

บทที่ 4

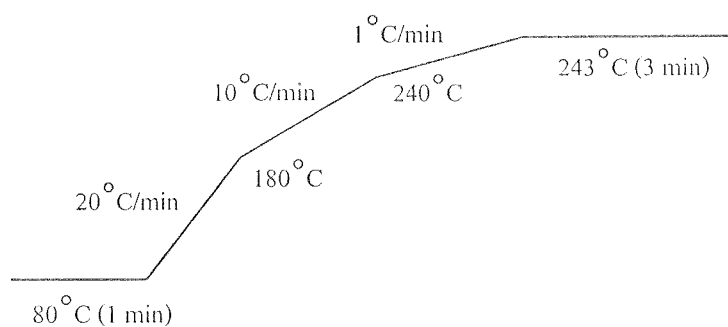
ผลการวิจัย

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร PAHs ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโท กราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS)

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร PAHs ด้วยเครื่อง GC-MS โดยใช้สารละลายผสม PAHs 9 ชนิด ได้แก่ Acenaphthylene (ACY), Acenaphthene (ACE), Fluorene (FL), Phenanthrene (PHEN), Anthracene (AN), Fluoranthene (FLUR), Pyrene (PY), Benzo[a]anthracene (BaA) และ Chrysene (CHRY) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่องเพื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้ Scan Mode ได้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องดังนี้

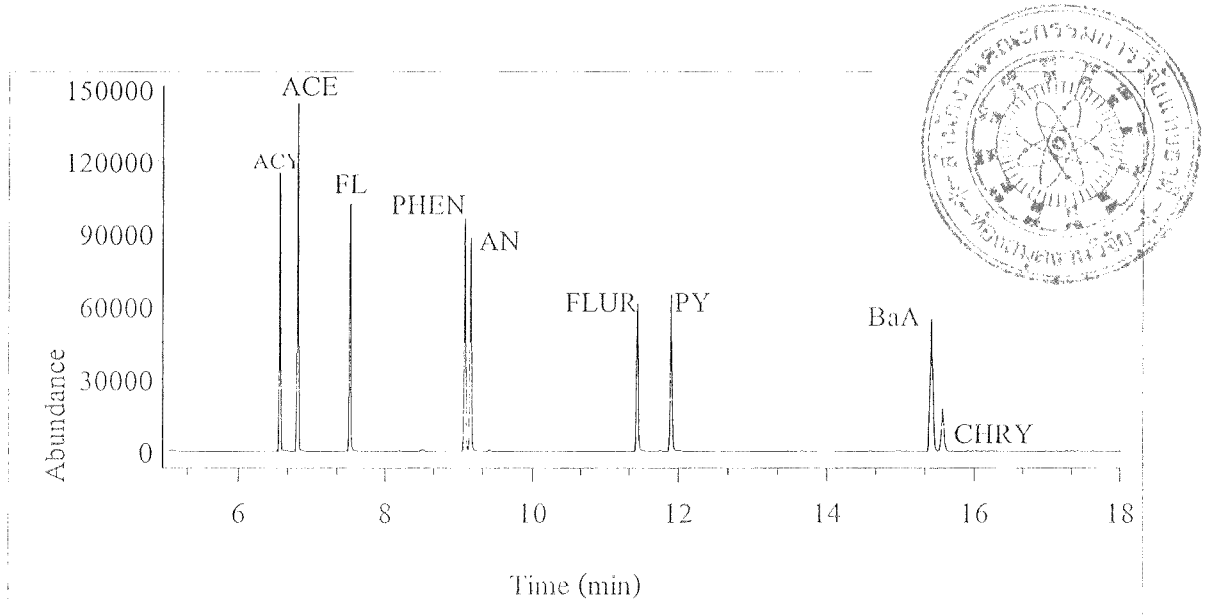
อัตราการไหลของแก๊สพา (ฮีเลียม)	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
สภาวะการฉีด	แบบ Splitless เวลา 30 วินาที
ปริมาตรที่ฉีด	1 ไมโครลิตร
อุณหภูมิของ Injection Port	250 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของดีเทกเตอร์	280 องศาเซลเซียส
เวลารวม	18 นาที

จากสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง นำมาศึกษาโปรแกรมอุณหภูมิ พบว่าได้โปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ PAHs ทั้ง 9 ชนิด แสดงดังในภาพที่ 4-1



ภาพที่ 4-1 โปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ PAHs ทั้ง 9 ชนิด

โครมาโทแกรมของสารละลายผสม PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้นอย่างละ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่วิเคราะห์ด้วยสถานะที่เหมาะสมของเครื่อง GC-MS และโปรแกรมอุณหภูมิที่ศึกษาได้ แสดงดังภาพที่ 4-2 และตารางที่ 4-1

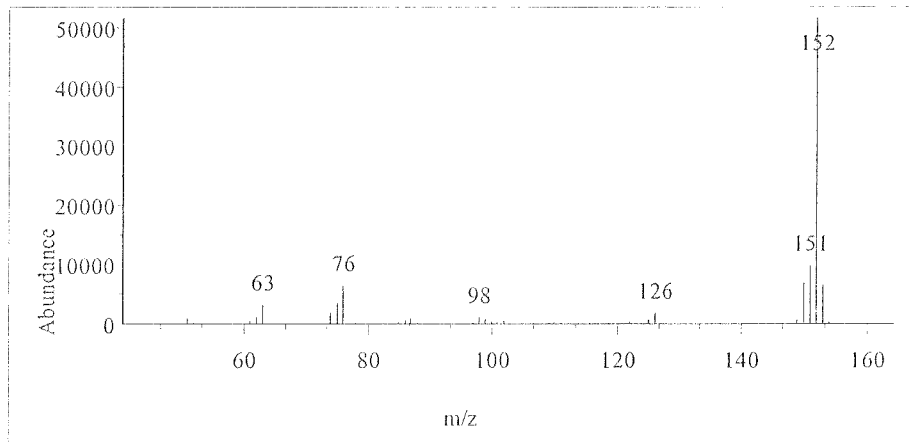


ภาพที่ 4-2 โครมาโทแกรมของสารละลายผสม PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

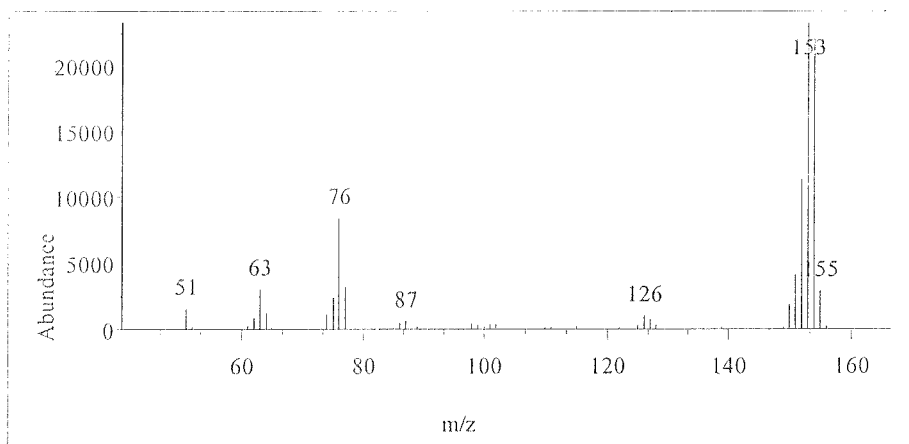
ตารางที่ 4-1 ค่ารีเทนชันไทม์ (Retention Time หรือ t_r) และค่าการแยก (Resolution หรือ R_s) ของ PAHs ทั้ง 9 ชนิด

PAHs	ค่ารีเทนชันไทม์ (นาที)	ค่าการแยก (R_s)
ACY	6.557	12.000
ACE	6.803	34.095
FL	7.519	66.851
PHEN	9.090	3.200
AN	9.170	85.849
FLUR	11.445	16.393
PY	11.904	99.070
BaA	15.421	3.576
CHRY	15.573	-

