

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี รุ่น HP 6890 และแมสสเปกโตรเมทรี รุ่น HP 5972 A ของ Hewlett Packard
2. คอลัมน์ HP-5 MS ของ Hewlett Packard แคปปีกลารีคอลัมน์ ความยาว 30 เมตรเคลือบด้วย (5% Phenyl)-methylpolysiloxane หน้า 0.25 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร
3. เมมเบรนชนิดเส้นใยกลวง (Hollow Fiber Membrane) รุ่น ACCUREL PP Q3/2 พอลิพรอพิลีนเมมเบรน เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 600 ไมโครเมตร ความหนาของผนังเมมเบรน 200 ไมโครเมตร และขนาดของรูพรุนที่ผนังเมมเบรน 0.2 ไมโครเมตร ของ Membrana ประเทศเยอรมนี
4. เครื่องปั่นกวนด้วยแม่เหล็ก (Magnetic Stirrer) ของ Framo รุ่น M21/1 ประเทศเยอรมนี
5. แม่เหล็ก (Magnetic Bar) ขนาด 2 x 7 มิลลิเมตร ของ Spinbar ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่องชั่งไฟฟ้าความละเอียด 5 ตำแหน่ง ของ Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
7. เครื่องอัลตราโซนิค ของ Crest Ultrasonic Corp. ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. เข็มฉีดยา (GC Microsyringe) ขนาด 100 ไมโครลิตร ของ Hewlett Packard
9. โวลูมเมตริกปิเปตขนาด 15 มิลลิลิตร
10. ขวดแก้วพร้อมเขย่าขนาด 20 มิลลิลิตร
11. ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 50 และ 100 มิลลิลิตร
12. ไมโครปิเปตขนาด 1-100 ไมโครลิตร

สารเคมี

1. แก๊สซีเลียมบริสุทธิ์ 99.999% UHP Grade ของ Thai Industrial Gas (TIG)
2. Acenaphthylene ($C_{12}H_8$) MW = 152 AR Grade ของ Supelco
3. Acenaphthene ($C_{12}H_{10}$) MW = 154 AR Grade ของ Supelco
4. Fluorene ($C_{13}H_{10}$) MW = 166 AR Grade ของ Supelco
5. Phenanthrene ($C_{14}H_{10}$) MW = 178 AR Grade ของ Supelco
6. Anthracene ($C_{14}H_{10}$) MW = 178 AR Grade ของ Supelco
7. Fluoranthene ($C_{16}H_{10}$) MW = 202 AR Grade ของ Supelco

8. Pyrene (C₁₆H₁₀) MW = 202 AR Grade ของ Supelco
9. Benzo[a]anthracene (C₁₈H₁₂) MW = 228 AR Grade ของ Supelco
10. Chrysene (C₁₈H₁₂) MW = 228 AR Grade ของ Supelco
11. อะซิโตน (Acetone) AR Grade ของ Fisher Scientific
12. ออกเทน (n-octane) AR Grade ของ CARLO ERBA
13. อะซิโตรไนไตรล์ (Acetonitrile) HPLC Grade ของ CHROMANORM
14. น้ำปราศจากไอออน (Deionized Water) ความต้านทาน 18.3 เมกะโห์ม

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเครื่องแก้ว

ก่อนนำมาใช้ ทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างเครื่องแก้ว ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปแช่ในกรดไนตริก 10% (v/v) ประมาณ 12 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วทำให้แห้งก่อนนำมาใช้

2. การเตรียมสารเคมี

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่ง PAHs ปริมาณ 0.0020 กรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซิโตรไนไตรล์ โดยเตรียมแยกกันทั้ง 9 ชนิด

2.2 การเตรียมสารละลาย PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน PAHs ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.1 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซิโตรไนไตรล์ โดยเตรียมแยกกันทั้ง 9 ชนิด

2.3 การเตรียมสารละลายผสม PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน PAHs ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.1 ปริมาตรอย่างละ 50 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซิโตรไนไตรล์ สำหรับหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์

2.4 การเตรียมสารละลาย PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน PAHs ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.1 ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซิโตรไนไตรล์ โดยเตรียมแยกกันทั้ง 9 ชนิด สำหรับศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

