โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายเพื่อวิเคราะห์แคดเมียมปริมาณน้อยในอาหาร
Dispersive liquid-liquid microextraction for analysis of trace cadmium in foods

ชื่อนิสิต นางสาวปาณิสรา สิงหเสนี **เลขประจำตัว** 5833057423

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the senior project authors' files submitted through the faculty.

การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายเพื่อวิเคราะห์แคดเมียมปริมาณน้อยในอาหาร

Dispersive liquid-liquid microextraction for analysis of trace cadmium in foods

โดย

นางสาวปาณิสรา สิงหเสนี

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

โครงการ การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายเพื่อวิเคราะห์แคดเมียมปริมาณน้อยในอาหาร

โดย นางสาวปาณิสรา สิงหเสนี

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล)

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

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนิษฐ์ ปราณีนรารัตน์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

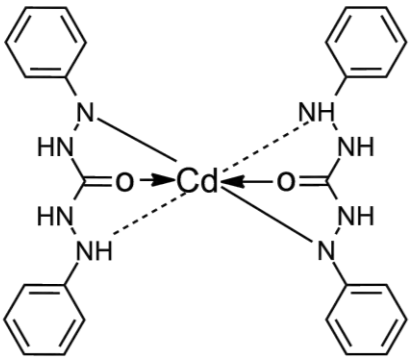
..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ 24 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2562

ชื่อโครงการ การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายเพื่อวิเคราะห์แคดเมียมปริมาณน้อยในอาหาร
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวปาณิสรา สิงหเสนี เลขประจำตัว 5833057423
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ม.ล.ศิริพัสตร์ ไชยันต์
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

แคดเมียมที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมสามารถปนเปื้อนสู่อาหารได้ งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีการสกัดเพื่อการตรวจวัดแคดเมียมด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลวแบบกระจายตัว (DLLME) และทำการตรวจวัดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแคดเมียมและ 1,5-Diphenylcarbazide (DPC) ด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometry ผู้วิจัยได้ศึกษาภาวะที่ส่งผลต่อการสกัดเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุดได้แก่ ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว อัตราส่วนของตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว ปริมาณของ 1,5-Diphenylcarbazide และเวลาในการสกัด ภาวะการสกัดที่เหมาะสมได้ค่าการเพิ่มความเข้มข้นที่ 16.4 และมีค่าประสิทธิภาพการสกัด 82.1%



สารประกอบเชิงซ้อนของแคดเมียมและ DPC

คำสำคัญ: การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจายตัว UV-visible spectrophotometry แคดเมียม 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์

Project Title Dispersive liquid-liquid microextraction for analysis of trace cadmium in foods

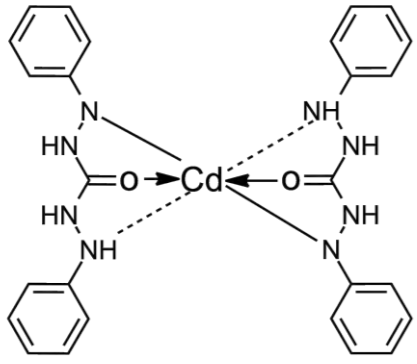
Student Name Miss Panisara Singhaseni Student ID 5833057423

Advisor Name Assistant Professor M.L. Siripastr Jayanta

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2018

Abstract

Cadmium presents in the environment can contaminate foods. This study aimed to develop an efficient extraction method for cadmium using dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) combined with UV-visible spectrophotometry. Parameters affecting the extraction efficiency were optimized including types of extraction solvent and disperser solvent, concentration of 1,5-diphenylcarbazide (complexing agent), volume of extraction solvent and disperser solvent, and extraction time. The optimum condition provided 16.4 folds enrichment with 82.1% extraction efficiency.



Cadmium-Diphenylcarbazide complex

Keywords: DLLME, UV-visible spectrophotometry, Cd^{2+}, 1,5-Diphenylcarbazide

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้สามารถสำเร็จได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลือเป็นอย่างดีของท่านอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ม.ล.ศิริพัสตร์ ไชยันต์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูงสำหรับการให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย อนุเคราะห์ในการใช้เครื่อง spectronic200 สำหรับใช้ในการวิจัยนี้และให้ความช่วยเหลือในการทำรูปเล่มรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนิษฐ์ ปราณีนรารัตน์ ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบและสละเวลาในการตรวจแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เฟื่องฟ้า อุ่นอบ สำหรับคำแนะนำในการทำวิจัยและการอนุเคราะห์สารเคมีที่จำเป็นในงานวิจัยนี้ ได้แก่ 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ โซเดียมไบคาร์บอเนต และต้องขอขอบคุณ ดร.สุดเขต ไชโย สำหรับการสนับสนุนสารเคมี คือ สารละลายมาตรฐานแคดเมียมไนเตรต

ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัย ให้สามารถนำความรู้มาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เปิดโอกาสและอนุมัติเงินสนับสนุนในการทำงานวิจัยโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูปภาพ	ฌ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	4
1.5.1 Liquid-liquid extraction (LLE)	4
1.5.2 Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME)	5
1.5.3 Dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop (DLLME-SFO)	7
1.5.4 สมบัติของ 1,5-Diphenylcarbazide (DPC)	8
1.5.5 ปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดของ DLLME และ DLLME-SFO กรณีสกัดไอออนโลหะ	11
1.5.6 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-visible spectroscopy	14
บทที่ 2 การทดลอง	15
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	15
2.1.1 อุปกรณ์การทดลอง	15
2.1.2 เครื่องมือการทดลอง	15

	หน้า
2.2 สารเคมี	16
2.3 วิธีการทดลอง	17
2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cd^{2+} solution) 1 ppm	17
2.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cd^{2+} solution) 200 ppm	17
2.3.3 การเตรียมสารละลาย 1,5-diphenylcarbazide	17
2.3.4 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 9.6ความเข้มข้น 1.0 M ปริมาตร 100 mL	17
2.3.5 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ	18
2.3.6 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์	19
2.3.7 การสกัดด้วยเทคนิค DLLME	20
2.3.7.1 ขั้นตอนการสกัดด้วยเทคนิค DLLME	20
2.3.7.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยวิธี DLLME	21
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	24
3.1 การสกัดระดับจุลภาค	24
3.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ	25
3.3 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์	26
3.4 การสกัดด้วยเทคนิค DLLME	28
3.4.1 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียม	28
3.5 การลดความเข้มข้นของแคดเมียมในสารตัวอย่างเริ่มต้น	33
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	34
4.1 การสกัดระดับจุลภาค	34
4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ	34
4.3 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์	34
4.4 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME	35
4.5 การลดความเข้มข้นของแคดเมียมในสารตัวอย่างเริ่มต้น	35
เอกสารอ้างอิง	37

หน้า

ภาคผนวก 40
ประวัติผู้วิจัย 47

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 สมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยเทคนิค DLLME 6
ตารางที่ 1.2 สมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO 7
ตารางที่ 1.3 สมบัติทางกายภาพของ 1,5-Diphenylcarbazide 8
ตารางที่ 2.1 สารและน้ำหนักของสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ 17
ตารางที่ 2.2 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานแคดเมียมในชั้นสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ 18
ตารางที่ 2.3 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ 19
ตารางที่ 2.4 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ทำการศึกษา 21
ตารางที่ 2.5 ความเข้มข้นของ1,5-Diphenylcarabzide ที่ทำการศึกษา 23
ตารางที่ 2.6 อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ทำการศึกษา 22
ตารางที่ 4.1 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME 35

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1.1 ตัวอย่างการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว 4
รูปที่ 1.2 แสดงกระบวนการสกัดแบบ DLLME 5
รูปที่ 1.3 แสดงกระบวนการสกัดแบบ DLLME-SFO 7
รูปที่ 1.4 โครงสร้างของ 1,5-Diphenylcarbazide 9
รูปที่ 1.5 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm ของสารละลาย 1,5-Diphenylcarbazide 9
รูปที่ 1.6 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ 1,5-Diphenylcarbazide กับแคดเมียม 10
รูปที่ 1.7 แสดงการจัดเรียงเครื่องของเครื่อง UV-visible spectrometer 14

รูปที่ 3.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมในการสกัดระดับจุลภาค 24
รูปที่ 3.2 กราฟมาตรฐานของแคดเมียมในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ 25
รูปที่ 3.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมในการสกัดด้วย
เทคนิค DLLME-SFO และ LLE 26
รูปที่ 3.4 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวกับค่า enrichment factor (EF) 29
รูปที่ 3.5 ความเข้มข้นของ 1,5-Diphenylcarbazide กับค่า enrichment factor (EF) 30
รูปที่ 3.6 อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวเกับค่า enrichment factor (EF) 31
รูปที่ 3.7 เวลาในการเซนตริฟิวจ์กับค่า enrichment factor (EF) 31

สัญลักษณ์และคำย่อ

DLLME	Dispersive liquid-liquid microextraction
DLLME-SFO	Dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop
LLE	Liquid-liquid extraction
µL	ไมโครลิตร
mL	มิลลิลิตร
mM	มิลลิโมลาร์
rpm	รอบต่อนาที
EF	Enrichment factor
UV	ultraviolet
ppm	หนึ่งส่วนในล้านส่วน
DPC	1,5-Diphenylcarbazide
λ_{max}	Maximum wavelength

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

แคดเมียมเป็นโลหะหนักในรายการสารเคมีที่ต้องระวังเป็นพิเศษสิบประเภท[1] การประยุกต์ใช้แคดเมียมทางอุตสาหกรรมส่งผลให้มีการปนเปื้อนของแคดเมียมในสิ่งแวดล้อมและในห่วงโซ่อาหารของมนุษย์ เมื่อมนุษย์ได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกาย จะเกิดการสะสมของแคดเมียมในอวัยวะต่าง ๆ เช่น ไต ตับ หัวใจ ปอด ก่อให้เกิดอาการกระดูกเปราะ (bone softness) นอกจากนี้ International Agency for Research on Cancer ได้จัดให้แคดเมียมเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่มที่ 1 ตามข้อมูลของ WHO และ EPA ได้กำหนดปริมาณของแคดเมียมในน้ำดื่มไว้ที่ 3.0 และ 5.0 µg/L ตามลำดับ

มีรายงานการนำเทคนิคการวิเคราะห์ธาตุ เช่น Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS)[2], Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS) [3], Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (ETAAS) [4] มาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมในสิ่งแวดล้อม อาหารและน้ำ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์โดยตรงนั้นทำได้ยากหรือไม่สามารถทำได้ เนื่องจากแคดเมียมในสารตัวอย่างอาจมีความเข้มข้นต่ำกว่าค่า LOD ของเครื่องมือหรือวิธีวิเคราะห์ มีการรบกวนจากเมทริกซ์และ/หรือคุณสมบัติของสารตัวอย่างไม่เหมาะสมกับเครื่องมือการวิเคราะห์ เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงต้องมีกระบวนการเตรียมสารตัวอย่าง เช่น การแยก การเพิ่มความเข้มข้น และการกำจัดเมทริกซ์ที่ช่วยให้สารตัวอย่างสะอาดก่อนการวิเคราะห์ต่อไป

การเตรียมตัวอย่างเป็นขั้นตอนที่เปลืองเวลาและทรัพยากรเพราะสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก [5] ไม่ว่าจะเป็นกรดที่ใช้ในการย่อยสารตัวอย่าง ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดและทำความสะอาดสารตัวอย่างที่มีความเป็นพิษสูง [6] เป็นต้น

เพื่อให้ขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น จึงมีการคิดค้นวิธีการเตรียมสารตัวอย่างที่ลดปริมาณสารเคมีที่ใช้และ/หรือเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ที่มีความเป็นพิษน้อยลง

ตัวอย่างของวิธีการเตรียมตัวอย่างที่มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid phase microextraction: SPME) [7] การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลวด้วยเมมเบรนเส้นใยกลวง (hollow fiber-liquid phase microextraction) [8]

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้เลือกวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction: DLLME) ซึ่งเป็นการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลว (liquid-phase microextraction) ประเภทหนึ่งที่พัฒนามาจากการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (liquid-phase extraction)

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

ศึกษาวิธีการเตรียมสารตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction: DLLME) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมในสารตัวอย่าง พร้อมทั้งหาภาวะของสกัดที่ให้ประสิทธิภาพสูง เพื่อการวิเคราะห์ที่มีความจำเพาะและความไวสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปี 2014 Yao และคณะ[8] ได้ทำการผสมอนุภาคนาโนของ SiO_2 และ 1,5-diphenylcarbazide ลงใน polymethylmethacrylate เพื่อจะนำไปเตรียมเส้นใยอิเล็กโทรสปันพอลิเมอร์สำหรับการวิเคราะห์ไอออนแคดเมียม โดยให้ 1,5-diphenylcarbazide ทำหน้าที่เป็นตัวเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนแคดเมียม และ SiO_2 ทำหน้าที่เป็นตัวเพิ่มพื้นที่ผิว พบว่าสีของเส้นใยเปลี่ยนอย่างเห็นได้ชัด แม้จะมีความเข้มข้นของแคดเมียมไอออนในสารละลายน้อยมาก โดยมีค่า LOD อยู่ที่ 1×10^{-8} M และมีความจำเพาะต่อไอออนแคดเมียมเท่านั้น

