

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 สารเคมี

ในการศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์ซัลไฟด์ด้วยระบบการแยกแบบออนไลน์ ด้วยวิธีเพอร์วาพอร์ชันโฟลอินเจกชันโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส มีการใช้สารเคมีที่เกี่ยวข้องดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	เกรด	ประเทศ
1. Acetic acid (C ₂ H ₄ O ₂)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
2. Ammonium acetate (CH ₃ COONH ₄)	Merck	Analytical Reagent	Germany
3. Ascorbic acid (C ₆ H ₈ O ₆)	Carlo erba	Analytical Reagent	Italy
4. Cobalt sulfate (CoSO ₄ .7H ₂ O)	Carlo erba	Analytical Reagent	Italy
5. Calcium chloride (CaCl ₂ .2H ₂ O)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
6. Calcium sulphate (CaSO ₄ . 2H ₂ O)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
7. Ethanol (C ₂ H ₅ OH)			
8. Fluorescein (C ₂₀ H ₁₄ O ₅)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
9. Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	Merck	Analytical Reagent	Germany
10. Hydrochloric acid (HCl)	May & Baker Merck	Analytical Reagent A.C.S. Reagent	UK Germany
11. Iron (II) sulphate (FeSO ₄ .7H ₂ O)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
12. Iron (III) nitrate (Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O)	Ajax	Analytical Reagent	Australia

ตาราง 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	เกรด	ประเทศ
13. Magnesium sulphate (MgSO ₄ .7H ₂ O)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
14. Manganese (II) sulphate (MnSO ₄ .H ₂ O)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
15. Nikel sulphate (NiSO ₄ .6H ₂ O)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
16. Nitric acid (HNO ₃)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
17. Phosphoric acid (H ₃ PO ₄)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
18. Potassium dihydrogen phosphate (KH ₂ PO ₄)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
19. Potassium iodide (KI)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
20. Potassium permanganate (KMnO ₄)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
21. Potassium sulphate (K ₂ SO ₄)	Ajax	Analytical Reagent	Australia
22. Rhodamine B (C ₂₈ H ₃₁ ClN ₂ O ₃)	Fluka	Analytical Reagent	UK
23. Sodium acetate (CH ₃ COONa .3H ₂ O)	Carlo erba	Analytical Reagent	Italy
24. Sodium chloride (NaCl)	LAB-SCAN	Analytical Reagent	Ireland
25. Sodium hexameta phosphate (NaPO ₄) ₆	Sigma	Analytical Reagent	Germany
26. Sodium sulfite (NaSO ₃)	J.T. Baker	Analytical Reagent	USA
27. Sodium sulphate(Na ₂ SO ₄)	Fisher scientific	Analytical Reagent	UK
28. Sucrose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	May & Baker	Analytical Reagent	UK

ตาราง 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	เกรด	ประเทศ
29. Sulphuric acid (H_2SO_4)	Merck	A.C.S. Reagent	Germany
30. Zinc sulphate ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	Ajax	Analytical Reagent	Australia

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

ในการศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์สัฟไฟต์ด้วยระบบการแยกแบบออนไลน์ ด้วยวิธีเพอร์วาพอร์ชันโฟลอินเจคชัน วิธีก๊าซดิฟฟิวชันโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส และวิธีดีฟเฟอเรนเชียลพัลส์โพลารกราฟี มีการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องดังตาราง 2.2

ตาราง 2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือ-อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิตและรุ่น	ประเทศ
1. Flow rated tygon pump tube	TACS	Australia
2. High Voltage Power supply	Electron Tubes Ltd. รุ่น Thorn-EMI model PM20	UK
3. Digital multimeter	UNI-T รุ่น UT60D	Hong Kong
4. Two channel peristaltic pump	Gilson Minipuls 3	France
5. pH meter	Metrohm รุ่น 827 pH lab	Switzerland
6. Photomultiplier tube	Electron Tubes Ltd. รุ่น Thorn-EMI 9878SB	UK
7. PTFE membrane	Pro-tech group	Australia
8. Personal computer	Pentium IV	UK
9. Ultra pure water purification system	Millipore	France
10. Ultrasonic bath	NDI	Germany
11. Voltammograph	Metrohm รุ่น 746 VA Metrohm รุ่น 791 VA	Switzerland Switzerland
12. Glassy carbon electrode	Metrohm รุ่น 6.0728.020	Switzerland
13. Ag/AgCl reference electrode	Metrohm รุ่น 6.2308.020	Switzerland
14. 3M KCl Electrolyte solution	Metrohm	Switzerland
15. Hg (DME) electrode	Metrohm รุ่น 6.1226.030	Switzerland
16. Pt rod counter electrode	Metrohm รุ่น 6.1204.120	Switzerland

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมสารละลาย

2.3.1.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีเพอร์วาพอเรชัน โพลินเจคชันและก๊าซดิฟฟิวชันโพลินเจคชัน

1. การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์

ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 97 % มา 109.9 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2. การเตรียมสารละลายกรดตัวพาซัลฟิวริก (donor stream solution)

การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นสารละลายในกระแสตัวให้ในวิธีเพอร์วาพอเรชันโพลินเจคชัน โดยใช้ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ทำได้โดยปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 100.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้เป็นสารละลายในกระแสตัวให้ในวิธีก๊าซดิฟฟิวชันโพลินเจคชันจะใช้ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 50.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

3. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 1.0×10^{-2} โมลาร์

ชั่งโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.1587 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร หุ้มด้วยกระดาษฟอลซ์

4. การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2 โมลาร์

ตวงกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 85 % มา 197.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

5. การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 0.02 โมลาร์

ปิเปตกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2 โมลาร์ มา 10.0 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อยในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร



6. การเตรียมสารละลายโรดามีน บี เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโรดามีน บี 0.01 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร หมัด้วยกระดาษฟอลซ์ เก็บไว้ในที่มืด

7. การเตรียมสารละลาย 0.75% โดยน้ำหนัก โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตในสารละลายกรดฟอสฟอริกที่มีโรดามีน บี 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (carrier stream solution)

ชั่งโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต 7.50 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2 โมลาร์ลงไป 10 มิลลิลิตร และสารละลายโรดามีน บี เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรลงไป 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

8. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 8.0×10^{-5} โมลาร์ ที่อยู่ในสภาพกรดสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (reagent stream solution)

ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 1.0×10^{-2} โมลาร์ มา 0.8 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.75 % โดยน้ำหนัก ของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่อยู่ในสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 0.02 โมลาร์ จนถึงขีดวัดปริมาตร

9. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งไดโซเดียมซัลไฟต์ 0.1589 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

10. การเตรียมสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 1 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

11. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 2.5, 3.75, 5, 6.25, 7.5, 8.75 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.3.1.2 การเตรียมสารละลายสำหรับการศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวนที่มีผลต่อการวัดปริมาณซัลไฟต์โดยวิธี เพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชัน

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน K^+ 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์โพแทสเซียมซัลเฟตมา 22.5099 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Na^+ 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์โซเดียมซัลเฟตมา 15.5949 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ca^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์แคลเซียมคลอไรด์มา 18.7525 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

4. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Co^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์แคลเซียมซัลเฟตมา 24.0627 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

5. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Fe^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์เหล็กซัลเฟตมา 25.1417 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

6. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Mg^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์แมกนีเซียมซัลเฟตมา 51.7176 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

7. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Mn^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์แมงกานีสซัลเฟตมา 15.6895 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

8. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni^{2+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์นิกเกิลซัลเฟตมา 23.3255 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

9. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Fe^{3+} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซิงก์เหล็กไนเตรตมา 36.9130 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

10. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Cl^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งโซเดียมคลอไรด์มา 8.3141 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

11. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน I^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งโพแทสเซียมไอโอไดด์มา 6.6010 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

12. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน CH_3COO^- 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งโซเดียมอะซิเตตมา 11.5901 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

13. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน SO_4^{2-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งโซเดียมซัลเฟตมา 7.4726 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

14. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน S^{2-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งโซเดียมซัลไฟด์มา 22.4179 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

15. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน PO_4^{3-} 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตมา 7.2323 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

16. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งกลูโคสมา 5.0000 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

17. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซูโครส 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งซูโครสมา 5.0000 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

18. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตเอทานอลมา 6.33 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

19. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
ซึ่งแอสคอร์บิกมา 5.0050 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนจากนั้นถ่ายลงในขวดวัด
ปริมาตรขนาด 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2.3.1.3 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์โดยวิธีดีฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลาริกราฟี (AOAC Method)^[22]

1. การเตรียมสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดยปริมาตร

ตวงสารละลายเอทานอล มา 50 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

2. การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 9.19 โมลาร์

ตวงสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 18.39 โมลาร์มา 125 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับ
ปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีน้ำปราศจากไอออนอยู่เล็กน้อย เติมน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีด
วัดปริมาตร

3. การเตรียมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์

ซึ่งแอมโมเนียมอะซิเตต 79.50 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลง
ในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 57 มิลลิลิตร ปรับ
ปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดวัดปริมาตร

4. การเตรียมสารละลายอิเล็กโตรไลต์ แทปปิง (electrolyte trapping)

เจือจางสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์ จากข้อ 3 โดยตรง
สารละลายมา 125 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน
จนถึงขีดวัดปริมาตร

5. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

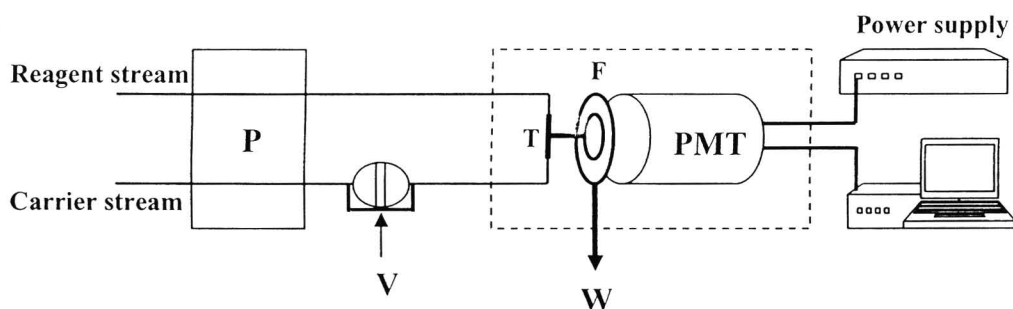
ซึ่งไดโซเดียมซัลไฟด์ 0.3972 กรัม ละลายด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดย
ปริมาตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น
5% โดยปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร

6. การเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 5.0, 15.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

นำสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร ต่างๆ เทลง
ในกระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5% โดยปริมาตร
จนถึงขีดวัดปริมาตร

2.3.2 การศึกษาความเป็นไปได้ของระบบการตรวจแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน

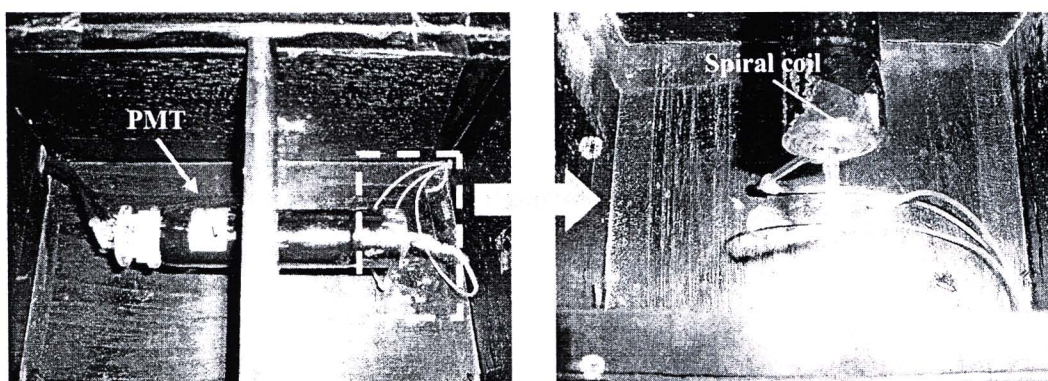
ในการศึกษาความเป็นไปได้ของการวิเคราะห์ด้วยระบบการตรวจแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน ได้อาศัยพื้นฐานจากบทความวิจัยของ Adcock และคณะ^[45] พบว่าสารละลายในกลุ่มซัลไฟต์ ซัลไฟต์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ มักจะสามารถเกิดปรากฏการณ์เคมีลูมิเนสเซนซ์ได้ดีกับสารประกอบโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสภาวะที่เป็นกรดโดยมีสารลดแรงตึงผิวประเภทสารประกอบโพลีฟอสเฟต (เช่น โซเดียมพอร์ฟอสเฟต โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต กรดโพโรฟอสเฟต กรดเตตระฟอสเฟต และกรดพลีฟอสฟอริก รวมถึงการใช้สารประกอบฟูลออเรสเซนต์ เช่น ไรโบฟลาวิน (riboflavin) และกรดไพเพอิดิก (pipemidic acid) มาช่วยในการเพิ่มความสามารถในการคายแสงขึ้นเมื่อสารประกอบในกลุ่มซัลเฟอร์ทำปฏิกิริยากับสารประกอบโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสภาวะที่เป็นกรด เพื่อพัฒนาให้การวิเคราะห์ซัลไฟต์มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น จึงได้ทดลองใช้ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่มีโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสภาวะกรดเป็นระบบตรวจวัดชนิดเคมีลูมิเนสเซนซ์ขึ้นร่วมกับวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน ดังแสดงในรูป 3.1 และรูป 3.2 โดยปฏิกิริยาการคายแสงที่เกิดขึ้น ณ บริเวณข้อต่อรูปตัว T จะไหลเข้าสู่ spiral coil flow cell ที่วางไว้อยู่หน้าหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (PMT) ภายในกล่องลูมิโนมิเตอร์ (luminometer) ที่สร้างขึ้นอย่างรวดเร็ว เพื่อว่าการเรืองแสงของ Mn(II) ที่เกิดจากการเกิดรีดักชันของเปอร์แมงกาเนตไอออนในสภาวะที่เป็นกรด



รูป 2.1 แผนผังจัดวางเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ซัลไฟต์ด้วยวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์โฟลอินเจกชัน; P, peristaltic pump; Reagent stream (8×10^{-5} M KMnO_4 ใน sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M phosphoric acid); Carrier stream (0.75% (m/v) sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M phosphoric acid); V, valve (300 μl sample loop); T, T-shaped connector; F, flat spiral coil flow cell; PMT, photomultiplier tube; W, waste



โดยกล้องลูมิโนมิเตอร์ที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดแสงด้วยเคมีลูมิเนสเซนซ์ ถูกสร้างขึ้นโดยใช้กล่องไม้ที่มีการปิดผนึกกล่องอย่างมิดชิด โดยภายในทาสีดำทั้งหมด และตัว spiral coil flow cell ที่ใช้ในการวัดการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์มีขนาดรัศมี 2.5 เซนติเมตร โดยจะติดตั้งกับหลอดไฟโตมัลติฟลายเออร์ที่ไวต่อแสงสีแดง ที่มีพื้นที่ขนาดหน้าตัดของหลอด 2.5 เซนติเมตร โดยการจัดวางอุปกรณ์ภายในกล่องได้แสดงดังรูป 2.2



รูป 2.2 การจัดวางอุปกรณ์วัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ ภายในกล้องลูมิโนมิเตอร์

ซึ่งการตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์โดยหลอดวัดแสงไฟโตมัลติฟลายเออร์จะมีการส่งสัญญาณไปยังเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยผ่านเครื่องแปลงสัญญาณอะนาล็อกเป็นดิจิทัล ผ่านช่องสัญญาณ RS-232 ของเครื่องดิจิทัลมิเตอร์เข้าสู่โปรแกรมบันทึกสัญญาณ UT60D เพื่อวัดความสูงของพีคสัญญาณ

ในเบื้องต้นของการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรชนิดต่าง ๆ ทั้งตัวแปรทางกายภาพและทางเคมีของระบบ CL-FI เพื่อเป็นแนวทางในการใช้เป็นเครื่องมือตรวจวัดสำหรับระบบฟลูออโรเจนเซนซ์ ที่มีระบบการแยกระบบออนไลน์ ชนิดเพอร์วาพอร์เรชั่นฟลูออโรเจนเซนซ์ และก๊าซดีฟิวชันฟลูออโรเจนเซนซ์ ต่อไป

