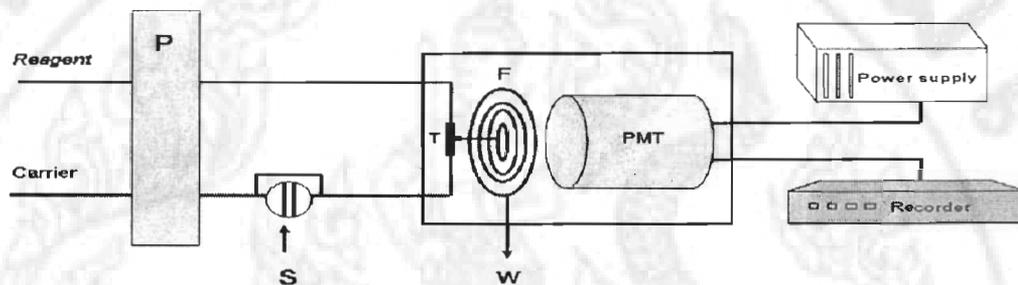


บทที่ 3

ผลการทดลอง

ในการวิจัยนี้ได้ทำการสร้างและทดสอบเทคนิค Chemiluminescence Flow Injection (CL-FI) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์ในน้ำธรรมชาติ โดยนำเครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการมาประยุกต์ใช้ เนื่องจากเทคนิคนี้มีข้อดีคือวิเคราะห์ได้รวดเร็ว ใช้ปริมาณสารตัวอย่างและสารที่ทำปฏิกิริยาน้อยมาก ทำให้เกิดของเสียที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมน้อย การวิเคราะห์เป็นระบบปิดซึ่งเป็นข้อดีต่อผู้วิเคราะห์ที่ไม่ต้องสัมผัสสารเคมีโดยตรง

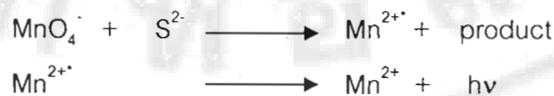
3.1 การออกแบบ flow diagram สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิค CL-FI



รูป 3.1 ระบบ CL-FI Carrier = 1%(m/v) sodium hexametaphosphate: Reagent = acidic potassium permanganate in sodium hexametaphosphate: P = peristaltic pump: S = sample injector 500 μ l: T = T-shaped connector: F = flat coil cell: PMT = photomultiplier tube: W = waste

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟต์โดยเทคนิค CL-FI นั้นมีการใช้สารตัวพา คือ สารละลาย 1%(m/v) โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต รีเอเจนต์คือโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรด ในสารละลาย 1%(m/v) โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ซึ่งเป็นตัวทำปฏิกิริยากับซัลไฟต์

หลักการของการวิเคราะห์คือเมื่อรีเอเจนต์และสารตัวพานำเข้าสู่เครื่อง CL-FI ทำการฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในกระแสตัวพา เมื่อสารตัวอย่างที่มีซัลไฟต์อยู่ไปเจอกับรีเอเจนต์บริเวณ flat coil cell จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลไฟต์กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลาย 1%(m/v) โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ทำให้เกิดการคายแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของไอออน Mn^{2+} ดังสมการ



เมื่อ * คือ สภาวะกระตุ้นของไอออน Mn^{2+}

โดยแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของ Mn^{2+} ที่คายออกมาจะมีความยาวคลื่นประมาณ 595 นาโนเมตร⁽²¹⁾ ซึ่งความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์จะถูกตรวจวัดโดย PMT และส่งสัญญาณไปยังเครื่องบันทึกผลเพื่อบันทึกผลที่ได้ออกมาในรูปของพีคสัญญาณ

3.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

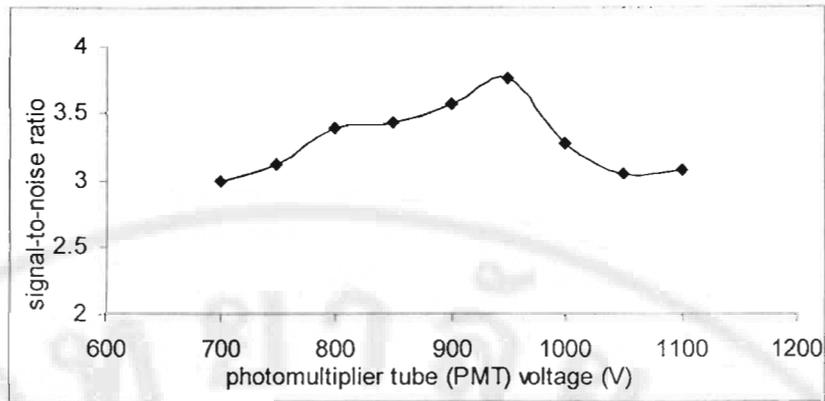
ในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ CL-FI จาก manifold ในรูป 3.1 ได้กำหนดสภาวะเริ่มต้นดังตาราง 3.1 ก่อนที่จะทำการศึกษหาสภาวะที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์และส่งผลต่อสภาพไวของการวิเคราะห์

ตาราง 3.1 สภาวะเริ่มต้นในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ CL-FI

พารามิเตอร์	สภาวะเริ่มต้น
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT	950 โวลต์
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายไฮเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	5.0×10^{-5} โมลาร์
ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	0.02 โมลาร์
ความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	1%(m/v)
อัตราการไหลรวม	3.0 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรสารตัวอย่าง	100 ไมโครลิตร
อุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยา	อุณหภูมิห้องปรับอากาศ (~25-28 องศาเซลเซียส)