2.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้ว (Spiked Water Sample) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายผสม PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.2

ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน สำหรับศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด

2.6 การเตรียมตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้ว (Spiked Water Sample) สำหรับศึกษาความเที่ยง (Precision) และความแม่นยำ (Accuracy) ของ Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo[a]anthracene ที่ความเข้มข้น 25, 60 และ 90 นาโนกรัมต่อลิตร สำหรับ Chrysene ที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 475 นาโนกรัมต่อลิตร โดยปีเปตสารละลาย PAHs ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.4 ปริมาตร 25, 60 และ 90 ไมโครลิตร สำหรับ Chrysene ปริมาตร 125, 250 และ 475 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร PAHs 9 ชนิด ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์

โดยใช้สารละลายผสม PAHs ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.3

โดยสภาวะเริ่มต้นที่ใช้ศึกษาเป็นดังนี้

คอลัมน์	แก๊สโครมาโทกราฟีชนิด HP-5 MS ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร เคลือบด้วย (5% Phenyl)-methylpolysiloxane หนา 0.25 ไมโครเมตร
ปริมาตรที่ฉีด	1 ไมโครลิตร
เทคนิคการฉีด	แบบ Splitless เวลา 30 วินาที
แก๊สพา	ฮีเลียม ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
EM Voltage	2059
อิเล็กตรอนมัลติพลายเออร์	70 eV
ช่วงมวล	50 – 400 a.m.u.
Scan/Sec	2.16

การหาสภาวะที่เหมาะสมพิจารณาจากการแยกของสาร รีเทนชันไทม์ (Retention Time) สภาพไวของสารและเวลาทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์ สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณใช้วิธีการเลือกไอออนมาตรวจสอบ (Selected Ion Monitoring หรือ SIM Mode) โดยไอออนที่เลือกนำมาวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 ค่า m/z สำหรับการวิเคราะห์ PAHs ด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้ SIM Mode

(Rodil et al., 2007)

PAHs	Quantification Ion	Confirmation Ion
Acenaphthylene	152	153
Acenaphthene	153	154
Fluorene	166	165
Phenanthrene	178	176
Anthracene	178	176
Fluoranthene	202	200, 101
Pyrene	202	200, 101
Benzo[a]anthracene	228	226, 114
Chrysene	228	226, 114

4. การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลว (Liquid-phase Microextraction หรือ LPME) โดยใช้เมมเบรนชนิดแผ่นใยกลวง

4.1 การเตรียมอุปกรณ์และขั้นตอนในการสกัด

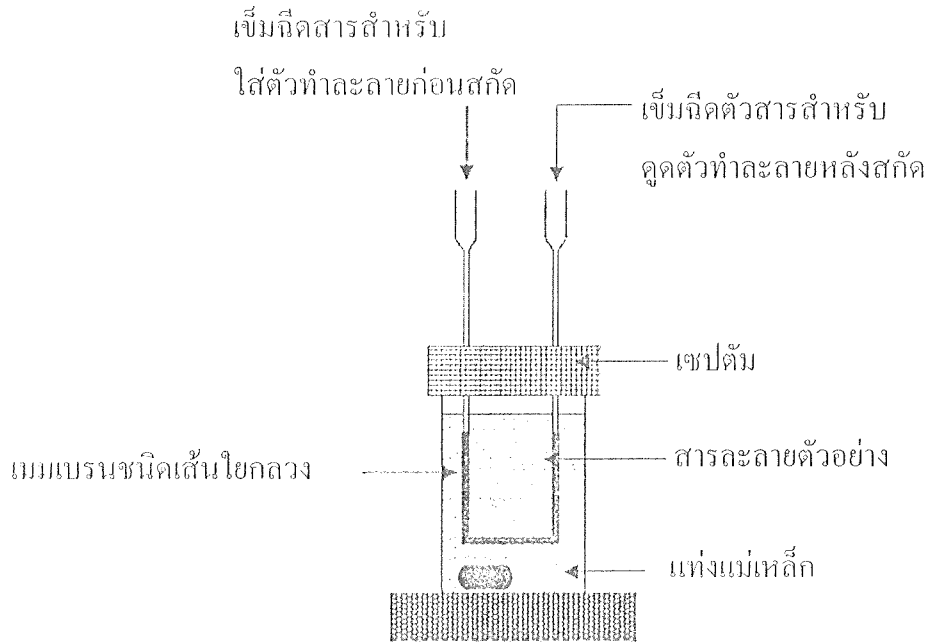
4.1.1 ตัดเมมเบรนออกเป็นท่อน ความยาวท่อนละ 5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปโซนิเคตในอะซิโตนเป็นเวลา 2-3 นาที แล้วนำออกมาวางทิ้งไว้ให้แห้ง