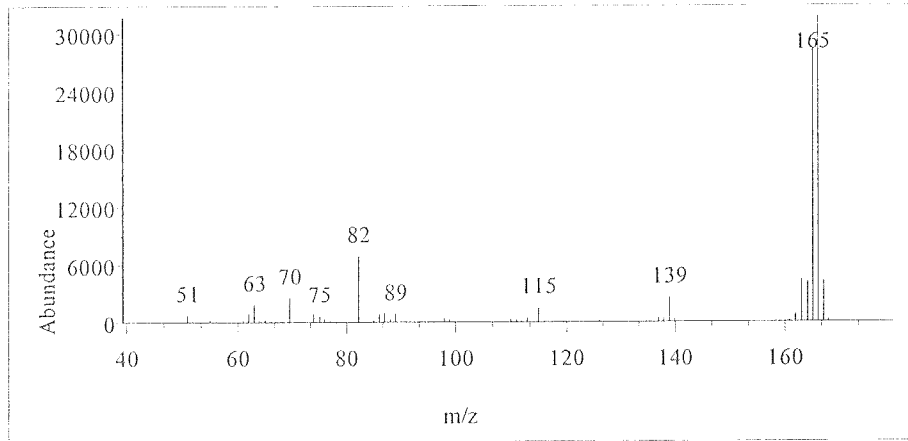
นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์ข้อมูลในเชิงคุณภาพด้วยแมสสเปกตรัมเพื่อบ่งชี้ว่าเป็นสาร PAHs ชนิดใด โดยแมสสเปกตรัมที่ได้จากฟลักของสารแต่ละชนิดแสดงดัง ภาพที่ 4-3 ถึง 4-11



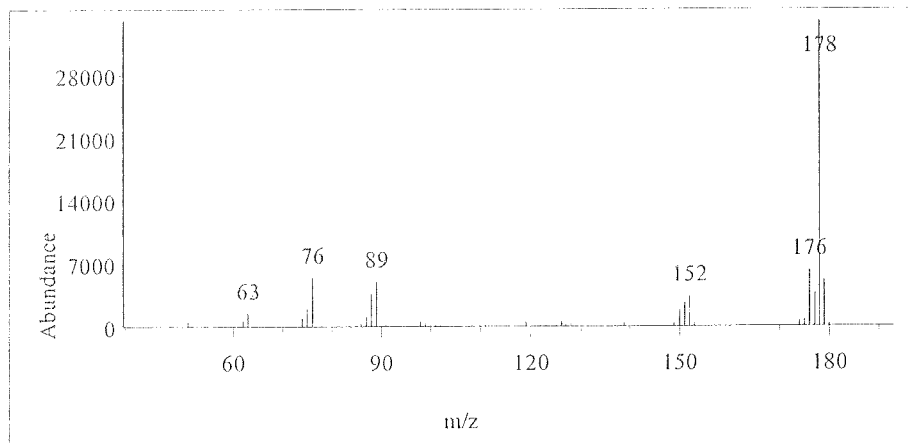
ภาพที่ 4-3 แมสสเปกตรัมของ Acenaphthylene