3.1.1.1 การศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอด PMT

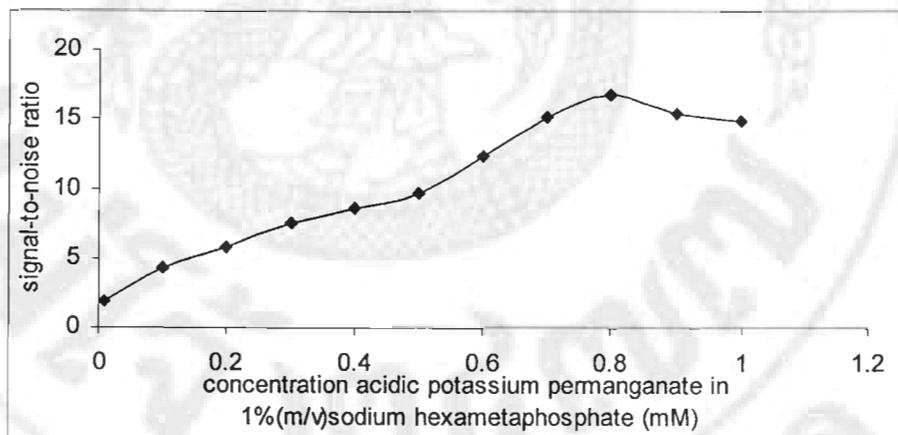
ในการศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับจ่ายแก่หลอด PMT ได้ทดลองใช้สารละลายมาตรฐานไดไฮเดียมซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นของเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร ฉีดเข้าไปในระบบ โดยได้ทำการทดลองหาศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT ในช่วง 700-1100 โวลต์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.2 โดยค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมต่อระบบ CL-FI คือ 950 โวลต์ ซึ่งที่ค่าศักย์ไฟฟ้านี้มีค่าสัญญาณ signal-to-noise ratio สูงสุด



รูป 3.2 ผลการศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอด PMT

3.1.1.2 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

เมื่อใช้ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จ่ายแก่หลอด PMT ที่ได้จากข้อ 3.1.1.1 มาใช้ในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตที่ใช้เป็นสารรีเอเจนต์ ในช่วง 1.0×10^{-5} - 1.0×10^{-3} โมลาร์ พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (reagent) คือ 8.0×10^{-4} โมลาร์ ดังแสดงในรูป 3.3

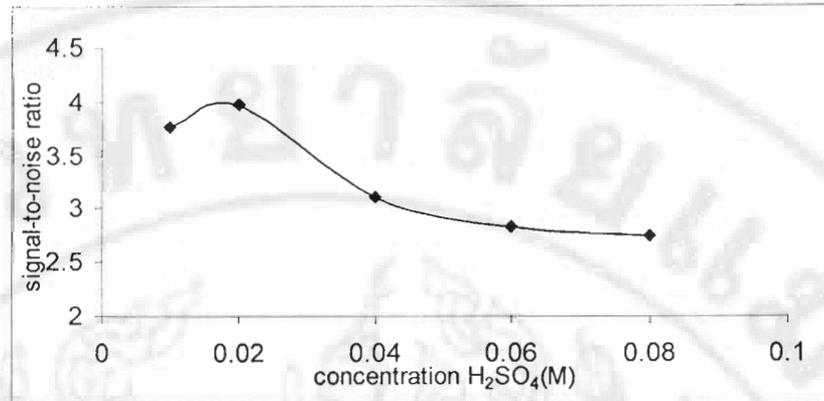


รูป 3.3 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

3.1.1.3 หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริก

การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ผสมในสารตัวพาและรีเอเจนต์ จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.1.1.1 และ 3.1.1.2 โดยหาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกในช่วง

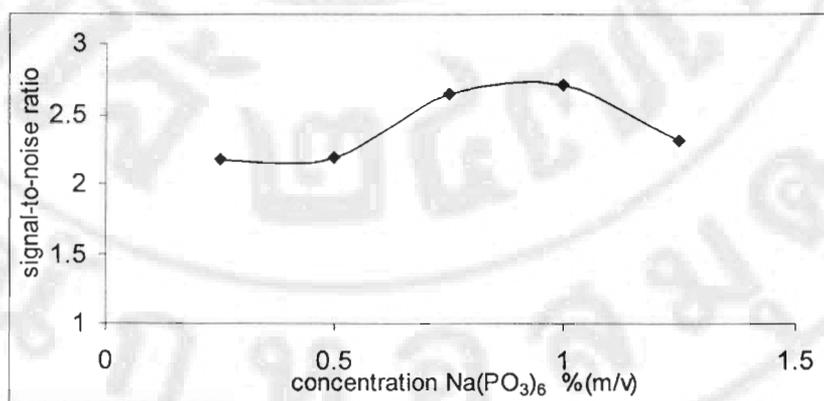
0.01-0.08 โมลาร์ พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.4 โดยที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริก ในกระแสดัวพา เท่ากับ 0.02 โมลาร์ ($\text{pH} = 2.08$) ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก เพิ่มมากขึ้นก็จะทำให้ค่าสัญญาณ signal-to-noise ratio ยิ่งลดต่ำลงไม่เหมาะสำหรับการ วิเคราะห์