4.1.2 นำเมมเบรนที่แห้งแล้ว ไปแช่ในออกเทนเป็นเวลาอย่างน้อย 2-3 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าออกเทนเข้าไปอยู่ในรูพรุนที่ผนังของเมมเบรน แล้วนำมากำจัดออกเทนที่มากเกินไป ด้วยการใช้เข็มฉีดยาเป่าลมผ่านช่องกลางตรงกลางของเมมเบรน

4.1.3 เตรียมอุปกรณ์โดยนำเข็มฉีดยา 2 อันแทงทะลุผ่านเซปตัม นำปลายเข็มอันใดอันหนึ่งต่อเข้ากับปลายของเมมเบรนด้านหนึ่ง

4.1.4 เข็มอันที่เหลืออยู่ใช้ดูดออกเทนขึ้นมาปริมาณ 25 ไมโครลิตร นำไปบรรจุลงในช่องกลางของด้านที่เหลือของเมมเบรน เสร็จแล้วไม่ต้องดึงเข็มออกจะได้ออกเทนที่มีลักษณะเป็นรูปถ้วยปลาย ทั้งสองด้านต่อกับเข็มฉีดยาที่แทงทะลุผ่านเซปตัมและภายในบรรจุออกเทนพร้อมที่จะสกัด

4.1.5 ปิเปตตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้ว (Spiked Water Sample) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.5 ปริมาตร 15 มิลลิตร ลงในขวดแก้วที่มีแท่งแม่เหล็กอยู่ แล้วปิดด้วยเซปตัมจากข้อ 4.1.4 ทันทีหลังจากบรรจุออกเทนเสร็จ อุปกรณ์ในการสกัดแสดงดังภาพที่ 3-1



ภาพที่ 3-1 แผนภาพอุปกรณ์การสกัดด้วยเทคนิค LPME

สภาวะเริ่มต้นของการสกัดใช้ความเร็วในการปั่นกววน 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที (Charalabaki et al., 2005)

4.1.6 หลังเสร็จสิ้นการสกัด ถอดเมมเบรนที่ต่อกับปลายเข็มด้านใดด้านหนึ่งออก ส่วนเข็มอันที่เหลือซึ่งยังคงอยู่กับเมมเบรนอีกด้านหนึ่งใช้ดูดออกเทนออกมาจากช่องกลางของเมมเบรน จากนั้นนำออกเทนที่ถูกสกัดแล้วไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วยเทคนิค LPME

4.2.1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม

ตัวทำละลายที่ศึกษาได้แก่ ออกเทน โทลูอิน ไอโซออกเทน เฮกเซน และไซโคล เฮกเซน ปริมาตร 25 ไมโครลิตร นำตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้วความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.5 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ที่อัตราเร็วการปั่นกววน 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ โดยสกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง เมื่อใช้ตัวทำละลายต่าง ๆ

4.2.2 ศึกษาอัตราเร็วของการปั่นกววนที่เหมาะสม

โดยนำตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้ว ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.5 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ใช้ ออกเทน เป็นตัวทำละลาย สกัดที่อัตราเร็ว 0, 300, 500, 700,

1000 และ 1200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ โดยสกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ที่อัตราเร็วต่าง ๆ

