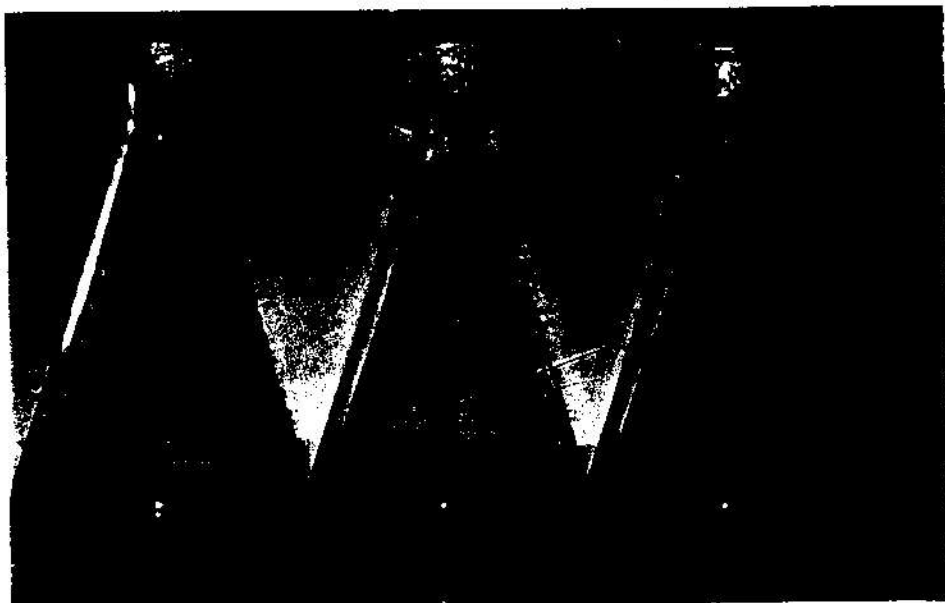


บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์

4.1 ผลที่ได้จากการเลี้ยงแบคทีเรีย

หลังจากเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว SA ที่มีเหล็กจำกัด และให้อากาศแบบ magnetic agitation เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้สารละลายที่มีลักษณะ และสีดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ลักษณะของสารละลายไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากการเลี้ยง 24 ชั่วโมง

4.2 ผลที่ได้จากการศึกษาสมบัติของ Siderophores Supernatant, ที่แยกได้ และที่ทำให้ไซเดอโรฟอร์บริสุทธิ์

เมื่อนำผลที่ได้จากการเลี้ยงมาศึกษาสมบัติบางประการ แล้วดำเนินการแยก และทำให้บริสุทธิ์ทั้งในรูปของลิแกนด์อิสระ และสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์ จะได้ผลดังตารางที่ 4.1, 4.2, 4.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ผลที่ได้จากการแยกในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-ไซโคโรฟอรัส

สายพันธุ์	สีของสารละลาย	สีของสารละลายหลังจากเติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และ FeCl_3	pH	จำนวนแถบเมื่อผ่านคอลัมน์ XAD-4 เรซิน
<i>Ps. aeruginosa</i>	เขียวเหลือง	น้ำตาล	กลาง	1
AE ₃	เขียวเหลือง	น้ำตาล	กลาง	1
AE ₁₁	เขียวเหลือง	น้ำตาล	กลาง	1
AE ₁₄	เขียวเหลือง	น้ำตาล	กลาง	1
AE ₂₂	เขียวเหลือง	น้ำตาลแดง	กลาง	1
S ₂ E ₅	เขียวเหลือง	น้ำตาล	กลาง	1

จากตารางที่ 4.1 นำผลที่ได้จากการเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ คือ *Ps. aeruginosa*, AE₃, AE₁₁, AE₁₄, AE₂₂, S₂E₅ ในอาหารเหลว 24 ชั่วโมง ได้สารละลายสีเขียวเหลือง เติมสารละลายเฟอร์ริก คลอไรด์ ได้สารละลายสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลแดง ปรับ pH ให้เป็นกลางแล้วผ่านลงในคอลัมน์ที่บรรจุด้วย Amberlite XAD-4 resin ส่วนที่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซโคโรฟอรัสจะเกาะอยู่ส่วนบนของคอลัมน์ และมี 1 แถบ

ตารางที่ 4.2 ผลที่ได้จากการทำให้บริสุทธิ์ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน
ของเหล็ก-ไซโคโรเฟอร์

สายพันธุ์	สีของสารละลาย	แผ่นคอลัมน์ Bio-Gel P-2 gel	น้ำหนักเฉลี่ย (mg/ L ของอาหารเหลว SA)
<i>Ps.aeruginosa</i>	น้ำตาล	F ₁ = สีน้ำตาล	F ₁ = 233.00
		F ₂ = สีม่วง	F ₂ = 16.00
		F ₃ = สีเหลือง	F ₃ = 14.00
AE ₃	น้ำตาล	F ₁ = น้ำตาล	F ₁ = 273.00
		F ₂ = น้ำตาล	F ₂ = 87.00
		F ₃ = เหลือง	F ₃ = 11.00
AE ₁₁	น้ำตาล	F ₁ = น้ำตาล	F ₁ = 239.00
		F ₂ = ชมพู	F ₂ = 29.00
		F ₃ = เหลือง	F ₃ = 20.00
AE ₁₄	น้ำตาล	F ₁ = น้ำตาล	F ₁ = 83.00
		F ₂ = ม่วง	F ₂ = 17.00
		F ₃ = เหลือง	F ₃ = 15.00
AE ₂₂	น้ำตาลแดง	F ₁ = น้ำตาลแดง	F ₁ = 190.00
		F ₂ = เหลือง	F ₂ = 9.00
S ₅ E ₅	น้ำตาลแดง	F ₁ = น้ำตาลแดง	F ₁ = 57.00
		F ₂ = น้ำตาลแดง	F ₂ = 42.00
		F ₃ = เหลือง	F ₃ = 5.00

จากตารางที่ 4.2 เมื่อชะด้วยเมทานอล:น้ำ (9:1) สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซโคโรเฟอร์ ที่เกาะอยู่ส่วนบนของคอลัมน์ Amberlite XAD-4 resin จะค่อยๆ เคลื่อนที่ตาม mobile phase ลงมา นำไปลดปริมาตรลงให้เหลือประมาณ 1-2 cm³ ผ่านลงในคอลัมน์ที่บรรจุด้วย Bio-Gel P-2 gel ชะด้วยพิริดีน-อะซิเตด บัฟเฟอร์ (pH 6.04) จะทำให้สารแยกออกจากกันเป็นแถบสีต่างๆ ตามขนาดของโมเลกุล จำนวนแถบ และปริมาณที่แยกได้ขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ส่วนใหญ่จะมี 2-3 แถบ จากตารางพบว่า แถบที่ 1 (F₁) ของทุก ๆ สายพันธุ์จะมีปริมาณโดยเฉลี่ยมากกว่า ส่วนแถบที่ 2 , 3 จะมีปริมาณลดลงตามลำดับ

สีที่แยกได้มีหลายสี เช่น สีนํ้าตาล สีนํ้าตาลแดง สีม่วง สีชมพู สีเหลือง แต่สีที่มีปริมาณมากที่สุดคือ สีนํ้าตาล หรือนํ้าตาลแดง (F_1) ของทุกๆ สายพันธุ์ ส่วนสีอื่นๆ จะมีปริมาณน้อย

4.3 ผลการแยก และการทำให้บริสุทธิ์ในรูปของลิแกนด์อิสระ

เมื่อนํ้าไซเดอโรฟอร์ที่ผ่านคอลัมน์ Amberlite XAD-4 resin ของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Ps. aeruginosa* มาผ่านคอลัมน์ Bio-Gel P-2 ได้ผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการแยก และการทำให้บริสุทธิ์ในรูปของลิแกนด์อิสระ

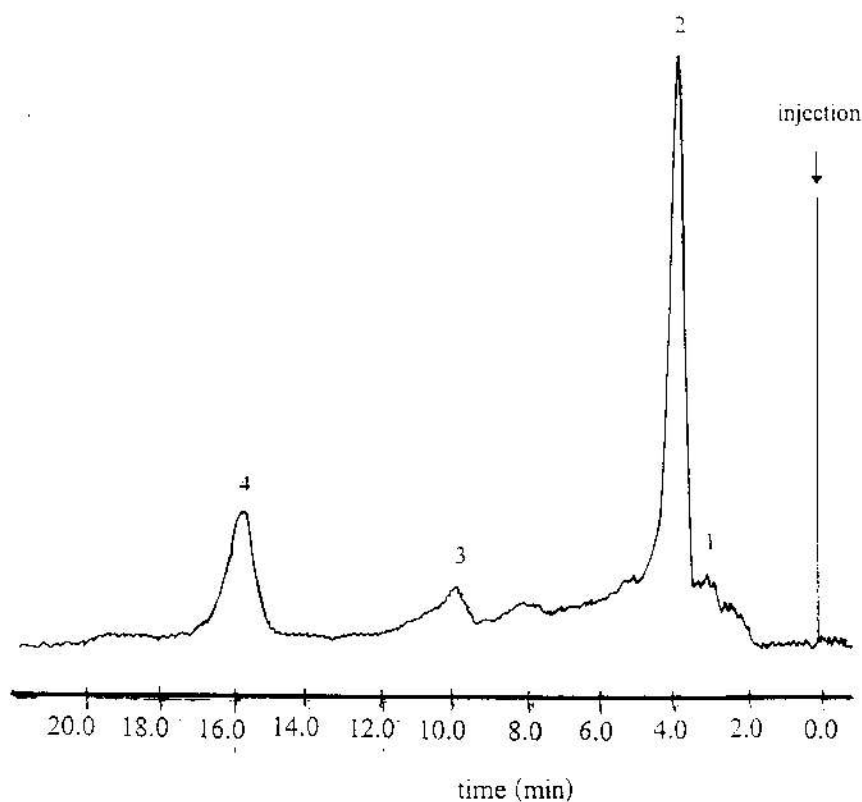
สายพันธุ์	จำนวนแถบเมื่อผ่านคอลัมน์ Bio-Gel P-2 gel	น้ำหนักเฉลี่ย (mg/ L ของอาหารเหลว SA)
<i>Ps.aeruginosa</i>	3 แถบ คือ F_1 สีเหลืองเข้ม F_2 สีฟ้า F_3 สีเหลือง	$F_1 = 253.00$ $F_2 = 19.00$ $F_3 = 4.00$

จากตารางที่ 4.3 หลังนํ้าไซเดอโรฟอร์ที่ผ่านคอลัมน์แบบ Amberlite XAD-4 resin ไปลดปริมาตรลงเหลือประมาณ 1-2 cm³ แล้วผ่านลงในคอลัมน์ที่บรรจุด้วย Bio-Gel P-2 gel ชะด้วยฟิรีดิน-อะซีเตต บัฟเฟอร์ (pH 6.04) องค์ประกอบต่างๆ จะแยกออกจากกันตามขนาดของโมเลกุล โดยไซเดอโรฟอร์ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าจะเคลื่อนที่ออกมาก่อน

จากตารางจะแยกได้ 3 แถบ เมื่อผ่าน Bio-Gel P-2 gel คือ F_1 ซึ่งแยกออกมาก่อนมีสีเหลืองเข้ม มีปริมาณเฉลี่ย 253.00 mg/l แถบที่แยกออกมาเป็นอันดับที่สอง คือ F_2 สีฟ้า มีปริมาณเฉลี่ย 19.00 mg/l ส่วนแถบที่ออกมาหลังสุด คือ F_3 สีเหลืองอ่อน มีปริมาณเฉลี่ย 4.00 mg/l ตามลำดับ