รูป 3.4 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซัลฟิวริก

3.1.1.4 การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

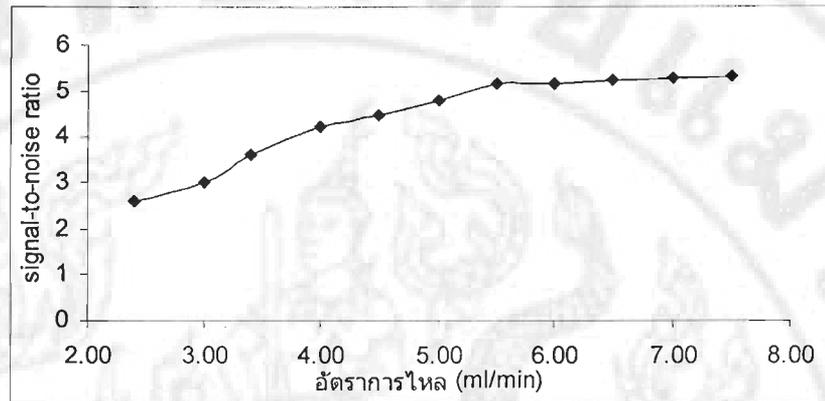
การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (สารตัวพา) จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.1.1.1-3.1.1.3 โดยศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียม เฮกซะเมตาฟอสเฟตในช่วง 0.25-1.25% (m/v) พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.5 โดยที่ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต เท่ากับ 1.0% (m/v) ซึ่ง จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตมากขึ้นก็จะทำให้ค่า สัญญาณ signal-to-noise ratio เพิ่มขึ้นและมีค่าคงที่บริเวณ 0.75-1.0% (m/v) แต่เมื่อความ เข้มข้นเพิ่มมากกว่านี้จะทำให้ค่าสัญญาณ signal-to-noise ratio ลดต่ำลง



รูป 3.5 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

3.1.1.5 การศึกษาอัตราการไหลรวมที่เหมาะสม

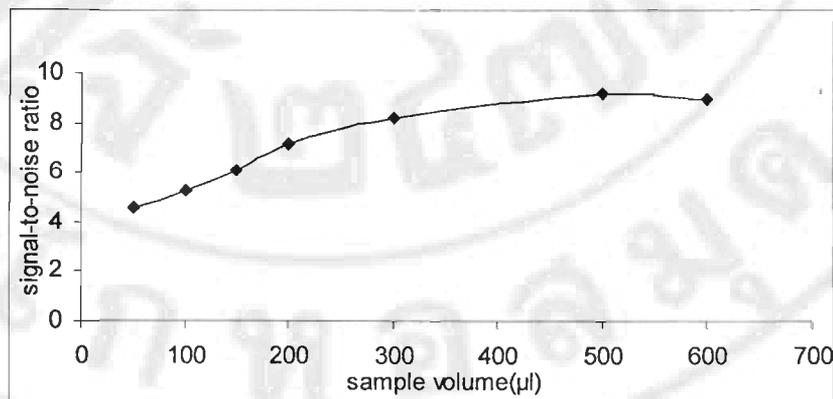
ผลจากการศึกษาอัตราการไหลโดยกำหนดใช้อัตราการไหลที่เท่ากันทั้งกระแสตัวพาและกระแสรีเอเจนต์ โดยในการหาอัตราการไหลรวมที่เหมาะสมจะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.1.1.1-3.1.1.4 โดยทำการศึกษาอัตราการไหลในช่วง 2.4-7.5 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.6 ซึ่งจะเห็นว่าที่อัตราการไหลรวมสูงกว่า 5.5 มิลลิลิตรต่อนาที ไม่พบว่าสัญญาณแสงเคมิลูมิเนสเซนซ์เพิ่มแต่อย่างใด ดังนั้นจึงเลือกอัตราการไหลรวมที่เหมาะสมเท่ากับ 5.5 มิลลิลิตรต่อนาที เพราะเป็นการประหยัดสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวพาและรีเอเจนต์



รูป 3.6 ผลการศึกษาอัตราการไหลรวมที่เหมาะสม

3.1.1.6 การศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไปในระบบ

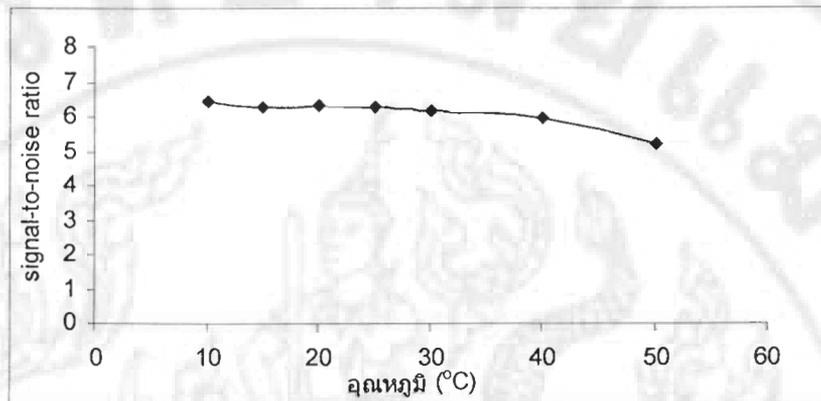
การหาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่จะฉีดลงไปในระบบ จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.1.1.1-3.1.1.5 โดยทำการศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างในช่วง 50-600 ไมโครลิตร ซึ่งพบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.7 โดยที่เลือกใช้ปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่จะฉีดเข้าไปในระบบ เท่ากับ 500 ไมโครลิตร เนื่องจากที่ปริมาตรมากกว่า 500 ไมโครลิตร ไม่ทำให้สัญญาณที่ได้เพิ่มขึ้นแต่อย่างใด



รูป 3.7 ผลการศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมที่ฉีดลงไปในระบบ

3.1.1.7 การศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทดลอง

การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทดลอง จะใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้างต้นโดยทำการศึกษาอุณหภูมิในช่วง 10-50 องศาเซลเซียส พบว่าได้ผลดังแสดงในรูป 3.8 ซึ่งผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิในช่วง 10-30 องศาเซลเซียสไม่มีผลต่อการทดลอง จะมีผลต่อสัญญาณแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ก็ต่อเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ลดลง



