991	3992	3950	3978	0.60	8.61	172.3	17.2	4.68
	C_2H_3N	3687	3681	3715	3694	0.49	8.07	161.4	16.1	4.38

3.3 อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ตารางที่ ก 3.3.1 แสดงค่าที่ใช้ในการหาอัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่ว

ปริมาตรตัวทำละลาย (µL)		Intensity of Pb^{2+}					$[Pb^{2+}]$	$[Pb^{2+}]$	%	EF
สกัด ($CHCl_3$)	กระจายตัว (CH_3OH)	1	2	3	AVG	%RSD	(ppm)	in org 500 µL (ppm)	recovery	
200	300	147.4	148.0	148.4	147.9	0.34	0.531	10.6	53.1	20.5
	500	162.0	160.9	162.0	161.6	0.39	0.577	11.5	57.7	22.3
	700	152.3	152.3	153.4	152.7	0.42	0.547	10.9	54.7	21.1
	800	194.2	195.0	194.6	194.6	0.21	0.688	13.8	68.8	26.7
	1000	213.3	212.7	214.4	213.5	0.41	0.751	15.0	75.1	29.0
500	300	131.0	132.1	134.1	132.4	1.2	0.480	9.58	47.9	18.6
	500	150.0	151.4	152.4	151.3	0.80	0.542	10.8	54.2	21.1
	700	193.7	194.6	193.3	193.9	0.34	0.685	13.7	68.5	26.5
	800	223.2	223.1	223.6	223.3	0.12	0.784	15.7	78.4	30.4
	1000	172.4	171.3	174.1	172.6	0.82	0.614	12.3	61.4	23.8

ตารางที่ ก 3.3.2 แสดงค่าที่ใช้ในการหาอัตราส่วนของตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสมในการสกัดดีบุก

ปริมาตรตัวทำละลาย (µL)		Intensity of Sn^{2+}					$[Sn^{2+}]$	$[Sn^{2+}]$	%	EF
สกัด ($CHCl_3$)	กระจายตัว (CH_3OH)	1	2	3	AVG	%RSD	(ppm)	in org 500 µL (ppm)	recovery	
200	300	1442	1355	1333	1377	4.1	3.824	76.48	7.68	2.97
	500	2272	2268	2270	2270	0.090	5.440	108.8	10.9	4.28
	700	3354	3344	3350	3349	0.15	7.393	147.9	14.8	5.74
	800	3021	3017	3027	3022	0.17	6.800	136.0	13.6	5.28
	1000	2450	2437	2454	2447	0.36	5.760	115.2	11.5	4.46
500	300	2378	2373	2377	2376	0.11	5.630	112.6	11.3	4.37
	500	3338	3585	3361	3428	4.0	7.535	150.7	15.1	5.84
	700	2853	2813	2807	2824	0.88	6.443	128.9	12.9	5.01
	800	5363	5376	5387	5375	0.22	11.058	221.2	22.1	8.58
	1000	2948	2921	2923	2931	0.51	6.635	132.7	13.3	5.14

3.4 หาเวลาในการเซนตริฟิวส์ที่เหมาะสมต่อการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ตารางที่ ก 3.4.1 แสดงค่าที่ใช้ในการหาเวลาในการเซนตริฟิวส์ ที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่ว

เซนตริฟิวส์ (นาที)	Intensity of Pb^{2+}					$[Pb^{2+}]$ (ppm)	$[Pb^{2+}]$ in org 500 µL (ppm)	% recovery	EF
	1	2	3	Avg	%RSD				
1	617.3	615.3	618.4	617.0	0.26	0.568	11.35	56.8	22.3
2	857.0	854.0	858.3	856.4	0.78	0.778	15.56	77.8	30.5
3	1086.0	1089.0	1084.0	1086.3	0.23	0.980	19.60	98.0	38.3
4	741.0	740.5	739.8	740.4	0.081	0.676	13.52	67.6	26.4
5	842.9	842.3	841.0	842.1	0.12	0.765	15.31	76.5	29.9

ตารางที่ ก 3.4.2 แสดงค่าที่ใช้ในการหาเวลาในการเซนตริฟิวส์ ที่เหมาะสมในการสกัดดีบุก

เซนตริฟิวส์ (นาที)	Intensity of Sn^{2+}					$[Sn^{2+}]$ (ppm)	$[Sn^{2+}]$ in org 500 µL (ppm)	% recovery	EF
	1	2	3	AVG	%RSD				
1	9211	9148	9119	9159	0.51	7.521	150.4	15.0	4.66
2	19550	19370	19450	19457	0.46	13.92	278.4	27.8	8.62
3	10200	10260	10180	10213	0.42	8.176	163.5	16.4	5.06
4	11940	11980	11910	11943	0.29	9.251	185.0	18.5	5.73
5	12280	12250	12310	12280	0.24	9.461	189.2	18.9	5.85

3.5 การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดตะกั่วและดีบุกด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

ตารางที่ ก 3.5.1 แสดงค่าที่ใช้ในการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดตะกั่ว

อุณหภูมิ (°C)	Intensity of Pb^{2+}					$[Pb^{2+}]$ (ppm)	$[Pb^{2+}]$ in org 500 µL (ppm)	% recovery	EF
	1	2	3	Avg	%RSD				
RT	123.8	86.71	117.3	109.27	18	0.151	3.019	15.1	38.5
45	144.2	95.24	-	119.72	290	0.169	3.388	16.9	43.3
50	64.24	109.7	-	86.97	37	0.112	2.233	11.2	28.4

ตารางที่ ก 3.5.2 แสดงค่าที่ใช้ในการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดดีบุก

อุณหภูมิ (°C)	Intensity of Sn^{2+}					$[Sn^{2+}]$ (ppm)	$[Sn^{2+}]$ in org 500 µL (ppm)	% recovery	EF
	1	2	3	Avg	%RSD				
RT	1632	1040	1395	1356	22	1.62	32.4	3.24	5.10
45	1555	633.8	-	1094	60	1.29	25.7	2.57	4.05
50	1123	1011	-	1067	7.4	1.25	25.0	2.50	3.94

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวทิพย์สุดา ทับโพธิ์ เกิดเมื่อวันที่ 24 เดือน กันยายน พ.ศ. 2537 ที่จังหวัดพิจิตร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบางมูลนากภูมิวิทยาคม จังหวัดพิจิตร เมื่อปีการศึกษา 2555 เคยได้รับรางวัลค่ายส่งเสริมโอลิมปิกวิชาการ สาขาเคมี ค่าย 2 ศูนย์มหาลัยนเรศวร ปีการศึกษา 2554 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2556 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 18/3 ตำบลภูมิ อำเภอบางมูลนาก จังหวัดพิจิตร รหัสไปรษณีย์ 66120 อีเมล jubjang_tipsuda@hotmail.com