4.4 ผลการศึกษาโครมาโทแกรมของไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตได้ด้วยเทคนิค HPLC

เมื่อนํ้าไซเดอโรฟอร์ที่ผ่านคอลัมน์ Bio-Gel P-2 ซึ่งคาดว่าจะมีความบริสุทธิ์มากขึ้น มาศึกษาโครมาโทแกรม โดยเลือกใช้สภาวะที่เหมาะสม ผลที่ได้เป็นตามรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 โครมาโทแกรมของสารละลายไซเดอโรฟอร์ที่ผ่าน
คอลัมน์ Bio-Gel P-2 gel

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาความบริสุทธิ์ของไซเดอโรฟอร์ที่ผ่านคอลัมน์
Bio-Gel P-2 gel โดยทำการปรับสารละลายให้ pH 7

สาร	โครมาโทแกรมที่	t_R (min)	attenuation
สารละลาย	1	3.10	0.05
siderophore	2	3.90	
ที่ผ่าน Bio-Gel	3	9.90	
P-2 gel	4	15.60	

จากโครมาโทแกรมในรูปที่ 4.2 และ ตารางที่ 4.4 พบว่า ไซเดอโรฟอร์ที่ผ่านคอลัมน์ Bio-Gel P-2 ปรากฏพิค 4 พิคคือ 1, 2, 3 และ 4 โดยคาดว่าพิคที่ 2 น่าจะเป็นพิคของไซเดอโรฟอร์

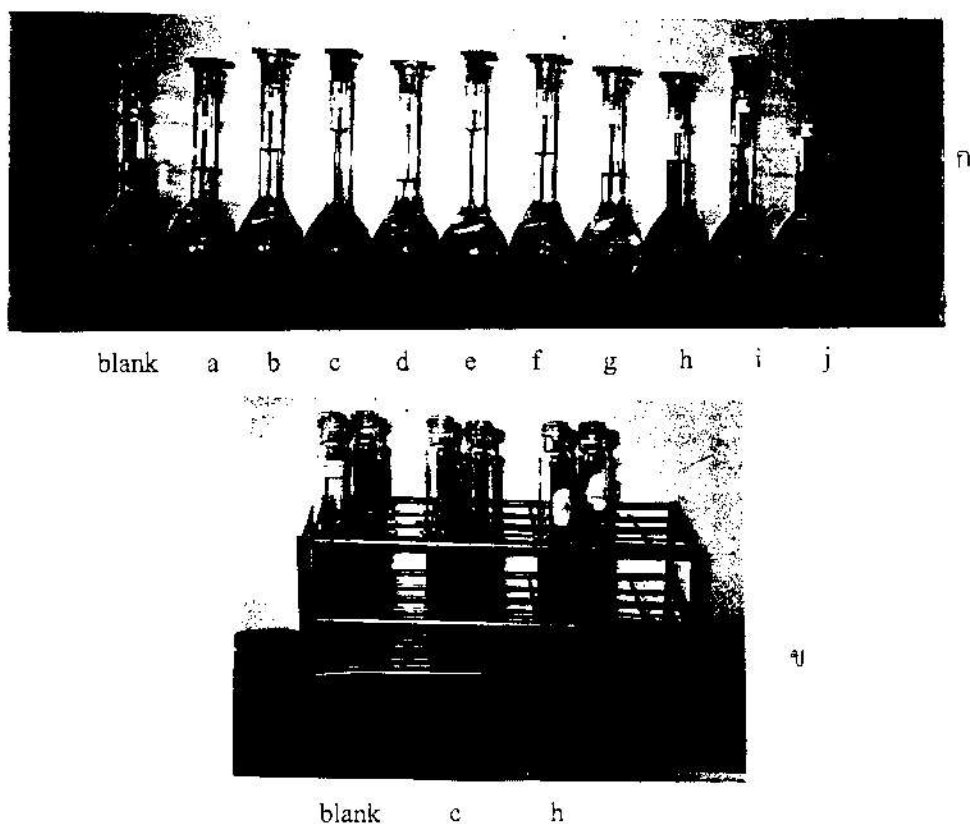
ส่วนพีกที่ 1, 3, และ 4 ที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากการปนเปื้อนขณะทำการแยกเก็บแต่ละแถบ หรือเกิดจากการสลายตัวของไซเดอโรฟอร์

4.5 ผลการทดสอบในการแยกประเภทของไซเดอโรฟอร์

4.5.1 ผลการวิเคราะห์ไฮดรอกซามาเทไซเดอโรฟอร์

นำสารตัวอย่างจากตารางที่ 3.1 มาทดสอบได้ผลดังรูปที่ 4.3 และตารางที่ 4.5

ก. ผลการทดสอบด้วยวิธี Csaky



รูปที่ 4.3 ผลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี Csaky

ก ลักษณะของสารละลาย เมื่อเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์

ข ลักษณะของสารละลาย เมื่อปล่อยไว้ 1 คืน

เมื่อ a = siderophore pure (F_1)	b = cpx $AE_{22}(F_1)$	c = siderophore cpx (F_1)
d = siderophore pure (F_2)	e = cpx $AE_{22}(F_2)$	f = siderophore cpx (F_2)
g = cpx $AE_{11}(F_2)$	h = siderophore pure (F_3)	i = siderophore cpx (F_3)
j = siderophore ผ่าน XAD-4		

ตารางที่ 4.5 ผลที่ได้จากการทดสอบ ไฮดรอกซามัท โซเดียมโรฟอร์ด้วยวิธี Csaky

หลอดที่	H ₂ SO ₄	หลังฆ่าเชื้อ	NaOAC	ซัลฟานิลาไมด์	ไอโอดีน	sodium arsenite	NED	pH
Blank	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	ใส	ชมพู	3.33
1	ใส	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	3.14
2	เหลือง	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	3.46
3	ใส	เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	3.14
4	ส้มแดง	แดง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	แดง	3.55
5	เหลือง	เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	ส้ม	3.32
6	เหลือง	เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	เหลือง	3.03
7	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	ใส	แดง	3.17
8	ส้มแดง	แดง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	เหลือง	3.21
9	ใส	เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	แดง	3.16
10	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	เหลือง	ชมพู	3.19
11	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	เหลือง	ชมพู	3.95
12	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	ใส	ชมพู	3.19
13	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	เหลือง	ชมพู	3.50
14	ใส	เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	เหลือง	3.26
15	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	ใส	ชมพู	3.14
16	ใส	เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	เหลือง	3.27
17	ใส	เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	เหลือง	3.08
18	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	ใส	ชมพู	3.20
19	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	ใส	บานเย็น	3.21
20	ใส	ใส	ใส	ใส	น้ำตาล	ใส	ชมพู	3.16

หมายเหตุ 1. NED = N-(1-Naphthyl)ethylene diamine

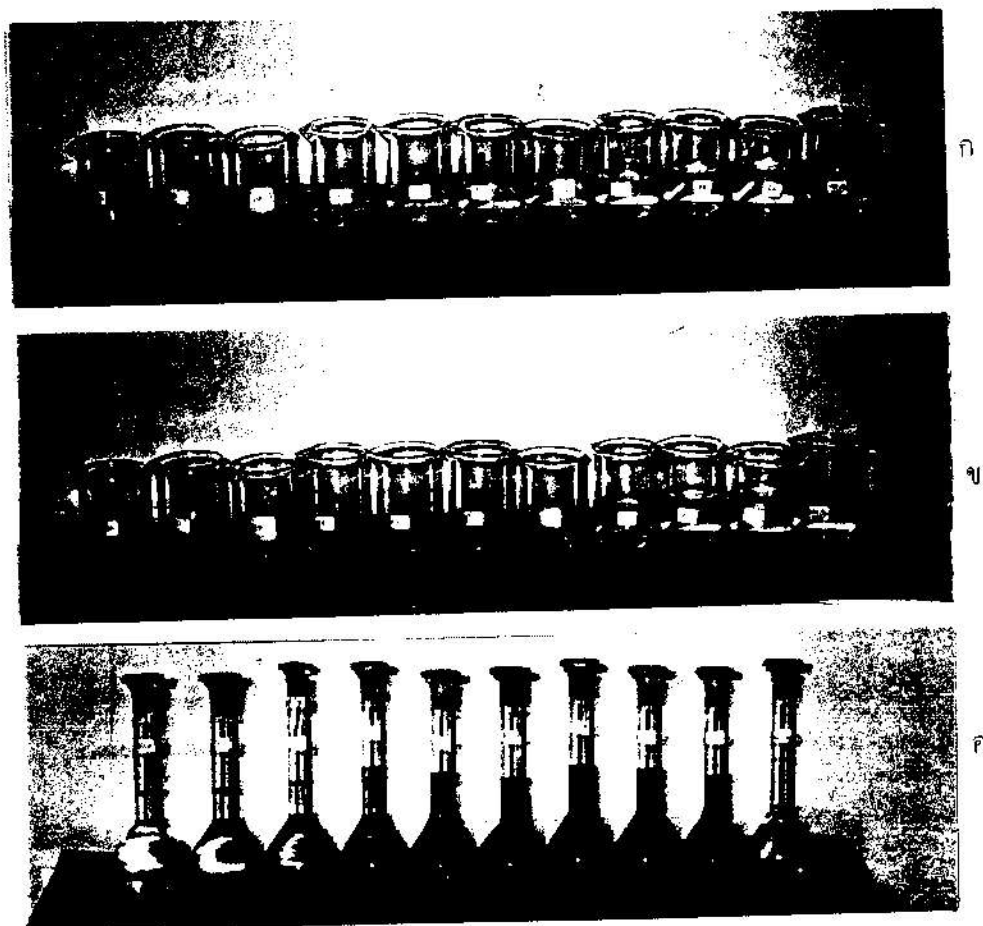
2. สารละลายขุ่น

จากตารางที่ 4.5 เป็นผลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีของ Csaky เมื่อนำสารตัวอย่างมาเติมรีเอเจนต์ต่างๆ จนครบ และปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้ว ปรากฏว่าได้ผลเป็นลบตามวิธีนี้

จากรูปที่ 4.3 (ก) แสดงให้เห็นถึงสีของสารละลาย หลังจากปล่อยให้ให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้ว จะมีสีต่างๆ เช่น น้ำตาล, ส้ม, ชมพู ซึ่งไม่เป็นไปตามวิธีของ Csaky ที่ให้สีครามและ (ข) เมื่อปล่อยให้ค้างคืนสีของสารละลายยังคงเดิม ไม่มีสีครามแต่อย่างใด

ข. ผลการทดสอบด้วยวิธีของ Berg และ Becker

นำสารตัวอย่างจากตารางที่ 3.1 มาทดสอบได้ผลดังรูปที่ 4.4 และตารางที่ 4.6



รูปที่ 4.4 ผลที่ได้จากการทดสอบ ไฮดรอกซิวาเมท ไฮเดอโรฟอร์ ด้วยวิธีของ Berg และ Becker

ก. เมื่อเติม 8-hydroxyquinoline

ข. เมื่อเติม Na_2CO_3 ใหม่ ๆ

ค. เมื่อปรับ pH เป็น 11

ตารางที่ 4.6 ผลที่ได้จากการทดสอบ ไฮดรอกซามาเท โซเดียมไฮดรอกไซด์ ด้วยวิธีของ Berg และ Becker