2.3.2.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟด์ด้วยวิธี CL-FI

1. การศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสม

การศึกษาชนิดของกรดที่ใช้เป็นตัวกลางในการเตรียมสารละลายของกระแสตัวพาที่มีสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และกระแสอิเล็กโทรไลต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 5×10^{-5} โมลาร์ โดยศึกษาชนิดของกรดต่างๆ เพื่อใช้เป็น

ตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสไอออนต์โดยเลือก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก กรดฟอสฟอริก และกรดซัลฟิวริก ที่กำหนดความเข้มข้นที่ 0.08 โมลาร์ แล้วทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดขึ้นภายในระบบ CL-FI ที่เกิดขึ้นโดยทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้งแล้วนำค่าความสูงของพีคที่ได้ ไปเปรียบเทียบกับระหว่างกรดแต่ละชนิดที่ใช้เพื่อหาชนิดของกรดที่เหมาะสมที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสไอออนต์

2. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก

หลังจากเลือกชนิดของกรดที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวกลางในระบบ CL-FI ได้จากข้อ 1 แล้วได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้เป็นตัวกลางในกระแสตัวพาและกระแสไอออนต์ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.12 โมลาร์ สำหรับการเตรียมสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก และสารละลายรีเอเจนต์สำหรับระบบ CL-FI จากนั้นทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของระบบ CL-FI ที่ได้ เพื่อนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริกที่จะนำไปใช้ในการเตรียมสารละลายตัวพา และสารละลายรีเอเจนต์ต่อไป

3. การศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์

ปรับสภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 2 โดยศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ใช้ในช่วง 800-1100 โวลต์ ในการทดลองจะทำการปรับศักย์ไฟฟ้าไปที่ค่าเริ่มต้น 800 จากนั้นทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของระบบ CL-FI โดยทำการฉีดซ้ำ 3 ครั้ง ทำเช่นเดิมโดยปรับศักย์ไฟฟ้าเพิ่มขึ้นครั้งละ 50 โวลต์ นำค่าที่ได้ไปพล็อตกราฟระหว่าง สัญญาณต่อพื้นหลัง (signal-to noise ratio) กับ ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้แก่หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ เพื่อหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่ให้ค่าสัญญาณต่อพื้นหลังสูงสุดต่อไป

4. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ในสารละลายรีเอเจนต์

ในการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในกระแสไอออนต์ที่ประกอบด้วยสารละลายตัวกลางโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตและกรดฟอสฟอริก 0.02 โมลาร์ ในช่วงความเข้มข้น 1×10^{-5} - 1×10^{-3} โมลาร์ ได้เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ไปใช้ศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น

2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเข้าไปในระบบ CL-FI ที่มีปริมาณโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้นต่างๆ โดยจะนำค่าการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ในกระแสรีเอเจนต์ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่กระแสรีเอเจนต์ต่อไป

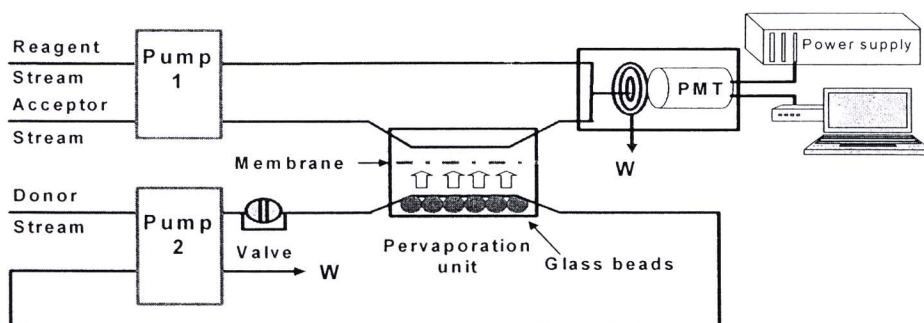
5. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

หลังจากปรับสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้เดิมในกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์ในช่วงความเข้มข้น 0.25-1.25 % โดยน้ำหนัก โดยนำสารละลายกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์เพื่อใช้เป็นตัวอย่างที่มีสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ละลายอยู่ไปใช้ศึกษาถึงการเพิ่มของความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ CL-FI นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้ในกระแสตัวพาที่ให้ค่าสัญญาณการคายแสงสูงสุด

2.3.3 การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ที่มีระบบการแยกแบบออนไลน์ชนิดเพอร์วาพอเรชัน