รูป 3.8 ผลการศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทดลอง

3.1.1.8 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ สามารถสรุปได้ว่าสภาวะที่สามารถทำให้ระบบ CL-FI มีสภาพไวสูงสุดมีผลจากปัจจัยต่างๆ ดังแสดงในตาราง 3.2

ตาราง 3.2 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ CL-FI

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
ศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายแก่หลอด PMT	950 โวลต์
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่อยู่ในสภาพกรดในสารละลายโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	8.0×10^{-5} โมลาร์
ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	0.02 โมลาร์
ความเข้มข้นของโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต	1%(m/v)
อัตราการไหลรวม	5.5 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรสารตัวอย่าง	100 ไมโครลิตร
อุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยา	อุณหภูมิห้องปรับอากาศ

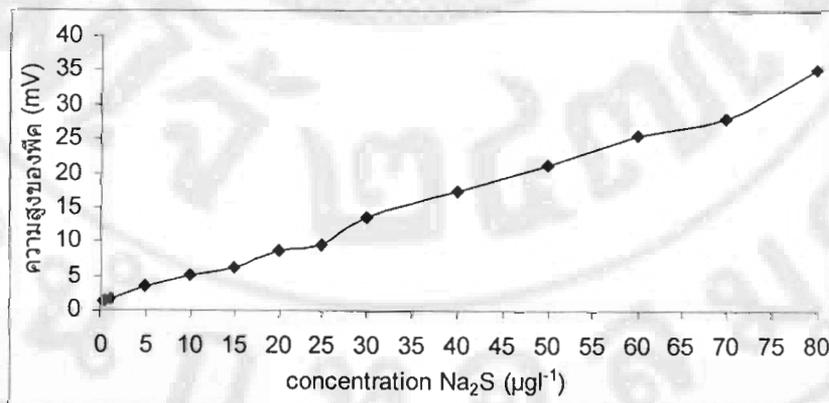
3.1.2 คุณลักษณะเฉพาะของการวิเคราะห์ด้วยระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ฟลูออโรอิมเมจชัน

3.1.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง

ในการหาช่วงความเป็นเส้นตรงที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ได้ทำการวิเคราะห์โดยการนำสารละลายมาตรฐานไดโซเดียมซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นระหว่าง 0.50-80.0 ไมโครกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ CL-FI ที่มีสภาวะดังตาราง 3.2 พบว่าได้ผลดังตาราง 3.3 และในรูป 3.9

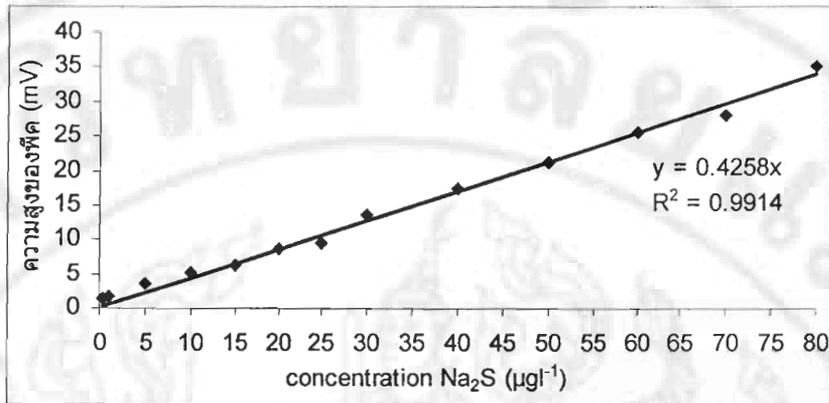
ตาราง 3.3 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วย CL-FI

ความเข้มข้นของซัลไฟด์ ($\mu\text{g l}^{-1}$)	ความสูงของพีค (mV)
0.50	0.57
1.00	0.64
5.00	1.39
10.0	2.04
15.0	2.47
20.0	3.38
25.0	3.71
30.0	5.39
40.0	6.88
50.0	8.27
60.0	10.0
70.0	11.0
80.0	13.8