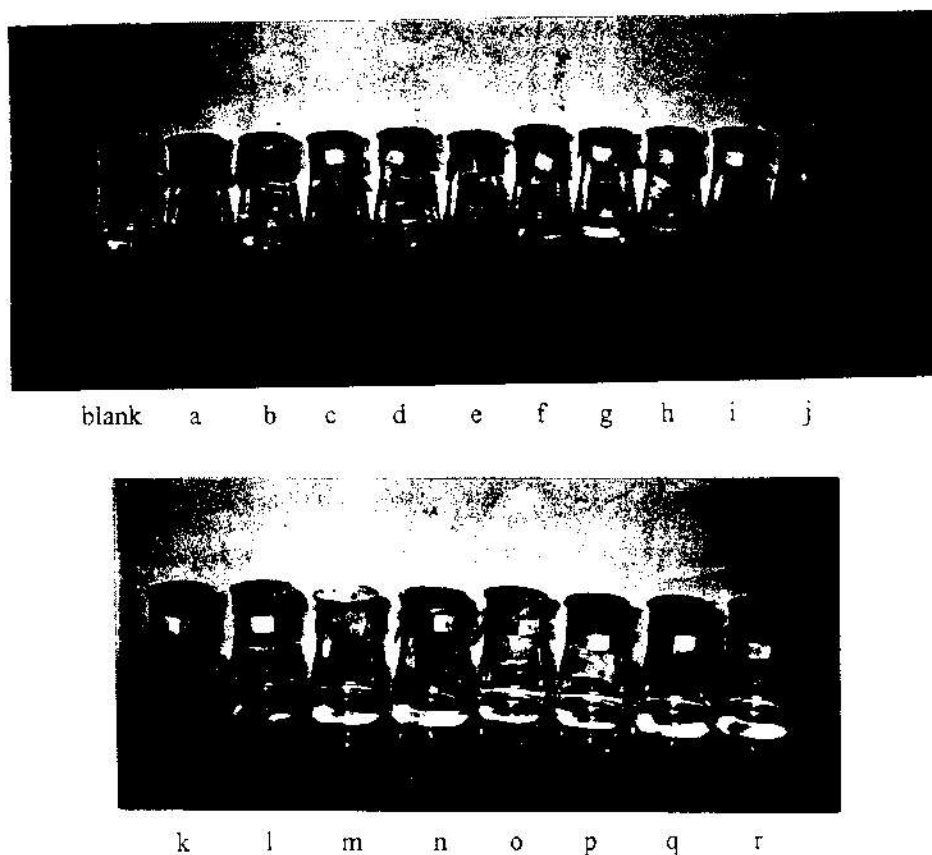
หลอด ที่	8-hydroxy quinoline	Na ₂ CO ₃	NaOH	Na ₂ CO ₃	pH	A (700 nm)
Blank	ใส	เหลือง	เหลืองจาง	เหลือง	11.01	0.000
1	เหลือง	เขียวเข้ม	เขียว	เขียว	11.23	0.033
2	เหลือง	เขียวเหลือง	เขียวเหลือง	เขียวเหลือง	11.17	0.025
3	เหลือง	เขียวเหลือง	เขียว	เขียว	11.16	0.022
4	เหลือง	เขียว	เขียว	เขียว	11.22	0.003
5	เหลือง	เขียวเหลือง	เหลือง	เหลือง	11.14	0.005
6	เหลืองเข้ม	เขียว	เขียวจาง	เขียวเหลือง	11.23	0.032
7	เหลือง	เขียวเหลือง	เหลือง	เหลือง	11.15	0.002
8	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	เหลือง	11.03	0.004
9	เหลือง	น้ำตาล	เหลือง	เหลือง	11.14	0.022
10	เหลือง	เหลือง	เหลือง	เหลือง	11.06	0.005
11	เหลือง	เขียวเหลือง	เหลือง	เหลือง	11.15	0.005
12	เหลือง	เหลือง	เหลือง	เหลือง	11.12	0.010
13	เหลือง	เหลือง	เหลือง	เหลือง	11.01	0.012
14	เหลือง	เหลืองเข้ม	เหลือง	เหลือง	11.02	0.011
15	เหลือง	เหลือง	เหลือง	เหลือง	11.14	0.012
16	เหลือง	เขียวเหลือง	เขียวจาง	เขียวเหลือง	11.06	0.008
17	เหลือง	เขียว	เหลือง	เหลือง	11.03	0.008
18	เหลือง	เหลือง	เหลือง	เหลือง	11.15	0.006
19	เหลือง	เขียวเหลือง	เขียว	เขียว	11.16	0.034
20	เหลือง	เขียวเหลือง	เขียวเข้ม	เขียวเข้ม	11.11	0.079

จากตารางที่ 4.6 เป็นผลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีของ Berg & Becker หลังจากนำสารตัวอย่างมาเติมรีเอเจนต์จนครบและปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ พบว่ามีทั้งที่ให้ผลเป็นบวกและลบ พวกที่ให้ผลเป็นบวก คือ siderophore ที่ผ่าน Amberlite XAD-4 resin, siderophore pure (F₁) , siderophore complex (F₁) , siderophore complex AE₂₂(F₁) และ hydroxylamine ที่ใช้เป็นสารละลายมาตรฐานซึ่งจะสังเกตเห็นสีของสารละลายเป็นสีเขียว ส่วนสารละลายที่เหลือให้ผลเป็นลบกับวิธีการทดสอบนี้

จากรูปที่ 4.4 แสดงให้เห็นถึงสีของสารละลายมาตรฐาน hydroxylamine เมื่อเติมรีเอเจนต์ และปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ จะได้สารละลายสีเขียว เป็นไปตามวิธี Berg & Becker ได้แก้หลอดทดลองที่ a, c, d, s (siderophore supernatant) และ t (hydroxylamine)

ค. ผลการทดสอบด้วยวิธี Triphenyltetrazolium Chloride

นำสารตัวอย่างจากตารางที่ 3.1 มาทดสอบได้ผลดังรูปที่ 4.5 และตารางที่ 4.7



รูปที่ 4.5 ผลที่ได้จากการทดสอบ ไฮดรอกซามัท ไฮเดรโอโรฟอร์ ด้วยวิธี

Triphenyltetrazolium Chloride

เมื่อ a = siderophore pure (F_1)	b = cpx AE_{22} (F_1)	c = siderophore cpx (F_1)
d = siderophore pure F_2	e = cpx AE_{22} (F_2)	f = siderophore cpx (F_2)
g = cpx AE_{11} (F_2)	h = siderophore pure (F_3) , I = siderophore cpx (F_3)	
j = siderophore ผ่าน XAD-4	k = cpx AE_3 (F_1)	l = pure AE_{14} (F_2)
m = cpx S_2E_5 (F_2)	n = cpx AE_{14} (F_1)	o = cpx AE_{11} (F_1)
p = cpx AE_{11} (F_3)	q = cpx AE_{11} (F_3)	r = cpx S_2E_5 (F_1)

ตารางที่ 4.7 ผลที่ได้จากการทดสอบ ไฮดรอกซามาท ไซเคอโรฟอ์ ด้วยวิธี Triphenyltetrazolium Chloride

หลอดที่	NaOH	Triphenyl tetrazolium Chloride	acid-pyridine	pH	A (490 nm)
Blank	ใส	ใส	ใส	5.89	0.000
1	น้ำตาลอ่อน	ส้มแดง	ส้มอ่อน	5.88	0.884
2	น้ำตาลอ่อน	ส้มแดง	ส้มแดง	5.67	0.955
3	เหลือง	เหลืองน้ำตาล	ส้ม	5.84	0.218
4	น้ำตาลแดง	เหลืองอ่อน	ส้มจางๆ	5.84	0.007
5	เหลือง	ม่วงแดง	ส้มอ่อน	5.84	0.024
6	น้ำตาลอ่อน	ส้มแดง	ส้ม	5.88	0.884
7	เหลือง	เหลือง	ส้ม	5.92	0.125
8	ม่วง	ส้มแดง	ส้ม	5.88	0.243
9	เหลืองน้ำตาล	เหลือง	ส้มแดง	5.82	1.346
10	เหลือง	ใส	ใส	5.86	0.000
11	เหลือง	เหลือง	เหลือง	5.94	0.003
12	เหลืองอ่อน	ใส	ใส	5.79	0.000
13	เหลือง	เหลือง	เหลืองอ่อน	5.91	0.000
14	เหลืองอ่อน	เหลืองอ่อน	ส้ม	5.84	0.121
15	ใส	ใส	ใส	5.84	0.000
16	เหลือง	ส้มแดง	ส้มจาง	5.72	0.009
17	เหลือง	เหลือง	ส้มอ่อน	5.88	0.239
18	ใส	ใส	ใส	5.88	0.000
19	เหลืองอ่อน	เหลือง	ส้มอ่อน	5.93	0.032
20	เหลือง	เหลือง	เหลือง	5.77	0.000

จากรูปที่ 4.5 และตารางที่ 4.7 แสดงให้เห็นถึงลักษณะสีของสารละลายที่ได้หลังจากเติมรีเอเจนต์ แล้วปล่อยให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์พบว่าบางชนิดให้ผลเป็นบวก กล่าวคือจะได้สารละลายสีแดง หรือสีส้มแดง ซึ่งสารนี้จะทำปฏิกิริยากับ TTC ที่อุณหภูมิ 80 °C ภายในเวลาไม่เกิน 5 นาที โดยสารตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกกับ TTC คือหลอดทดลอง a, c, e, f, h, i, j, l, m และ n แสดงว่าไฮเคอโรฟอ์เหล่านี้เป็น hydroxamate ส่วนบางชนิดให้ผลเป็นลบคือไม่ปรากฏสีตามทฤษฎี

4.5.2 ผลการวิเคราะห์ แคทีคอล ไฮเดรโอโรฟอร์

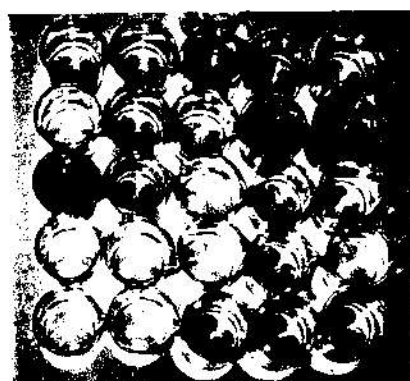
นำสารตัวอย่างจากตารางที่ 3.1 มาทดสอบได้ผลดังรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.8



ก



ข



ค

รูปที่ 4.6 ผลที่ได้จากการทดสอบแคทีคอล ไฮเดรโอโรฟอร์ ด้วยวิธี Arnow

ก. เมื่อเติม HCl

ข. เมื่อเติม nitrite-molybdate

ค. เมื่อเติม NaOH

สำหรับการทดสอบว่าผลิตภัณฑ์ของแบคทีเรียที่ผลิตได้เป็น แคทีคอล ไฮเดรโอโรฟอร์ หรือ ไม่นั้นได้ใช้วิธีของ Arrow ผลที่ได้เป็นไปตามตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลที่ได้จากการทดสอบ แคทีคอล ไฮเดรโอโรฟอร์ ด้วยวิธี Arrow

หลอดที่	HCl	nitrite- molybdate	NaOH	pH	A (510 nm)
Blank	ใส	ใส	ใส	13.38	0.000
1	เหลือง	เหลืองเข้ม	เหลืองเข้ม	13.26	0.034
2	ใส	เหลือง	เหลือง	13.25	0.009
3	ใส	เหลืองอ่อน	เหลืองเข้ม	13.26	0.006
4	บานเย็น	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล	13.28	0.004
5	เหลืองอ่อน	เหลือง	เหลือง	13.25	0.008
6	เหลืองอ่อน	เหลืองเข้ม	เหลืองเข้ม	13.31	0.036
7	น้ำตาล	เหลืองน้ำตาล	เหลืองน้ำตาล	13.26	0.023
8	เหลืองอ่อน	เหลืองเข้ม	เหลือง	13.30	0.056
9	เหลือง	เหลืองเข้ม	เหลือง	13.28	0.029
10	ใส	เหลือง	เหลืองอ่อน	13.26	0.024
11	บานเย็น	เหลืองน้ำตาล	น้ำตาลเข้ม	13.26	0.042
12	ใส	เหลือง	เหลืองเข้ม	13.28	0.042
13	ใส	เหลือง	เขียวเหลือง	13.26	0.021
14	บานเย็น	ใส	ใส	13.15	0.025
15	เหลืองปน	เหลืองเข้ม	เหลืองน้ำตาล	13.26	0.022
16	ใส	เหลือง	เหลืองเข้ม	13.21	0.079
17	ใส	เหลือง	เหลืองเข้ม	13.25	0.032
18	ใส	ใส	เหลือง	13.27	0.010
19	ใส	เหลือง	เหลือง	13.26	0.042
20	ใส	ใส	ใส	13.29	0.003

จากรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.8 จะเห็นว่าสารตัวอย่างทุกหลอดที่นำมาทดสอบให้ผลเป็นลบ กล่าวคือไม่ปรากฏสีแดงแสดงว่าสารตัวอย่างไม่เป็น แคทีคอล ไฮเดรโอโรฟอร์

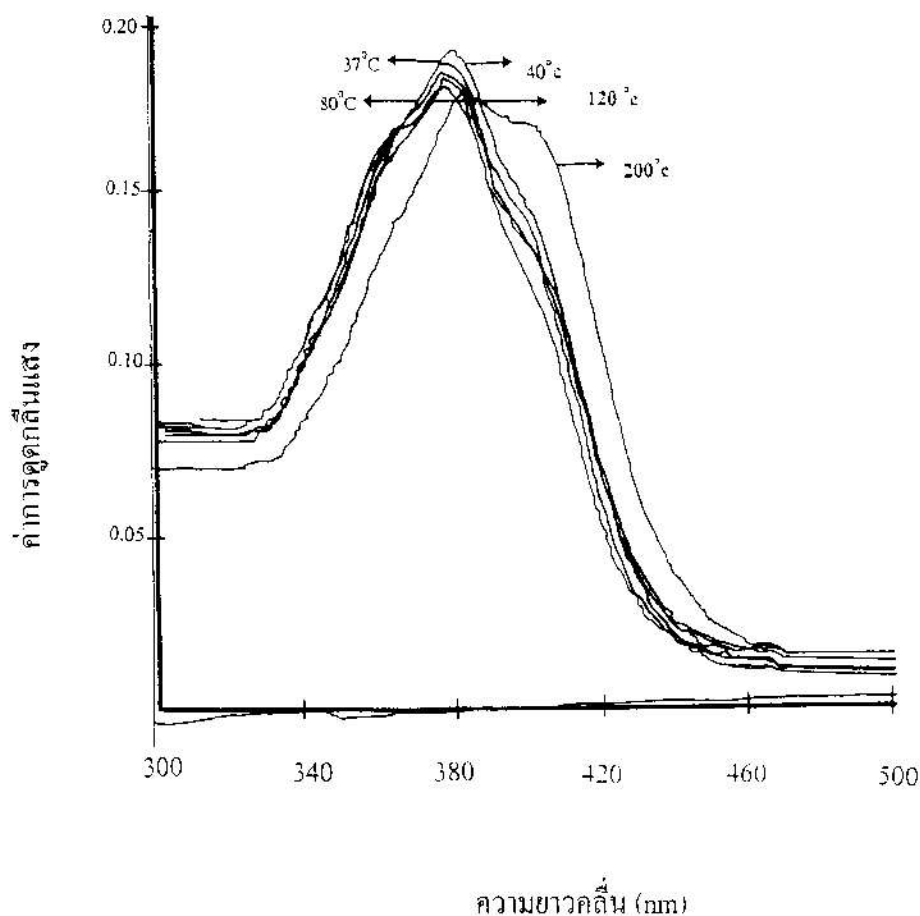
4.6 ผลการศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของไซเดอโรฟอร์ บริสุทธิ์ และสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์

4.6.1 ผลการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อสเปกตรการดูดกลืนแสงของสาร

ละลายไซเดอโรฟอร์บริสุทธิ์ และสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์

ตารางที่ 4.9 ผลของอุณหภูมิต่อสเปกตรการดูดกลืนแสงของสารละลายไซเดอโรฟอร์
บริสุทธิ์

หลอด ที่	อุณหภูมิ (°C)	สีของสาร ละลาย	$\lambda_{\max}$ (nm)	A
1	0	เขียวเหลือง	384	0.354
2	4	เขียวเหลือง	384	0.352
3	37	เขียวเหลือง	379	0.367
4	40	เขียวเหลือง	380	0.376
5	80	เขียวเหลือง	379	0.363
6	100	เขียวเหลือง	380	0.359
7	120	เขียวเหลือง	380	0.363
8	150	เขียวเหลือง	380	0.362
9	200	เขียวเหลือง	384	0.352



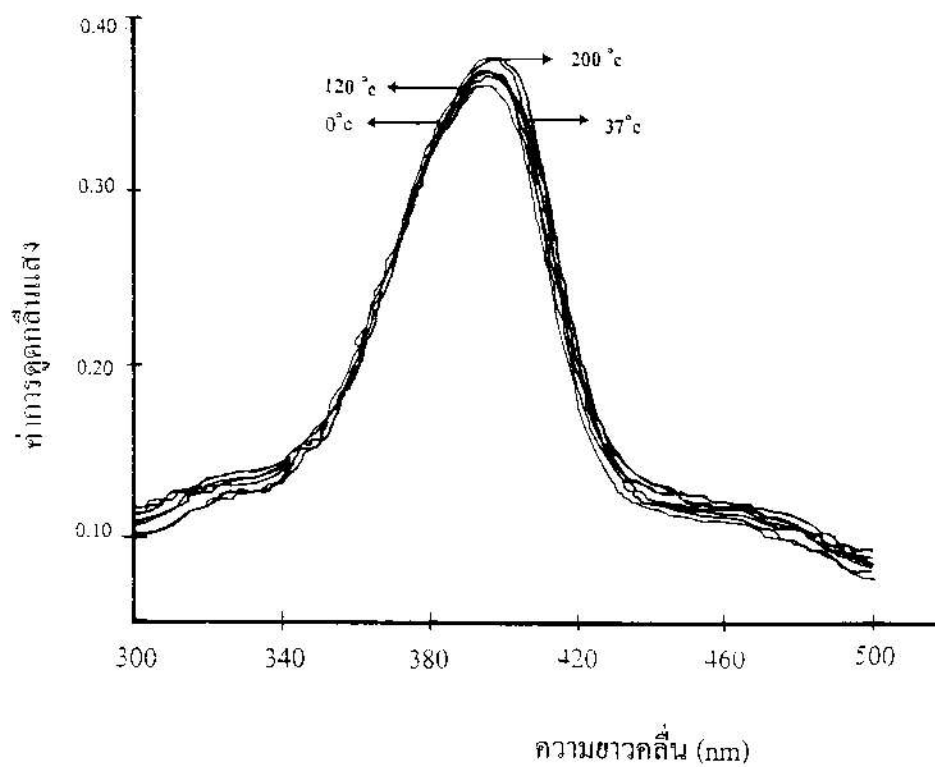
รูปที่ 4.7 ผลของอุณหภูมิต่อสเปกตรการดูดกลืนแสงของสารละลายไซเดอโรฟอร์
บริสุทธิ์

จากรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.9 จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ทำให้ λ_{max} และ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไซเดอโรฟอร์เปลี่ยนแปลงไป จากสเปกตราที่สแกนในช่วง 500- 300 nm จะปรากฏ λ_{max} ที่ 380 nm ส่วนที่ 200 °C สเปกตราจะแตกต่างออกไปโดยปรากฏ λ_{max} ที่ 385 nm และเกิด shoulder ที่ความยาวคลื่น 400 nm ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโครงสร้างของไซเดอโรฟอร์มีการเปลี่ยนแปลงไป

ส่วนสเปกตรามของสารละลายเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 0°C ถึง 200 °C การเปลี่ยนแปลงของค่า $\lambda_{\max}$ และค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ได้ผลดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ผลของอุณหภูมิต่อสเปกตรการดูดกลืนแสงของสารละลายเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์

หลอดที่	อุณหภูมิ	สีของสารละลาย	$\lambda_{\max}$ (nm)	A
1	0	น้ำตาล	400	0.375
2	4	น้ำตาล	400	0.382
3	37	น้ำตาล	400	0.376
4	40	น้ำตาล	400	0.377
5	80	น้ำตาล	400	0.373
6	100	น้ำตาล	400	0.389
7	120	น้ำตาล	400	0.383
8	150	น้ำตาล	400	0.384
9	200	น้ำตาล	400	0.391



รูปที่ 4.8 ผลของอุณหภูมิต่อสเปกตรากการดูดกลืนแสงของสารละลายเชิงซ้อน
เหล็ก-ไซเคโอโรฟอร์

จากรูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.10 พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นค่า $\lambda_{\max}$ คงที่ ที่ 400 nm ส่วนค่าการดูดกลืนแสงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย สีของสารละลายยังคงเป็นสีน้ำตาลเหมือนเดิม

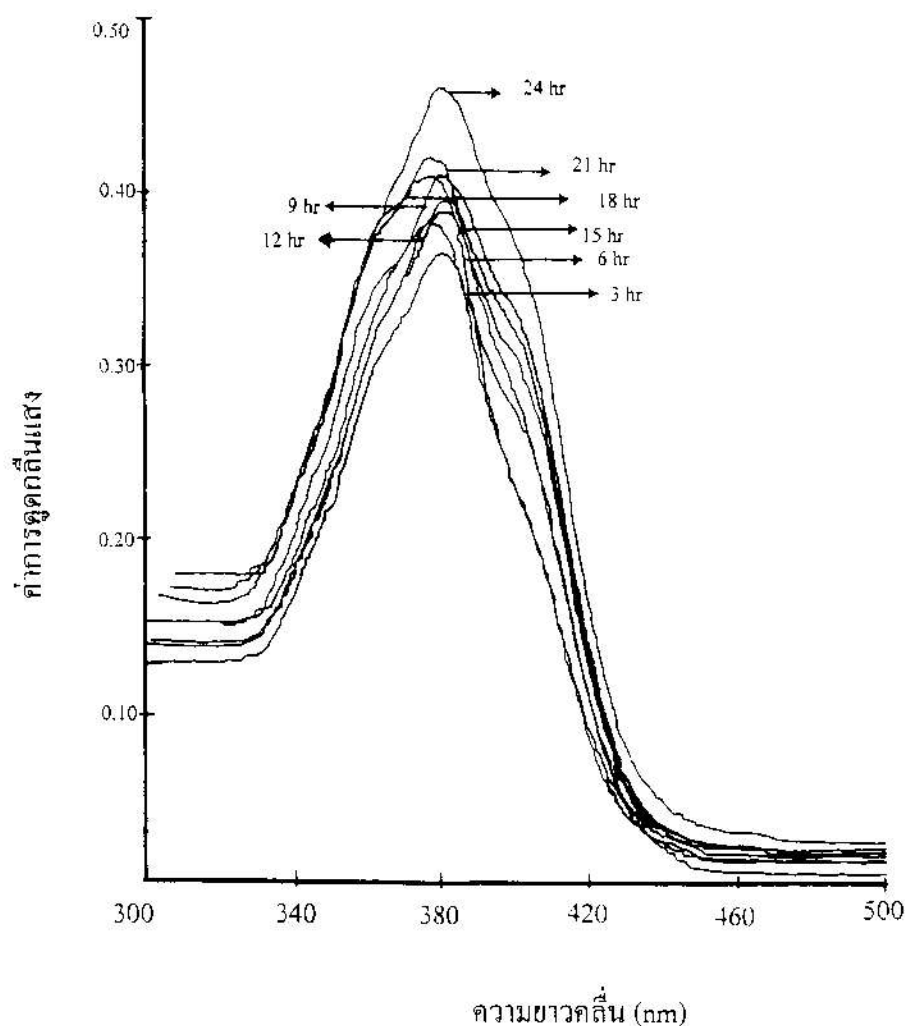
4.6.2 ผลการศึกษาการดูดกลืนแสงของสารละลายไซเคโอโรฟอร์ที่ผลิตได้ และสาร

ประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเคโอโรฟอร์ ที่กำลังไฟฟ้า 60 W ณ เวลาต่างๆ กัน

ผลของหลอด daylight กำลัง 60 W ต่อสารละลายไซเคโอโรฟอร์บริสุทธิ์ ที่เวลาต่างๆ เป็นไปตามตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ผลของหลอด daylight กำลัง 60 W ที่มีต่อการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายไซเคโอโรฟอร์บริสุทธิ์

หลอดที่	เวลาที่ได้รับแสง/ ชั่วโมง	$\lambda_{\max}$ (nm)	A
1	0.00	384	0.352
2	3.00	380	0.372
3	6.00	380	0.373
4	9.00	380	0.419
5	12.00	378	0.388
6	15.00	380	0.414
7	18.00	378	0.423
8	21.00	378	0.416
9	24.00	380	0.465



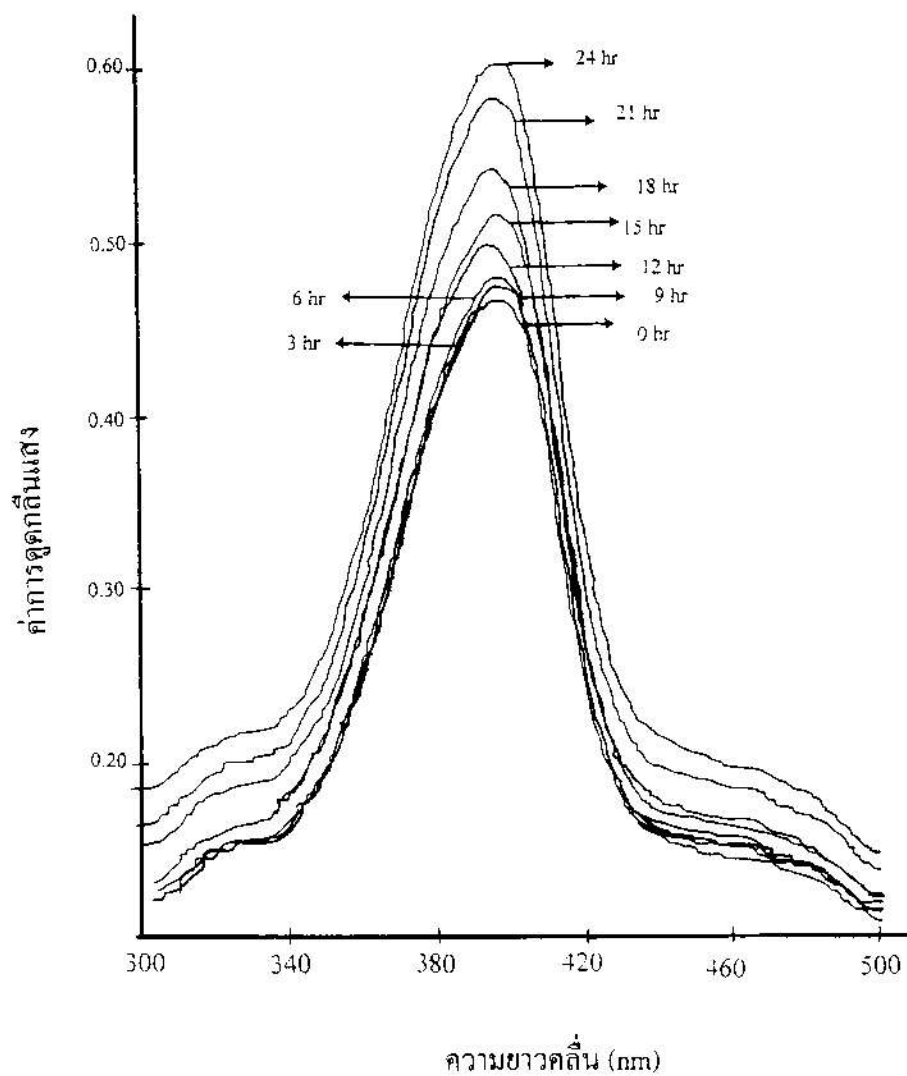
รูปที่ 4.9 ผลของหลอด daylight กำลัง 60 W ที่มีต่อการดูดกลืนแสงของสารละลายไฮเดรโอโรฟอร์บริสุทธิ

จากตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.9 เมื่อสารตัวอย่างได้รับแสงในระยะเวลาที่มากขึ้น λ_{max} เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยมีค่า λ_{max} อยู่ในช่วง 384 - 378 nm ส่วนค่าการดูดกลืนแสงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการได้รับแสง และเมื่อพิจารณาจากสเปกตรภาพว่าทุกตัวอย่างมี shoulder ในช่วง 350-370 nm และ 390-410 nm

เมื่อนำสารละลายเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซโคโรฟอร์มารับแสงในระยะเวลาต่างๆ ได้ผลดัง
ตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ผลของหลอด daylight กำลัง 60 W ที่มีต่อการดูดกลืนกลืนแสงของสาร
ละลายเชิงซ้อนเหล็ก-ไซโคโรฟอร์

หลอด ที่	เวลาที่ได้รับแสง/ ชั่วโมง	$\lambda_{\max}$ (nm)	A
1	0.00	400	0.477
2	3.00	400	0.486
3	6.00	400	0.488
4	9.00	400	0.489
5	12.00	400	0.498
6	15.00	400	0.525
7	18.00	400	0.541
8	21.00	400	0.593
9	24.00	400	0.614



รูปที่ 4.10 ผลของหลอด daylight กำลัง 60 W ที่มีต่อการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายเชิงซ้อนเหล็ก-ไซโคโรเฟอร์

จากรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.12 พบว่าเมื่อเวลาการได้รับแสงเพิ่มมากขึ้น ค่า λ_{max} ยังคงที่ที่ 400 nm แต่ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และอัตราการเพิ่มของค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่ม

มากกว่าในกรณีของการดูดกลืนแสงของสารละลายไซเคโอโรฟอร์บริสุทธิ และเมื่อพิจารณาจากสเปกตรัมเป็นพิคที่คมชัดไม่มี shoulder ซึ่งแตกต่างจากสารละลายไซเคโอโรฟอร์บริสุทธิ ซึ่งปรากฏ shoulder แสดงว่า ไซเคโอโรฟอร์บริสุทธิเมื่อได้รับแสงจะเกิดการสลายตัวเป็นสารใหม่ที่มี $\lambda_{\max}$ ใกล้เคียงกับสารเดิม แต่เมื่อเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเคโอโรฟอร์จะมีความเสถียรมากกว่า จึงไม่เกิด shoulder

4.6.3 ผลการศึกษาผลกระทบของ pH ต่อสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย

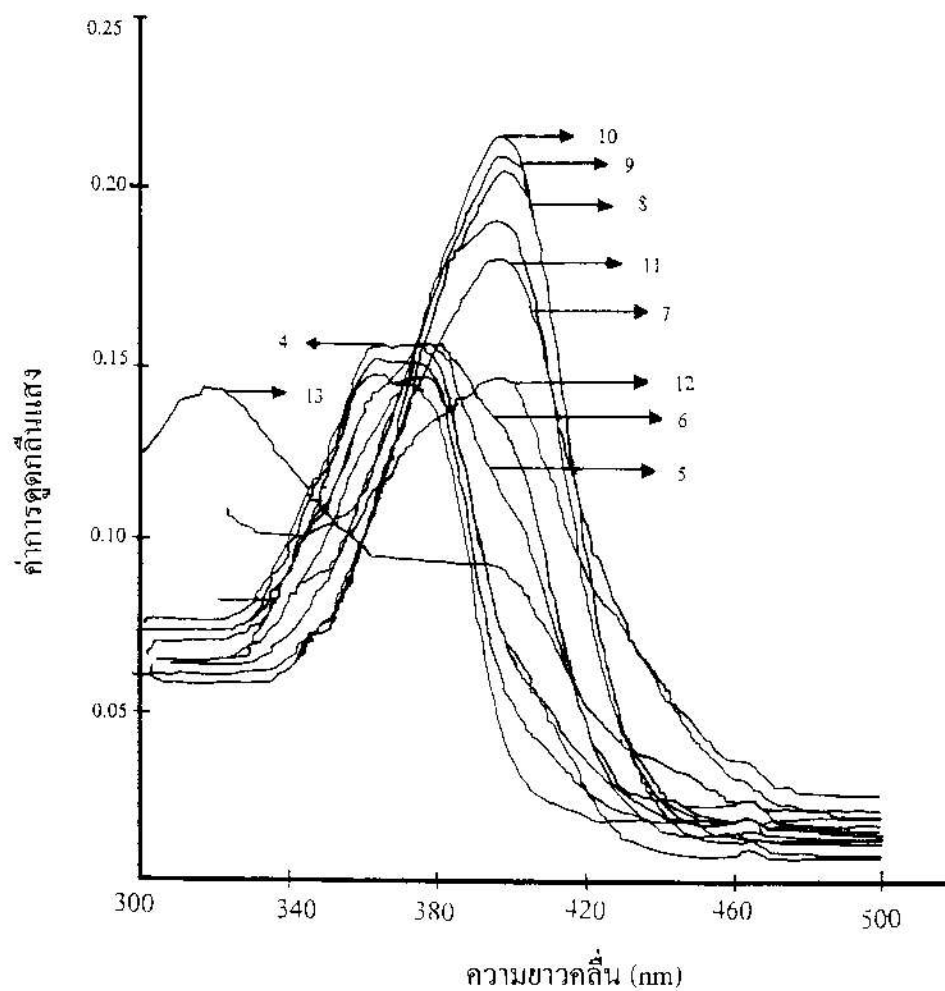
ไซเคโอโรฟอร์บริสุทธิ และสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-

ไซเคโอโรฟอร์

เมื่อนำสารละลายไซเคโอโรฟอร์บริสุทธิมาปรับ pH ระหว่าง 1 - 13 จะสังเกตเห็นว่าสีของสารละลายจะค่อยๆ เปลี่ยนไปจาก เหลืองอ่อน, ใส, เหลืองอ่อน, เขียวเหลือง, เหลืองเข้มตามลำดับ ดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ผลของ pH ต่อสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายไซเคโอโรฟอร์บริสุทธิ

หลอดที่	pH ที่วัดได้ จริง	สีที่สังเกตได้	$\lambda_{\max}$ (nm)	A
1	1.18	เหลืองอ่อน	370	0.134
2	2.03	ใส	370	0.132
3	3.00	ใส	370	0.134
4	3.95	ใส	370	0.122
5	5.12	ใส	379	0.137
6	6.15	เหลืองอ่อน	379	0.131
7	6.98	เหลืองอ่อน	395	0.189
8	8.08	เขียวเหลือง	395	0.199
9	8.98	เขียวเหลือง	398	0.210
10	10.05	เขียวเหลือง	398	0.215
11	11.06	เขียวเหลือง	398	0.181
12	12.01	เขียวเหลือง	398	0.146
13	13.14	เขียวเหลืองเข้ม	320	0.140



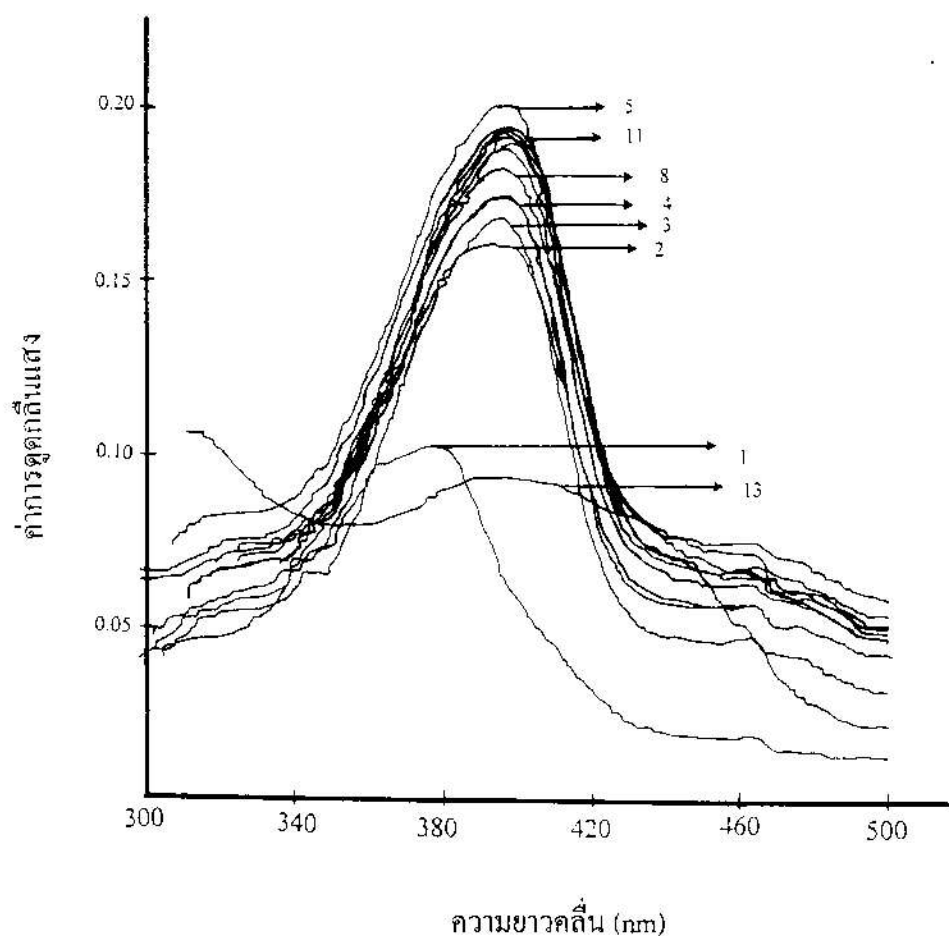
รูปที่ 4.11 ผลของ pH ต่อสเปกตรากการดูดกลืนแสงของสารละลายไคโดโรฟอรับริสุทธิ

จากรูปที่ 4.11 และตารางที่ 4.13 ปรากฏค่า $\lambda_{\max}$ ที่ 370 nm เมื่อ pH มีค่าอยู่ระหว่าง 1- 4 ที่ pH เท่ากับ 5 - 6 ปรากฏ $\lambda_{\max}$ ที่ 379 nm ที่ pH เท่ากับ 7 -8 ปรากฏ $\lambda_{\max}$ ที่ 395 nm ที่ pH เท่ากับ 6 - 12 ปรากฏ $\lambda_{\max}$ ที่ 398 nm และที่ pH เท่ากับ 13 ปรากฏ $\lambda_{\max}$ ที่ 320 nm และ shoulder ที่ 398 nm แสดงว่าที่ pH เท่ากับ 13 จะมีเสถียรภาพตามธรรมชาติเป็นสารตัวใหม่

ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ต่อสารละลายเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเคอโรฟอว์ เป็นดังตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.14 ผลของ pH ต่อสเปกตรากการดูดกลืนแสงของสารละลายเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเคอโรฟอว์

หลอดที่	pH ที่วัดได้ จริง	สีที่สังเกตได้	$\lambda_{\max}$ (nm)	A
1	1.00	ใส	375	0.108
2	1.97	น้ำตาล	400	0.162
3	3.12	น้ำตาล	400	0.176
4	4.12	น้ำตาล	400	0.182
5	5.04	น้ำตาล	400	0.203
6	6.08	น้ำตาล	400	0.194
7	7.05	น้ำตาล	400	0.194
8	8.05	น้ำตาล	400	0.190
9	9.09	น้ำตาล	400	0.191
10	10.04	น้ำตาล	400	0.195
11	11.00	น้ำตาล	400	0.195
12	12.04	น้ำตาลเข้ม	400	0.182
13	13.08	เหลือง	395	0.092



รูปที่ 4.12 ผลของ pH ต่อสเปกตรากการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อน
เฮลิก-ไซเดอโรฟอร์

จากตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.12 พบว่าที่ pH เท่ากับ 1 ปรากฏ $\lambda_{\max}$ ที่ 375 nm ค่าการดูดกลืนแสง 0.108 ที่ pH มีค่าระหว่าง 2-12 ปรากฏค่า $\lambda_{\max}$ ที่ 400 nm ที่ pH เท่ากับ 1 สารละลายใส และที่ pH เท่ากับ 13 สารละลายมีสีเหลืองแสดงว่าที่ pH เท่ากับ 1 และ 13 ไซเดอโรฟอร์จะปลดปล่อยเฮลิกกลับมาเป็นลิแกนด์อิสระตามเดิม จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าไซเดอโรฟอร์ที่นำมาศึกษาเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเฮลิกอย่างเสถียรในช่วง pH ระหว่าง 2-12

4.6.4 ผลการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิ 37 °C ต่อสเปกตรการดูดกลืนแสง

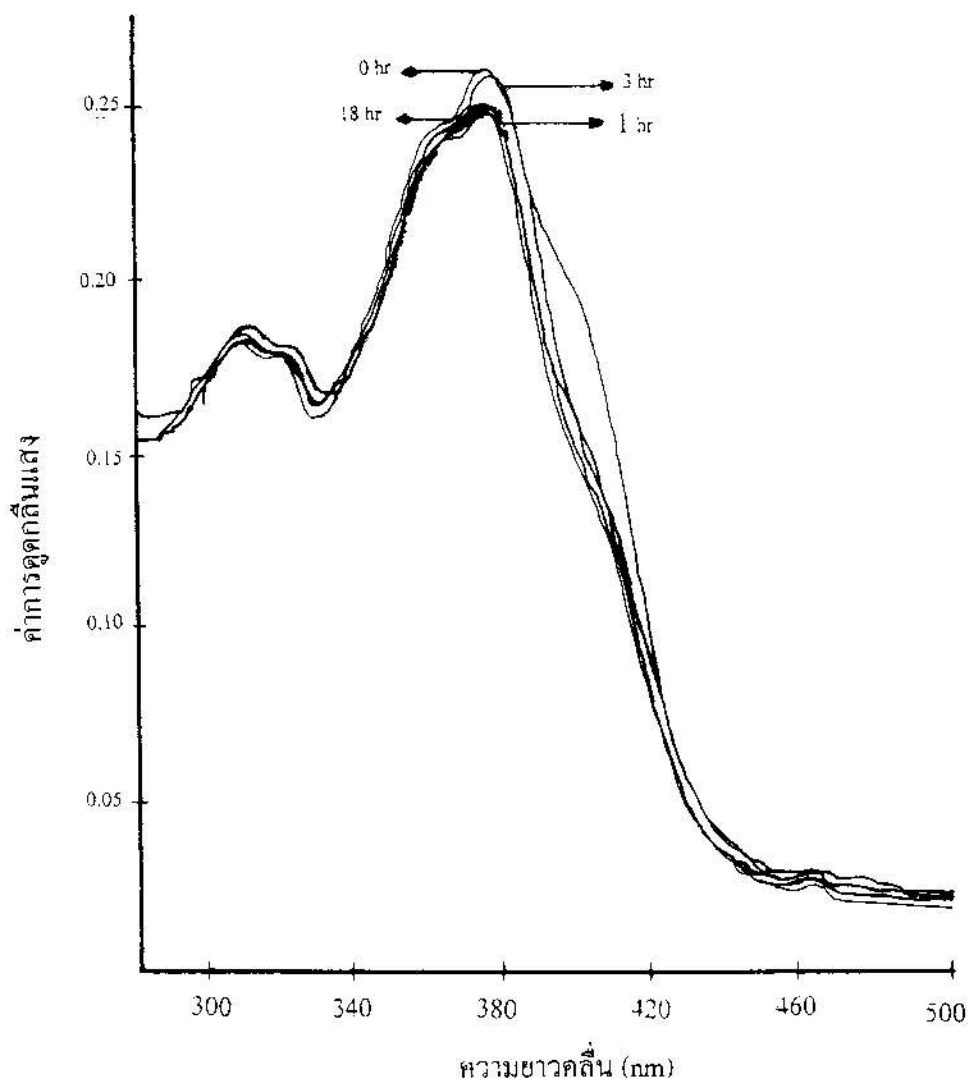
ของสารละลายไซเคโอโรฟอร์บริสุทรี และสารละลายของเหล็ก-ไซเคโอโรฟอร์

เมื่อนำไซเคโอโรฟอร์บริสุทรีไปรับความร้อนที่อุณหภูมิ 37 °C ณ เวลาต่างๆ กัน ได้ผล

ดังตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 ผลของอุณหภูมิ 37 °C ต่อสเปกตรการดูดกลืนแสงของ
สารละลายไซเคโอโรฟอร์บริสุทรี

หลอดที่	เวลาที่ใช้ (ชั่วโมง)	$\lambda_{\max}$ (nm)	A
1	0.25	380	0.263
2	0.50	380	0.259
3	1.00	380	0.260
4	3.00	380	0.251
5	6.00	380	0.249
6	9.00	380	0.256
7	12.00	380	0.251
8	15.00	380	0.256
9	18.00	380	0.254
10	21.00	380	0.258
11	24.00	380	0.256

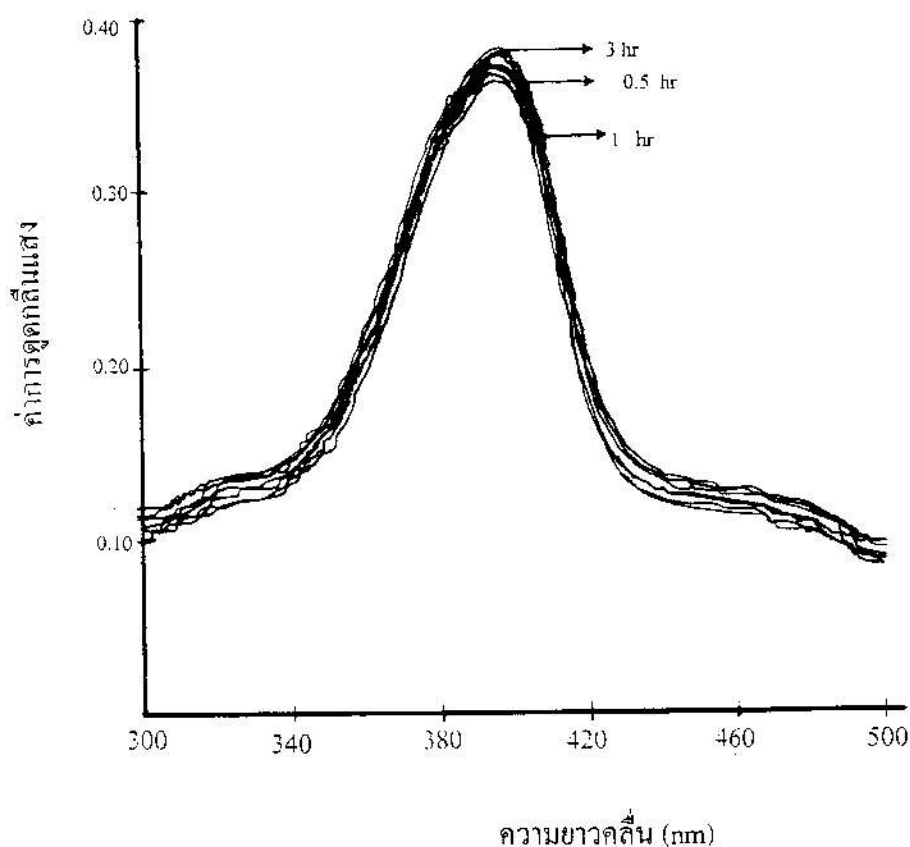


รูปที่ 4.13 ผลของอุณหภูมิ 37 °C ต่อสเปกตรากการดูดกลืนแสงของ
สารละลายไคลโคโรฟอร์บรีสุทรี

จากรูปที่ 4.13 และตารางที่ 4.15 เมื่อเก็บสารละลายไคลโคโรฟอร์ที่ 37°C ณ เวลาต่างๆ กัน พบว่า λ_{max} ไม่เปลี่ยนแปลง และค่าการดูดกลืนแสงมีแนวโน้มคงที่ แต่เกิด shoulder ที่ 360 nm และที่ 405 nm

ตารางที่ 4.16 ผลของอุณหภูมิ 37 °C ต่อสเปกตรการดูดกลืนแสงของสาร
ละลายเหล็ก-ไซเคโรฟอร์

หลอดที่	เวลาที่ใช้(ชั่วโมง)	λ_{max} (nm)	A
1	0.25	400	0.381
2	0.50	400	0.365
3	1.00	400	0.365
4	3.00	400	0.382
5	6.00	400	0.371
6	9.00	400	0.384
7	12.00	400	0.382
8	15.00	400	0.367
9	18.00	400	0.382
10	21.00	400	0.382
11	24.00	400	0.382



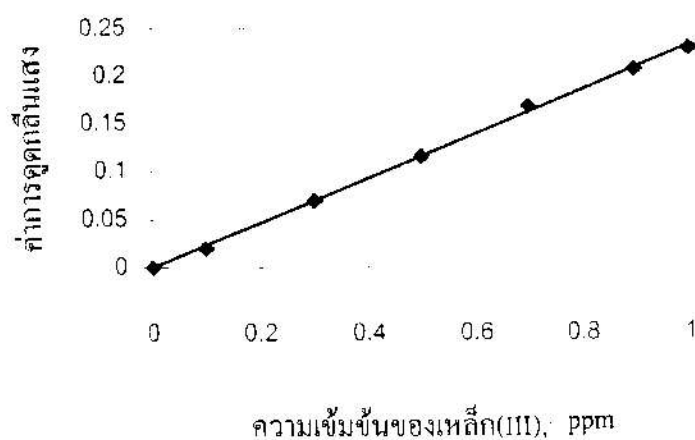
รูปที่ 4.14 ผลของอุณหภูมิ 37 °C ต่อสเปกตรากการดูดกลืนแสงของ
สารละลายเหล็ก-ไฮโดรฟอรัส

จากรูปที่ 4.14 และ ตารางที่ 4.16 พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการเก็บสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก - ไฮโดรฟอรัสที่อุณหภูมิ 37 °C ค่า $\lambda_{\max}$ ไม่เปลี่ยนแปลงคือปรากฏที่ 400 nm ส่วนค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แสดงว่าสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก - ไฮโดรฟอรัสมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 37 °C ภายในเวลา 24 ชั่วโมง

4.7 ผลการศึกษา percent recovery

ตารางที่ 4.17 ผลที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐาน เพื่อการศึกษาหา percent recovery

สารที่	ความเข้มข้นของ เหล็ก(ppm)	pH	A (400 nm)
1	0.00	5.01	0.000
2	0.10	5.03	0.020
3	0.30	5.02	0.069
4	0.50	5.01	0.115
5	0.70	5.03	0.167
6	0.90	5.06	0.205
7	1.00	5.01	0.227



รูปที่ 4.15 กราฟมาตรฐานของการหา percent recovery

ตารางที่ 4.18 เมื่อในน้ำตัวอย่างมีความเข้มข้นของเหล็กเป็น 0.10 ppm

หลอดที่	ความเข้มข้นของเหล็กที่เดิม (ppm)	A (400 nm)	ความเข้มข้นของเหล็กที่ วัดได้ (ppm)
1	-	0.023	0.10
2	-	0.021	0.09
3	-	0.022	0.10
4	0.50	0.145	0.64
5	0.50	0.144	0.64
6	0.50	0.146	0.64

ตารางที่ 4.19 เมื่อในน้ำตัวอย่างมีความเข้มข้นของเหล็กเป็น 0.50 ppm

หลอดที่	ความเข้มข้นของเหล็กที่เดิม (ppm)	A (400 nm)	ความเข้มข้นของเหล็กที่ วัดได้(ppm)
1	-	0.116	0.51
2	-	0.116	0.51
3	-	0.114	0.50
4	0.50	0.150	0.66
5	0.50	0.152	0.67
6	0.50	0.149	0.66

ตารางที่ 4.20 เมื่อในน้ำตัวอย่างมีความเข้มข้นของเหล็กเป็น 0.90 ppm

หลอดที่	ความเข้มข้นของเหล็กที่เดิม (ppm)	A (400 nm)	ความเข้มข้นของเหล็กที่ วัดได้(ppm)
1	-	0.144	0.64
2	-	0.148	0.65
3	-	0.146	0.64
4	0.50	0.156	0.69
5	0.50	0.156	0.69
6	0.50	0.157	0.69

จากตารางที่ 4.17, 4.18, 4.19, 4.20 และรูปที่ 4.15 พบว่าเมื่อน้ำตัวอย่างมีความเข้มข้นของเหล็กเพิ่มขึ้น % R มีค่าเป็น 108.52, 30.88, 9.12 ตามลำดับ

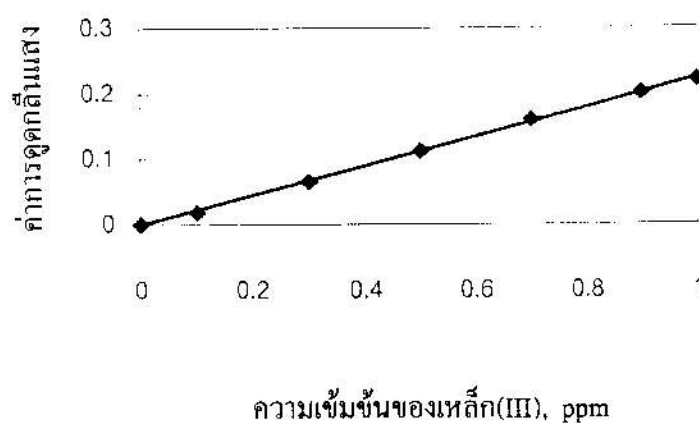
4.8 ผลการนำไซเดอโรฟอร์ไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของเหล็ก

สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณของเหล็ก อาศัยปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(III)กับไซเดอโรฟอร์ แล้วให้สารที่มีสีนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค UV-Visible Spectrophotometry ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.21

ตารางที่ 4.21 ค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์

สารที่	ความเข้มข้นของเหล็ก(ppm)	pH	A
1	0.00	5.04	0.000
2	0.10	5.00	0.018
3	0.30	5.04	0.065
4	0.50	5.08	0.112
5	0.70	5.04	0.160
6	0.90	5.07	0.201
7	1.00	5.01	0.220

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.21 เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นหน่วยเป็น ppm กราฟแสดงดังรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 กราฟมาตรฐาน ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้นของสารละลาย
มาตรฐานเหล็ก ด้วยวิธีใช้ไซเคอโรฟอร์ม

จากในรูปที่ 4.16 จะเห็นกราฟเป็นเส้นตรง แสดงว่าเป็นไปตามกฎของเบียร์ โดยมี สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9995 ความชัน เท่ากับ 0.2367 Lmg^{-1} โมลาร์แอบซอร์ปติวิตี เท่ากับ $12,031 \text{ Lmole}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

สำหรับผลการวิเคราะห์เหล็กในน้ำตัวอย่างโดยการใช้ไซเคอโรฟอร์ม ด้วยวิธีการสร้างกราฟ มาตรฐาน เมื่อปิเปตน้ำตัวอย่างมา 1.00, 5.00 และ 10.00 cm^3 ดำเนินการตามวิธีทดลองที่กล่าวมา แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ได้ผลดังตารางที่ 4.22

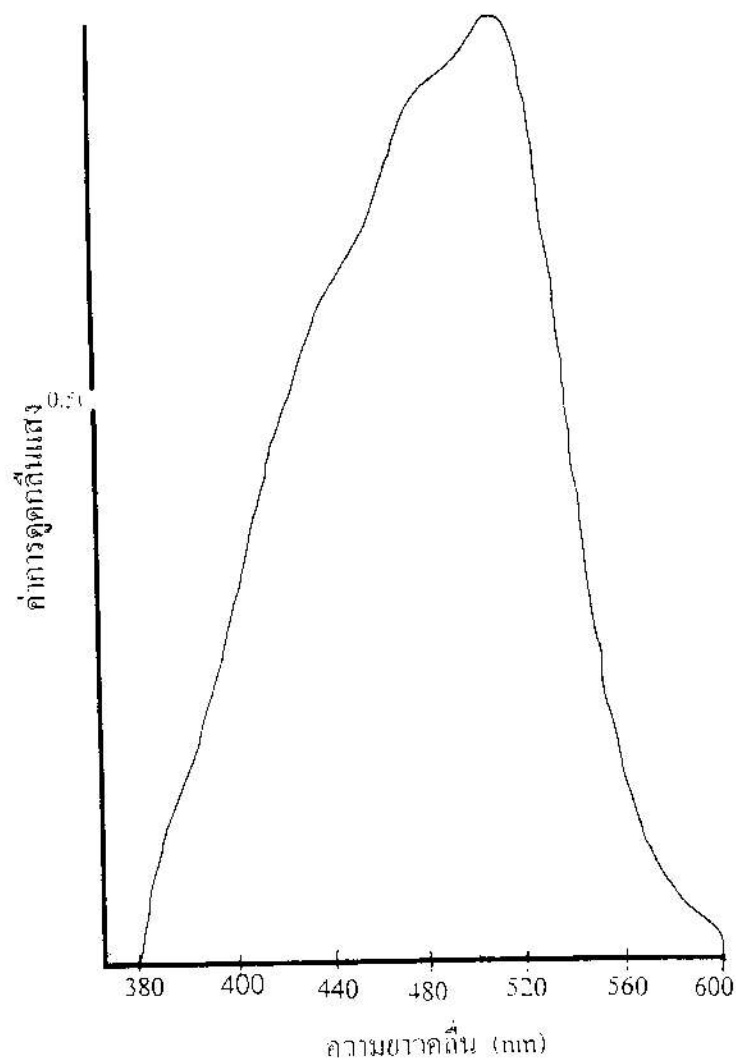
ตารางที่ 4.22 ผลการวิเคราะห์เหล็กในน้ำตัวอย่าง จากบึงสีฐาน มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สารที่	ปริมาตรน้ำ ตัวอย่าง (cm^3)	pH	A (400 nm)	ความเข้มข้นของ เหล็ก (ppm)
1	1.00	5.04	0.001	0.00
2	1.00	5.00	0.001	0.00
3	1.00	5.00	0.002	0.01
4	5.00	5.05	0.005	0.02
5	5.00	5.05	0.006	0.03
6	5.00	5.01	0.005	0.02
7	10.00	5.05	0.009	0.04
8	10.00	5.04	0.010	0.04
9	10.00	5.00	0.010	0.04

จากตารางที่ 4.22 พบว่า เมื่อใช้ปริมาตรของน้ำตัวอย่างเป็น 1.00 cm^3 ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มีค่าน้อยทำให้เกิดความผิดพลาดในการคำนวณความเข้มข้นของเหล็ก เมื่อใช้ปริมาตรของน้ำตัวอย่างเป็น 5.00 และ 10.00 cm^3 ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นสามารถคำนวณความเข้มข้นของเหล็กได้มากขึ้นจากเดิม และนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานได้ความเข้มข้นของเหล็กเฉลี่ยเมื่อใช้ปริมาตรน้ำตัวอย่างเป็น 1.00 , 5.00 และ 10.00 cm^3 มีความเข้มข้นของเหล็กเป็น 0.01 , 0.02 และ 0.04 ppm ตามลำดับ

4.9 ผลที่ได้จากการวิเคราะห์เหล็กในน้ำตัวอย่าง ด้วยวิธีฟิแนโนโรลีน

ผลการศึกษาการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-ไซเดโรฟอร์และการสร้างกราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์เหล็ก โดยเลือกสารละลายมาตรฐานของเหล็กมาสมแกน และวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ได้ค่า λ_{max} และค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-ฟิแนโนโรลีน ดังรูปที่ 4.17



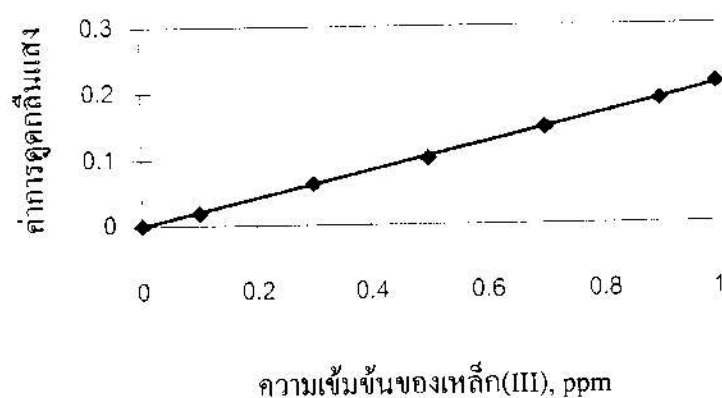
รูปที่ 4.17 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-ฟีนานโทรลีน

จากสเปกตรัมการดูดกลืนแสง พบว่า $\lambda_{\max}$ เป็น 510 nm ดังนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทุกความเข้มข้นที่ความยาวคลื่นนี้ ซึ่งผลการทดลอง แสดงในตารางที่ 4.23

ตารางที่ 4.23 ผลที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐาน

สารที่	ความเข้มข้นของสารละลาย เหล็กมาตรฐาน(ppm)	pH	A (510 nm)
1	0.00	2.87	0.000
2	0.10	2.56	0.019
3	0.30	2.52	0.063
4	0.50	2.69	0.100
5	0.70	2.75	0.145
6	0.90	2.91	0.186
7	1.00	2.59	0.210

จากผลของการทดลองในตารางที่ 4.23 เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น (ppm) ได้ดังรูปที่ 4.18



รูปที่ 4.18 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์เหล็กด้วยวิธีฟิแนโนโรลีน

จากกราฟมาตรฐานที่ได้เป็นเส้นตรง แสดงว่าเป็นไปตามกฎของเบียร์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9997 ความชัน เท่ากับ 0.2100 L mg^{-1} โมลาร์แอบซอร์ปติวิตี เท่ากับ $36.757 \text{ L mole}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

ผลการวิเคราะห์น้ำตัวอย่างด้วย ฟีนแอนโทรลีน

โดยการเปิดน้ำตัวอย่าง ปริมาตร 1.00 , 5.00, 10.00 และ 50.00 cm³ ดำเนินการตามวิธีทดลองในหัวข้อ 3.9.2 และได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.24

ตารางที่ 4.24 ผลที่ได้จากการวิเคราะห์เหล็กในน้ำตัวอย่างด้วย 1,10-phenanthroline โดยใช้ปริมาตรของน้ำตัวอย่างเป็น 1.00, 5.00, 10.00 และ 50.00 cm³ ตามลำดับ

หลอดที่	ปริมาตรของน้ำ ตัวอย่าง (cm ³)	A (510 nm)	ความเข้มข้นของ เหล็ก(ppm)
1	1.00	0.002	0.01
2	1.00	0.002	0.01
3	1.00	0.001	0.00
4	5.00	0.011	0.05
5	5.00	0.010	0.05
6	5.00	0.009	0.04
7	10.00	0.021	0.10
8	10.00	0.020	0.10
9	10.00	0.020	0.10
10	50.00	0.102	0.49
11	50.00	0.101	0.48
12	50.00	0.103	0.49

จากตารางที่ 4.24 พบว่า เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของเหล็กเฉลี่ยที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยใช้ปริมาตรของน้ำตัวอย่างเป็น 1.00 , 5.00 , 10.00 และ 50.00 cm³ ได้ความเข้มข้นเฉลี่ยของเหล็กเท่ากับ 0.01 , 0.05 , 0.10 และ 0.49 ppm ตามลำดับ

สรุปเปรียบเทียบความเข้มข้นของเหล็กในน้ำตัวอย่างด้วยวิธีต่างๆ ดังตารางที่ 4.25

ตารางที่ 4.25 สรุปเปรียบเทียบความเข้มข้นของเหล็กในตัวอย่างน้ำ ด้วยวิธีสร้างกราฟ
มาตรฐาน และวิธีฟิแนนโรลีน

ปริมาตรของน้ำ ตัวอย่าง (cm ³)	ความเข้มข้นของเหล็กในน้ำตัวอย่าง (ppm)	
	วิธีที่ใช้ไซเคโอโรฟอร์	วิธีฟิแนนโรลีน
1.00	0.01	0.01
5.00	0.02	0.05
10.00	0.04	0.10

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดสอบสมบัติทางเคมีเพื่อแยกประเภทของไซเคโอโรฟอร์ โดยอาศัยปฏิกิริยาต่างๆ เช่น Csaky test ได้ผลต่างจากทฤษฎีอาจเนื่องมาจากไซเคโอโรฟอร์ที่ผลิตได้เป็น secondary hydroxamic acid จะต้อง hydrolysed ก่อนแล้วจึงออกซิไดซ์ด้วยไอโอดีน และเมื่อ hydroxamic acid ถูกออกซิไดซ์ด้วยไอโอดีนจะเกิด free radical ชนิด RCONHO[•] เป็น intermediates ให้ผลิตภัณฑ์ต่างๆ ซึ่ง Nitroxy radicals ที่เกิดในระหว่างการออกซิไดซ์สามารถวัดได้โดย Electron Spin Resonance Spectroscopy ในการทดลองครั้งนี้ตรวจวัดไม่ได้ อาจเนื่องมาจากเกิดการสลายตัวไปเป็นออกไซด์ของไนโตรเจน เช่น N₂O, NO และอีกประการหนึ่ง hydroxamic acid สามารถถูก hydrolysed ได้ในสถานะที่ไม่รุนแรง (mild condition) ส่วนการทดสอบด้วยวิธี Triphenyltetrazolium Chloride ถือว่าเป็นวิธีที่ให้ผลดีกับงานวิจัย แต่ควรเติมสารละลายของ TTC ภายในเวลาไม่เกิน 5 นาที เพราะถ้าหากใช้เวลามากกว่านี้จะเกิดปฏิกิริยา autoreduction ของ TTC ซึ่งไม่สามารถตรวจวัดได้

การทดสอบด้วยวิธี Berg & Becker ถ้าหากมีปริมาตรของไฮดรอกซามาเท มากกว่า 250.00 ppm ขึ้นไปจะทำให้ผลการทดสอบที่ได้ไม่ตรงตามทฤษฎี โดยจะเกิดสารสีน้ำตาล และมีสารละลายบนผิวสีทอง รวมทั้ง pH ต้องปรับให้เป็น 11.00 ± 0.50 จึงจะได้ผลดี

ส่วนการทดสอบแคทีคอล ไซเคโอโรฟอร์ด้วยวิธี Amow นั้น แสดงว่าไซเคโอโรฟอร์ที่ผลิตได้ไม่ใช่แคทีคอล ไซเคโอโรฟอร์ หรืออาจเป็นไซเคโอโรฟอร์ที่มีแคทีคอลเพียง 1 กลุ่มจึงให้ผลเป็น

ลบ^(10, 34, 35) และจากงานวิจัยของ Hulcher F.H. พบว่าไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตจาก *Ps. aeruginosa* เป็นประเภทไฮดรอกซามะต⁽²²⁾

จากผลการศึกษา %R พบว่าเมื่อในน้ำตัวอย่างมีความเข้มข้นของเหล็ก(III)เพิ่มขึ้นค่า %R ลดลง แสดงว่าวิธีการนี้ใช้ได้ดีกับการวิเคราะห์หาปริมาณของเหล็กในน้ำตัวอย่างที่มีปริมาณของเหล็กน้อยๆ

สำหรับการประยุกต์ของไซเดอโรฟอร์เพื่อวิเคราะห์โลหะหนัก เช่น เพอร์ริก ไอออน นั้น ควรจะได้ศึกษาถึงผลของการรบกวน (interference) ต่างๆ ด้วย เช่น โลหะตัวอื่น หรือรีเอเจนต์ที่ใช้ เป็นต้น