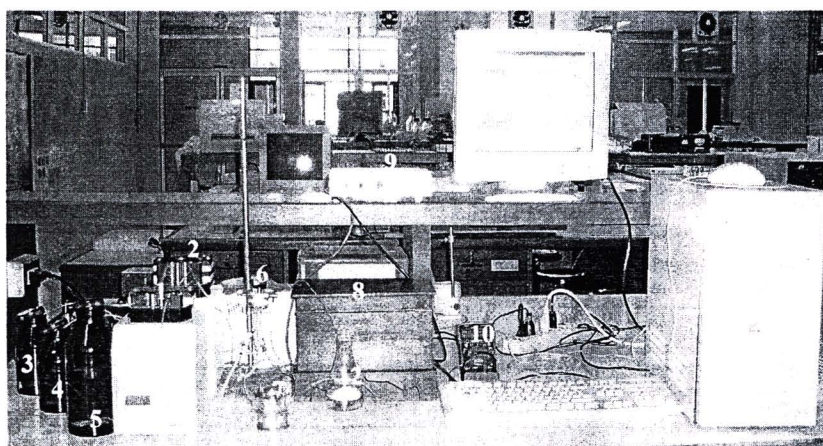
ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิคเพอร์วาพอเรชันโฟลอินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ (PFI-CL) นั้นจะมีการฉีดสารตัวอย่างลงไปในการผสมของสารละลายกรดซัลฟิวริกซึ่งทำหน้าที่เป็นกระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับซัลไฟต์ ระหว่างที่ถูกส่งผ่านไปยัง pervaporation unit ซึ่งภายในจะประกอบด้วยเม็ด glass beads เรียงกันอย่างมีระเบียบในแนวระนาบ ซัลไฟต์เมื่อทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านโดยทิ้งสิ่งปนเปื้อนอื่น ๆ ที่ปะปนอยู่ในสารละลายค้างอยู่ในกระแสตัวให้ เนื่องจากไม่สามารถผ่านเยื่อเลือกผ่านได้ เนื่องจากสารละลายถูกคั้นไว้ด้วยช่องอากาศ จึงไม่สัมผัสกับเยื่อเลือกผ่านโดยตรงจึงทำให้มีเฉพาะก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เท่านั้นที่สามารถแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่านเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารตัวรับได้แล้วเคลื่อนที่ไปเข้าทำปฏิกิริยากับกระแสรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่บริเวณ Flat spiral coil cell แล้วจะเกิดการเรืองแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่สามารถถูกตรวจวัดด้วยหลอดวัดแสง

ในการทดลองจะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรชนิดต่าง ๆ ทั้งตัวแปรทางกายภาพและทางเคมีของระบบ PFI-CL เพื่อให้ได้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมก่อนเพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงเพื่อให้ค่าถูกต้อง



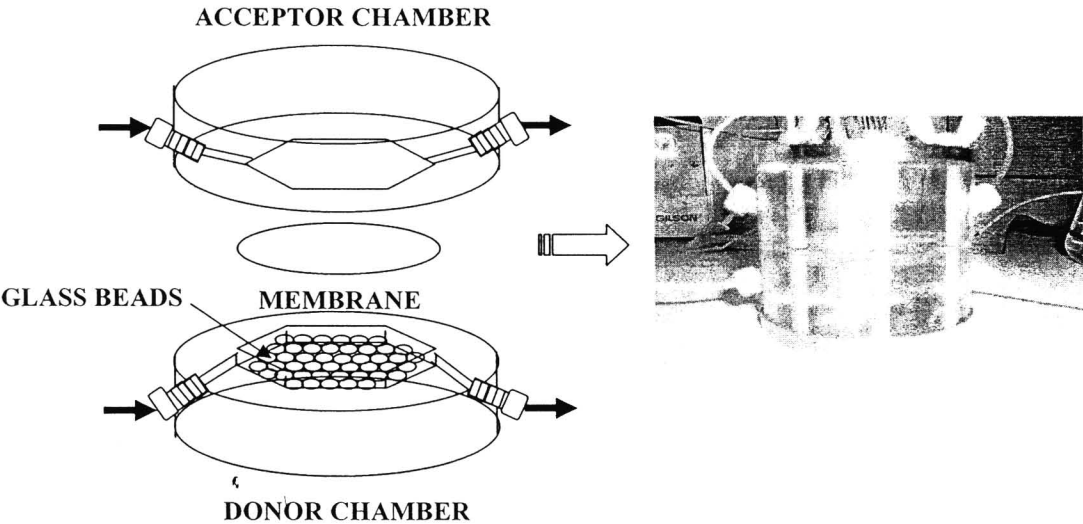
รูป 2.3 แผนผังการวัดเครื่องมือวิเคราะห์ไฮโดรเพอร์ออกไซด์ด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนซ์
Pump1, Pump2, peristaltic pump; Reagent stream (8.0×10^{-5} M KMnO_4 ใน sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Acceptor stream (1 mg l^{-1} Rhodamine B ใน 0.75 % sodium hexametaphosphate ใน 0.02 M H_3PO_4); Donor stream (0.2 M H_2SO_4); Valve (500 μl sample loop); PMT, photomultiplier tube; W, waste

รูป 2.3 ระบบฟลูออโรเมตริกซ์ที่พัฒนาในการวิเคราะห์ไฮโดรเพอร์ออกไซด์โดยระบบเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนซ์ ที่ทำการสร้างขึ้นเองจากวัสดุและอุปกรณ์ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นดังรูป 2.4 ในขณะที่หน่วยแยกเพอร์วาพอเรชันที่ได้สร้างขึ้นได้เลียนแบบจากงานวิจัยของ Hermin^[46] ที่ได้ทำการศึกษหาปริมาณไฮยาไนด์ มีลักษณะดังรูป 2.5 และลักษณะการจัดวางเม็ด glass beads ที่บรรจุอยู่ในหน่วยเพอร์วาพอเรชันเป็นแนวระนาบ แสดงดังในรูป 2.6