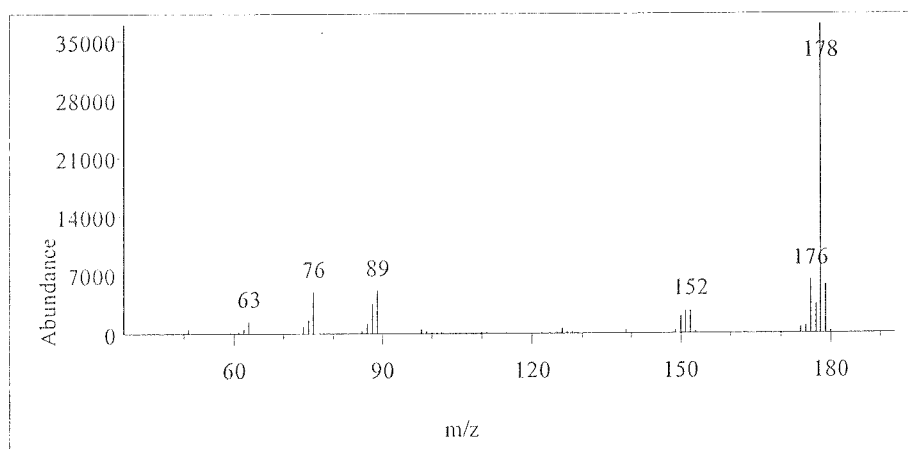
ภาพที่ 4-4 แมสสเปกตรัมของ Acenaphthene



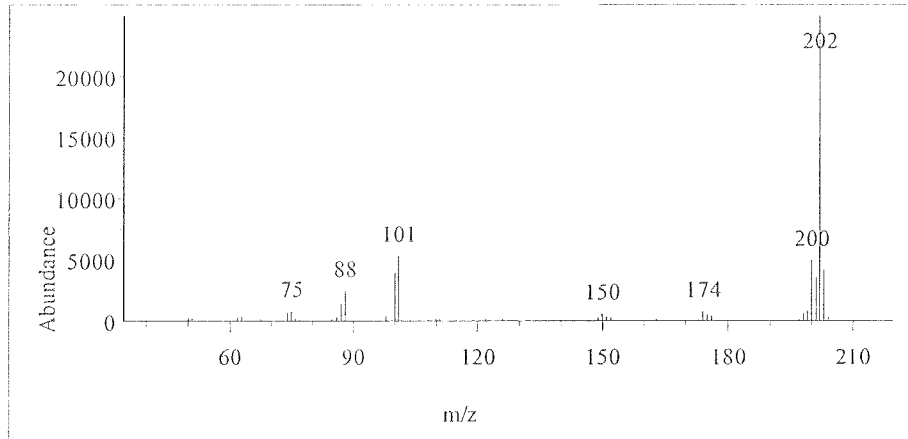
ภาพที่ 4-5 แมสสเปกตรัมของ Fluorene



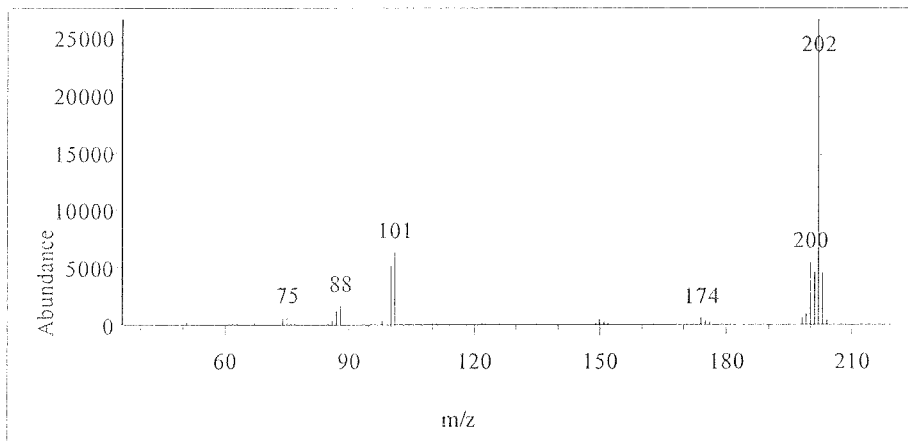
ภาพที่ 4-6 แมสสเปกตรัมของ Phenanthrene



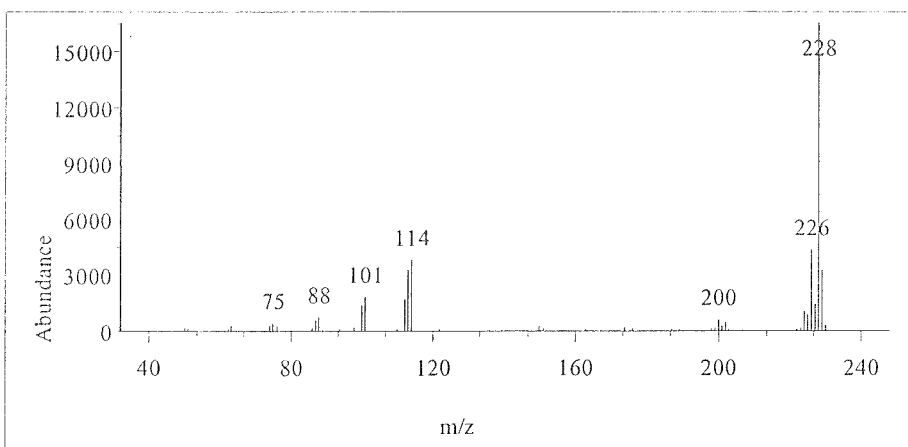
ภาพที่ 4-7 แมสสเปกตรัมของ Anthracene



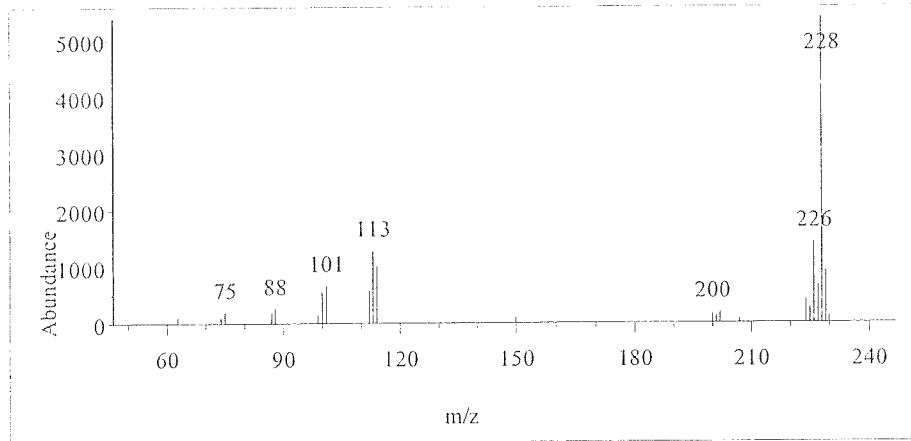
ภาพที่ 4-8 แมสสเปกตรัมของ Fluoranthene



ภาพที่ 4-9 แมสสเปกตรัมของ Pyrene



ภาพที่ 4-10 แมสสเปกตรัมของ Benzo[a]anthracene

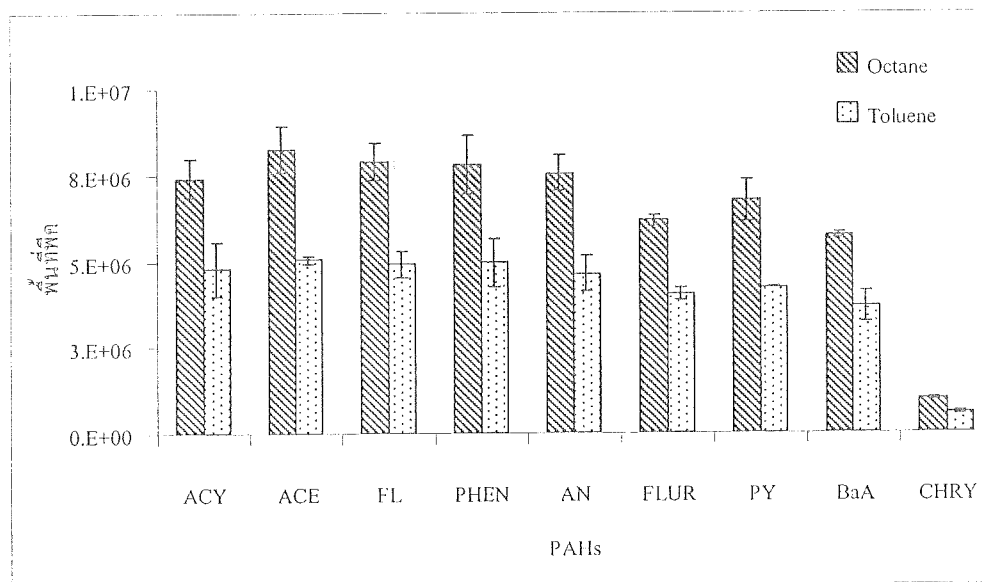


ภาพที่ 4-11 แมสสเปกตรัมของ Chrysene

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด PAHs ระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลว (Liquid-phase Microextraction หรือ LPME) โดยใช้เมมเบรนชนิดเส้นใยกลวง

1. ผลการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม

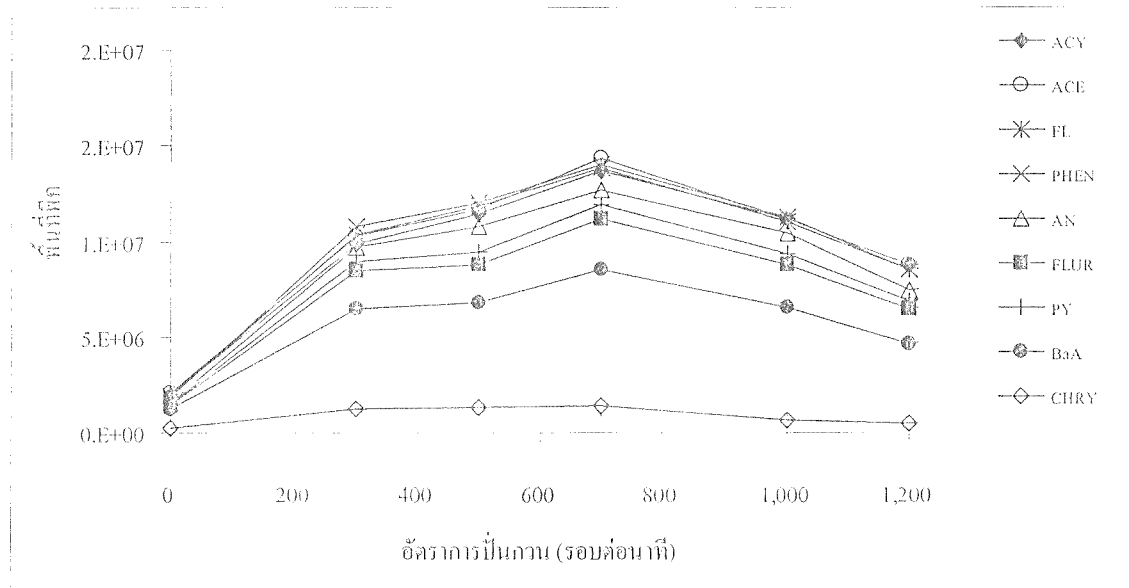
โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ออกเทน โทลูอิน ไอโซออกเทน เฮกเซน และไซโคลเฮกเซน โดยนำมาสกัดสารละลายตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้ว ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ผลการศึกษาพบว่าออกเทนและโทลูอินสามารถคงตัวอยู่ในรูพรุนของเมมเบรนได้ดี ส่วน ตัวทำละลายชนิดอื่นนั้น ไม่สามารถคงตัวอยู่ได้ ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 4-12



ภาพที่ 4-12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พิทของ PAHs และตัวทำละลายที่ใช้สกัด (n=3)

2. ผลศึกษาอัตราเร็วของการปั่นกววนที่เหมาะสม

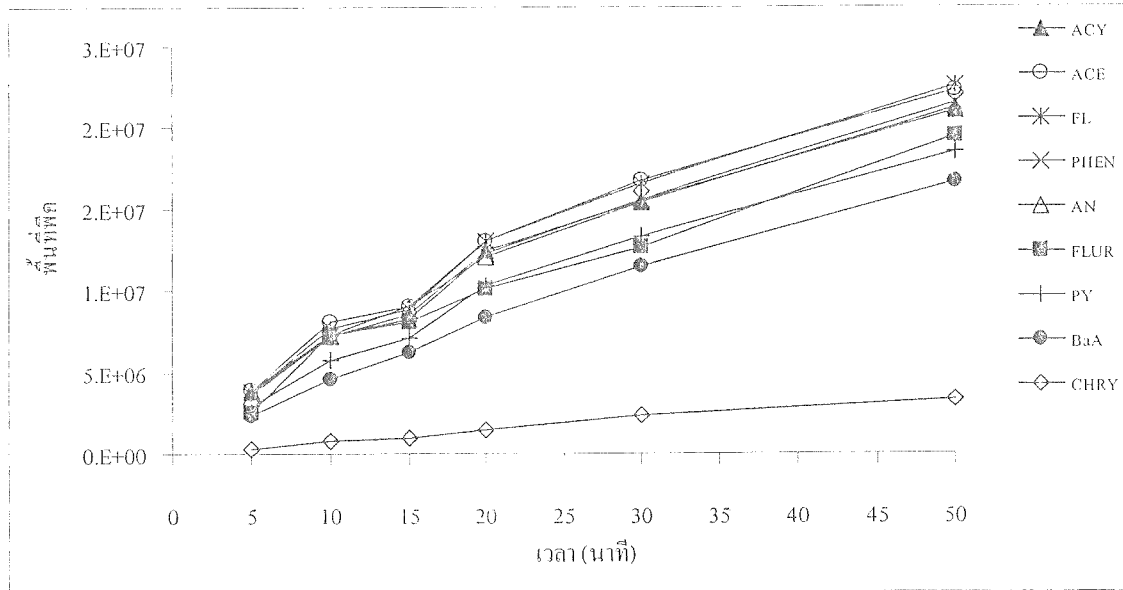
โดยสกัดตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้วความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ใช้ออกแทนเป็นตัวอย่างละลาย ที่อัตราเร็ว 0, 300, 500, 700, 1000 และ 1200 รอบต่อนาที ผลการศึกษาที่ได้แสดงดังภาพที่ 4-13



ภาพที่ 4-13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ที่สกัดของ PAHs และอัตราเร็วการปั่นกววน (n=3)

3. ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

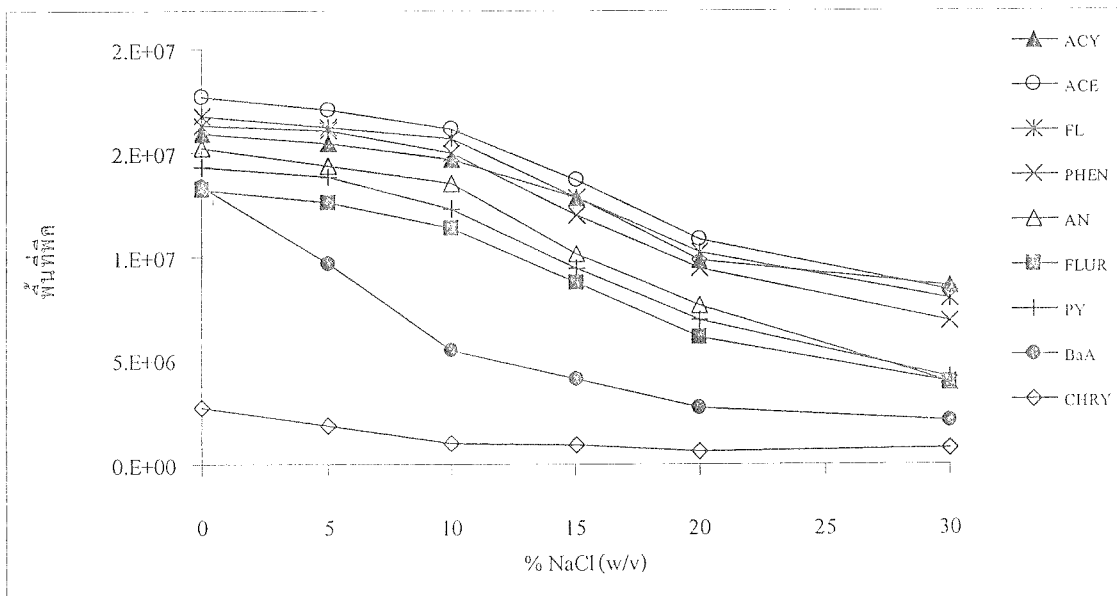
โดยสกัดตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้วความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ใช้ออกแทนเป็นตัวอย่างละลาย ที่อัตราเร็ว 700 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 30 และ 50 นาที ผลการศึกษาที่ได้แสดงดังภาพที่ 4-14



ภาพที่ 4-14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ที่สกัดของ PAHs และเวลาในการสกัด (n=3)

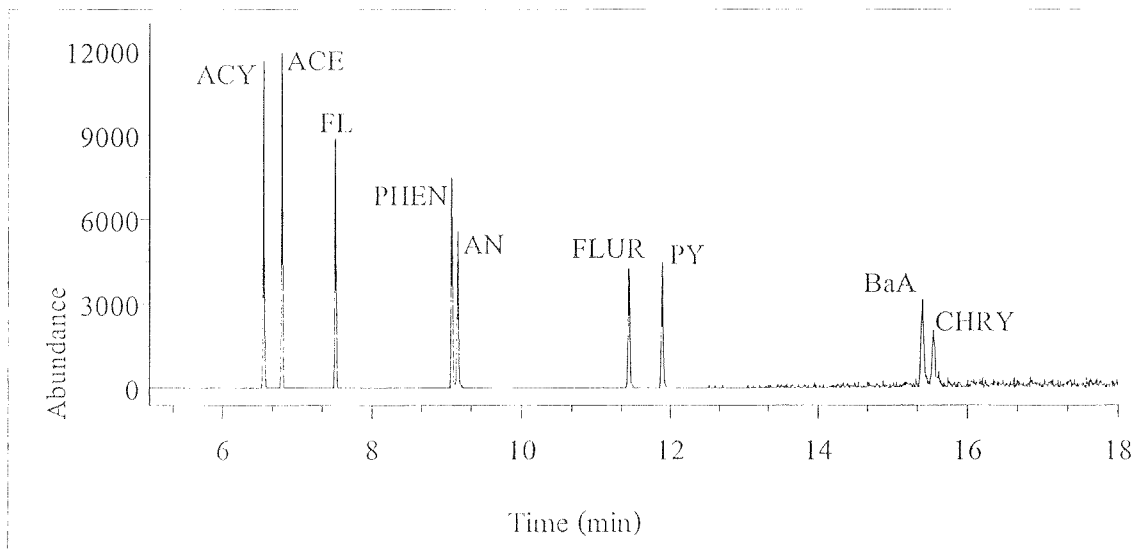
4. ผลการศึกษาอิทธิพลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อประสิทธิภาพของการสกัด

โดยสกัดตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้วความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งปรับปริมาตรด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 30 (%w/v) ใช้ออกเทนเป็นตัวทำละลายที่อัตราเร็ว 700 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที ผลการศึกษาที่ได้แสดงดังภาพที่ 4-15

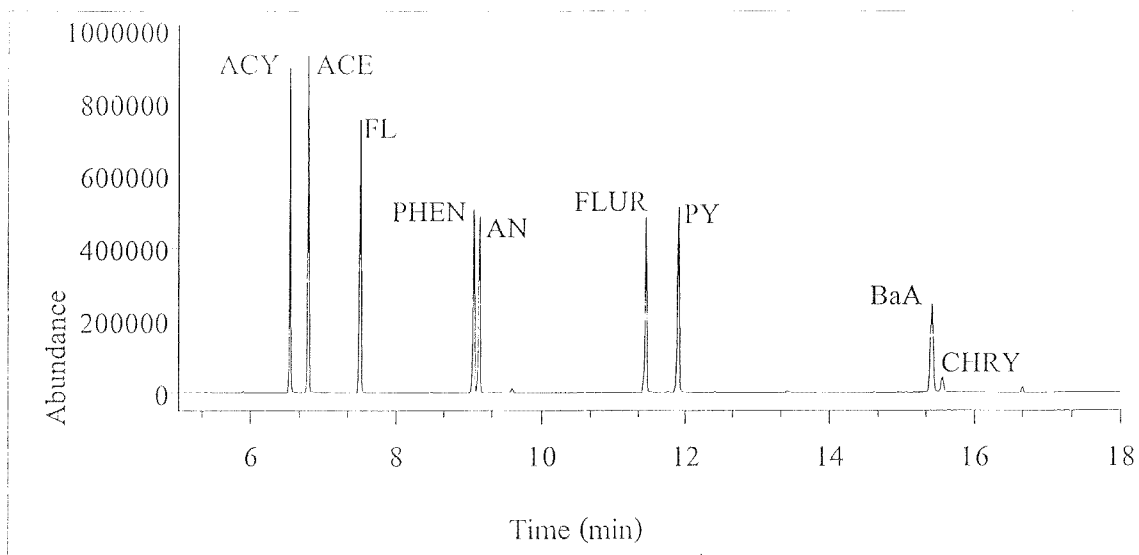


ภาพที่ 4-15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ที่สกัดของ PAHs กับความเข้มข้นของ NaCl (n=3)

เมื่อนำวิธีการนี้มาสกัด PAHs ในตัวอย่างน้ำโดยใช้สภาวะที่ได้จากการศึกษาข้างต้นพบว่าวิธีนี้ นอกจากเป็นการเตรียมตัวอย่างแล้วยังสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ PAHs ในตัวอย่างได้อีกด้วยผลที่ได้ แสดงดังภาพที่ 4-16 และ 4-17 และค่า Enrichment Factor ของ PAHs แต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 4-2



ภาพที่ 4-16 โครมาโทแกรมก่อนการสกัดของสารละลายผสม PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4-17 โครมาโทแกรมหลังการสกัดของสารละลายผสม PAHs 9 ชนิด ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4-2 ค่า Enrichment Factor ของ PAHs ทั้ง 9 ชนิด

PAHs	Enrichment Factor
ACY	91
ACE	87
FL	112
PHEN	104
AN	125
FLUR	125
PY	129
BaA	76
CHRY	19