4.2.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

โดยนำตัวอย่างน้ำที่เดิม PAHs แล้ว ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.5 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ใช้ออกเทนเป็นตัวทำละลาย สกัดที่อัตราเร็ว 700 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 30 และ 50 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ โดยสกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ที่เวลาต่าง ๆ

4.2.4 ศึกษาผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อประสิทธิภาพของการสกัด

โดยนำตัวอย่างน้ำที่เดิม PAHs แล้ว ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งปรับปริมาตรด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 30 (%w/v) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ใช้ออกเทนเป็นตัวทำละลาย ที่อัตราเร็ว 700 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ โดยสกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

5. การศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

5.1 การหาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection หรือ LOD)

โดยนำสารละลาย PAHs แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรจากข้อ 2.4 มาเจือจางและเตรียมเป็นตัวอย่างน้ำที่เดิม PAHs แล้ว ในช่วงความเข้มข้น 3-90 นาโนกรัมต่อลิตร มาสกัดด้วยวิธีข้อ 4.1 ด้วยสถานะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.2 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ เพื่อหาความเข้มข้นที่ให้สัญญาณจากการตรวจวัดเป็น 3 เท่าของสัญญาณรบกวน ($S/N = 3$) โดยใช้ค่าความสูงของพีค

5.2 การหาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of Quantitation หรือ LOQ)

โดยทำตามข้อ 5.1 เพื่อหาความเข้มข้นที่ให้สัญญาณจากการตรวจวัดเป็น 10 เท่าของสัญญาณรบกวน ($S/N = 10$) โดยใช้ค่าความสูงของพีค

5.3 กราฟมาตรฐาน (Calibration Curve)

โดยนำสารละลาย PAHs แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรจากข้อ 2.4 มาเจือจางและเตรียมเป็นตัวอย่างน้ำที่เดิม PAHs แล้ว ที่ความเข้มข้นดังตารางที่ 3-2 แล้วนำมาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ด้วยสถานะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.2 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ โดยสกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ที่แต่ละความเข้มข้น เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ 3-2 ความเข้มข้นของ PAHs ทั้ง 9 ชนิด ที่ใช้ศึกษากราฟมาตรฐาน

PAHs	ความเข้มข้น (นาโนกรัมต่อลิตร)
Accenaphthylene	20, 50, 80, 100, 120
Acenaphthene	20, 50, 80, 100, 120
Fluorene	15, 50, 80, 100, 120
Phenanthrene	10, 50, 80, 100, 120
Anthracene	10, 30, 50, 80, 100
Fluoranthene	10, 30, 50, 80, 100
Pyrene	15, 30, 50, 80, 100
Benzo[a]anthracene	15, 50, 80, 100, 120
Chrysene	100, 200, 300, 400, 500

5.4 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

โดยนำสารละลาย PAHs แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรจากข้อ 2.4 มาเจือจางและเตรียมเป็นตัวอย่างน้ำที่เดิม PAHs แล้ว ที่ความเข้มข้นดังตารางที่ 3-3 แล้วนำมาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ด้วยสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.2 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ โดยสกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละความเข้มข้น เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

ตารางที่ 3-3 ความเข้มข้นของ PAHs ทั้ง 9 ชนิด ที่ใช้ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

PAHs	ความเข้มข้น (นาโนกรัมต่อลิตร)
Accenaphthylene	20, 50, 80, 100, 120, 250, 500, 1000
Acenaphthene	20, 50, 80, 100, 120, 250, 500, 1000
Fluorene	15, 50, 80, 100, 120, 250, 500, 1000
Phenanthrene	10, 50, 80, 100, 120, 250, 500, 1000
Anthracene	10, 30, 50, 80, 100, 250, 500, 1000
Fluoranthene	10, 30, 50, 80, 100, 250, 500, 1000
Pyrene	15, 30, 50, 80, 100, 250, 500, 1000
Benzo[a]anthracene	15, 50, 80, 100, 120, 250, 500, 1000
Chrysene	100, 200, 300, 400, 500, 700, 1000, 2000

5.5 การศึกษาความเที่ยง (Precision)

5.5.1 การศึกษาความเที่ยงภายในวัน (Intra-day Precision)

โดยนำสารละลาย PAHs แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรจากข้อ 2.4 มาเจือจางและเตรียมเป็นตัวอย่างน้ำที่เดิม PAHs แล้ว ที่ 3 ระดับความเข้มข้น สำหรับ Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo[a]anthracene คือ 25, 60 และ 90 นาโนกรัมต่อลิตร และสำหรับ Chrysene คือ 125, 250 และ 475 นาโนกรัมต่อลิตร มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ด้วยสถานะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.2 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรมิเตอร์ สกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 6 ครั้ง นำข้อมูลมาคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation หรือ % RSD)

5.5.2 การศึกษาความเที่ยงระหว่างวัน (Inter-day Precision)

โดยเตรียมสารเคมีและทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 5.5.1 เตรียมสารเคมีใหม่และวิเคราะห์ทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 วัน

5.6 การศึกษาความแม่นยำ (Accuracy)

โดยนำสารละลาย PAHs แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรจากข้อ 2.4 มาเจือจางและเตรียมเป็นตัวอย่างน้ำที่เดิม PAHs แล้ว ที่ 3 ระดับความเข้มข้น สำหรับ Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo[a]anthracene คือ 25, 60 และ 90 นาโนกรัมต่อลิตร และสำหรับ Chrysene คือ 125, 250 และ 475 นาโนกรัมต่อลิตร มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ด้วยสถานะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.2 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรมิเตอร์ สกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง นำข้อมูลมาคำนวณค่าร้อยละการได้กลับคืน

6. การเตรียมตัวอย่างน้ำชา

6.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำชาจากใบชา

6.1.1 ชั่งใบชา 20.00 กรัม ใส่ลงในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่ร้อน และให้ความร้อนต่อจนเดือด

6.1.2 แช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ โดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่องให้ความร้อน

6.1.3 เมื่อครบ 60 นาที ค่อย ๆ ริน (Decant) น้ำชาที่ได้จากการต้มลงในบีกเกอร์ ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปวิเคราะห์

6.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำชาบรรจุขวด

โดยซื้อจากร้านค้าทั่วไปแล้วนำมาวิเคราะห์โดยไม่ต้องผ่านการเตรียมตัวอย่าง

7. การศึกษาอิทธิพลของสารรบกวนในตัวอย่งน้ำข่า (Matrix Effect)

โดยนำสารละลาย PAHs แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรจากข้อ 2.4 เดิมลงในตัวอย่างน้ำข่า เพื่อเตรียมเป็นตัวอย่างน้ำข่าที่เติม PAHs แล้ว ที่ 3 ระดับความเข้มข้น สำหรับ Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo[a]anthracene คือ 25, 60 และ 90 นาโนกรัมต่อลิตร และสำหรับ Chrysene คือ 125, 250 และ 475 นาโนกรัมต่อลิตร นำมาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ด้วยสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.2 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ สกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง โดยทำการศึกษาในน้ำข่าจากใบชา น้ำชาสมุนไพรและน้ำชาบรรจุขวด จากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณค่าร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery)

8. การวิเคราะห์หาปริมาณ PAHs ในตัวอย่างน้ำข่าด้วยวิธี Standard Addition

โดยเตรียมตัวอย่างน้ำข่าที่เติม PAHs แล้ว เพื่อให้ได้ตัวอย่างน้ำข่าที่มี Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo[a]anthracene ความเข้มข้น 0, 25, 60 และ 90 นาโนกรัมต่อลิตร และสำหรับ Chrysene ความเข้มข้น 0, 125, 250 และ 475 นาโนกรัมต่อลิตร โดยเปิดสารละลาย PAHs ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร จากข้อ 2.4 ปริมาตร 0, 25, 60 และ 90 ไมโครลิตร และสำหรับ Chrysene ปริมาตร 0, 125, 250 และ 475 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่างน้ำข่า นำมาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 ด้วยสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.2 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ สกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณ PAHs ในตัวอย่างน้ำข่า 19 ตัวอย่าง จากนั้นนำข้อมูลมาสร้างกราฟ Standard Addition เพื่อคำนวณหาปริมาณ PAHs