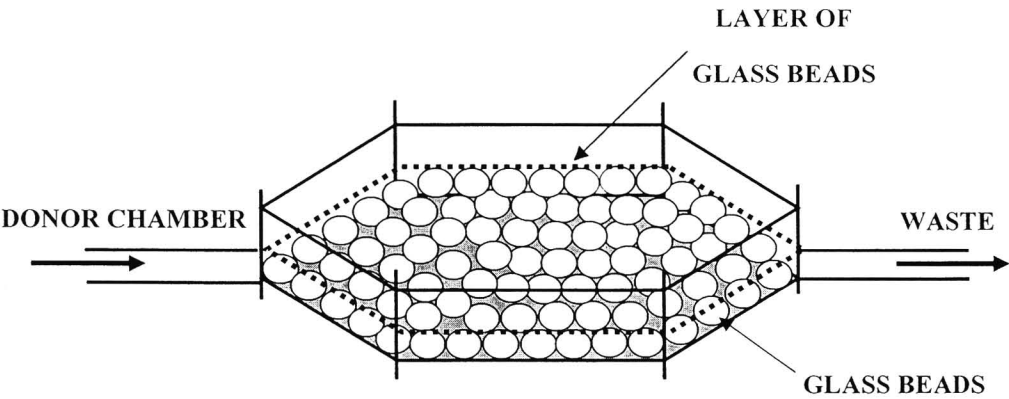


รูป 2.4 ระบบการวิเคราะห์ไฮโดรเพอร์ออกไซด์ด้วยวิธีเพอร์วาพอเรชันเคมีลูมิเนสเซนซ์

(1,2) peristaltic pump, (3) reagent stream solution, (4) acceptor stream solution, (5) donor stream solution, (6) injection valve, (7) pervaporation unit, (8) chemiluminescence detector, (9) high voltage power supply, (10) digital multimeter, (11) personal computer, (12) waste



รูป 2.5 หน่วยแยกสารเพอร์วาทอเรชั่น



รูป 2.6 การจัดเรียงเม็ด glass beads ใน donor chamber

2.3.3.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธีเพอร์วาทอเรชั่นโฟลอินเจคชัน

การศึกษาทดลองเพื่อปรับสภาวะของระบบเพอร์วาทอเรชั่นโฟลอินเจคชัน สามารถทำได้โดยวิธี univariation เพื่อศึกษาตัวแปรทางกายภาพและทางเคมี โดยจะปรับเปลี่ยนตัวแปรใดตัวแปรหนึ่งในการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในขณะที่ตัวแปรอื่น ๆ จะถูกควบคุมให้คงที่ตลอดเวลาที่ทำการศึกษาลของตัวแปรนั้น ๆ โดยทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมได้เริ่มต้นทำการควบคุมสภาวะการทดลองในส่วนของการตรวจวัดด้วยเคมีลูมิโนมิเตอร์ให้เหมือนกับสภาวะของ CL-FI ที่ได้ทดลองไว้ตามข้อ 3.3.1 และได้เพิ่มการศึกษาสภาวะต่างๆ ดังนี้

1. การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของส่วนตรวจวัดแบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ (กระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์)

ในการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ จะควบคุมให้อัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์มีค่าที่เท่ากัน ซึ่งจะศึกษาอัตราการไหลในช่วง 0.5-3.5 มิลลิลิตรต่อนาที เพื่อนำไปใช้ศึกษาผลที่มีต่อความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปในระบบ PFI-CL โดยจะนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับอัตราการไหลรวม (total flow rate) เพื่อหาอัตราการไหลของกระแสตัวรับและกระแสรีเอเจนต์ที่เหมาะสม

2. การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงในระบบ

หลังจากปรับอัตราการไหลที่เหมาะสมตามข้อ 1 ทำการศึกษาหาปริมาตรสารตัวอย่างสำหรับฉีดลงไปในกระแสตัวให้ในช่วงปริมาตร 50-500 ไมโครลิตร เพื่อนำไปใช้สำหรับศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ PFI-CL โดยจะนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดลงไปในระบบเพื่อหาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ทำให้ได้พีคสูงสุด

3. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสตัวให้

เมื่อปรับสถานะของระบบ PFI-CL ที่เหมาะสมตามข้อ 2 จะศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ละลายอยู่ในกระแสตัวให้ (donor stream) ในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.3 โมลาร์ โดยนำสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นต่างๆ ไปใช้ศึกษาความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ PFI-CL เพื่อนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีค กับความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในกระแสตัวให้

4. การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของกระแสตัวให้

ในการศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งจะศึกษาอัตราการไหลในช่วง 0.5-3.5 มิลลิลิตรต่อนาที เพื่อศึกษาผลของความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เมื่อฉีดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเข้าไปในระบบ PFI-CL โดยนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีค กับอัตราการไหล เพื่อหาอัตราการไหลที่เหมาะสมที่ทำให้พีคสูงสุด

5. การศึกษาผลของฟลูออโรฟอร์บางชนิดต่อการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์

หลังจากปรับสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำการศึกษาคผลของฟลูออโรฟอร์ที่ใช้ในการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ โดยศึกษาคผลของฟลูออโรฟอร์บางชนิด (โรดามีน บี และฟลูออเรสซิน) โดยทำการเติมลงฟลูออโรฟอร์ในกระแสดั้วรับโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต โดยกำหนดความเข้มข้นที่ไว้ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปเพื่อวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดขึ้น ภายในระบบ PFI-CL ที่เกิดขึ้น แล้วนำค่า ความสูงของพีคที่ได้ไปเปรียบเทียบกับระบบที่ไม่มีการเติมสารฟลูออโรฟอร์

6. การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของฟลูออโรฟอร์

หลังจากเลือกชนิดของฟลูออโรฟอร์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ในระบบ PFI-CL ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของโรดามีน บีในช่วงความเข้มข้น 0.5-3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเตรียมโรดามีน บี ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในกระแสดั้วรับสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่อยู่ในสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นทำการฉีดสารละลายซัลไฟต์เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าไปวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของระบบ PFI-CL แล้วนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายโรดามีน บี ที่ใช้เพิ่มสภาพไวในการวิเคราะห์