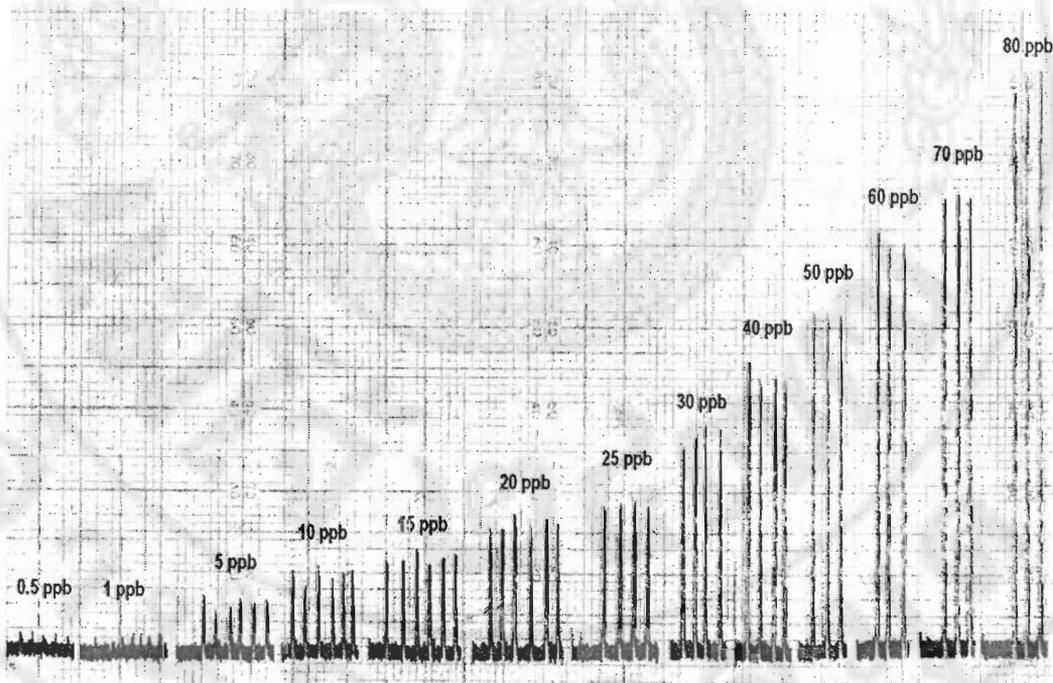


รูป 3.9 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ CL-FI

จากรูป 3.9 พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์อยู่ในช่วงความเข้มข้น 1.0-20.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อนำไปสร้างเป็นกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์พบว่า กราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์ดังสมการ $y = 0.1668x$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์เท่ากับ 0.9914 ดังแสดงในรูป 3.10 โดยลักษณะ CL-FI gram ที่ได้มีดังรูป 3.11



รูป 3.10 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบ CL-FI

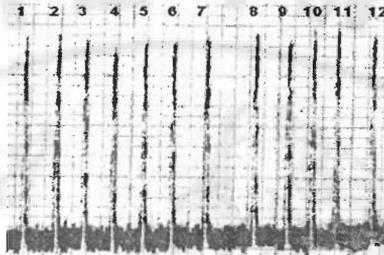


รูป 3.11 ตัวอย่าง CL-FI gram ของซัลไฟด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

3.1.2.2 การหาความแม่นยำและความเที่ยงของเครื่องมือ

ในการวิเคราะห์หาความแม่นยำของเครื่องมือในการวิเคราะห์ ได้ทำการทดสอบโดยการนำสารมาตรฐานโดโซเดียมซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าไปในระบบ CL-FI ที่มีสภาวะดังตาราง 3.2 จำนวน 12 ครั้ง พบว่าได้ผลดังรูป 3.12

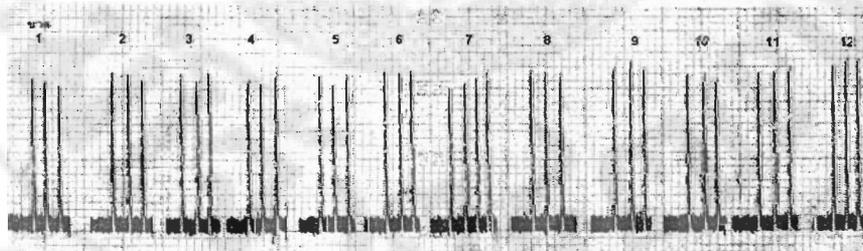
ซึ่งจากการทดลองได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.099 และ เปอร์เซนต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 2.38 ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า 5 % ซึ่งถือว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้น 95%



รูป 3.12 ตัวอย่าง CL-FI gram ในการศึกษาหาความแม่นยำของเครื่องมือ

ส่วนในการวิเคราะห์หาความเที่ยงของเครื่องมือ ได้ทำการทดสอบโดยการนำสารมาตรฐานโดโซเดียมซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อลิตร จำนวน 12 ขวด มาฉีดเข้าไปในระบบ CL-FI ที่มีสภาวะดังตาราง 3.2 พบว่าได้ผลดังรูป 3.13 ขวดละ 3 ครั้งเพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ยเป็นค่าเดียว

จากการทดลองพบว่าได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.143 และ เปอร์เซนต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 3.26 ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า 5 % ซึ่งถือว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้น 95% เช่นกัน



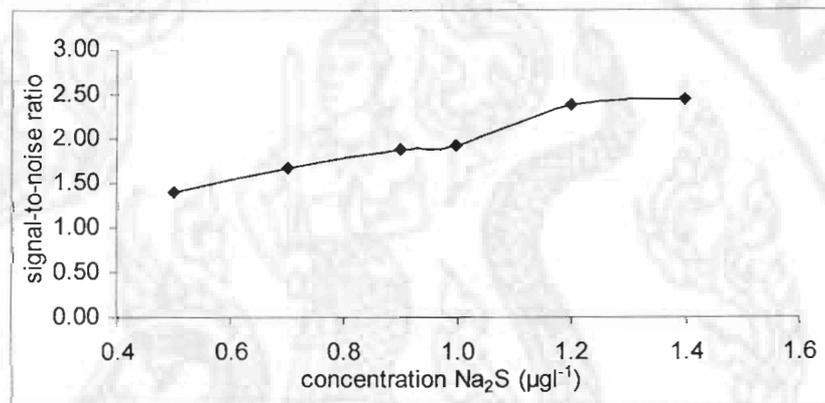
รูป 3.13 ตัวอย่าง CL-FI gram ในการศึกษาหาความเที่ยงของเครื่องมือ

3.1.2.3 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือ

ในการหาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือ เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ทำได้โดยการนำสารมาตรฐานโดโซเดียมซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นในช่วง 0.5-1.4 ไมโครกรัมต่อลิตร

มาฉีดเข้าไปในระบบ CL-FI เพื่อสังเกตความความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถตรวจพบที่ค
 สัญญาณได้โดยระบบ CL-FI ที่สร้างขึ้น

แม้ น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม ได้กล่าวว่า ขีดจำกัดของการตรวจหา⁽²²⁾ หมายถึง ความ
 เข้มข้นของสารที่ทำการวิเคราะห์ซึ่งสามารถให้สัญญาณเป็น 2 หรือ 3 เท่าของพื้นหลังหรือ
 สัญญาณรบกวน ซึ่งจากตาราง 3.6 ความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่ 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ให้สัญญาณ
 ที่สูงกว่าพื้นหลัง (back ground) เท่ากับ 2 เท่า ซึ่งอาจสรุปได้ดังกราฟระหว่าง signal-to-noise
 ratio กับความเข้มข้นของซัลไฟด์ ในรูป 3.14 ดังนั้นความเข้มข้นที่ 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร จึงเป็น
 ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ และสามารถกล่าวได้ว่า ระบบ CL-FI ที่สร้างขึ้นไม่สามารถ
 นำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่ต่ำกว่า 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร



รูป 3.14 ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของเครื่องมือ

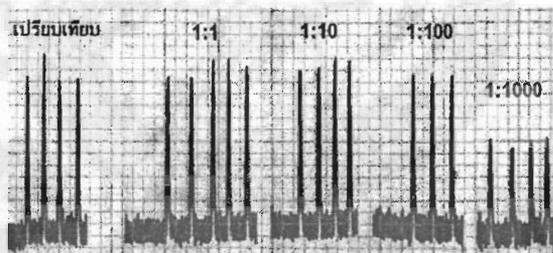
3.1.2.4 การหาไอออนรบกวน

การหาอิทธิพลจากไอออนรบกวนที่สำคัญและพบได้ในธรรมชาติ ทำได้โดยการนำ
 สารละลายไดโซเดียมซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อลิตร มาฉีดเข้าเครื่อง CL-FI เพื่อใช้
 เป็นพีคเปรียบเทียบ จากนั้นนำสารละลายอีก 1 ชนิดที่ประกอบไปด้วยสารละลายไดโซเดียม
 ซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อลิตรและสารละลายมาตรฐานของไอออนรบกวนที่จะ
 ศึกษา 20 ไมโครกรัมต่อลิตร (อัตราส่วน 1:1) มาฉีดเข้าเครื่อง CL-FI เปรียบเทียบพีคที่ได้กับพีคที่
 ใช้เปรียบเทียบ (พีคสูงหรือต่ำกว่าเกิน 50%ถือว่าเกิดการรบกวน) ทำการทดลองเช่นเดิมโดย
 เปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 ผลการหาไอออนรบกวนแสดงดังตาราง 3.4 และ
 รูป 3.15

ตาราง 3.4 ผลของการศึกษาไอออนบวก

	Species	Tolerance($\mu\text{g l}^{-1}$)	หมายเหตุ
ไอออนลบ	NO_3^- , Cl^- , F^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$	20,000	ไม่มีผล
	I^- , Br^-	2,000	ลดลง
	SO_3^{2-}	2,000	เพิ่มขึ้น
	SCN^-	20	เพิ่มขึ้น
ไอออนบวก	Ca^{2+} , Na^+ , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Al^{3+} , K^+ , NH_4^+ , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+}	20,000	ไม่มีผล
	Co^{2+} , Mg^{2+} , Cr^{3+}	20,000	ลดลง
	Hg^{2+}	200	ลดลง
	As^{3+} ⁽²¹⁾	20	เพิ่มขึ้น

ในการศึกษาผลจากไอออนบวกที่สำคัญซึ่งมีผลต่อความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ เช่น SO_3^{2-} , SCN^- , As^{3+} จะมีผลรบกวนในทางบวก ส่วนไอออน I^- , Br^- , Co^{2+} , Mg^{2+} , Cr^{3+} , Hg^{2+} จะมีผลในการลดความเข้มของแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ ส่วน NO_3^- , Cl^- , F^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, Ca^{2+} , Na^+ , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Al^{3+} , K^+ , NH_4^+ , Cu^{2+} , Fe^{3+} และ Ni^{2+} จะไม่มีผลต่อการวัดความเข้มแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ของซัลไฟด์ด้วยเทคนิค CL-FI ที่ศึกษา

รูป 3.15 ตัวอย่าง CL-FI gram ในการศึกษาหาไอออนบวกของ Cr^{3+} ที่อัตราส่วนต่างๆ

3.1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ในน้ำตัวอย่าง

3.1.3.1 การเก็บตัวอย่าง สถานที่เก็บ วิธีการเก็บรักษา

- เก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติมาทำการวิเคราะห์ โดยจะเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่คาดว่าจะมีซัลไฟด์ปนเปื้อนอยู่เพื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี CL-FI ในการทดลอง ได้เก็บตัวอย่างน้ำมาจากน้ำพุร้อนสันกำแพง น้ำเสียจากหอพักและบ้านเรือนภายในมหาวิทยาลัยแม่โจ้ และน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง (ภาคผนวก ข)

วิธีการเก็บน้ำตัวอย่าง^(12,18,19) เก็บโดยใช้ขวดโพลีเอทิลีนซึ่งผ่านการล้างด้วย 2N กรดไนตริกและน้ำปราศจากไอออน การเก็บตัวอย่างน้ำจะต้องกลั้วขวดโพลีเอทิลีนด้วยน้ำตัวอย่าง ก่อน 2-3 ครั้ง จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำให้เต็มขวดโดยปิดฝาได้น้ำเพื่อป้องกันการสูญเสียซัลไฟด์ แซ่ตัวอย่างในถังน้ำแข็ง (รักษาอุณหภูมิที่ 4 °C) ถ้าเป็นไปได้ให้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างโดยทันที หรือถ้าไม่สามารถทดลองได้ทันทีควรเติมสารเคมีรักษาสภาพคือ zinc acetate โดยเติม 2 N zinc acetate 4 หยดต่อน้ำตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ซึ่งวิธีนี้สามารถเก็บรักษาตัวอย่างได้สูงสุด 28 วัน

3.1.3.2 วิธีการหาปริมาณซัลไฟด์ในน้ำตัวอย่าง

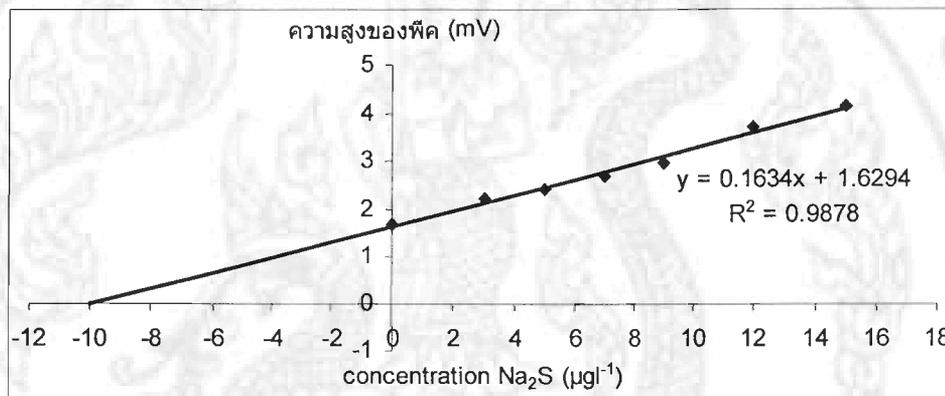
ในการหาปริมาณซัลไฟด์ในตัวอย่างน้ำธรรมชาติ สามารถทำได้ 2 วิธี คือวิธีการเติมสารมาตรฐาน(Standard addition) และวิธีการกราฟมาตรฐาน โดยวิธีการเติมสารมาตรฐานมีหลักการ คือ การเติมสารตัวอย่างในปริมาตรที่เท่ากันในแต่ละขวด และเติมสารมาตรฐานความเข้มข้นที่แตกต่างกันแต่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนในแต่ละขวดแล้วปรับปริมาตรให้เท่ากัน นำสารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยระบบ CL-FI เพื่อหาค่าความสูงของพีคสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน โดยการกำหนดให้แกน Y เป็นค่าความสูงของพีค (mV) แกน X เป็นความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป เมื่อลากเส้นตัดแกน X ค่าที่ได้จากแกน X คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ถูกเจือจาง โดยความเข้มข้นที่ถูกต้องจะต้องนำค่าที่ได้ไปคูณด้วย dilution factor ที่ใช้ ส่วนวิธีการกราฟมาตรฐานทำได้โดยฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ CL-FI นำค่าความสูงของพีคที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานก็จะสามารถหาความเข้มข้นของซัลไฟด์ในน้ำตัวอย่างได้

3.1.3.2.1 การหาปริมาณซัลไฟด์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง

ทำการทดลองโดยนำน้ำเสียปริมาตร 1 มิลลิลิตรเติมลงในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทั้งหมด 7 ขวด จากนั้นเติมสารมาตรฐานไดโซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0, 150, 250, 350, 450, 600, 750 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วย 1%(m/v)โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต จะได้ความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เติมลงไปในแต่ละขวดเท่ากับ 0, 3, 5, 7, 9, 12 และ 15 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบ CL-FI ที่พัฒนาขึ้น (ภาคผนวก ค) ในทันทีได้ผลการวิเคราะห์ดังตาราง 3.5 และรูป 3.16

ตาราง 3.5 ผลการหาความเข้มข้นของซัลไฟด์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่องโดยวิธีการ
เดิม สารมาตรฐาน

ความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เติมลงไป ($\mu\text{g l}^{-1}$)	ความสูงของพีค (mV)
0	1.68
3	2.20
5	2.40
7	2.68
9	2.96
12	3.70
15	4.12



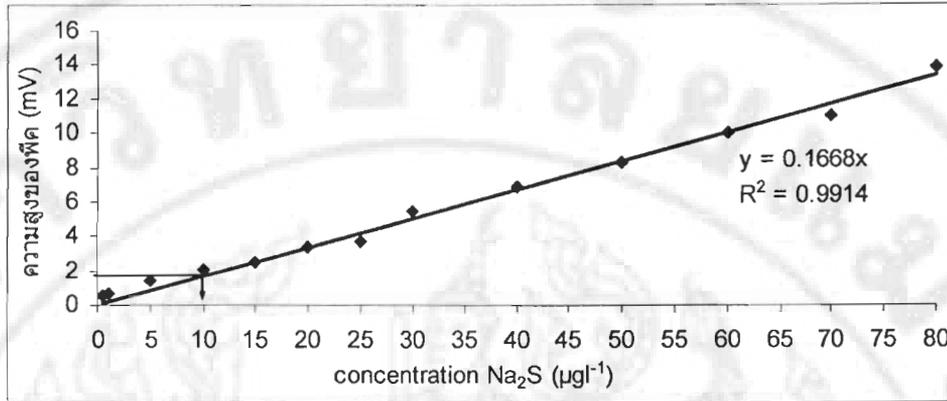
รูป 3.16 กราฟการหาปริมาณซัลไฟด์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่องโดยวิธีการเดิมสาร
มาตรฐาน

จากรูป 3.16 ความเข้มข้นของซัลไฟด์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่องที่ถูกเจือจาง
มีค่า เท่ากับ 9.97 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อนำไปคูณกับ dilution factor จากการเจือจาง
สารละลาย 50 เท่า

$$\begin{aligned}
 \text{พบว่ามีความเข้มข้น} &= 9.97 \times 50 \text{ ไมโครกรัมต่อลิตร} \\
 &= 498 \text{ ไมโครกรัมต่อลิตร} \\
 &= 0.498 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}
 \end{aligned}$$

สรุปได้ว่า ความเข้มข้นของซัลไฟด์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง
เท่ากับ 0.498 มิลลิกรัมต่อลิตร

ส่วนการวิเคราะห์น้ำตัวอย่างโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานได้ทำการทดลอง ดังนี้คือ นำน้ำเสียปริมาตร 1 มิลลิลิตรเติมลงในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย 1%(m/v)โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบ CL-FI ที่พัฒนาขึ้นได้ผลการวิเคราะห์ดังรูป 3.17



รูป 3.17 การหาปริมาณซัลไฟต์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่องโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

จากรูป 3.17 ความเข้มข้นของซัลไฟต์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่องที่ถูกเจือจางมีค่าเท่ากับ 10.07 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อนำไปคูณกับ dilution factor จากการเจือจางสารละลาย 50 เท่า

$$\begin{aligned}
 \text{พบว่ามีความเข้มข้น} &= 10.07 \times 50 \text{ ไมโครกรัมต่อลิตร} \\
 &= 503 \text{ ไมโครกรัมต่อลิตร} \\
 &= 0.503 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}
 \end{aligned}$$

สรุปได้ว่า ความเข้มข้นของซัลไฟต์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่องเท่ากับ 0.503 มิลลิกรัมต่อลิตร

ส่วนในตัวอย่างน้ำจากแหล่งอื่นคือ จากน้ำเสียจากหอพักและบ้านเรือนภายในมหาวิทยาลัยแม่โจ้ น้ำพุร้อนสันกำแพง (เต็มและไม่เต็มสารรักษาสภาพ 2 N zinc acetate) ก็ทำได้เช่นเดียวกันแต่จะใช้ปริมาตรน้ำตัวอย่าง 0.25 และ 1 มิลลิลิตร โดยมีค่า dilution factor เท่ากับ 200 และ 500 ตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษาได้ผลดังตาราง

ตาราง 3.6 การหาปริมาณซัลไฟด์จากวิธีกราฟมาตรฐานและการเติมสารมาตรฐาน

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของซัลไฟด์ (mg l^{-1})	
	วิธีกราฟมาตรฐาน	วิธีการเติมสารมาตรฐาน
น้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง	0.503	0.498
น้ำเสียจากหอพักและบ้านเรือนภายใน ม.แม่โจ้	3.442	3.422
น้ำปุ๋ยร่อนสีนกำแพง (เติม 2 N zinc acetate)	6.235	6.406
น้ำปุ๋ยร่อนสีนกำแพง (ไม่เติม 2N zinc acetate)	6.055	6.190

ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารตัวอย่างที่เก็บได้จากบ่อน้ำปุ๋ยร่อนสีนกำแพงที่มีการเติม 2 N zinc acetate มีปริมาณซัลไฟด์ที่มากกว่า น้ำตัวอย่างที่ไม่เติม 2 N zinc acetate เล็กน้อยเพราะว่า zinc acetate มีคุณสมบัติในการรักษาสภาพน้ำ ซึ่งจะทำให้เกิดการสูญเสียซัลไฟด์ในปริมาณน้อยกว่าชนิดที่ไม่ได้เติม 2 N zinc acetate ลงไป

3.1.4 การหาร้อยละการกลับคืน

การหาร้อยละการกลับคืนสามารถหาได้จากการเปรียบเทียบผลที่ได้จากวิธีการเติมสารมาตรฐานกับวิธีกราฟมาตรฐาน พบว่าในตัวอย่างน้ำบริเวณต่างๆมีร้อยละการกลับคืนดังตาราง 3.7

ตาราง 3.7 ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟด์ในน้ำตัวอย่าง

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง ($\mu\text{g l}^{-1}$)	ความเข้มข้นที่อ่านได้	ความเข้มข้นที่กลับคืน	ร้อยละการกลับคืน	
น้ำเสียบริเวณศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง	0	10.07	-	-
	3	13.19	3.12	104.0
	5	14.39	4.32	89.4
	7	16.07	6.00	85.7
	9	17.74	7.68	85.3
	12	22.18	12.11	100.9
	15	24.70	14.63	97.5
		ค่าเฉลี่ย		93.3

ตาราง 3.7 ร้อยละการกลับคืนของซัลไฟด์ในน้ำตัวอย่าง (ต่อ)

ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง ($\mu\text{g l}^{-1}$)	ความเข้มข้น ที่อ่านได้	ความเข้มข้นที่ กลับคืน	ร้อยละการ กลับคืน	
น้ำเสียจากหอพักและ บ้านเรือนภายใน ม.แม่ โจ้	0	17.21	-	-
	3	20.62	3.41	113.8
	5	22.36	5.15	103.0
	7	25.72	8.51	121.6
	9	26.44	9.23	102.5
	12	30.34	13.12	109.4
	15	32.31	15.10	100.7
	ค่าเฉลี่ย			108.5
น้ำพุร้อนสันกำแพง (เติม 2 N Zinc acetate)	0	12.47	-	-
	3	15.59	3.11	103.9
	5	17.80	5.34	106.7
	7	18.70	6.24	89.1
	9	20.50	8.03	89.3
	12	23.08	10.61	88.4
	15	28.00	15.53	103.5
	ค่าเฉลี่ย			96.8
น้ำพุร้อนสันกำแพง (ไม่เติม 2N Zinc acetate)	0	12.11	-	-
	3	15.94	3.84	127.9
	5	17.92	3.81	116.3
	7	18.88	6.77	90.8
	9	21.76	9.65	107.2
	12	24.28	12.17	101.4
	15	27.70	15.59	103.9
	ค่าเฉลี่ย			107.9

จากการทดลองพบว่าได้ค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยของซัลไฟด์ในน้ำเสียบริเวณศูนย์
การศึกษาต่อเนื่อง น้ำเสียจากหอพักและบ้านเรือนภายใน ม.แม่โจ้ และน้ำพุร้อนสันกำแพง (แบบ
เติมและไม่เติม 2N zinc acetate) อยู่ในช่วง 93.3-108.5