ปี 2017 Firat และคณะ [9] ใช้วิธี dispersive liquid-liquid microextraction ในการสกัดแคดเมียมโดยใช้ diphenylcarbazone เป็นสารเกิดสารประกอบเชิงซ้อน และสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม จากนั้นนำไปตรวจวัดด้วย slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry เมื่อทำการหาภาวะการสกัดและการตรวจวัดที่เหมาะสม พบว่าค่า LOD และ LOQ อยู่ที่ 0.5 และ 1.5 µg/L ตามลำดับ

ปี 2018 Sanchez-Hachair และคณะ[10] ได้ทำการตรวจวัด โครเมียม (VI) ในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ด้วย direct UV-visible spectrophotometry โดยทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวัดระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของไอออนโครเมตที่เป็นสารละลายสีเหลือง และสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียมกับ 1,5-Diphenylcarbazide (DPC) พบว่า วิธีที่ใช้ DPC ให้ผลที่ไม่มีความแม่นยำ และมีค่า relative standard deviation อยู่ที่ 20-50 % ขณะที่ตรวจวัดด้วย direct method หรือการตรวจวัดกับ chromate ion มีค่า relative standard deviation อยู่ที่ 0.5 %

ปี 2018 Borzoei และคณะ[11] ได้ทำการหาค่าความเข้มข้นของเหล็กในสารละลายตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ โดยทำการสกัดด้วยวิธี dispersive liquid-liquid microextraction และใช้ 3-hydroxy-1-(3-hydroxyphenyl)-2-methylpyridin-4(1H)-one (3-oH-PMPO) เป็นตัวเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็ก ทำการหาภาวะที่เหมาะสมด้วย central composite design (CCD) ภายใต้ภาวะการสกัดที่เหมาะสม ค่า linear range มีค่าอยู่ที่ 10-750 µg/L และมี LOD อยู่ 5 µg/L ค่า relative standard deviation ของการตรวจวัดที่ความเข้มข้นของเหล็ก 40 µg/Lและ 200 µg/L อยู่ที่ 4.2% และ 1.2% ตามลำดับ ร้อยละการได้กลับคืนสัมพัมทธ์ของเหล็กในน้ำตัวอย่างมีค่าอยู่ที่ 91-108%

ปี 2018 Lima และคณะ [12] ได้ทำการศึกษาการใช้ butan-1-ol เป็นตัวทำละลายสกัดในการสกัดด้วยเทคนิค dispersive liquid-liquid microextraction ในการสกัดอลูมิเนียม (III) โดยใช้ quercetin เป็นตัวเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับอลูมิเนียมแล้วทำการตรวจวัดด้วยวิธี UV-visible spectrophotometry พบว่ามีค่า LOD และ LOQ มีค่า 2.0 µg/L และ 7.0 µg/L ตามลำดับ และมี linear range ตั้งแต่ 7.5-165.0 µg/L

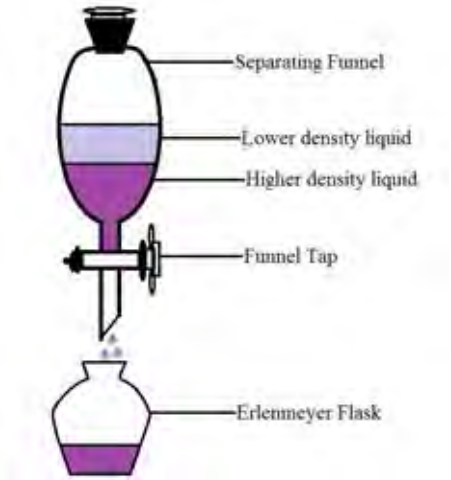
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีการเตรียมสารตัวอย่างที่เพื่อวิเคราะห์แคดเมียมในอาหารด้วยเทคนิค DLLME ซึ่งเป็นการเตรียมสารตัวอย่างที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

1.5 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.5.1 Liquid-liquid extraction (LLE)

เทคนิคการแยกโดยการสกัดโดยใช้วัฏภาคของเหลว (หรือเรียกว่า การสกัดโดยตัวทำละลาย) เป็นเทคนิคการแยกที่ใช้หลักการการแพร่ของตัวถูกละลายระหว่างวัฏภาคของเหลวสองวัฏภาคที่ไม่ละลายซึ่งกันมาสัมผัสกัน ในกระบวนการนี้จะมีการแพร่ของสารระหว่างวัฏภาคของเหลวหนึ่งไปสู่อีกวัฏภาคของเหลวหนึ่ง โดยปกติวัฏภาคของเหลวหนึ่งจะเป็นน้ำหรือสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ (aqueous mixture) และอีกวัฏภาคของเหลวหนึ่งจะเป็นสารละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว ในขั้นตอนการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลวประกอบด้วยขั้นตอนการผสม (mixing) ตามด้วยขั้นตอนการแยกวัฏภาค (phase separation)



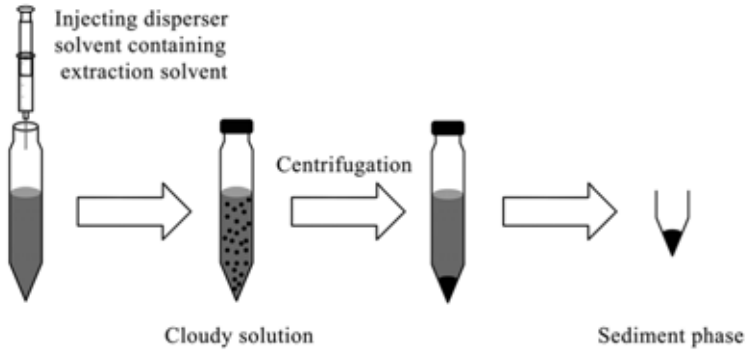
รูปที่ 1.1 ตัวอย่างการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว

1.5.2 Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME)

DLLME หรือการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย เป็นเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลวประเภทหนึ่ง ซึ่งพัฒนามาจากการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว โดยเทคนิคการสกัดนี้จะใช้ระบบสารละลายประกอบกัน 3 ส่วน คือ ตัวทำละลายสกัด (extraction solvent), ตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent), และสารตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ (aqueous sample)

ขั้นตอนการสกัดด้วยเทคนิค DLLME แสดงดังรูปที่ 1.2 เมื่อนำส่วนผสมที่มีสัดส่วนเหมาะสมระหว่างตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวฉีดลงในสารละลายตัวอย่างที่มีสารที่สนใจ (Analyte) จะเกิดภาวะแขวนลอยของตัวทำละลายในสารตัวอย่างสังเกตุได้จากความขุ่นในสารตัวอย่าง ความขุ่นที่สังเกตุเห็นเป็นผลมาจากการกระจายของตัวทำละลายสกัดที่ไม่ละลายในน้ำเป็นหยดละอองขนาดเล็ก ในขั้นตอนนี้พื้นที่ผิวของตัวทำละลายกระจายตัวจะเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทำให้สารตัวอย่างที่สนใจที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำสัมผัสตัวทำละลายสกัดอย่างง่ายดาย และสมดุลการแพร่ของสารตัวอย่างจากชั้นน้ำไปยังชั้นตัวทำละลายสกัดจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังนั้นเวลาที่ใช้ในการสกัดจึงสั้น

การเร่งการแยกวัฏภาคระหว่างชั้นสารตัวอย่างและชั้นตัวทำละลายสกัดสามารถทำได้โดยการเซนตริฟิวจ์ และสามารถนำชั้นตัวทำละลายสกัดออกไปได้ด้วยเข็มฉีดยาก่อนจะนำไปวิเคราะห์ต่อไป ข้อดีของการสกัดแบบ DLLME คือ ความง่ายของวิธีการสกัด การทำซ้ำ ราคาถูก ค่าการได้กลับคืน และ ค่า enrichment factor สูง ใช้เวลาในการสกัดน้อย ก็ตามเทคนิค DLLME เหมาะสำหรับการสกัดสารประเภท polyaromatic hydrocarbon ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ หากต้องการสกัดสารประเภทโลหะจะต้องมีการเติมสารจับโลหะที่เป็นลิแกนด์หรือคีเลตลงไป เพื่อให้ไอออนโลหะที่อยู่ในสารตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบกลายเป็น metal complex ที่สามารถสกัดด้วยตัวทำละลายสกัดได้



รูปที่ 1.2 กระบวนการสกัดแบบ Dispersive liquid-liquid microextraction

พารามิเตอร์ที่ใช้ในการระบุประสิทธิภาพของเทคนิค DLLME ได้แก่ enrichment factor (EF) และ extraction recovery (ER)

Enrichment factor แสดงให้เห็นถึงอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของสารที่สนใจในชั้นตัวทำละลายสกัด (C_{sed}) และความเข้มข้นของสารที่สนใจที่อยู่ในสารตัวอย่างก่อนการสกัด (C_0) โดย C_{sed} สามารถคำนวณได้จากการกราฟมาตรฐาน สมการของ Enrichment factor แสดงในสมการ (1)

$$EF = \frac{C_{sed}}{C_0} \quad \text{.....(1)}$$

Extraction Recovery เป็นค่าที่กำหนดร้อยละของปริมาณสารที่สนใจทั้งหมด (n_0) ที่เข้าไปอยู่ในตัวทำละลายสกัด (n_{sed}) โดยค่า V_{sed} และ V_{aq} คือ ปริมาตรของตัวทำละลายสกัดหลังการสกัดและปริมาตรของสารละลายตัวอย่างตามลำดับ ซึ่งสามารถคำนวณได้ตามสมการที่ (2) และ (3)

$$ER = \frac{n_{sed}}{n_0} \times 100 = \frac{C_{sed} \times V_{sed}}{C_0 \times V_{aq}} \times 100 \quad \text{.....(2)}$$

$$ER = \frac{V_{sed}}{V_{aq}} \times EF \times 100 \quad \text{.....(3)}$$

ตารางที่ 1.1 แสดงสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยเทคนิค DLLME

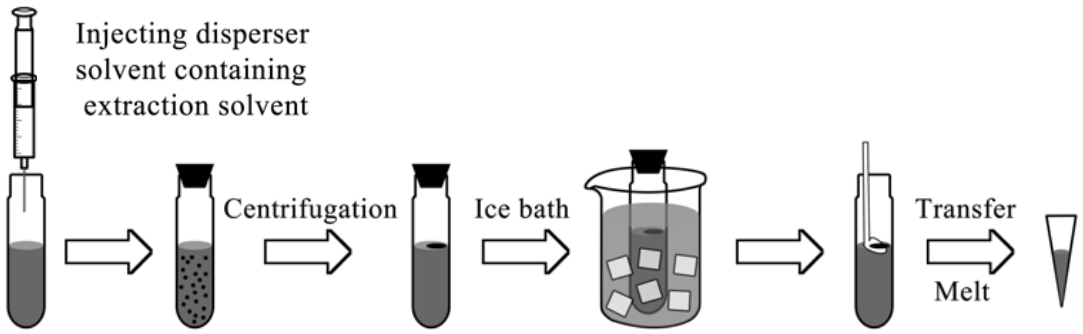
ชนิดตัวทำละลายสกัด	จุดหลอมเหลว (°C)	จุดเดือด (°C)	ความหนาแน่น (g/mL)
Dichloromethane	-95.1	40	1.33
Chloroform	-63.6	61.1	1.48
Carbon tetrachloride	-23.0	76.8	1.59

1.5.3 Dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop (DLLME-SFO)

DLLME-SFO (dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop) เป็นเทคนิคการสกัดที่ใช้หลักการเดียวกันกับ DLLME เพียงแต่ตัวทำละลายสกัดจะมีคุณสมบัติคือ มีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำและมีจุดหลอมเหลวที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง หลังจากที่ฉีดตัวทำละลายสกัดผสมตัวทำละลายกระจายตัวในสารละลายตัวอย่างแล้วนำไปเซนตริฟิวจ์ ตัวทำละลายสกัดจะลอยอยู่เหนือผิวสารละลายตัวอย่าง จากนั้นจึงนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งจนอุณหภูมิต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของตัวทำละลายสกัด และกลายเป็นของแข็งที่สามารถแยกออกมาจากสารละลายตัวอย่างได้ง่ายและละลายเมื่ออยู่ในอุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 1.2 แสดงสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO

ชนิดตัวทำละลายสกัด	จุดหลอมเหลว (°C)	จุดเดือด (°C)	ความหนาแน่น (g/mL)
1-decanol	6.4	233	0.83
1-undecanol	19	243	0.83
1-dodecanol	22-24	259	0.83



รูปที่ 1.3 กระบวนการสกัดแบบ Dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop (DLLME-SFO)

$$q = \left[\frac{V_{aq}}{(V_{aq} + KV_o)} \right]^n \quad \text{.....(4)}$$

สมการที่ (4) ข้างต้น เป็นสมการที่เกี่ยวข้องกับการสกัดแบบ DLLME-SFO โดยแสดงวิธีการคำนวณหาส่วน (fraction, q) ของสารที่สนใจที่ยังคงเหลืออยู่ในสารตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ เมื่อ V_{aq} คือปริมาตรของสารตัวอย่าง V_0 คือปริมาตรของตัวทำละลายสกัดอินทรีย์และ K คือสัมประสิทธิการกระจายตัว (partition coefficient) และ n คือจำนวนครั้งในการสกัด

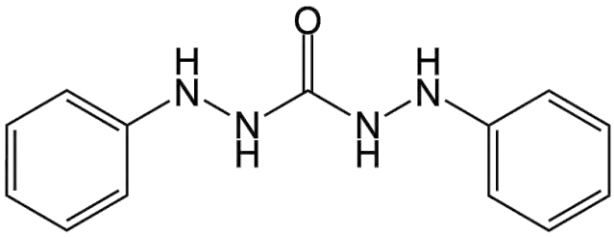
เนื่องจาก DLLME-SFO กระบวนการสกัดใช้ปริมาตรตัวทำละลายสกัดเพียงในระดับไมโครลิตร ดังนั้นจึงกำหนดให้ n มีค่าเท่ากับ 1 เพื่อที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด ค่า q ในสมการจะต้องมีค่าน้อยที่สุด การเพิ่มปริมาตรของตัวทำละลายสกัด และเลือกตัวสกัดที่มีค่า K สูงจะเป็นตัวที่ทำให้ค่า q ลดลง

1.5.4 สมบัติของ 1,5-Diphenylcarbazide (DPC)

ลักษณะทางกายภาพของ 1,5-Diphenylcarbazide (DPC) จะมีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดสีขาว มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ 170-172 °C สามารถละลายได้ในเอทานอล อะซีโตน กรดอะซีติก และมีน้ำหนักโมเลกุล 242.28 g/mol ดังแสดงในตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 สมบัติทางกายภาพของ 1,5-Diphenylcarbazide (DPC)

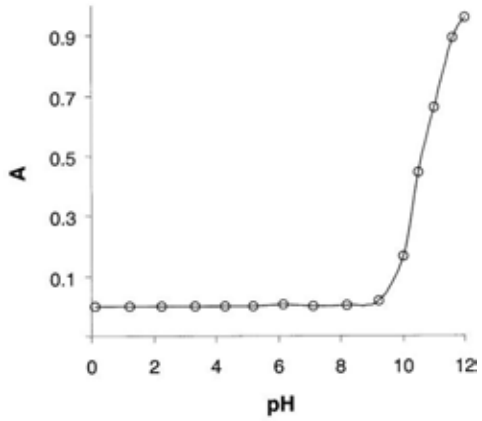
สูตรเคมี	$(C_6H_5.NH.NH)_2CO$ หรือ $C_{13}H_{14}N_4O$
ชื่ออื่น ๆ	2,2-Diphenylcarbonic dihydrazide
น้ำหนักโมเลกุล (g/mol)	242.28
ลักษณะ	ผงหรือเกล็ดสีขาว
ความสามารถในการละลาย	ละลายในเอทานอล อะซีโตน กรดอะซีติก
จุดหลอมเหลว (°C)	170-172
จุดเดือด	สลายตัว
ความหนาแน่น (g/mol)	420



รูปที่ 1.4 โครงสร้างของ 1,5-Diphenylcarbazide

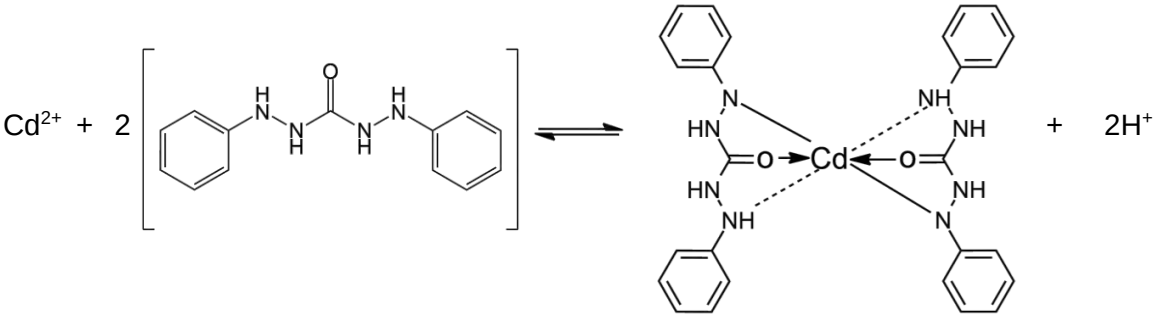
นอกเหนือจากคุณสมบัติทางกายภาพดังตารางที่ 1.3 แล้ว 1,5-Diphenylcarbazide ยังมีสมบัติด้านอุณหพลศาสตร์เฉพาะตัว กล่าวคือ 1,5-Diphenylcarbazide ในรูปสารละลายจะมีสีหลากหลายเมื่อ pH เปลี่ยนไป โดยที่ pH 0 ถึง 9 สารละลายของ 1,5-Diphenylcarbazideจะไม่มีสี แต่จะมีสีแดงที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 490 nm ระหว่าง pH 10 - 12 สารละลายสีแดง เกิดขึ้นจาก nucleophilic attack ของไอออนไฮดรอกไซด์ [13] กับ 1,5-Diphenylcarbazide ดังสมการ

$$\underset{\text{ไม่มีสี}}{DPC} + OH^- \rightleftharpoons \underset{\text{สีแดง}}{DPC\text{-}OH^-} + H^+$$



รูปที่ 1.5 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 nm ของสารละลาย 1,5-Diphenylcarbazide

เนื่องจากเทคนิคการสกัดแบบ DLLME และ DLLME-SFO จะใช้ตัวทำละลายสกัดที่ไม่มีขั้วจนถึงมีขั้วน้อย ในการสกัดไอออนของโลหะเช่นแคดเมียม จะต้องทำให้ไอออนของโลหะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ก่อน งานวิจัยเลือก 1,5-Diphenylcarbazide เป็นคีเลตในการจับไอออนของแคดเมียมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนดังสมการ



รูปที่ 1.6 สมการการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ 1,5-Diphenylcarbazide กับแคดเมียม

1.5.5 ปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดของ DLLME และ DLLME-SFO

กรณีสกัดไอออนโลหะ

1.5.5.1 ชนิดและปริมาตรของตัวทำละลายสกัด

ชนิดและปริมาตรของตัวทำละลายสกัดส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ตัวทำละลายสกัดแต่ละชนิดมีความสามารถในการสกัดแตกต่างกัน ขึ้นกับโครงสร้างของตัวทำละลายสกัดและตัวถูกละลาย หรือในที่นี้คือสารที่สนใจ คุณสมบัติของตัวทำละลายสกัดที่ต้องการ คือ ควรจะสามารถละลายได้ในตัวทำละลายกระจายตัวและมีค่าการละลายในน้ำต่ำ มีค่าสัมประสิทธิการกระจายตัวสูง และมีความจำเพาะต่อตัวถูกละลาย ปัจจัยด้านอื่นที่มีผลต่อการเลือกชนิดของตัวทำละลายสกัดคือ จุดเดือด ความหนาแน่น interfacial tension ความหนืด การกัดกร่อน การติดไฟ ความเสถียร ความเป็นพิษ ความพร้อมใช้งานของสาร และค่าใช้จ่าย

ปริมาตรของตัวทำละลายสกัดส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดโดยตรง จากสมการ (1) จะเห็นได้ว่า การเพิ่มปริมาตรตัวทำละลายสกัด จะทำให้ค่าการได้กลับคืนจะเพิ่มสูงขึ้น แต่ค่า enrichment factor จะลดลง อย่างไรก็ตาม ในกรณีของเทคนิค DLLME-SFO ค่า enrichment factor มีความสำคัญมากกว่าค่าการได้กลับคืน เนื่องจากสารที่สนใจที่สกัดออกมาจะละลายอยู่ในตัวทำละลายสกัดโดยที่ไม่มีการระเหยตัวทำละลายออก การเพิ่มปริมาตรของตัวทำละลายสกัดจะทำให้ค่า C_{sed} เนื่องจากผลของการเจือจาง (dilution effect)

ค่า enrichment factor แสดงให้เห็นถึงความจำเพาะของตัวทำละลายสกัดได้ (gain in sensitivity) นอกจากนี้ การใช้ตัวทำละลายสกัดปริมาตรสูงก่อให้เกิดสารละลายขุ่นที่ไม่เสถียร เนื่องจากพื้นที่ผิวระหว่างตัวทำละลายสกัดและสารละลายตัวอย่างมีค่าลดลง ดังนั้นส่วนใหญ่ การใช้ตัวทำละลายสกัดให้มีปริมาตรน้อยเป็นทางเลือกที่ดีที่สุด

1.5.5.2 ชนิดและปริมาตรของตัวทำละลายกระจายตัว

คุณสมบัติของตัวทำละลายกระจายตัวที่ดี คือ ต้องสามารถละลายได้ทั้งในตัวทำละลายอินทรีย์และสารตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ตัวอย่างตัวทำละลาย เช่น เมทานอล เอทานอล อะซีโตน และ อะซีโตรไนไตร นำมาเป็นตัวทำละลายกระจายตัว การเปลี่ยนตัวทำละลายกระจายตัวที่เป็นสารอินทรีย์ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด จึงต้องทำการพิจารณาชนิดของตัวทำละลายกระจายตัว นอกจากนี้ก็ต้องพิจารณาปริมาตรของตัวทำละลายกระจายตัวเช่นกัน ปริมาตรของตัวกระจายตัวที่เหมาะสมควรจะอยู่ในช่วง 5-500 ไมโครลิตร ถ้าปริมาตรน้อยเกินไป ปริมาณตัวกระจายอาจไม่พอในการเกิดหยดละอองขนาดเล็กในการสกัด ในทางกลับกัน ปริมาตรที่มากเกินไปจะทำให้ความมีขั้วของสาร

ตัวอย่างจะลดลง ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารที่สนใจลดลงส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง โดยทั่วไปแล้ว สัดส่วนของตัวทำละลายกระจายตัวและสารตัวอย่างจะอยู่ที่ประมาณ 1:5 ถึง 1:10

1.5.5.3 เวลาที่ใช้ในการสกัด

เวลาในการสกัดเป็นเวลาที่น้อยที่สุดที่จะเกิดสมดุลระหว่างหยดอินทรีย์และสารตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ หากใช้เวลามากเกินไปก่อนกระบวนการทำให้ตัวสกัดอินทรีย์กลายเป็นของแข็ง จะเป็นการยืดเวลาการสกัดอย่างไม่จำเป็น ในทางกลับกัน หากแยกตัวสกัดอินทรีย์ออกมาก่อนที่จะถึงสมดุล ปริมาณของสารที่สนใจที่สกัดออกมาได้จะน้อยลง ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด โดยปกติแล้วเวลาที่ใช้จะอยู่ในช่วงไม่กี่วินาทีหรือไม่กี่นาทีเพียงพอที่จะทำได้เกิดสมดุลระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์และสารละลายตัวอย่าง กล่าวโดยย่อคือ เวลาการสกัดจะไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดตราบใดที่ทำการแยกเฟส ณ หรือหลังจากความเข้มข้นของสารที่สนใจเข้าสู่สมดุล

1.5.5.4 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

การเพิ่มอุณหภูมิของสารตัวอย่าง จะช่วยเพิ่มการแพร่ (diffusion) ของสารที่สนใจและเพิ่ม partitioning ของสารที่สนใจระหว่างตัวสกัดอินทรีย์และสารละลายตัวอย่าง และยังส่งผลต่อสมดุลและ precision ของวิธี ดังนั้นจะต้องควบคุมอุณหภูมิให้ดี นอกจากนี้ อุณหภูมิสูงสามารถเพิ่มความสามารถในการละลายของตัวทำละลายสกัดลงในสารละลายตัวอย่าง ผลดังกล่าวทำให้วิธีการสกัดแบบ DLLME-SFO ต้องสกัดที่อุณหภูมิห้อง (ambient temperature)

1.5.5.5 ค่า pH ของสารละลายตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ

โดยปกติแล้ว การสกัดสารอินทรีย์จากสารตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบสามารถทำได้เมื่อสารประกอบอินทรีย์นั้นอยู่ในรูปที่ไม่เป็นไอออน (nonionized state) อย่างไรก็ตาม สำหรับสารประกอบที่เกิดเป็นไอออนได้ (ionizable compound) ควรปรับค่า pH ของสารละลายตัวอย่างเพื่อให้สารประกอบนั้น ๆ อยู่ในรูปที่ไม่เป็นไอออนให้มากที่สุด

1.5.5.6 การคนสารและความเร็วในการคนสาร (stirring and stirring rate)

ขั้นตอนการกระจายตัว (dispersion step) ไม่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาตรของตัวทำละลายกระจายตัวเพียงอย่างเดียว แต่ขั้นตอนการผสมหรือการคนสารก็ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดเช่นกัน การเพิ่มความเร็วในการคนจะช่วยลดความหนาของฟิล์มที่แพร่ผ่าน (diffusion film) และเพิ่ม mass transfer ของสารที่สนใจระหว่างสารละลายตัวอย่างและตัวทำละลายสกัด

1.5.6 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometry

Ultraviolet-visible spectrophotometry เป็นเทคนิคการวิเคราะห์แบบ spectroscopy แบบหนึ่งที่อาศัยหลักการวัดการลดลงของ electromagnetic radiation เนื่องจากสารที่เกิดการดูดซับแสง (absorbing substance) ซึ่งการแผ่รังสี (radiation) จะมีสเปกตรัมอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190 – 800 นาโนเมตร ซึ่งจะมีความแตกต่างกันของช่วงพลังงานและประเภทของการกระตุ้น (excitation) การลดลงของ electromagnetic radiation เป็นผลมาจาก การสะท้อน (reflection), การกระเจิง (scattering), การดูดกลืน (absorption) หรือ การรบกวน (interference) อย่างไรก็ตาม การวัด electromagnetic radiation ที่ลดลงให้แม่นยำ สามารถวัดได้จากการดูดกลืนเท่านั้น โดยค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนกันกับความเข้มข้นของสารที่สนใจและระยะทางของแสงที่วิ่งผ่านสารตัวอย่างระหว่างการวัด ความสัมพันธ์ดังกล่าวเรียกว่า กฎของเบียร์ (Beer's law) ซึ่งเขียนได้ดังสมการที่ (6)

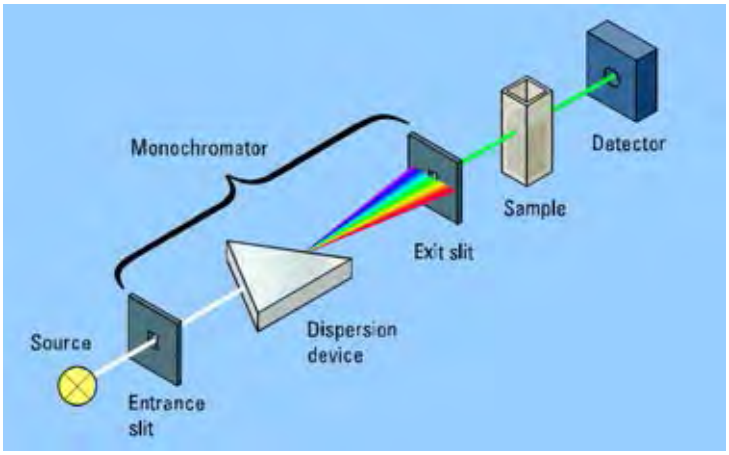
$$A = \varepsilon bc \qquad \text{.....(6)}$$

A คือ ค่าการดูดกลืนแสง

ε คือ molar absorbance coefficient มีหน่วยเป็น mol^{-1} L cm^{-1}

b คือ ระยะที่แสงส่องผ่านสารตัวอย่าง มีหน่วยเป็นเซนติเมตร

c คือ ความเข้มข้นของสารที่สนจหรือสารที่เป็นตัวดูดกลืนแสง มีหน่วยเป็น mol L^{-1}



รูปที่ 1.7 แสดงการจัดเรียงเครื่องของเครื่อง UV-visible spectrometer

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 อุปกรณ์การทดลอง

2.1.1.1 ไมโครปิเปตต์

2.1.1.2 กระบอกฉีดยาขนาด 3 mL หรือ 5 mL

2.1.1.3 หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์

2.1.1.4 หลอดทดลองขนาด 5 mL

2.1.1.5 บีกเกอร์

2.1.1.6 ช้อนตักสาร/ที่คีบ

2.1.1.7 หลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 mL

2.1.1.8 ขวดฉีดน้ำกลั่น

2.1.1.9 หลอดหยด

2.1.1.10 Quartz cuvette

2.1.1.11 Micro quartz cuvette

2.1.1.12 ถุงมือ

2.1.1.13 กระบอกตวงขนาด 50 mL

2.1.1.14 แผ่นพาราฟิล์ม

2.1.1.15 ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10, 25, 100, 250 mL

2.1.2 เครื่องมือการทดลอง

2.1.2.1 pH meter (Mettler Toledo, Thailand)

2.1.2.2 vortex (Vortex genie 2, Scientific Industries, USA)

2.1.2.3 centrifuge (Thermo Scientific, USA)

2.1.2.4 เครื่องชั่งดิจิตอล (Mettler Toledo, Thailand)

2.1.2.5 เครื่อง spectrophotometer (Spectronic200, Thermo Scientific, USA)

2.2 สารเคมี

2.2.1 แคดเมียมไนเตรด (1000 ppm, ACS, Merck, Germany)

2.2.2 โซเดียมคาร์บอเนต (99.7%, Riedel-de Haën, Germany)

2.2.3 โซเดียมไบคาร์บอเนต (99.7%, Merck, Germany)

2.2.4 ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ (97.0%, ACS, Fluka, Switzerland)

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

2.2.6 คลอโรฟอร์ม (99.0%, Kanto Chemical, Japan)

2.2.7 เมทานอล (99.9%, Honeywell, USA)

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

2.2.9 อะซีโตน (99.8%, ACS, Merck, Germany)

2.2.10 อะซีโตไนไตร (99.7%, Merck, Germany)

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

2.2.12 1-เดคานอล (99.0%, Merck, Germany)

2.2.13 น้ำ Milli-Q

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cd^{2+} solution) ความเข้มข้น 1 ppm

ปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียมไนเตรต $[Cd(NO_3)_2]$ ความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 1 mL ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 1000.00 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q จนถึงขีดกำหนดปริมาตร

2.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cd^{2+} solution) ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 10 mL สำหรับสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียมไนเตรต $[Cd(NO_3)_2]$ ความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 2 mL ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10.00 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q จนถึงขีดกำหนดปริมาตร

2.3.3 การเตรียมสารละลาย 1,5-diphenylcarbazide ปริมาตร 25 mL ที่ความเข้มข้น 10.0 mM

ชั่งน้ำหนัก 1,5-Diphenylcarbazide 0.06057 กรัม ใส่ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25.00 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอล

2.3.4 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1.0 M ปริมาตร 100 mL

ชั่งน้ำหนักโซเดียมไบคาร์บอเนต 3.8724 กรัม และโซเดียมคาร์บอเนต 5.7134 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเทใส่ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100 mL ก่อนจะละลายด้วยน้ำ Milli-Q และปรับปริมาตรจนถึงขีดกำหนดปริมาตร

ตารางที่ 2.1 สารและน้ำหนักของสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

	สารเคมี	น้ำหนัก (g)	โมลาริตี
pH 9.60	โซเดียมไบคาร์บอเนต (84 g/mol)	3.8724	0.461
	โซเดียมคาร์บอเนต (106 g/mol)	5.7134	0.539

2.3.5 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ

ปิเปตสารละลายแคดเมียม 200 ppm ตามปริมาตรที่กำหนดดังตารางที่ 2.2 ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10.00 mL จากนั้นปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์ pH 9.6 ความเข้มข้น 1.0 M ลงไป 1 mL จึงปิเปตสารละลาย 1,5-Diphenylcarbazide ปริมาตร 1 mL ลงไป จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 2 ชั่วโมง นำสารละลายจากแต่ละจุดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 496 nm

ตารางที่ 2.2 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานแคดเมียมในชั้นสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ

จุดที่	$[Cd^{2+}]$ (ppm)	ปริมาตรแคดเมียม 200 ppm ที่ต้องปิเปตมา (μL)	ปริมาตรสารละลายบัฟเฟอร์ pH 9.6,1.0 M (mL)	ปริมาตรสารละลาย DPC (mL)	ปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli-Q เป็น (mL)	
1	0.0	0	1.00	1.00	10.00	**ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง**
2	1.0	50	1.00	1.00	10.00	
3	2.0	100	1.00	1.00	10.00	
4	3.0	125	1.00	1.00	10.00	
5	3.5	150	1.00	1.00	10.00	
6	4.0	200	1.00	1.00	10.00	

2.3.6 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์

นำสารละลายที่ได้จากการเตรียมสารละลายจากตารางที่ 2.2 ในแต่ละจุดมาจุดละ 5 mL ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 mL จากนั้นเติมตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ลงไป 10 mL แล้วทำการ Vortex เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำชั้นตัวทำละลายสกัดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 521 nm

ตารางที่ 2.3 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์

จุดที่	ความเข้มข้นของแคดเมียม (ppm)	ปริมาตรวัฏภาคที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ (mL)	ปริมาตรของวัฏภาคตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ (mL)	ทำการสกัดในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 mL ก่อนนำชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible
1	0.0	5.00	10.00	
2	1.0	5.00	10.00	
3	2.0	5.00	10.00	
4	3.0	5.00	10.00	
5	3.5	5.00	10.00	

2.3.7 การสกัดด้วยเทคนิค DLLME

2.3.7.1 ขั้นตอนการสกัดด้วยเทคนิค DLLME

1. นำสารละลายตัวอย่างที่มี Cd (II) ความเข้มข้น 1 ppm ปริมาตร 10.00 mL ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 15 mL
2. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH ที่กำหนดลงไป 1 mL
3. ผสมสารละลาย 1.5-Diphenylcarbazide 1 mL ตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวตามชนิดและปริมาตรที่กำหนดในหลอด micro tube
4. นำสารละลายจากข้อ 3. บรรจุใส่หลอดฉีดยา แล้วฉีดลงไปในสารตัวอย่าง
5. นำหลอดเซนตริฟิวจ์ไปเซนตริฟิวจ์ที่ 5000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสตามเวลาที่กำหนด
6. ใช้เข็มฉีดยาดูดตัวทำละลายสกัดออกจากสารละลายตัวอย่างออกมาใส่ลงในหลอดทดลอง
7. ระเหยตัวทำละลายสกัดออก นำส่วนที่เหลือละลายด้วยเมทานอลจนมีค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมแล้วนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer

2.3.7.2 การหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME

การหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME จะทำการหาภาวะที่เหมาะสมในพาราติเตอร์หนึ่ง โดยให้พารามิเตอร์อื่น ๆ มีค่าคงที่ หลังจากปรับพารามิเตอร์หนึ่งให้มีประสิทธิภาพการสกัดที่สูงที่สุดแล้ว จึงทำการปรับพารามิเตอร์อื่นต่อโดยที่ใช้พารามิเตอร์ที่ปรับให้มีประสิทธิภาพสูงสุดแล้วในการปรับพารามิเตอร์อื่นต่อไป

2.3.7.2.1 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสม

ชนิดของตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ทำการศึกษาแสดงไว้ดังตารางที่ 2.5 และใช้ภาวะในการสกัดเบื้องต้นคือ สกัดที่อุณหภูมิห้อง, ความเข้มข้น1,5-Diphenylcarbazide 5.0 mM, สารละลายบัฟเฟอร์ pH 9.6 1.0 M, ตัวทำละลายสกัด 350 µL, ตัวทำละลายกระจายตัว 800 µL, เวลาเซนตริฟิวจ์ 15 นาที 5000 rpm

ตารางที่ 2.4 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ทำการศึกษา

ชนิดตัวทำละลายสกัด	ชนิดตัวทำละลายกระจายตัว
Dichloromethane	methanol, ethanol, acetone, acetonitrile
Chloroform	methanol, ethanol, acetone, acetonitrile

2.3.7.2.2 ความเข้มข้นของ 1,5-Diphenylcarabzide ที่เหมาะสม

ปรับความเข้มข้นของ 1,5-Diphenylcarbazide ตั้งแต่ 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, 10.0 mM โดยเตรียมสารละลาย 5 mL จากสารละลาย 1,5-Diphenylcarbazide ความเข้มข้น 10.0 mM

ภาวะในการสกัดเบื้องต้น คือ สกัดที่อุณหภูมิห้อง, สารละลายบัฟเฟอร์ pH 9.6 1.0 M, ตัวทำละลายสกัด 350 µL, ตัวทำละลายกระจายตัว 800 µL, เวลาเซนตริฟิวจ์ 15 นาที 5000 rpm

ตารางที่ 2.5 ความเข้มข้นของ1,5-Diphenylcarbazide ที่ทำการศึกษา

ความเข้มข้น DPC (mM)	**DPC ความเข้มข้น 10 mM ที่ต้องปิเปตมา (mL)**	**ปรับปริมาตรด้วย เมทานอลเป็น (mL)**
1.0	0.50	5.00
3.0	1.50	5.00
5.0	2.50	5.00
7.0	3.50	5.00
10.0	5.00	5.00

2.3.7.2.1 อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่เหมาะสม

อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ทำการศึกษาได้แสดงไว้ดังตารางที่ 2.6 โดยภาวะในการสกัดเบื้องต้น คือสกัดที่อุณหภูมิห้อง สารละลายบัฟเฟอร์ pH 9.6 1.0 M เวลาเซนตริฟิวจ์ 15 นาที 5000 rpm

ตารางที่ 2.6 อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ทำการศึกษา

ปริมาตรตัวทำละลายสกัด (µL)	ปริมาตรตัวทำละลายกระจายตัว (µL)
350	800, 1000, 1500
500	800, 1000, 1500
1000	800, 1000, 1500

2.3.7.2.2 เวลาของเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่เหมาะสม

ปรับเวลาในการเซนตริฟิวจ์ตั้งแต่ 1, 3, 5, 10, 15 นาที ที่ 5000 rpm ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยภาวะการสกัดเบื้องต้น คือ สกัดที่อุณหภูมิห้อง สารละลายบัฟเฟอร์ pH 9.6 1.0 M

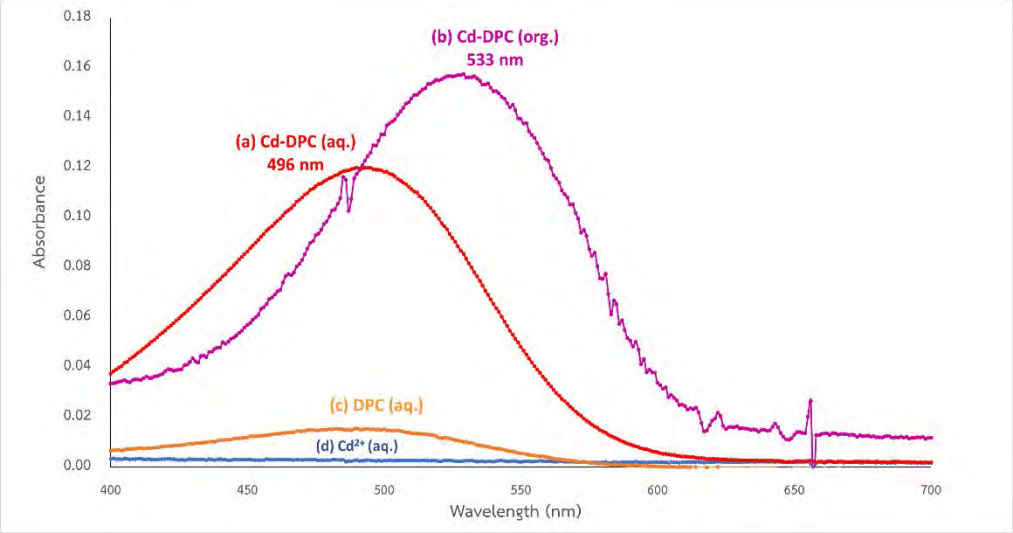
บทที่ 3

ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การสกัดระดับจุลภาค

ในการสกัดไอออนของโลหะออกจากสารตัวอย่าง จำเป็นต้องใช้คีเลตจับกับไอออนโลหะ เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์คือสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ และสามารถทำการติดตามการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของไอออนโลหะด้วยเทคนิค UV-visible spectroscopy ได้

ในงานวิจัยนี้ ได้ใช้ 1,5-Diphenylcarbazide (DPC) ที่มีสมบัติคือละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อย เป็นตัวเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนแคดเมียม[8] ในภาวะที่เหมาะสมที่ pH 9.6 จะสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนในชั้นสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ (aqueous phase) และมีค่า λ_{max} ที่ 496 nm และเมื่อทำการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย สารประกอบเชิงซ้อนของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์จะมี λ_{max} ที่ 533 nm

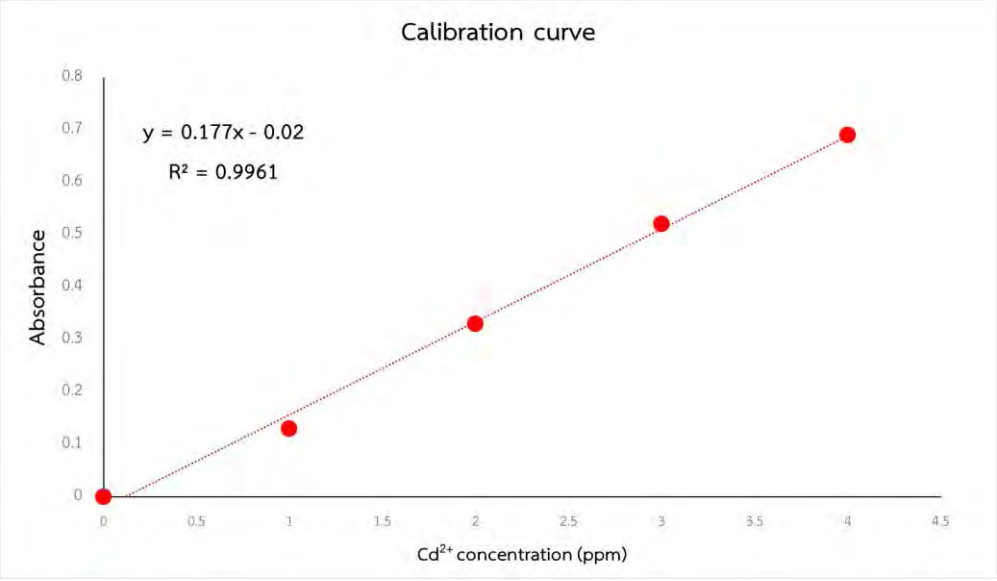


รูปที่ 3.1 UV-visible spectra ของ **(a)** สารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียม (Cd-DPC) ในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ **(b)** สารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียม (Cd-DPC) ในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ (1-decanol) **(c)** 1,5-Diphenylcarbazide ในชั้นสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ (DPC) **(d)** สารละลาย Cd^{2+} ในชั้นสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ

จาก UV-visible spectra ในรูป 3.1 จะเห็นได้ว่า ในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ จะมีการรบกวนค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมจาก 1,5-Diphenylcarbazide เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และสำหรับไอออนของแคดเมียมไม่มีการรบกวนค่าการดูดกลืนแสง

3.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ

การสกัดด้วยเทคนิค DLLME เพื่อหาปริมาณของแคดเมียมที่สกัดได้จะต้องสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ โดยในการสร้างกราฟมาตรฐานนั้นจะต้องทำให้ไอออนของแคดเมียมสามารถจับกับ 1,5-Diphenylcarbazide เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนภายในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ที่สามารถติดตามการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้ด้วย UV-visible spectrophotometer โดยภาวะในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแคดเมียมและ 1,5-Diphenylcarbazide และสร้างเป็นกราฟมาตรฐานได้คือ ที่ pH 9.6 และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 496 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด โดยขั้นตอนการเตรียมสารเพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานแสดงไว้ในตารางที่ 2.4

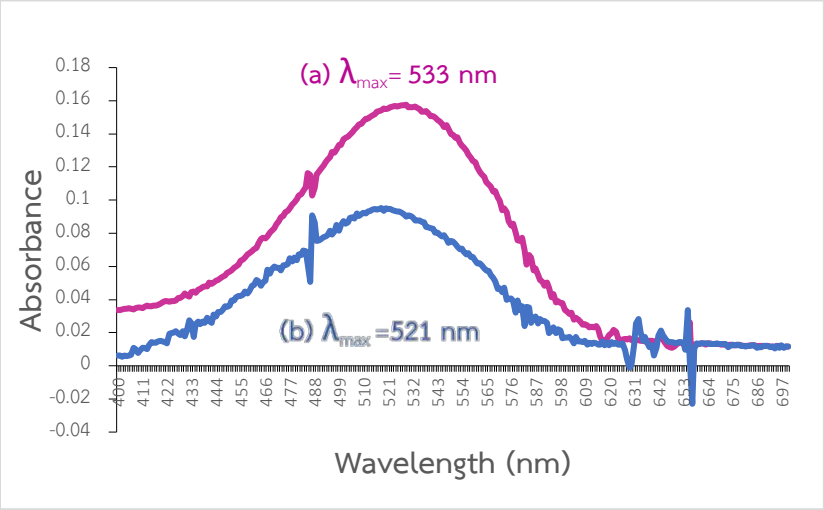


รูปที่ 3.2 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ ช่วงความเข้มข้น 0-4 ppm ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 496 nm

3.3 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์

การสกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO เป็นการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติ คือ สามารถเปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งได้ง่ายเนื่องจากมีจุดหลอมเหลวใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง ซึ่งสะดวกในการแยกชั้นตัวทำละลายสกัดออกจากชั้นน้ำ

อย่างไรก็ตาม ตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ที่จะใช้ในการสกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO มีสมบัติอีกประการหนึ่ง คือ มีจุดเดือดที่สูง (มากกว่า 100 ° C) จึงไม่สามารถระเหยตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ได้ ดังนั้นในการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อในการหาปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนของแคดเมียมที่สกัดเข้าไปในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ด้วยเทคนิค DLLME-SFO จึงต้องสร้างกราฟมาตรฐานของสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมและ 1,5-Diphenylcarbazide ในสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบขึ้นมาจากนั้นใช้เทคนิคการสกัด LLE ถ่ายสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมเข้าไปในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ที่เป็นตัวทำละลายสกัด



รูปที่ 3.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ (a) ชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ (1-decanol) หลังกระบวนการสกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO (b) ชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ (1-decanol) หลังกระบวนการสกัดด้วยเทคนิค LLE ภาวะการสกัดเบื้องต้น: pH 9.6, DPC 5.0 mM, เวลาเซนตริฟิวจ์ 15 นาที

รูปที่ 3.3 จะแสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์หลังสกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO และสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์หลังสกัดด้วยเทคนิค LLE

เมื่อพิจารณาสเปกตรัมทั้งสองเส้นในรูปที่ 3.1 พบว่าค่า λ_{max} ของชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์จากเทคนิค DLLME-SFO และเทคนิค LLE มีค่าแตกต่างกัน โดยชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์จากเทคนิค DLLME-SFO มีค่า λ_{max} ที่ 533 nm ส่วนชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์จากเทคนิค LLE มีค่า λ_{max} ที่ 521 nm

แม้ว่าการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้กราฟมาตรฐานที่สร้างจากวิธีการสกัดด้วยเทคนิค LLE ที่มี λ_{max} 521 nm จะสามารถทำได้ในทางทฤษฎี โดยเลือกวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 533 nm ที่ตรงกับ λ_{max} ของการสกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติ การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ไม่ได้อยู่ในบริเวณของ λ_{max} อาจมีความคลาดเคลื่อนของค่าการดูดกลืนแสงสูงเนื่องจากผลของ การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ (Deviation from Beer's law) เกิดขึ้น

การเบี่ยงเบนดังกล่าว เป็นการเบี่ยงเบนที่เกิดจากเครื่องมือ โดยตัวแยกความยาวคลื่น (Monochromator) ของเครื่อง UV-spectrophotometer อาจจะแยกความยาวคลื่นออกมาเป็นความยาวคลื่นเดียวไม่ได้ ทำให้มีความยาวคลื่นอื่นเข้ามารบกวน ถ้าทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วง λ_{max} ค่าการดูดกลืนแสงจะเปลี่ยนแปลงน้อยแม้ว่าความยาวคลื่นจะคลาดเคลื่อนไป แต่ถ้าหากวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงที่ไม่ λ_{max} การที่ความยาวคลื่นมีการคลาดเคลื่อนไปเพียง 1 หน่วย ก็ส่งต่อค่าการดูดกลืนแสงได้ ทำให้ส่งผลต่อเนื่องไปสู่ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ที่จะมีช่วงความเป็นเส้นตรง (linear range) น้อย จึงไม่สามารถสร้างกราฟมาตรฐานที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมที่สกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO ได้ ผู้วิจัยจึงยุติการศึกษาวิธีการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME-SFO

3.4 การสกัดด้วยเทคนิค DLLME

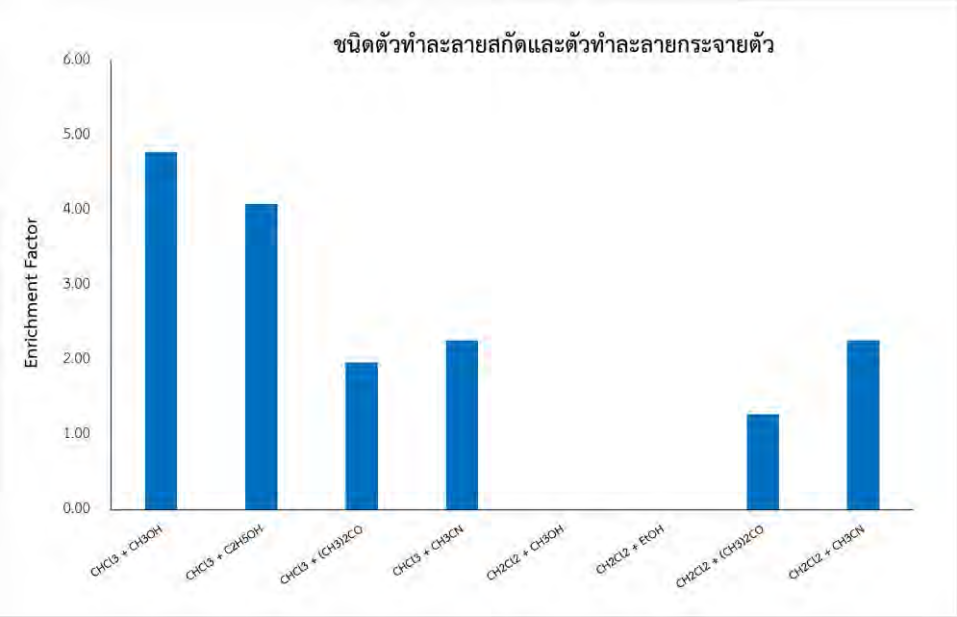
การสกัดด้วยเทคนิค DLLME จะใช้ตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติ คือ มีจุดเดือดต่ำ (น้อยกว่า 100 °C) ทำให้สามารถระเหยตัวทำละลายสกัดออกไปได้จนหมดและละลายผงของแข็งที่เหลือด้วยน้ำ milli-Q และแอลกอฮอลล์ให้มีปริมาตรที่เหมาะสม ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 496 nm แล้วนำค่าไปเทียบกับกราฟมาตรฐานและคำนวณหาปริมาณของสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมที่สกัดได้ต่อไป

3.4.1 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียม

มีภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME ที่ทำการประเมิน ดังนี้ ชนิดของตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว ปริมาณของตัวเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (1,5-Diphenylcarbazide) อัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว และ เวลาในการเซนตริฟิวจ์

3.4.1.1 ชนิดของตัวทำละลายสกัด (extraction solvent) และตัวทำละลายกระจายตัว (disperser solvent)

งานวิจัยนี้ได้ทำการประเมินชนิดของตัวทำละลายสกัด ได้แก่ คลอโรฟอร์ม($CHCl_3$) และไดคลอโรมีเทน (CH_2Cl_2) และชนิดของตัวทำละลายกระจายตัว ได้แก่ เมทานอล(CH_3OH) เอทานอล (C_2H_6O) อะซีโตน ($(CH_3)_2CO$) อะซีโตรไนไตรล์ (CH_3CN) โดยใช้ตัวทำละลายสกัด 350 µL และตัวทำละลายกระจายตัว 800 µL



รูปที่ 3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวกับค่า enrichment factor (EF) ในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME ภาวะในการสกัด: สกัดที่อุณหภูมิห้อง DPC 5 mM pH 9.6 ตัวทำละลายสกัด 350 µL ตัวทำละลายกระจายตัว 800 µL เวลาเซนตริฟิวจ์ 15 นาที 5000 rpm

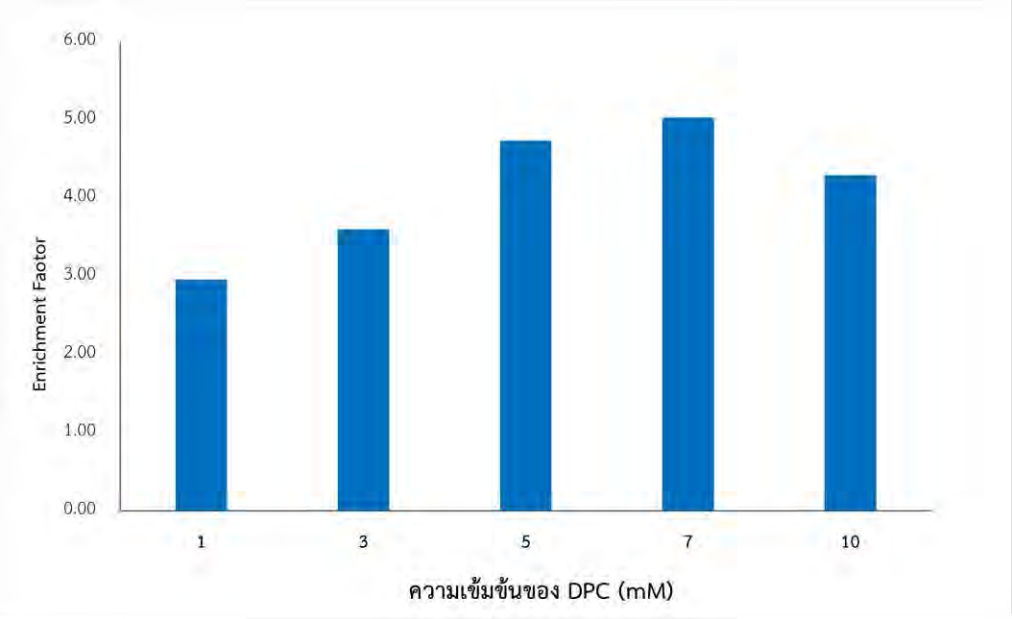
จากรูปที่ 3.3 จะเห็นได้ว่าระบบตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ให้ค่า enrichment factor สูงที่สุดคือ ตัวทำละลายสกัดคลอโรฟอร์มและตัวทำละลายกระจายตัวเมทานอล ซึ่งจะนำระบบการสกัดนี้ไปพัฒนาให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นต่อไป

อย่างไรก็ตาม ในตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวทุกชนิดจะเกิดการสูญเสียตัวทำละลาย (solvent loss) ไปในระหว่างการสกัด โดยเฉพาะตัวทำละลายสกัดไดคลอโรมีเทนกับตัวทำละลายกระจายตัวเมทานอลและเอทานอลที่เกิดการสูญเสียตัวทำละลายสกัดระหว่างการ

สกัดเนื่องจากเกิดการละลายเข้าไปอยู่ในชั้นสารตัวอย่างมากกว่าระบบอื่น ๆ จึงทำให้ไม่สามารถนำชั้นตัวทำละลายสกัดมาวิเคราะห์ได้

3.4.1.2 ความเข้มข้นของ 1,5-Diphenylcarbazide (DPC)

1,5-Diphenylcarbazide (DPC) คือ ตัวเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่ใช้ในการจับกับแคดเมียมไอออนในสารละลายตัวอย่าง ให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายสกัดที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ

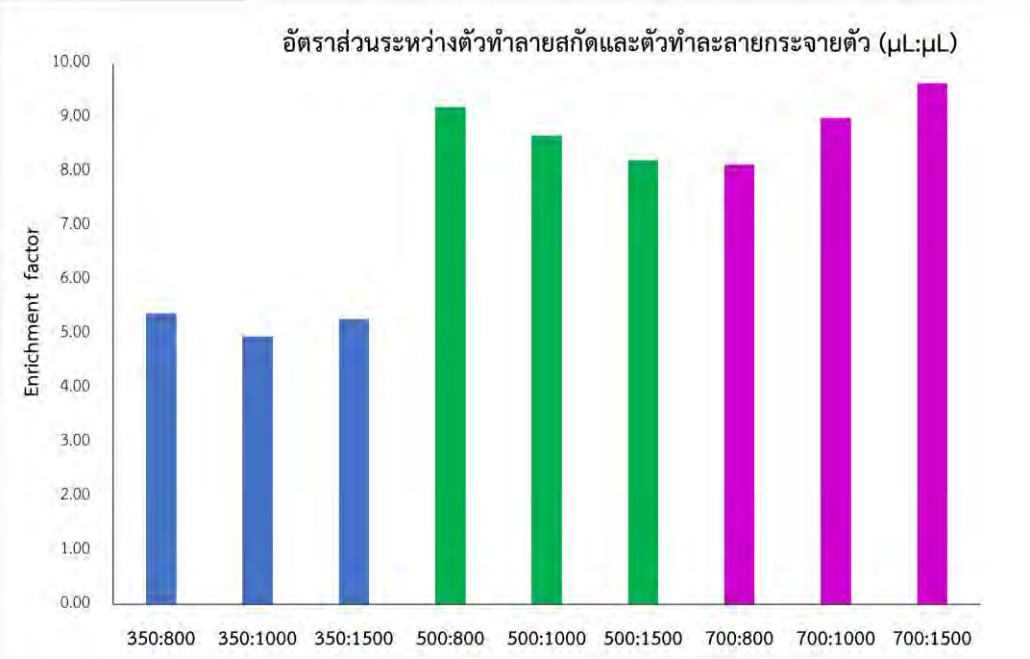


รูปที่ 3.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ 1,5-Diphenylcarbazide กับ ค่า enrichment factor (EF) ในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME ภาวะในการสกัด: สกัดที่อุณหภูมิห้อง pH 9.6 ตัวทำละลายสกัด(คลอโรฟอร์ม) 350 µL ตัวทำละลายกระจายตัว (เมทานอล) 800 µL เวลาเซนตริฟิวจ์ 15 นาที 5000 rpm ปริมาตรสารตัวอย่าง 10 mL

จากรูปที่ 3.4 จะเห็นได้ว่าปริมาณของ 1,5-Diphenylcarbazide ที่ให้ค่า enrichment factor สูงสุดคือ ปริมาณ 7.0 mM

3.4.1.3 อัตราส่วนตัวระหว่างตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว

ปริมาตรของตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด เมื่อทำการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของตัวทำละลายสกัด (คลอโรฟอร์ม) และตัวทำละลายกระจายตัว(เมทานอล) ดังตารางที่ 2.7 แล้ว ได้ผลลัพธ์ดังรูปที่ 3.6

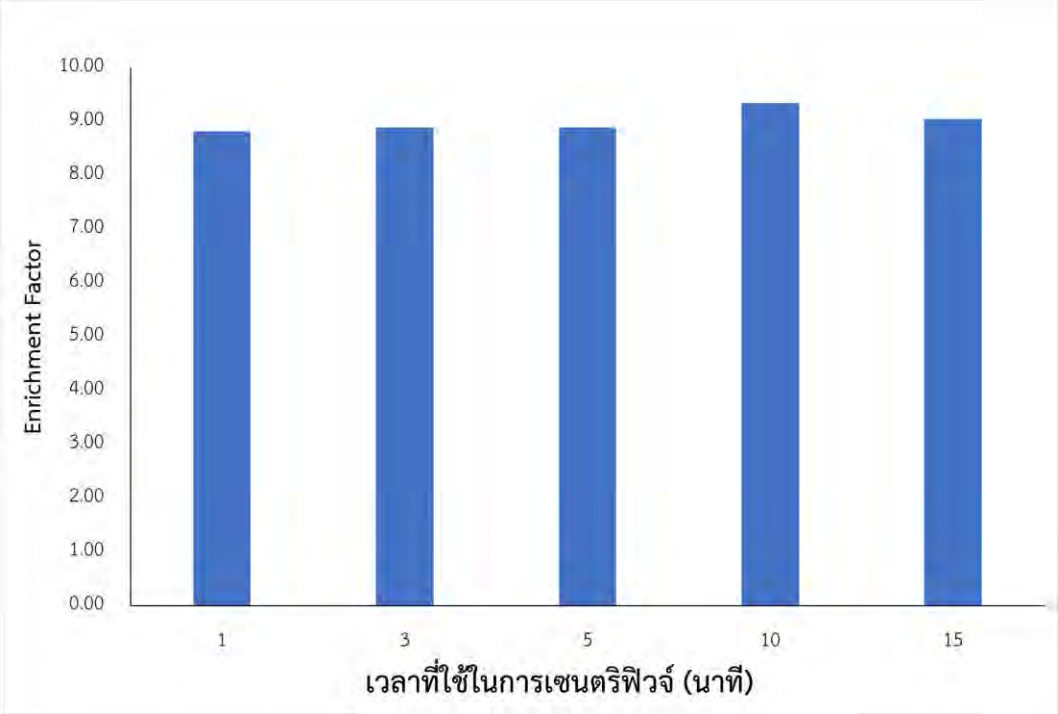


รูปที่ 3.6 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนตัวทำละลายสกัด (คลอโรฟอร์ม) และตัวทำละลายกระจายตัว (เมทานอล) กับค่า enrichment factor ในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME ภาวะในการสกัด: สกัดที่อุณหภูมิห้อง DPC 7.0 mM pH 9.6 เวลาเซนตริฟิวจ์ 15 นาที 5000 rpm ปริมาตรสารตัวอย่าง 10 mL

จากการทดลอง พบว่าอัตราส่วนตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัวที่ให้ค่า Enrichment factor (EF) สูงที่สุด คือ อัตราส่วนตัวทำละลายสกัด 700 µL และตัวทำละลายกระจายตัว 1500 µL รองลงมาคือตัวทำละลายสกัด 500 µLและตัวทำละลายกระจายตัว 800 µL

3.4.1.4 เวลาที่ใช้ในการเซนตริฟิวจ์

เวลาที่ใช้ในการเซนตริฟิวจ์ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด เนื่องจากการเซนตริฟิวจ์จะช่วยให้ตัวทำละลายสกัดสามารถแยกออกจากสารตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบได้ดีขึ้น เมื่อทำการปรับเปลี่ยนเวลาที่ใช้ในการเซนตริฟิวจ์ตั้งแต่ 1, 3, 5, 10 ,และ 15 นาที ได้ผลลัพธ์ดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.7 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการเซนตริฟิวจ์กับค่า enrichment factor ในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME ภาวะในการสกัด: สกัดที่อุณหภูมิห้อง DPC 7 mM pH 9.6 ตัวทำละลายสกัด 500 µL ตัวทำละลายกระจายตัว 800 µL รอบหมุน 5000 rpm

จากการหาเวลาในการเซนตริฟิวจ์ที่เหมาะสม พบว่าการเซนตริฟิวจ์ที่เวลาต่าง ๆ ให้ค่า Enrichment factor และร้อยละการได้กลับคืนใกล้เคียงกัน แต่เวลาที่ใช้ในการเซนตริฟิวจ์ที่ให้ค่า enrichment factor (EF) สูงที่สุด คือ ที่เวลา 10 นาที

3.5 การลดความเข้มข้นของแคดเมียมในสารตัวอย่างเริ่มต้น

จากการหาภาวะการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME ที่ผ่านมา จะใช้สารละลายตัวอย่างที่เป็นแคดเมียมความเข้มข้นคงที่ตลอดการทดลองคือ 1 ppm แต่หลังทำการสกัดด้วยเทคนิค DLLME พบว่ายังไม่สามารถสกัดสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมได้ทั้งหมด สังเกตได้จากสีของสารละลายที่ยังมีคงมีสีแดงหลงเหลืออยู่หลังจากการสกัดด้วยเทคนิค DLLME

ดังนั้นเพื่อสามารถสกัดสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมให้เข้าไปอยู่ในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ให้มากขึ้น ผู้วิจัยจึงทำการลดความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างแคดเมียมลงเหลือ 0.5 ppm และทำการสกัดโดยใช้ภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองก่อนหน้า

พบว่าหลังจากการสกัดด้วยเทคนิค DLLME สารละลายตัวอย่างหลังการสกัดไม่มีสีแดงอีกต่อไป และเมื่อทำการคำนวณค่า Enrichment factor และร้อยละการได้กลับคืน พบว่ามีค่า 16.42 และ 76.03 ตามลำดับ ซึ่งเทียบกับการใช้สารตัวอย่างแคดเมียมเข้มข้นเดิม คือ 1 ppm จะมีค่า Enrichment factor และร้อยละการได้กลับคืน อยู่ที่ 9.34 และ 43.24 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่า Enrichment factor และร้อยละการได้กลับคืนเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากสามารถสกัดสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมได้มากขึ้น

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

4.1 การสกัดระดับจุลภาค

การสกัดระดับจุลภาคในการสกัดแคดเมียมออกจากสารละลายตัวอย่าง สามารถใช้ 1,5-Diphenylcarbazide ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนแคดเมียมได้ และสามารถสกัดสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมให้เข้าไปอยู่ในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ได้

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ

สามารถสร้างกราฟมาตรฐานในชั้นสารละลายที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ (aqueous solution) ได้ โดยความเข้มข้นของแคดเมียมที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 0-4 ppm

4.3 การสร้างกราฟมาตรฐานของแคดเมียมในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์

ผู้วิจัยไม่สามารถสร้างกราฟมาตรฐานในชั้นตัวทำละลายสกัดอินทรีย์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียมที่สกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO ได้ เนื่องจากผลของการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ จึงยุติการสกัดด้วยเทคนิค DLLME-SFO

4.4 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME

การสกัดแคดเมียมในอาหารด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัของเหลวแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction: DLLME) ตามด้วยการตรวจวัดโดย UV-visible spectrophotometry พบสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมในสารละลายตัวอย่างดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแคดเมียมด้วยเทคนิค DLLME ในสารตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ

พารามิเตอร์	**ภาวะที่เหมาะสม**
ปริมาตรสารละลายตัวอย่าง	10 มิลลิลิตร
pH	Carbonate-bicarbonate Buffer, 1.0 M, pH 9.6
ตัวทำละลายสกัด	คลอโรฟอร์ม 700 µL
ตัวทำละลายกระจายตัว	เมทานอล 1500 µL
ความเข้มข้นของ DPC	7.0 mM
เวลาในการเซนตริฟิวจ์	10 นาที

4.5 การลดความเข้มข้นของแคดเมียมในสารตัวอย่างเริ่มต้น

การลดความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างแคดเมียมจาก 1 ppm เหลือ 0.5 ppm และทำการสกัดด้วยภาวะการสกัดที่เหมาะสม ทำให้ได้ค่า Enrichment factor และร้อยละการได้กลับคืนเพิ่มขึ้นเป็น 16.42 และ 76.03 ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาพารามิเตอร์อื่น ๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด เช่น อุณหภูมิระหว่างการสกัด เวลาในการสกัด
2. ศึกษาการสกัดโดยใช้ ligand ชนิดอื่น ๆ ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับแคดเมียม เช่น Dithizone, 8-hydroxy quinoline ที่สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับแคดเมียมและแสดงผลทาง UV-visible spectroscopy ได้
3. เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการเตรียมสารตัวอย่างที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผู้วิจัยแนะนำให้ศึกษาชนิดของตัวทำละลายสกัดชนิดอื่น ๆ ที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมน้อยลง ตัวอย่างตัวทำละลายสกัด เช่น buta-1-ol, octa-1-ol ซึ่งเป็นแอลกอฮอลล์สายยาว ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อย ราคาถูก จัดการได้ง่าย
4. ศึกษาหาค่า LOD และ LOQ ของเทคนิคการสกัด DLLME
5. ศึกษาผลการรบกวนจากไอออนโลหะชนิดอื่น ๆ ว่ารบกวนประสิทธิภาพในการสกัดแคดเมียมหรือไม่ เช่น ไอออนของโครเมียม(III), ตะกั่ว(II), นิกเกิล(II), แมงกานีส(II), ทองแดง(II), สังกะสี(II) และไอออนโลหะชนิดอื่น ๆ ที่อาจจะพบได้ในตัวอย่างจริง
6. ศึกษาการนำไปประยุกต์ใช้เทคนิคการวิเคราะห์แคดเมียมอื่น ๆ เช่น Paper-based sensor, ICP-OES, FAAS
7. งานวิจัยนี้ยังไม่ได้ทำการทดสอบการสกัดกับสารตัวอย่างจริง ดังนั้นควรมีการศึกษาส่วนของการสกัดในสารตัวอย่างจริงเพิ่มเติม เช่น ทดสอบว่าสามารถสกัดแคดเมียมในสารตัวอย่างจริงได้หรือไม่ ต้องมีการเตรียมสารตัวอย่างจริงก่อนการสกัดหรือไม่ อย่างไร

เอกสารอ้างอิง

[1] Fırat, M.; Bakırdere, S.; Fındıkoğlu, M. S.; Kafa, E. B.; Yazıcı, E.; Yolcu, M.; Büyükpınar, Ç.; Chormey, D. S.; Sel, S.; Turak, F., Determination of trace amount of cadmium using dispersive liquid-liquid microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **2017,** *129*, 37-41.

[2] Zhang, N.; Shen, K.; Yang, X.; Li, Z.; Zhou, T.; Zhang, Y.; Sheng, Q.; Zheng, J., Simultaneous determination of arsenic, cadmium and lead in plant foods by ICP-MS combined with automated focused infrared ashing and cold trap. *Food Chem* **2018,** *264*, 462-470.

[3] Kafa, E. B.; Fırat, M.; Chormey, D. S.; Turak, F.; Bakırdere, S., Sensitive determination of cadmium in lake water, municipal wastewater and onion samples by slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with microextraction strategy. *Measurement* **2018,** *125*, 219-223.

[4] Zhang, N.; Shen, K.; Yang, X.; Li, Z.; Zhou, T.; Zhang, Y.; Sheng, Q.; Zheng, J., Simultaneous determination of arsenic, cadmium and lead in plant foods by ICP-MS combined with automated focused infrared ashing and cold trap. *Food Chem* **2018,** *264*, 462-470.

[5] Vian, M.; Breil, C.; Vernes, L.; Chaabani, E.; Chemat, F., Green solvents for sample preparation in analytical chemistry. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* **2017,** *5*, 44-48.

[6] Rocha, D. L.; Batista, A. D.; Rocha, F. R. P.; Donati, G. L.; Nóbrega, J. A., Greening sample preparation in inorganic analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2013,** *45*, 79-92.

[7] de S. Dias, F.; Guarino, M. E. P. A.; Costa Pereira, A. L.; Pedra, P. P.; de A. Bezerra, M.; Marchetti, S. G., Optimization of magnetic solid phase microextraction with CoFe2O4 nanoparticles unmodified for preconcentration of cadmium in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal* **2019,** *146*, 1095-1101.

[8] Alahmad, W.; Tungkijanansin, N.; Kaneta, T.; Varanusupakul, P., A colorimetric paper-based analytical device coupled with hollow fiber membrane liquid phase microextraction (HF-LPME) for highly sensitive detection of hexavalent chromium in water samples. *Talanta* **2018,** *190*, 78-84.

[9] Yao, T.; Tu, Q.; Han, X.; Zhang, L.; Wang, D.-E.; Li, M.; Chen, S.; Wang, J., SiO2 nanoparticles and diphenylcarbazide doped polymethylmethacrylate electrospun fibrous film for Cd^{2+} colorimetric detection. *Anal. Methods* **2014,** *6* (12), 4102-4106.

[10] Sanchez-Hachair, A.; Hofmann, A., Hexavalent chromium quantification in solution: Comparing direct UV–visible spectrometry with 1,5-diphenylcarbazide colorimetry. *Comptes Rendus Chimie* **2018,** *21* (9), 890-896.

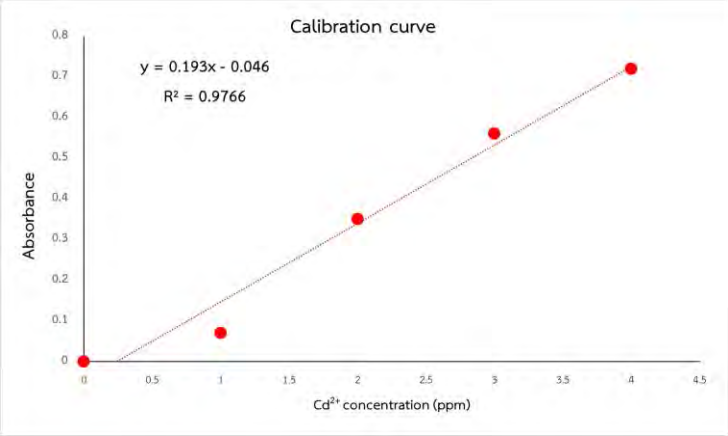
[11] Borzoei, M.; Zanjanchi, M. A.; Sadeghi-Aliabadi, H.; Saghaie, L., Optimization of a methodology for determination of iron concentration in aqueous samples using a newly synthesized chelating agent in dispersive liquid-liquid microextraction. *Food Chem* **2018,** *264*, 9-15.

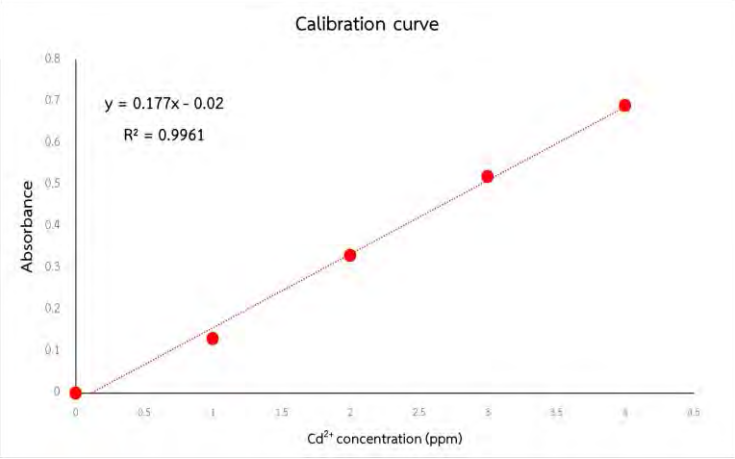
[12] Lima, L. C.; Papai, R.; Gaubeur, I., Butan-1-ol as an extractant solvent in dispersive liquid-liquid microextraction in the spectrophotometric determination of aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **2018,** *50*, 175-181.

[13] Salinas-Hernández, P.; Rojas-Hernández, A.; Ramírez-Silva, M. T., Kinetic and thermodynamic study of the behaviour of diphenylcarbazide in aqueous solution with pH. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2003,** *59* (11), 2667-2675.

ภาคผนวก

1. **กราฟเทียบมาตรฐานของแคดเมียม** ที่ความเข้มข้น 0-4 ppm โดยใช้แบลงค์คือ สารละลายบัฟเฟอร์ผสมกับสารลาย 1,5-Diphenylcarbazide และน้ำ Milli-Q วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectronic200 ที่ความยาวคลื่น 496 nm





2. สภาวะในการสกัดแคดเมียมที่เหมาะสม

2.1 ชนิดตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว

ตัวทำละลายสกัด	ตัวทำละลายกระจายตัว	V_{aq} (mL)	C_0 (mg/L)	V_{sed}(mL)	ปรับปริมาตรเป็น (mL)	Abs. (496 nm)					Cd conc.จาก calibration curve (mg/L)	ปริมาณ Cd (mg)	C_{sed} (mg/L)	Enrichment Factor	%Recovery
						ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	Avg	SD					
chloroform	methanol	10.8	1.0	0.35	1.00	0.28	0.30	0.25	0.28	0.03	1.67	0.00167	4.78	4.78	15.48
	ethanol	10.8	1.0	0.35	1.00	0.23	0.20	0.26	0.23	0.03	1.43	0.00143	4.09	4.09	13.24
	acetone	10.8	1.0	0.35	1.00	0.09	0.10	0.07	0.09	0.02	0.69	0.00069	1.96	1.96	6.36
	acetonitrile	10.8	1.0	0.35	1.00	0.05	0.11	0.16	0.11	0.06	0.79	0.00079	2.26	2.26	7.32
Dichloromethane	methanol	10.8	1.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	ethanol	10.8	1.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	acetone	10.8	1.0	0.35	1.00	0.09	0.02	0.01	0.04	0.04	0.45	0.00045	1.27	1.27	4.13
	acetonitrile	10.8	1.0	0.35	1.00	0.11	0.12	0.09	0.11	0.02	0.79	0.00079	2.26	2.26	7.32

ND = not detect

ตัวอย่างการคำนวณ

Chloroform และ Methanol:

สมการ Calibration curve: y = 0.193X - 0.046

ความเข้มข้นของ Cd หลังจาก reconstitution คำนวณจาก Calibration curve = (Average absorbance. + 0.046)/0.193 = (0.28 + 0.046)/0.193 = 1.67 mg/L

$C_{sed} = \frac{\text{Cd จาก Calibration curve(mg)}}{\text{1000 mL}}$ x ปริมาตรที่ reconstitution (mL) x $\frac{1}{\text{Vsed (mL)}}$ x $\frac{\text{1000 mL}}{\text{1 L}}$ = $\frac{\text{1.67 mg}}{\text{1000 mL}}$ x 1.00 mL x $\frac{1}{\text{0.35 mL}}$ x $\frac{\text{1000 mL}}{\text{1 L}}$ = 4.78 mg/L

Enrichment factor (EF) = $\frac{\text{Csed}}{\text{C0}} = \frac{\text{4.78 mg/L}}{\text{1.0 mg/L}}$ = 4.78

% Recovery = $\frac{\text{Vsed}}{\text{Vaq}}$ x EF x 100 = $\frac{\text{0.35 mL}}{\text{(10 mL+0.8 mL)}}$ x 4.78 x 100 = 15.48 %

2.2 ความเข้มข้นของ 1,5-Diphenylcarbazide

ความเข้มข้น DPC (mM)	V_{aq} (mL)	C_0 (mg/L)	V_{sed} (mL)	ปรับปริมาตรเป็น (mL)	Abs. (496 nm)					Cd conc. จาก calibration curve (mg/L)	ปริมาณ Cd (mg)	C_{sed} (mg/L)	Enrichment Factor	%Recovery
					ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	Avg	SD					
1	10.8	1.0	0.35	1.00	0.13	0.15	0.18	0.15	0.03	1.03	0.0010	2.95	2.95	9.56
3	10.8	1.0	0.35	1.00	0.23	0.16	0.2	0.20	0.04	1.26	0.0013	3.59	3.59	11.64
5	10.8	1.0	0.35	1.00	0.3	0.25	0.27	0.27	0.03	1.65	0.0017	4.73	4.73	15.32
7	10.8	1.0	0.35	1.00	0.28	0.33	0.27	0.29	0.03	1.76	0.0018	5.02	5.02	16.28
10	10.8	1.0	0.35	1.00	0.26	0.25	0.22	0.24	0.02	1.50	0.0015	4.28	4.28	13.88

ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้น DPC 7.0 mM:

สมการ Calibration curve: y = 0.193X - 0.046

ความเข้มข้นของ Cd หลังจาก reconstitution คำนวณจาก Calibration curve = (Average absorbance. + 0.046)/0.193 = (0.29 + 0.046)/0.193 = 1.76 mg/L

Csed = $\frac{\text{Cd จาก Calibration curve(mg)}}{\text{1000 mL}}$ x ปริมาตรที่ reconstitution (mL) x $\frac{1}{\text{Vsed (mL)}}$ x $\frac{\text{1000 mL}}{\text{1 L}}$ = $\frac{\text{1.76 mg}}{\text{1000 mL}}$ x 1.00 mL x $\frac{1}{\text{0.35 mL}}$ x $\frac{\text{1000 mL}}{\text{1 L}}$ = 5.02 mg/L

Enrichment factor (EF) = $\frac{\text{Csed}}{\text{C0}}$ = $\frac{\text{5.02 mg/L}}{\text{1.0 mg/L}}$ = 5.02

% Recovery = $\frac{\text{Vsed}}{\text{Vaq}}$ x EF x 100 = $\frac{\text{0.35 mL}}{\text{(10 mL+0.8 mL)}}$ x 5.02 x 100 = 16.28 %

2.3 อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายสกัดและตัวทำละลายกระจายตัว

ปริมาตรคลอโรฟอร์ม (uL)	ปริมาตรของเมทานอล (uL)	V_{aq} (mL)	C_0 (mg/L)	V_{sed} (mL)	ปรับปริมาตรเป็น (mL)	Abs. (496 nm)					Cd conc.จาก calibration curve (mg/L)	ปริมาณ Cd (mg)	C_{sed} (mg/L)	Enrichment Factor	%Recovery
						ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	avg	SD					
350	800	10.8	1.0	0.35	2.00	0.15	0.14	0.15	0.15	0.01	0.94	0.0019	5.38	5.38	17.44
	1000	11.0	1.0	0.35	2.00	0.16	0.12	0.12	0.13	0.02	0.87	0.0017	4.95	4.95	15.75
	1500	11.5	1.0	0.35	2.00	0.12	0.14	0.17	0.14	0.03	0.92	0.0018	5.27	5.27	16.05
500	800	10.8	1.0	0.5	2.00	0.4	0.39	0.37	0.39	0.02	2.30	0.0046	9.19	**9.19**	**42.55**
	1000	11.0	1.0	0.5	2.00	0.36	0.35	0.38	0.36	0.02	2.17	0.0043	8.66	8.66	39.38
	1500	11.5	1.0	0.5	2.00	0.34	0.33	0.36	0.34	0.02	2.05	0.0041	8.21	8.21	35.70
700	800	10.8	1.0	0.7	2.00	0.45	0.49	0.51	0.48	0.03	2.84	0.0057	8.12	8.12	52.66
	1000	11.0	1.0	0.7	2.00	0.55	0.54	0.52	0.54	0.02	3.15	0.0063	8.99	8.99	57.18
	1500	11.5	1.0	0.7	2.00	0.57	0.54	0.62	0.58	0.04	3.37	0.0067	9.63	9.63	58.63

ตัวอย่างการคำนวณ

ปริมาตรตัวทำละลายสกัด 500 µL ตัวทำละลายกระจายตัว 800 µL

สมการ Calibration curve: y = 0.177x - 0.02

ความเข้มข้นของ Cd หลังจาก reconstitution คำนวณจาก Calibration curve = (Average absorbance. + 0.02)/0.177 = (0.39 + 0.02)/0.177 = 2.30 mg/L

$$Csed = \frac{Cd \text{ จาก } Calibration\ curve(mg)}{1000\ mL} \times \textit{ปริมาตรที่} \text{ reconstitution (mL)} \times \frac{1}{Vsed\ (mL)} \times \frac{1000\ mL}{1\ L} = \frac{2.30\ mg}{1000\ mL} \times 2.00\ mL \times \frac{1}{0.50\ mL} \times \frac{1000\ mL}{1\ L} = 9.19\ mg/L$$

$$\text{Enrichment factor (EF)} = \frac{Csed}{C0} = \frac{9.19\ mg/L}{1.0\ mg/L} = 9.19$$

$$\%\ \text{Recovery} = \frac{Vsed}{Vaq} \times EF \times 100 = \frac{0.50\ mL}{(10\ mL + 0.8\ mL)} \times 9.19 \times 100 = 42.55\ \%$$

2.4 เวลาที่ใช้ในการเซนตริฟิวจ์

เวลาในการเซนตริฟิวจ์ (นาที)	V_{aq} (mL)	C_0 (mg/L)	V_{set} (mL)	ปรับปริมาตรเป็น (mL)	Abs. (496 nm)					Cd conc.คำนวณจาก calibration curve (mg/L)	ปริมาณ Cd (mg)	C_{sed} (mg/L)	Enrichment Factor	%Recovery
					ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	avg	SD					
1	10.8	1.0	0.5	2.00	0.36	0.38	0.37	0.37	0.01	2.20	0.00441	8.81	8.81	40.80
3	10.8	1.0	0.5	2.00	0.38	0.36	0.38	0.37	0.01	2.22	0.00444	8.89	8.89	41.15
5	10.8	1.0	0.5	2.00	0.41	0.35	0.36	0.37	0.03	2.22	0.00444	8.89	8.89	41.15
10	10.8	1.0	0.5	2.00	0.4	0.41	0.37	0.39	0.02	2.34	0.00467	9.34	9.34	43.24
15	10.8	1.0	0.5	2.00	0.39	0.39	0.36	0.38	0.02	2.26	0.00452	9.04	9.04	41.85

ตัวอย่างการคำนวณ

เวลาในการเซนตริฟิวจ์ 10 นาที

สมการ Calibration curve: y = 0.177x - 0.02

ความเข้มข้นของ Cd หลังจาก reconstitution คำนวณจาก Calibration curve = (Average absorbance. + 0.02)/0.177 = (0.39 + 0.02)/0.177 = 2.34 mg/L

Csed = $\frac{\text{Cd จาก Calibration curve(mg)}}{\text{1000 mL}}$ x ปริมาตรที่ reconstitution (mL) x $\frac{1}{\text{Vsed (mL)}}$ x $\frac{\text{1000 mL}}{\text{1 L}}$ = $\frac{\text{2.34 mg}}{\text{1000 mL}}$ x 2.00 mL x $\frac{1}{\text{0.50 mL}}$ x $\frac{\text{1000 mL}}{\text{1 L}}$ = 9.34 mg/L

Enrichment factor (EF) = $\frac{\text{Csed}}{\text{C0}}$ = $\frac{\text{9.34 mg/L}}{\text{1 mg/L}}$ = 9.34

% Recovery = $\frac{\text{Vsed}}{\text{Vaq}}$ x EF x 100 = $\frac{\text{0.50 mL}}{\text{(10 mL+0.8 mL)}}$ x 9.34 x 100 = 43.24 %

3. การสกัดด้วยเทคนิค DLLME ที่ความเข้มข้นของแคดเมียมในสารตัวอย่าง 0.5 ppm

V_{aq} (mL)	C_0 (mg/L)	V_{sed} (mL)	ปรับปริมาตรเป็น (mL)	Abs. (496 nm)					Cd conc.คำนวณจาก calibration curve (mg/L)	ปริมาณ Cd (mg)	C_{sed} (mg/L)	Enrichment Factor	%Recovery
				ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	avg	SD					
10.8	0.5	0.5	2.00	0.35	0.36	0.32	0.34	0.02	2.05	0.00411	8.21	16.42	76.03

ตัวอย่างการคำนวณ

สมการ Calibration curve: y = 0.177x - 0.02

ความเข้มข้นของ Cd หลังจาก reconstitution คำนวณจาก Calibration curve = (Average absorbance. + 0.02)/0.177 = (0.34 + 0.02)/0.177 = 2.05 mg/L

$$C_{sed} = \frac{\text{Cd จาก Calibration curve(mg)}}{1000\ \text{mL}} \times \text{ปริมาตรที่ reconstitution (mL)} \times \frac{1}{\text{Vsed (mL)}} \times \frac{1000\ \text{mL}}{1\ \text{L}} = \frac{2.05\ \text{mg}}{1000\ \text{mL}} \times 2.00\ \text{mL} \times \frac{1}{0.50\ \text{mL}} \times \frac{1000\ \text{mL}}{1\ \text{L}} = 8.21\ \text{mg/L}$$

$$\text{Enrichment factor (EF)} = \frac{\text{Csed}}{\text{C0}} = \frac{8.21\ \text{mg/L}}{0.5\ \text{mg/L}} = 16.42$$

$$\%\ \text{Recovery} = \frac{\text{Vsed}}{\text{Vaq}} \times \text{EF} \times 100 = \frac{0.50\ \text{mL}}{(10\ \text{mL} + 0.8\ \text{mL})} \times 16.42 \times 100 = 76.03\ \%$$

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวปาณิสรา สิงหเสนี เกิดเมื่อวันที่ 30 เดือน เมษายน พ.ศ. 2540 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบดินทรเดชา (สิงห์ สิงหเสนี) จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2557 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2558 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 48/2 แขวงนวลจันทร์ เขตบึงกุ่ม กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10230