2.3.3.2. การศึกษาหาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

1. ทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าระบบ PFI-CL ที่มีสภาวะที่เหมาะสมจากการศึกษาได้จากข้อ 3.3.3.1 แล้ววัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์เพื่อหาความสูงของพีคแต่ละความเข้มข้นเพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐานและหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

2. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ จะพิจารณาจากปริมาณของซัลไฟต์ที่ทำการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์อยู่ในช่วงที่มีความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

2.3.3.3. การศึกษาอิทธิพลของไอออนรบกวนที่สามัญ

1. เตรียมสารละลายซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าระบบ PFI-CL เพื่อใช้เป็นพีคเปรียบเทียบ

2. เตรียมสารละลายซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและเตรียมสารละลายมาตรฐาน K^+ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดเดียวกัน (อัตราส่วน 1:1) แล้วมาฉีดเข้าระบบ PFI-CL เปรียบเทียบพีคที่ได้กับพีคข้อ 1 (หากว่าพีคที่ได้มีความสูงหรือต่ำกว่าเกิน 50 % จะถือว่าเกิดการรบกวนขึ้น)

3. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2 โดยเปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000 ตามลำดับ

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานของไอออนสามัญต่าง ๆ ที่ต้องการทดสอบ โดยจะศึกษาไอออนลบ ได้แก่ Cl^- , I^- , CH_3COO^- , SO_4^{2-} , S^{2-} , PO_4^{3-} และไอออนบวกที่พบบ่อย ได้แก่ K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , CO^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{3+} รวมถึงโมเลกุลของสารประกอบบางชนิดที่พบได้บ่อย ๆ ในอาหารหมักดอง เช่น กลูโคส, ซูโครส, กรดแอสคอร์บิก และเอทานอล เป็นต้น

2.3.3.4 การวิเคราะห์สารตัวอย่างอาหารหมักดอง

1. เก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองมาทำการวิเคราะห์ โดยจะเก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองที่คาดว่าจะมีสารซัลไฟด์ปนเปื้อนอยู่เพื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI-CL ในการทดลองได้เก็บตัวอย่างน้ำอาหารหมักดองมาจากตลาดสดแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย คือ น้ำหน่อไม้ดอง น้ำผักกาดดอง และซิงหนัฝอย

2. ทำการวิเคราะห์หาซัลไฟด์โดยวิธี PFI-CL โดยนำน้ำตัวอย่างมาทำการฉีดสู่ระบบ PFI-CL ซึ่งอาจต้องมีการเจือจางให้เหมาะสมเพื่อให้มีความเข้มข้นของสารละลายอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ ในกรณีที่ตัวอย่างมีสารซัลไฟด์พีคสัญญาณก็จะเกิดขึ้น ซึ่งความสูงของพีคสัญญาณจะนำมาใช้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น

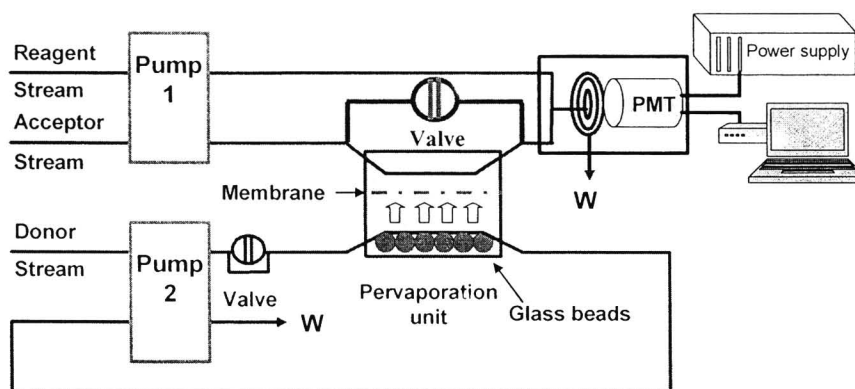
2.3.3.5 การหาค่าร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์

1. เจือจางสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรง มาทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ โดยวิธีเติมสารมาตรฐาน (standard addition) โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างในปริมาตรที่เท่ากันลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวด จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวดในปริมาตรที่แตกต่างกัน ปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี PFI เพื่อวัดค่าความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ มาสร้างกราฟมาตรฐานแบบเติมสารมาตรฐานจากปริมาณของซัลไฟด์ที่เติมลงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2. คำนวณร้อยละการกลับคืน จากการหาค่าที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน

2.3.6. การทดลองเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ โดยวิธีหยุดการไหลชั่วคราว (Stop flow mode)

โดยทำการฉีดสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์เข้าไปกระแสตัวพา เพื่อให้ไปเกิดปฏิกิริยากับสารละลายกรดในกระแสตัวให้ เพื่อเปลี่ยนสารละลายซัลไฟด์เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ภายใน pervaporation unit นั้น เมื่อก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน และเข้าไปสะสมในสารตัวพาเฮกซะเมเตฟอสเฟต โดยการกักเก็บก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในระยะเวลาที่เหมาะสม ทำได้โดยหยุดสารละลายใน acceptor chamber เป็นการชั่วคราวในระยะเวลาต่าง ๆ ตั้งแต่ 2-15 นาที โดยอาศัยวาล์วตัวที่ 2 มาต่อเข้ากับ acceptor chamber ดังรูป 2.7 โดยในขณะที่ว่าวาล์วตัวที่ 2 อยู่ในตำแหน่ง "Load" กระแสตัวรับบางส่วนจะถูกกักอยู่ใน acceptor chamber โดยที่กระแสตัวรับที่ถูกปั๊มจาก pump1 จะผ่านวาล์ว 2 โดยไม่ผ่านเข้าไปใน acceptor chamber แต่เมื่อครบเวลาที่ต้องการให้หยุดการไหลชั่วคราว จะสับวาล์วไปยังตำแหน่ง "Inject" เพื่อใส่สารตัวรับที่ถูกกักอยู่ใน acceptor chamber ให้ไหลผ่านไปเจอกับสารละลายรีเอเจนต์โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ซึ่งเป็นตัวทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์ที่บริเวณ Flat coil cell เพื่อตรวจวัดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ต่อไป