จากภาพที่ 4-7 และ 4-8 แสดงโครมาโทแกรมของ PAHs ทั้ง 9 ชนิด เปรียบเทียบก่อนและหลังกระบวนการสกัดด้วยเทคนิค LPME พบว่าสัญญาณที่ได้ของ PAHs ทั้ง 9 ชนิด หลังผ่านกระบวนการสกัดมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการนี้สามารถเพิ่มความเข้มข้นสารในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างได้อีกด้วย และจากตารางที่ 4-2 แสดงค่า Enrichment Factor ของ PAHs ทั้ง 9 ชนิด พบว่าอยู่ในช่วง 19-129

ผลการศึกษากวามถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

1. ผลการศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ) และกราฟมาตรฐาน

จากการนำตัวอย่างน้ำที่เดิมสารละลาย PAHs แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังรายละเอียดใน ส่วนของวิธีการทดลองในบทที่ 3 ข้อ 5.1-5.3 มาสกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้งด้วยเครื่องแก๊สโครมาโท กราฟี-แมสสเปกโทรมิเตอร์ ผลของค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ ปริมาณ (LOQ) สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน แสดงดัง ตารางที่ 4-3

ตารางที่ 4-3 ค่า LOD LOQ สมการเส้นตรง และค่า R^2 ของกราฟมาตรฐาน PAHs ที่ได้ ($n = 3$)

PAHs	LOD (นาโนกรัมต่อลิตร)	LOQ (นาโนกรัมต่อลิตร)	สมการเส้นตรง	R^2
ACY	6.0	20.0	$y = 57.629x + 178.27$	0.9985
ACE	5.5	15.5	$y = 69.266x + 675.00$	0.9955
FL	4.5	14.5	$y = 60.243x + 802.97$	0.9852
PHEN	3.0	10.0	$y = 34.375x + 1643.00$	0.9921
AN	4.0	9.0	$y = 29.951x + 215.67$	1.0000
FLUR	3.0	10.0	$y = 34.728x + 531.27$	0.9978
PY	4.0	13.5	$y = 40.109x + 570.06$	0.9898
BaA	4.0	12.0	$y = 133.600x - 774.06$	0.9989
CHRY	30.0	90.0	$y = 13.590x - 99.63$	0.9923

2. ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity)

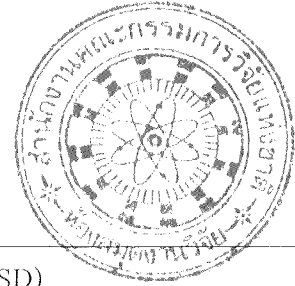
จากการนำตัวอย่างน้ำที่เดิม PAHs แล้ว ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาสกัดและวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรมิเตอร์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรง ซึ่งแสดงถึง ประสิทธิภาพของสถานะที่ได้ว่าสามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มี PAHs ได้ในช่วงความเข้มข้นเท่าใด ช่วงความเป็นเส้นตรง สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) แสดงดังตารางที่ 4-4

ตารางที่ 4-4 ช่วงความเป็นเส้นตรง สมการเส้นตรง และค่า R² (n = 3)

PAHs	ช่วงความเข้มข้น (นาโนกรัมต่อลิตร)	สมการเส้นตรง	R ²
ACY	20.0 - 1000.0	$y = 48.149x + 953.3$	0.9982
ACE	20.0 - 1000.0	$y = 56.375x + 2049$	0.9967
FL	15.0 - 1000.0	$y = 45.204x + 2112.6$	0.9974
PHEN	10.0 - 1000.0	$y = 34.567x + 1753.5$	0.9986
AN	10.0 - 1000.0	$y = 38.566x - 392.57$	0.9988
FLUR	10.0 - 1000.0	$y = 40.169x + 186.36$	0.9996
PY	15.0 - 1000.0	$y = 38.151x + 713.91$	0.9997
BaA	15.0 - 1000.0	$y = 176.15x - 3902.1$	0.9993
CHRY	100.0 - 2000.0	$y = 16.819x - 1096.4$	0.9947

3. ผลการศึกษาความเที่ยง (Precision)

ผลการศึกษาความเที่ยงภายในวัน (Intra-day Precision) และความเที่ยงระหว่างวัน (Inter-day Precision) โดยนำตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้ว มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation หรือ % RSD) ผลจากการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4-5



ตารางที่ 4-5 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์จากการศึกษาความเที่ยง (n=6)

PAHs	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD)					
	25 นาโนกรัมต่อลิตร		60 นาโนกรัมต่อลิตร		90 นาโนกรัมต่อลิตร	
	ภายในวัน	ระหว่างวัน	ภายในวัน	ระหว่างวัน	ภายในวัน	ระหว่างวัน
ACY	6	5	6	9	12	10
ACE	5	5	5	9	12	13
FL	7	7	5	8	7	9
PHEN	10	8	11	13	8	10
AN	3	12	15	10	11	10
FLUR	13	14	13	11	14	10
PY	2	4	5	8	4	8
BaA	6	8	10	7	7	3
CHRY*	14	12	8	11	12	10

* ความเข้มข้นเท่ากับ 125, 250 และ 475 นาโนกรัมต่อลิตร

4. ผลการศึกษาความแม่นยำ (Accuracy)

โดยนำตัวอย่างน้ำที่เติม PAHs แล้ว มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS นำข้อมูลมาคำนวณค่าร้อยละการได้กลับคืน ผลแสดงดังตารางที่ 4-6

ตารางที่ 4-6 ค่าร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery) จากการศึกษาความแม่นยำ (n=6)

PAHs	ร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery)		
	25 นาโนกรัมต่อลิตร	60 นาโนกรัมต่อลิตร	90 นาโนกรัมต่อลิตร
ACY	102	104	105
ACE	95	102	99
FL	94	98	104
PHEN	103	105	99
AN	93	101	100
FLUR	93	97	109
PY	100	102	103
BaA	106	101	108
CHRY*	101	100	100

* ความเข้มข้นเท่ากับ 125, 250 และ 475 นาโนกรัมต่อลิตร

ผลการศึกษอิทธิพลของสารบบกวนในตัวอย่างน้ำชา (Matrix Effect)

โดยนำตัวอย่างน้ำชาที่เติม PAHs แล้ว มาสกัดตามวิธีข้อ 4.1 แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรมิเตอร์ นำข้อมูลมาคำนวณค่าร้อยละการได้กลับคืน โดยทำการศึกษาในตัวอย่างน้ำชาจากใบชา น้ำชาสมุนไพรและน้ำชาบรรจุขวด ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4-7

ตารางที่ 4-7 ค่าร้อยละการได้กลับคืนจากการศึกษาอิทธิพลของสารบบกวน (n=3)

PAHs	ค่าร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery)								
	25 นาโนกรัมต่อลิตร			60 นาโนกรัมต่อลิตร			90 นาโนกรัมต่อลิตร		
	น้ำชาใบ	น้ำชาขวด	น้ำชาสมุนไพร	น้ำชาใบ	น้ำชาขวด	น้ำชาสมุนไพร	น้ำชาใบ	น้ำชาขวด	น้ำชาสมุนไพร
ACY	79	56	87	83	66	96	80	69	98
ACE	53	61	105	67	71	88	71	77	100
FL	75	85	102	71	71	97	66	69	98
PHEN	44	29	110	49	57	94	52	64	109
AN	29	38	105	47	58	110	53	61	106
FLUR	100	37	105	59	55	93	50	54	108
PY	67	47	98	41	47	94	35	46	101
BaA	79	53	95	50	37	117	44	35	102
CHRY*	45	40	104	31	37	100	25	33	100

* ความเข้มข้นเท่ากับ 125, 250 และ 475 นาโนกรัมต่อลิตร

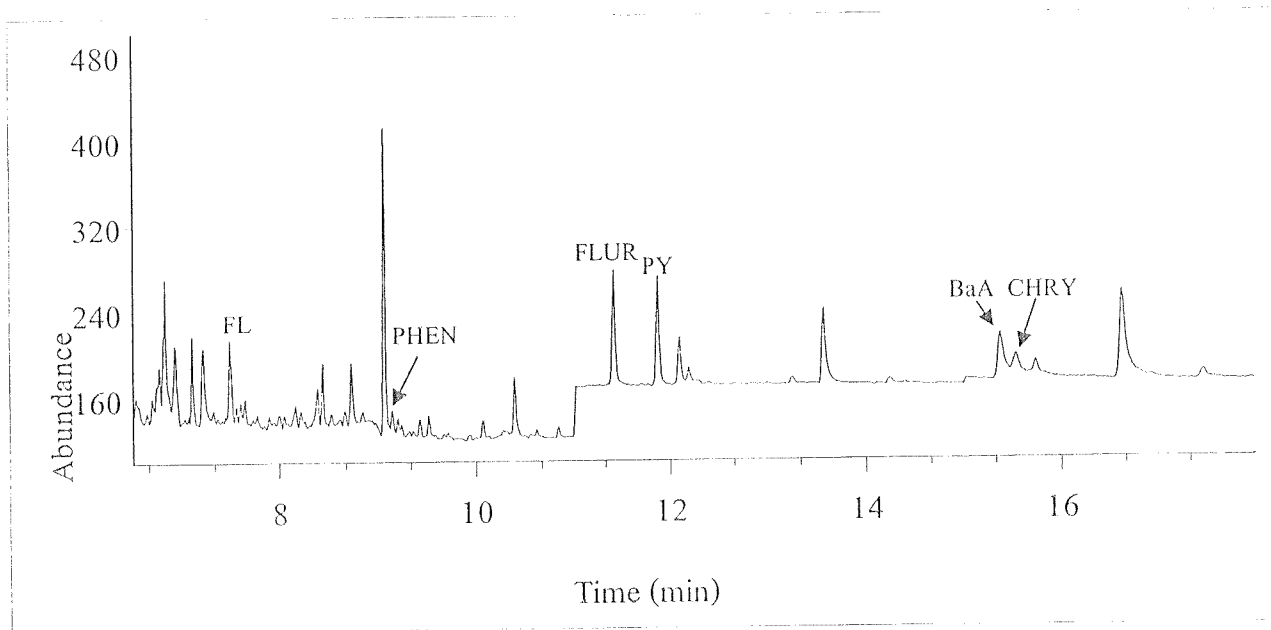
ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ PAHs ในตัวอย่างน้ำชาด้วยวิธี Standard Addition

จากผลการศึกษาอิทธิพลของสารรบกวนในตัวอย่างน้ำชาพบว่าค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 25 – 100% ซึ่งค่าที่ได้มีการกระจายตัวสูง แสดงให้เห็นว่าในน้ำชามีสารรบกวนต่อการวิเคราะห์หาปริมาณ PAHs จึงใช้วิธี Standard Addition เพื่อหาปริมาณในตัวอย่างน้ำชา 19 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 4-8

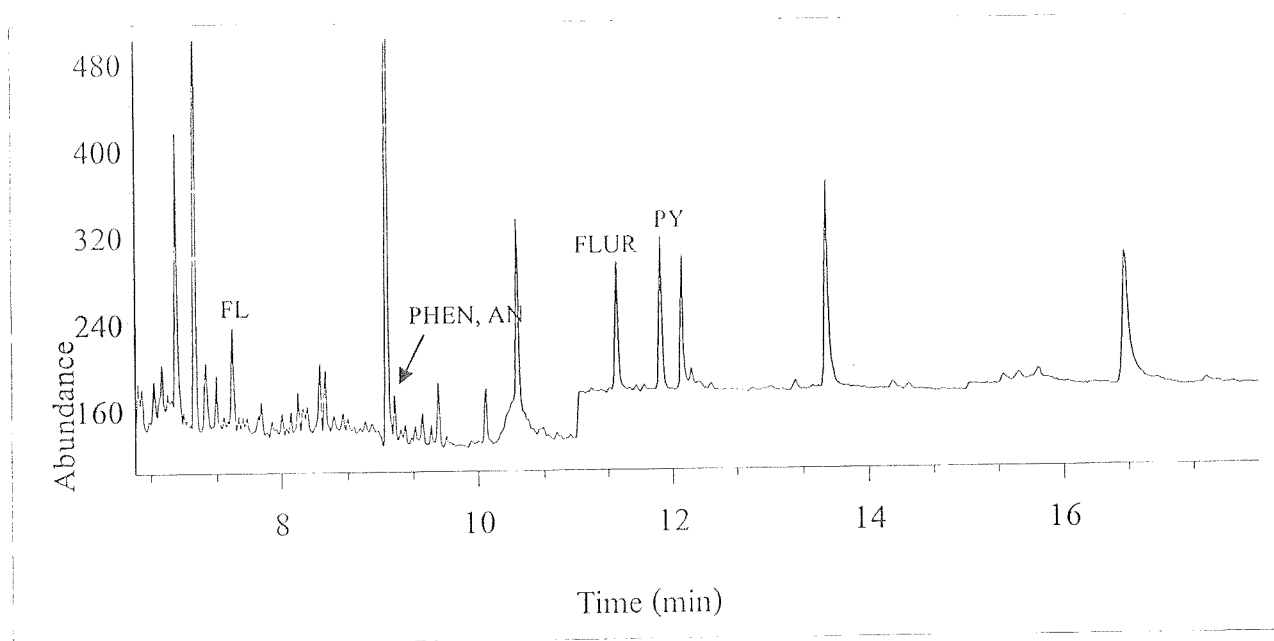
ตารางที่ 4-8 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ PAHs ทั้ง 9 ชนิด ในตัวอย่างน้ำชาทั้ง 19 ตัวอย่าง (n=3)

ตัวอย่างน้ำชา	ปริมาณ PAHs (นาโนกรัมต่อลิตร)								
	ACY	ACE	FL	PHEN	AN	FLUR	PY	BaA	CHRY
น้ำใบชาเขียว	ND	ND	30.1	177.0	ND	99.7	104.2	18.0	154.7
น้ำใบชาจีน	ND	ND	30.8	187.9	26.7	129.8	124.0	< LOQ	< LOQ
								LOQ = 12	LOQ = 90
ชาเขียวบรรจุขวด 1	ND	ND	23.1	ND	ND	70.1	42.7	17.3	199.8
ชาเขียวบรรจุขวด 2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ชาเขียวบรรจุขวด 3	ND	ND	59.6	72.0	ND	20.1	24.2	110.0	< LOQ
									LOQ = 90
ชาเขียวบรรจุขวด 4	ND	ND	29.2	38.7	ND	< LOQ	< LOQ	ND	ND
						LOQ = 10	LOQ = 13.5		
ชาเขียวบรรจุขวด 5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ชาดำบรรจุขวด 1	ND	ND	33.6	49.9	ND	16.8	31.5	ND	ND
ชาดำบรรจุขวด 2	ND	ND	31.7	38.1	ND	< LOQ	< LOQ	ND	ND
						LOQ = 10	LOQ = 13.5		
ชาอูหลงบรรจุขวด 1	ND	ND	21.9	36.1	ND	< LOQ	< LOQ	ND	ND
						LOQ = 10	LOQ = 13.5		
ชาอูหลงบรรจุขวด 2	ND	ND	51.0	60.1	ND	14.9	19.6	ND	ND
น้ำหญ้าหวาน	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
น้ำมะขามแขก	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
น้ำขุมเห็ด	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
น้ำกำลังเสือโคร่ง	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
น้ำเจียวกู่หลาน	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
น้ำรางจืด	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
น้ำเห็ดหลินจือ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
น้ำหญ้าหนวดแมว	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

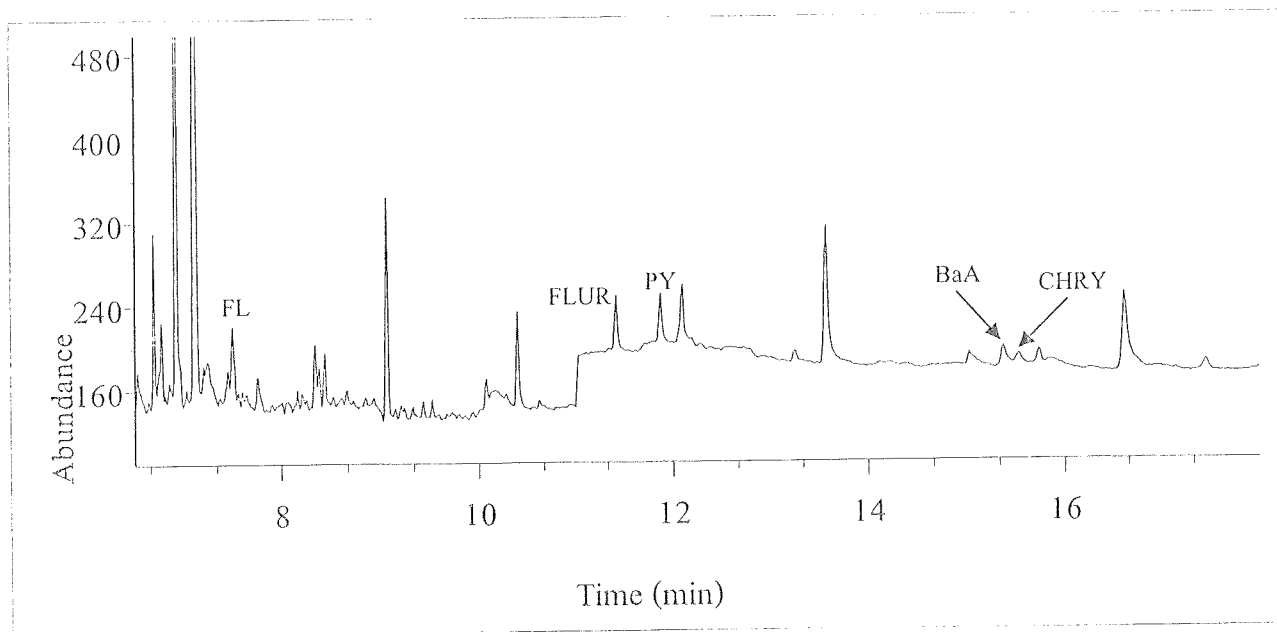
หมายเหตุ: ND หมายถึง Not Detected



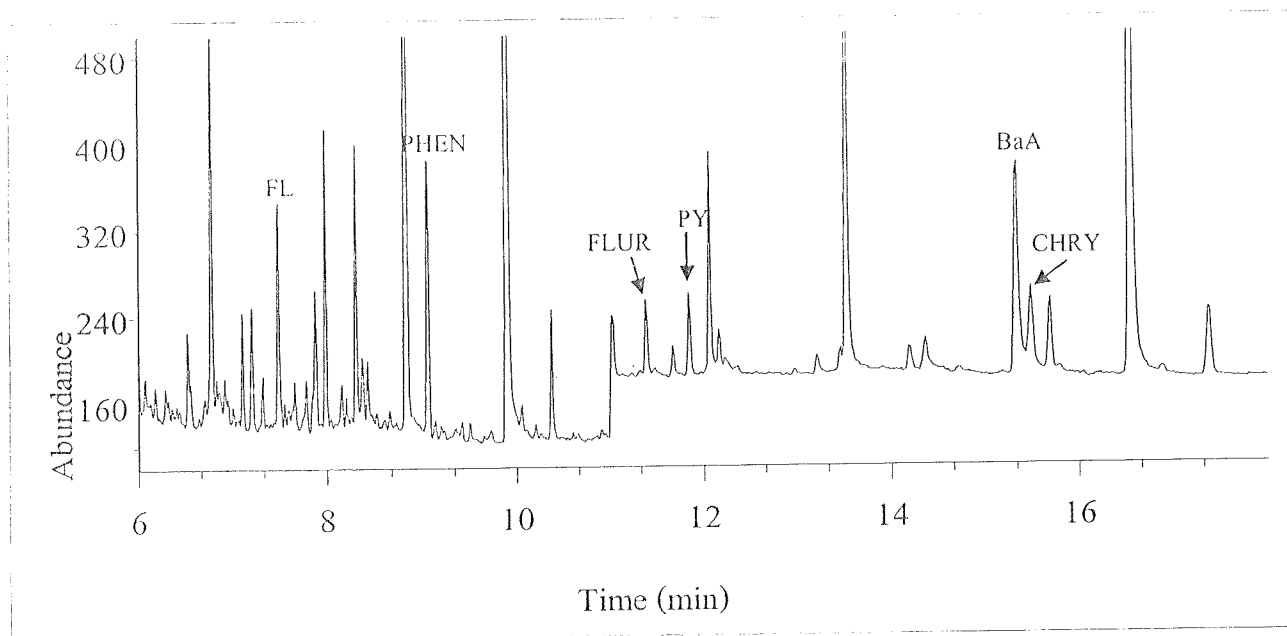
ภาพที่ 4-18 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำจากโสมไทย



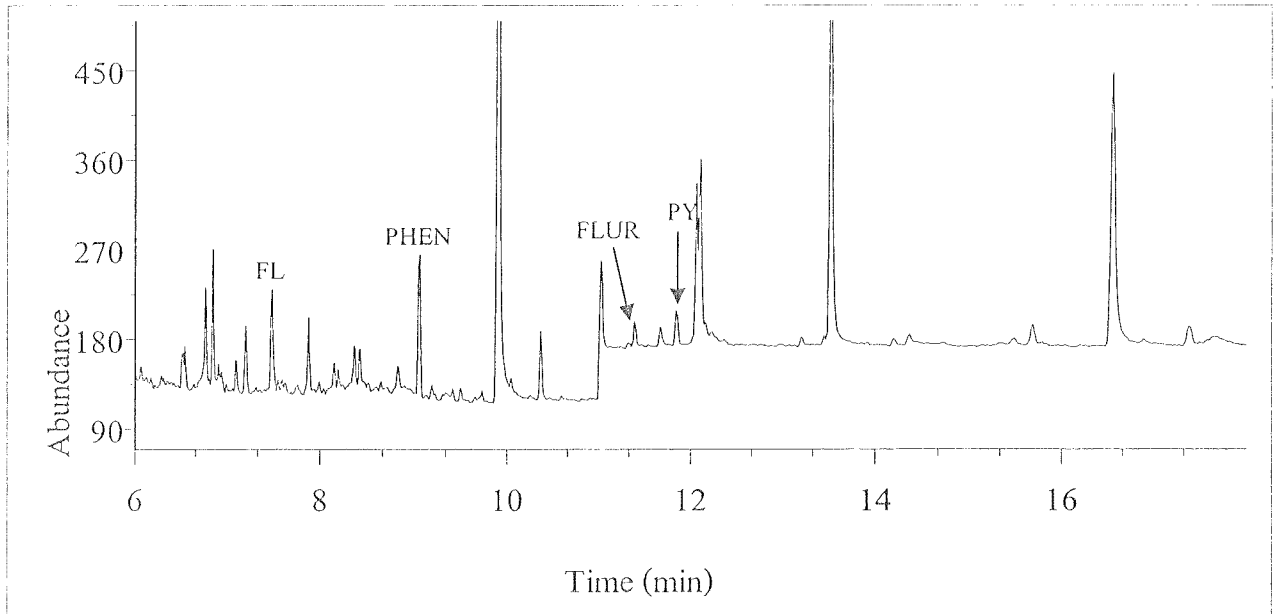
ภาพที่ 4-19 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำจากโสมจีน



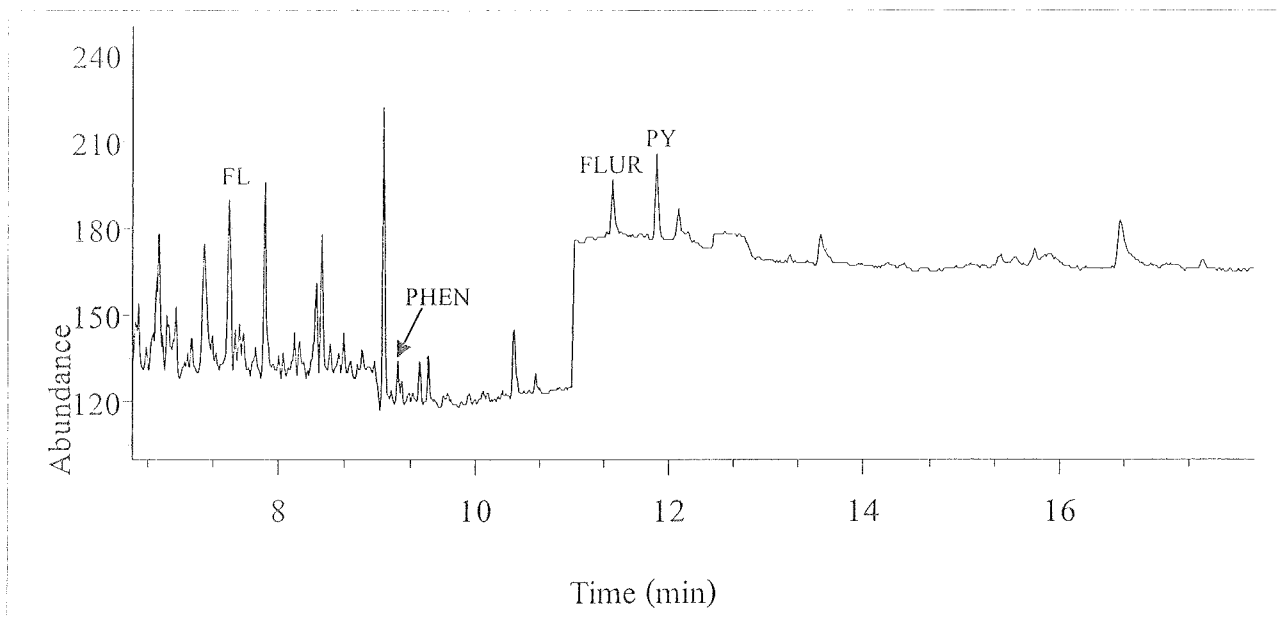
ภาพที่ 4-20 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำชาเขียวบรรจุขวด 1



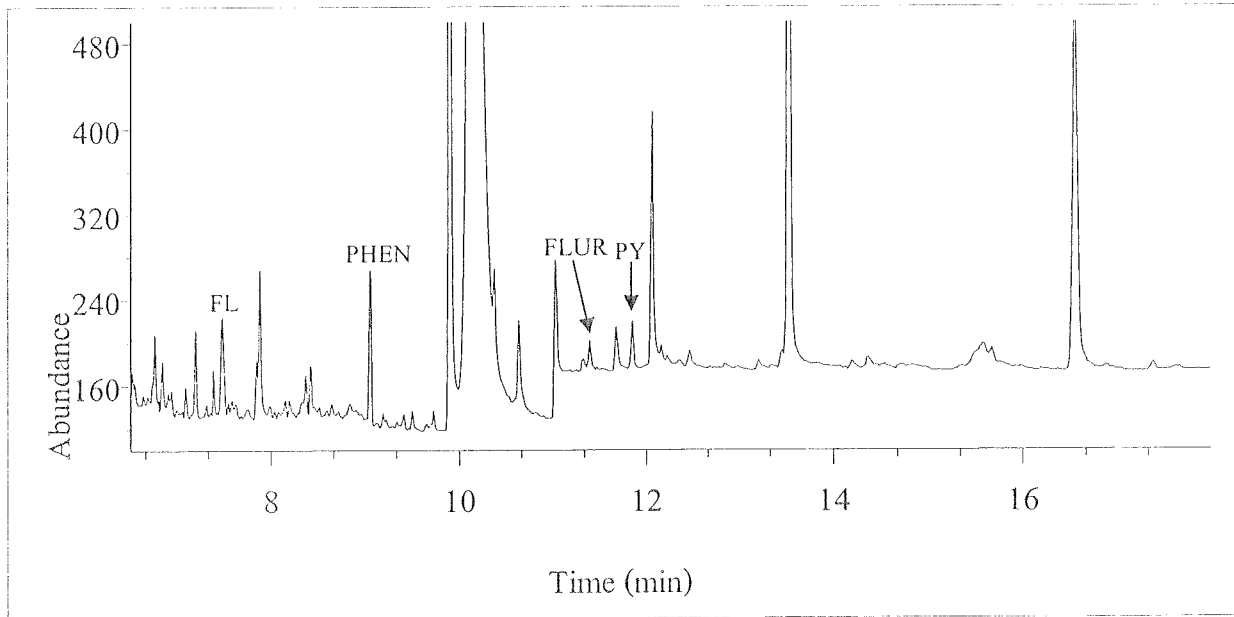
ภาพที่ 4-21 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำชาเขียวบรรจุขวด 3



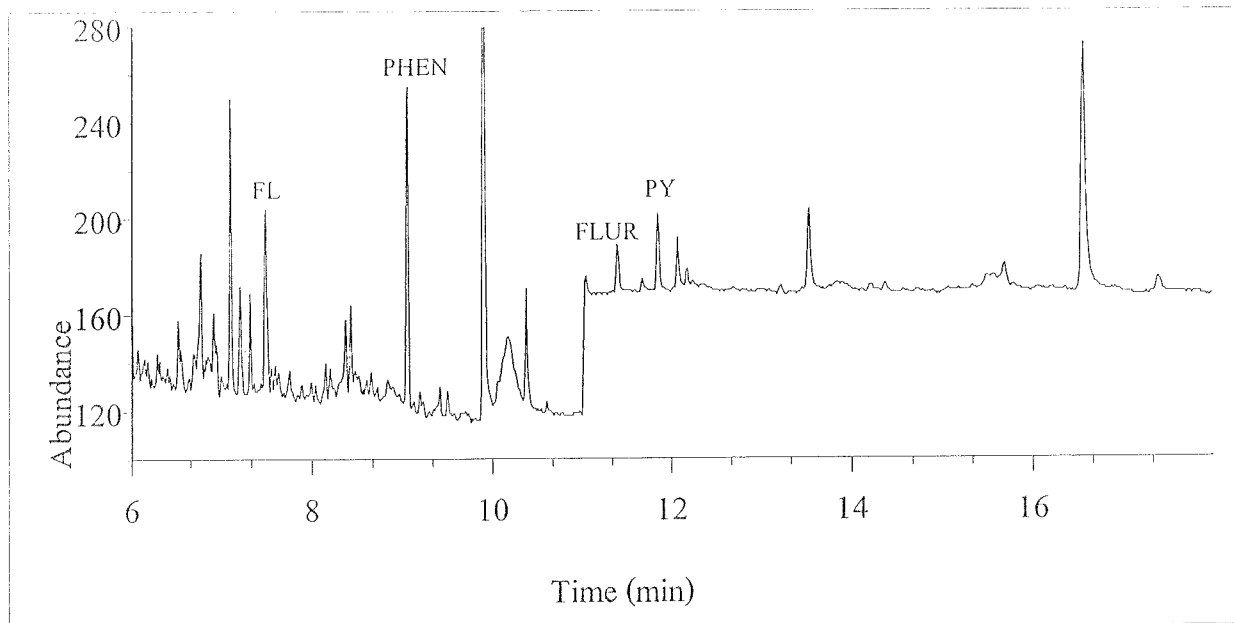
ภาพที่ 4-22 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำชาเขียวบรรจุขวด 4



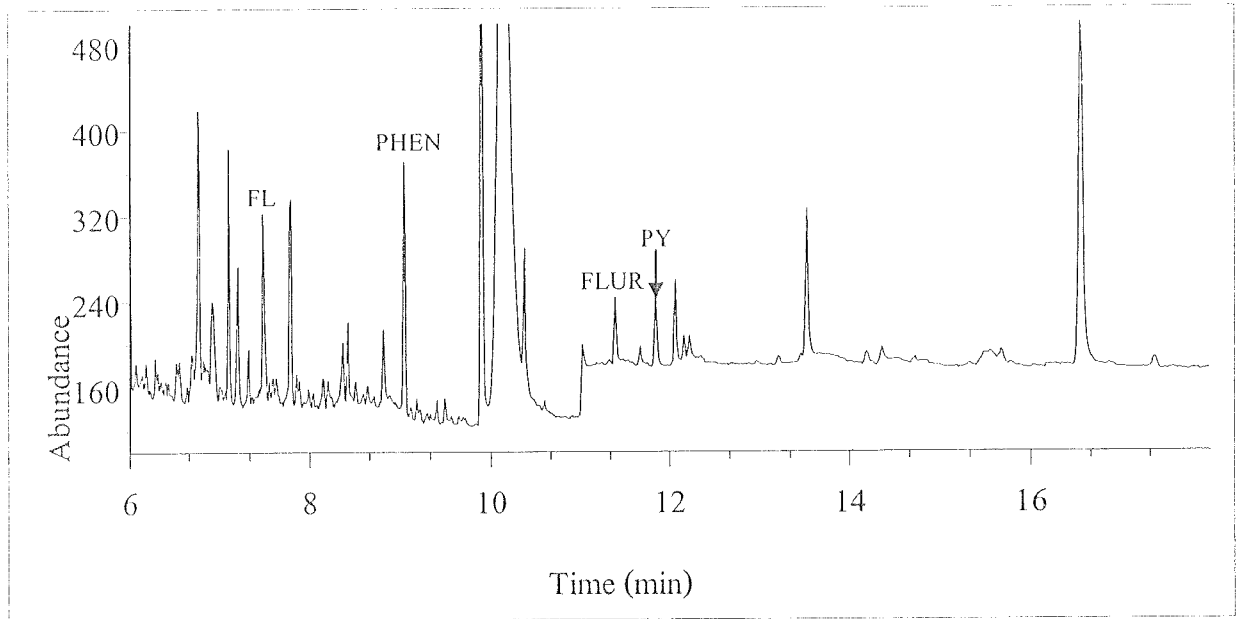
ภาพที่ 4-23 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำชาดำบรรจุขวด 1



ภาพที่ 4-24 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำชาดำบรรจุขวด 2



ภาพที่ 4-25 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำชาอูหลงบรรจุขวด 1



ภาพที่ 4-26 โครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดน้ำชาอูหลงบรรจุขวด 2