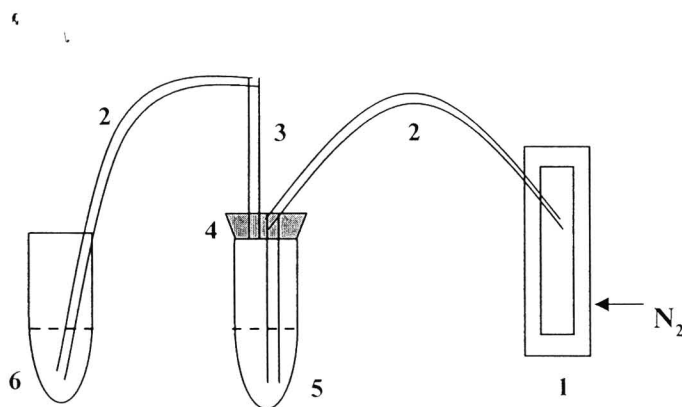
รูป 2.7 แผนผังการวางเครื่องมือ PFI-CL ในการศึกษาการหยุดการไหลชั่วคราว

ขั้นตอนการทำระบบ flow stop

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าเครื่อง PFI-CL โดยต่อระบบวาล์วขึ้นดังรูป 3.7 เพื่อใช้ในการศึกษาหยุดการไหลของสารละลายตัวรับ
2. จับเวลาในการกักหยุดสารละลายตัวรับ เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาในช่วง 2-15 นาที
3. ตรวจวัดสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์ตามระยะเวลาที่กำหนด

2.3.7 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล ฟัลส์ โพลารोगราฟี

ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์แบบดิฟเฟอเรนเชียล ฟัลส์ โพลารोगราฟี เป็นวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานของ AOAC ที่วัดปริมาณก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยทำการกลั่นด้วยกรดซัลฟิวริก (acid distillation) ในการแยกซัลไฟต์ออกจากอาหาร โดยเติมกรดซัลฟิวริก 35% โดยปริมาตร ลงไปในตัวอย่างแล้วทำการผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในตัวอย่าง เพื่อไล่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ถ่ายลงในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (ammonium acetate ใน ethanol) จากนั้นนำไปวัดปริมาณกระแสจากการแพร่ของสารละลายโดยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล ฟัลส์ โพลารोगราฟี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานปรอทหยดโดยวัดกระแสและความต่างศักย์ที่แตกต่างกันเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน



รูป 2.8 การจัดชุดอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียล ฟัลส์ โพลารोगราฟี

- | | | |
|---|---|-------------------------------|
| 1 | = | Nitrogen gas |
| 2 | = | Teflon tubing |
| 3 | = | Glass tubing |
| 4 | = | Rubber stopper |
| 5 | = | Sample test tube |
| 6 | = | Electrolyte-trapping solution |

ขั้นตอนการทำวิธีดิฟเฟอเรนเชียล ฟัลส์ โพลารोगราฟี

1. นำสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์เข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 10 มิลลิลิตร เทลงในหลอดทดลอง (ขนาด 25× 200 mm) เติมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 9.19 โมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายอิเล็กโทรไลต์แทปปิง(electrolyte-trapping solution) มาปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง (ขนาด 25× 200 mm) อีกหลอดหนึ่ง

3. จัดตั้งอุปกรณ์ดังรูป 2.8 จากนั้นผ่านก๊าซไนโตรเจนลงใน 10 นาที เมื่อครบ 10 นาที หยุดปล่อยก๊าซไนโตรเจนแล้วเติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 9.19 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ แล้วนำไปให้ความร้อนในอ่างให้ความร้อน (อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส) ผ่านก๊าซไนโตรเจนลงไปอีก 10 นาที หยุดปล่อยก๊าซไนโตรเจน

4. นำสารละลายอิเล็กโทรไลต์แทปปิง (electrolyte-trapping solution) จากหลอดทดลอง ถ่ายลงในโพลารोगราฟิเคเซลล์ จากนั้นผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในโพลารोगราฟิเคเซลล์ พร้อมกับคนสารละลายเป็นเวลา 240 วินาทีเพื่อทำการไล่ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลายเพื่อลดคลื่นออกซิเจน (oxygen wave)

5. วัดกระแสที่เกิดขึ้นและบันทึกค่ากระแสจากการแพร่ที่วัดได้ (-nA) โดยใช้ mode ดิฟเฟอเรนเชียล พัลส์ โพลารोगราฟิ ในช่วงค่าศักย์ไฟฟ้า -400 ถึง -800 โวลต์

6. ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานซัลไฟต์ ความเข้มข้น 15.0 และ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ทำการฉีดล้างหัวไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่น และซับด้วยกระดาษทิชชูทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนสารละลายใหม่)

7. วิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างโดยวิธีเดียวกัน เพื่อนำค่าที่กระแสนมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น ระหว่างกระแสจากการแพร่และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน