

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาคุณลักษณะของพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล

ศึกษาคุณลักษณะของพอลิเมอร์ลอกแบบ โมเลกุลที่ได้จากการสังเคราะห์จากปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันแบบใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้คาเฟอีนเป็นตัวค้นแบบ, กรดเมทิลเมทาไครลิก (Methyl methacrylic acid, MAA) เป็นฟังก์ชันนัล มอโนเมอร์ ส่วนพอลิเมอร์แบบเชื่อมโยงใช้เอทิลีน ไกลคอล ไดเมทาไครเลต (EDMA) และเบนโซอิล เพอร์ออกไซด์ (BPO) เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่สังเคราะห์ได้นั้นนำมาใช้เป็น Solid-phase extraction (SPE) sorbent สำหรับการเตรียมตัวอย่างคาเฟอีน เมื่อนำไปทำการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันโดยใช้ FT-IR ผลที่ได้ดังรูป 4.1 และ 4.2 การดูคลื่นแสงอินฟราเรดที่สำคัญใน FT-IR สเปกตรัมของพอลิเมอร์ลอกแบบ 4 ชนิด คือ P, P₁, P₂ และ P₃ คาเฟอีน (Caffeine) ทีโอฟีลลีน (Theophylline) และทีโอโบรมีน (Theo bromine) แสดงในรูปในภาคผนวก จ และตาราง 4.1

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบ FT-IR สเปกตรัมที่สำคัญ ๆ ของพอลิเมอร์ลอกแบบ 4 ชนิด คือ P, P₁, P₂ และ P₃ คาเฟอีน (Caffeine) ทีโอฟีลลีน (Theophylline) และทีโอโบรมีน (Theobromine)

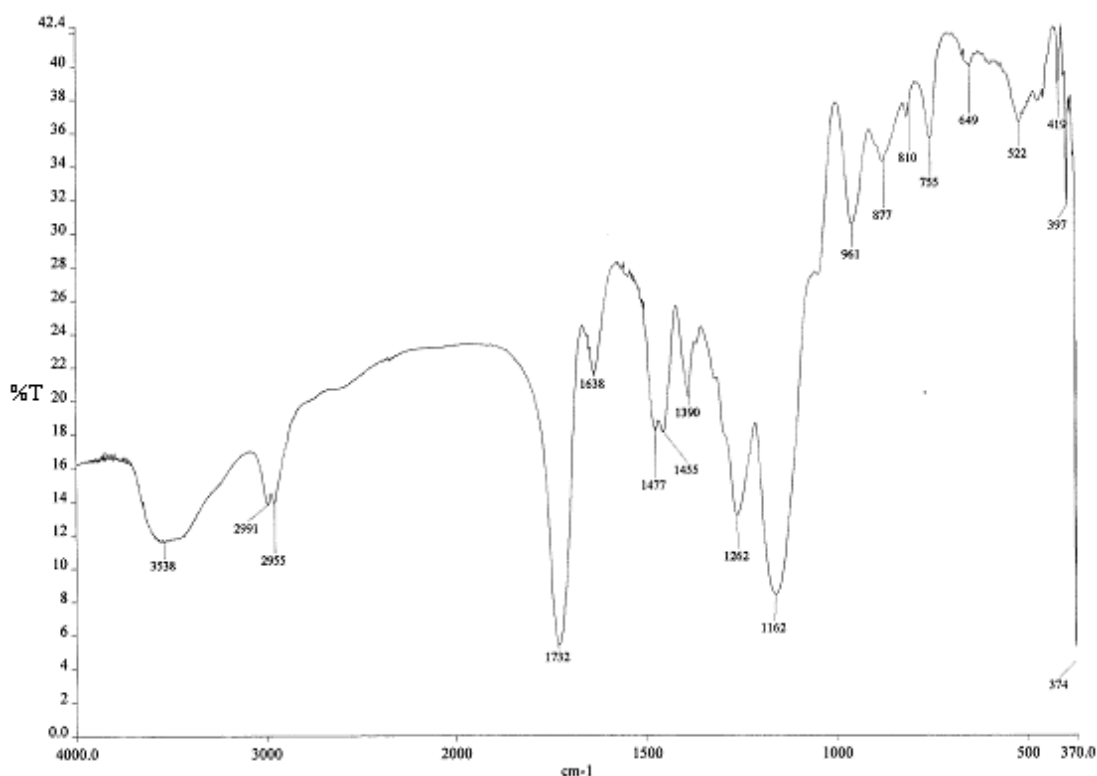
P (cm ⁻¹)	P ₁ (cm ⁻¹)	P ₂ (cm ⁻¹)	P ₃ (cm ⁻¹)	คาเฟอีน (Caffeine) (cm ⁻¹)	ทีโอฟีลลีน (Theophylline) (cm ⁻¹)	ทีโอโบรมีน (Theobromine) (cm ⁻¹)
1731 (-C=O)	1732 (C=O)	1731 (C=O)	1731 (C=O)	1550-1666 (C=C, C=N) ใน purine ring	1550-1666 (C=C, C=N) ใน purine ring	1550-1666 (C=C, C=N) ใน purine ring
2955 (-CH ₃)	2955 (-CH ₃)	2947 (-CH ₃)	2955 (-CH ₃)	1698, 1655 (double C=O)	1718, 1668 (double C=O)	1684 (double C=O)
2991 (-CH ₂)	2991 (-CH ₂)	2992 (-CH ₂)	2991 (-CH ₂)	2954(-CH ₃)	2611-3121 (-CH)	2827-3194 (-CH)
3526 (-OH) carboxylic	3538 (-OH) carboxylic	3546 (-OH) carboxylic	3526 (-OH) carboxylic	3112(-CH)	3343 (-R ₂ -NH-)	3527 (-R ₂ -NH-)

ที่ซึ่ง P คือ พอลิเมอร์ควบคม

P₁ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ใช้คาเฟอีน 0.25 มิลลิโมล เป็นตัวต้นแบบ

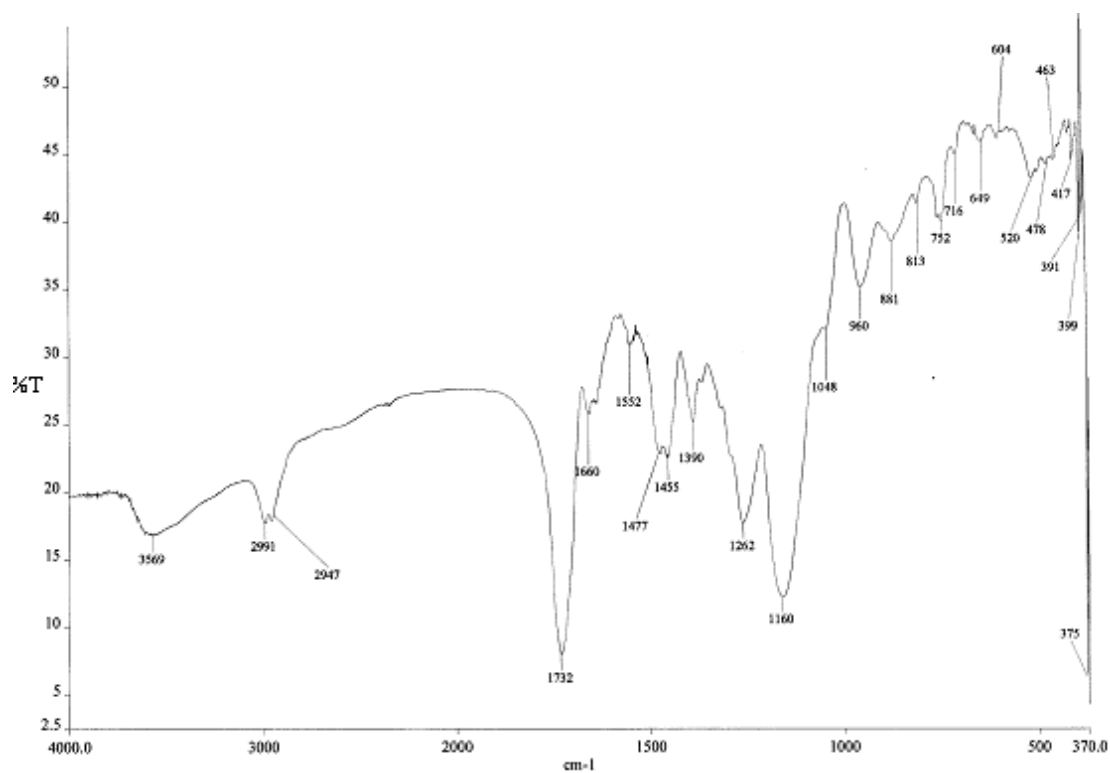
P₂ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ใช้คาเฟอีน 0.50 มิลลิโมล เป็นตัวต้นแบบ

P₃ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ใช้คาเฟอีน 0.75 มิลลิโมล เป็นตัวต้นแบบ

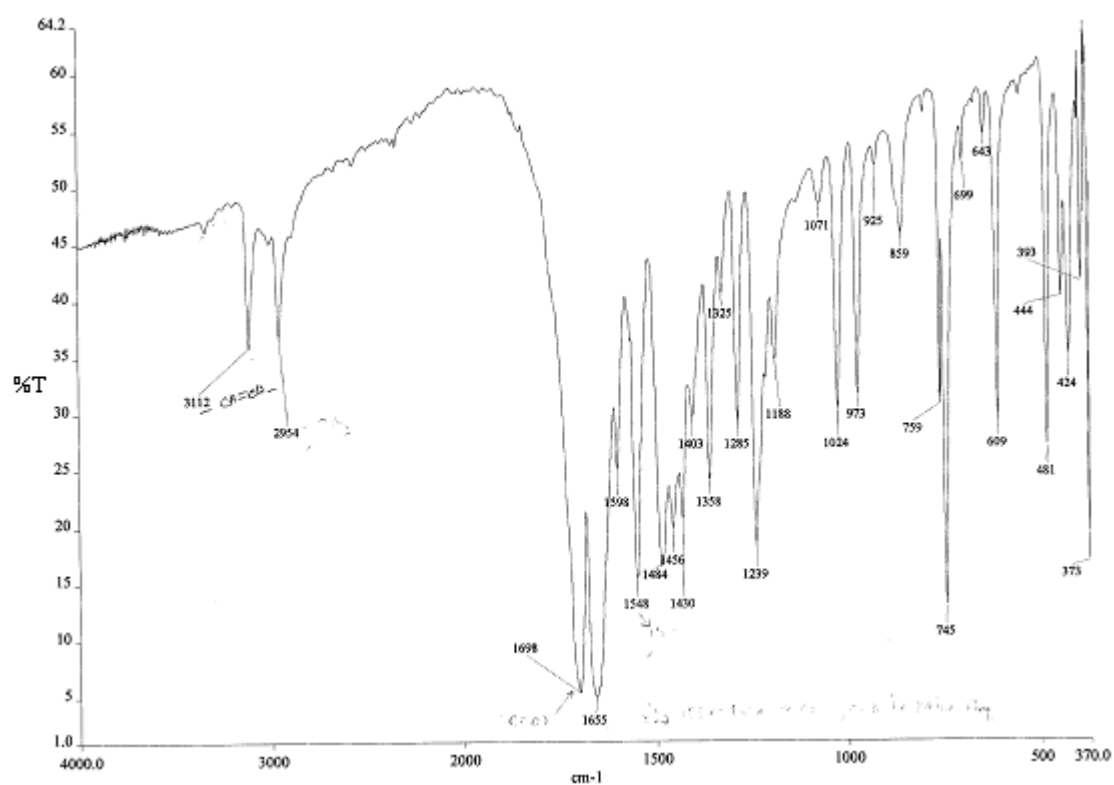


รูปที่ 4.1ก FT-IR สเปกตรัม ของพอลิเมอร์ลอกแบบที่สกัดเอคาเฟอีนซึ่งใช้เป็นตัวต้นแบบ
ออกแล้ว

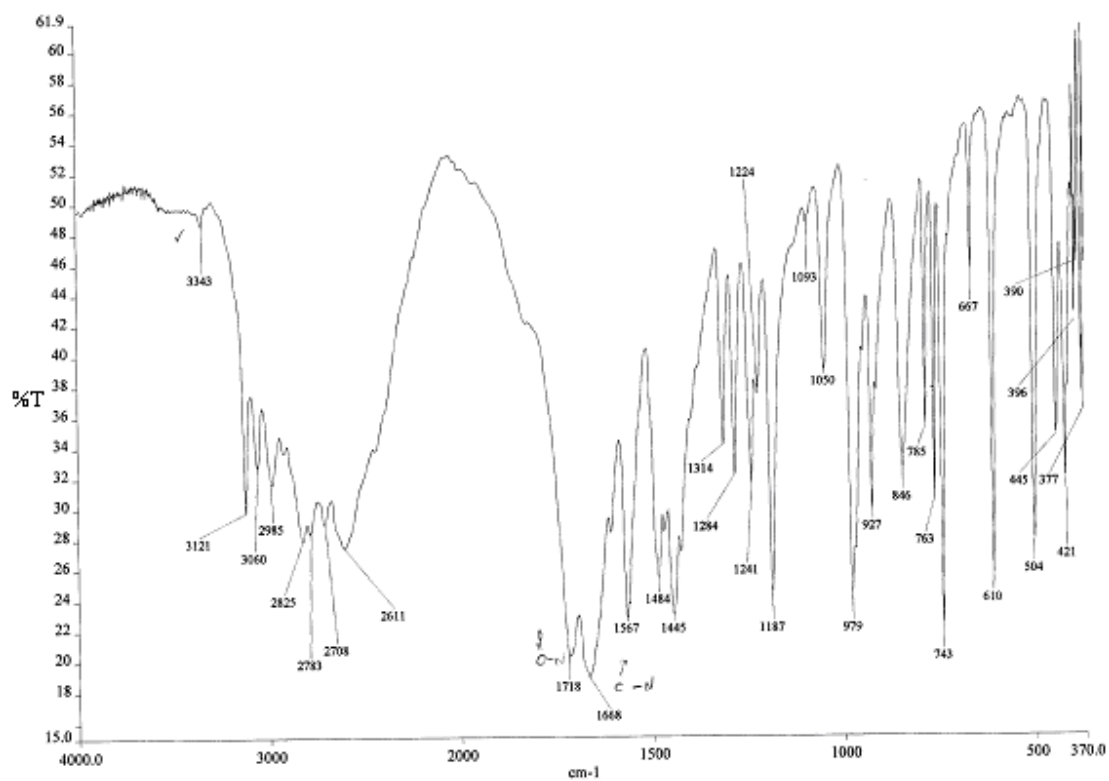
จากรูป 4.1ก เป็นการแสดง FT-IR สเปกตรัมของพอลิเมอร์ลอกแบบปรากฏพีกเกิดขึ้นที่ตำแหน่ง 1732 cm⁻¹, 2955 cm⁻¹, 2991 cm⁻¹ และ 3526 cm⁻¹ ซึ่งเป็นพีกที่เกิดจากการ Stretching ของหมู่ -C=O, -CH₃, -CH₂ และ OH ตามลำดับ ซึ่งทุก ๆ สเปกตรัมของพอลิเมอร์ลอกแบบชนิดต่าง ๆ ที่ทำการสังเคราะห์ขึ้นจะมีลักษณะคล้ายกัน จากรูปที่ 4.1ข เป็นการแสดง FT-IR สเปกตรัมของพอลิเมอร์ลอกแบบที่ยังไม่สกัดเอคาเฟอีนซึ่งใช้เป็นตัวต้นแบบออก ซึ่งมีลักษณะของสเปกตรัม ที่ไม่แตกต่างกันมากนักดังนั้นเราจึงทำการทดสอบคุณสมบัติของพอลิเมอร์ลอกแบบด้วยเทคนิคการวิเคราะห์แบบอื่น ๆ ต่อไป



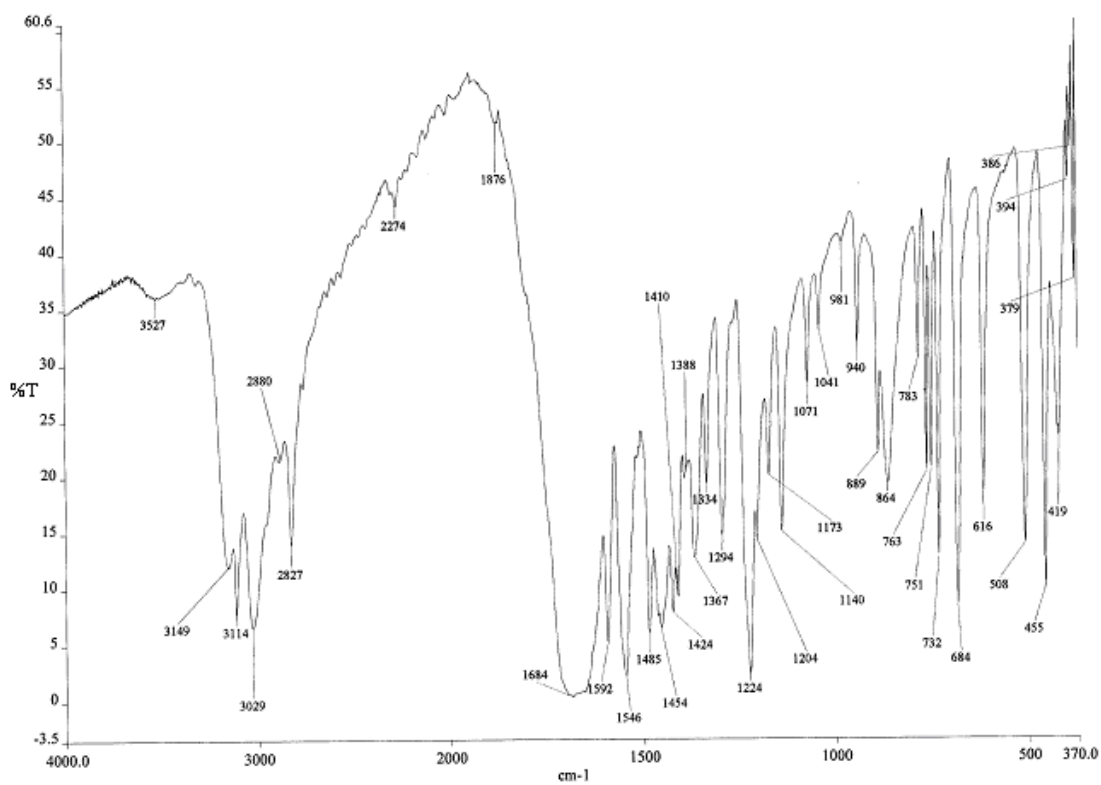
รูปที่ 4.1 ข FT-IR สเปกตรัม ของพอลิเมอร์ลอกแบบที่ยังไม่สกัดเอาคาเฟอีนซึ่งใช้เป็นตัวต้นแบบ
ออก



รูปที่ 4.1ค FT-IR สเปกตรัม ของคาเฟอีน



รูปที่ 4.1ง FT-IR สเปกตรัม ของซีโอฟิลลิน



รูปที่ 4.1จ FT-IR สเปกตรัม ของซีโอโบรมิน

ในรูป 4.1ค เป็นการแสดง FT-IR สเปกตรัมของคาเฟอีน ปรากฏพีกเกิดขึ้นที่ตำแหน่ง 1550 - 1666 cm^{-1} , 1698 หรือ 1655 cm^{-1} , 2594 cm^{-1} และ 3112 cm^{-1} ซึ่งเป็นพีกที่เกิดจากการ Stretching ของหมู่ C=C หรือ C=N, C=O, -CH₃ และ -CH ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าพีกที่ได้จะมีลักษณะเหมือนกับของธีโอฟิลลีน และธีโอโบรมีน ดังรูปที่ 4.1ง และ 4.1จ แต่ต่างกันตรงตำแหน่ง 3587 และ 3527 cm^{-1} ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการ Stretching ของหมู่ -R₂-NH

จากการเตรียมพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลแล้วนำไปหาขนาดอนุภาคโดยเครื่อง MASTERSIZER X พบว่ามีขนาดอนุภาคดังแสดงในตารางที่ 4.2 จากตารางนี้พบว่าขนาดอนุภาคของพอลิเมอร์ลอกแบบทั้ง 4 ชนิดมีขนาดใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 40-50 μm .

ตารางที่ 4.2 แสดงขนาดอนุภาคของพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล

ชื่อสาร	ค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค (d, μm .)	พื้นที่ผิว (Specific Surface Area, m^2/gm)	ขนาดของอนุภาคส่วน ใหญ่ (Mode, μm .)
P E,S	37.36	0.3963	47.46
P ₁ E,S	38.93	0.3710	47.25
P ₂ E,S	49.97	0.2969	48.93
P ₃ E,S	42.63	0.3501	52.58

ผลจากการวิเคราะห์ทดสอบความคงทนต่อความร้อน และการสลายตัวด้วย TGA ได้ผลดังตารางที่ 4.3 จากตารางนี้ พบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดนั้นมีความคงทนต่อความร้อนได้ถึงอุณหภูมิประมาณ 200 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบความคงทนต่อความร้อน และการสลายตัวด้วย TGA

ชื่อสาร	อุณหภูมิที่สารเริ่ม สลายตัว, Onset X (°C)	ปริมาณของสารที่ เหลือหลังจากเริ่ม สลายตัวคิดเป็น เปอร์เซ็นต์, Onset Y (%)	อุณหภูมิที่พอลิเมอร์เริ่มหลอม ละลาย (Event mark, °C)
P S	225.969 377.631	93.1555 7.3691	234.997 380.162
P E, S	277.347	86.4288	295.466

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

$P_1 S$	233.704	90.0608	244.966
	295.016	21.8055	299.232
$P_1 E, S$	215.114	95.1027	223.743
	281.075	56.0647	284.058
$P_2 S$	241.226	93.4488	261.888
	443.577	16.8344	332.518
$P_2 E, S$	212.942	90.7103	221.981
	301.729	14.3823	308.806
$P_3 S$	232.300	91.8203	243.136
	397.342	15.1446	400.115
$P_3 E, S$	250.946	96.976	274.904

หมายเหตุ $P S$ คือ พอลิเมอร์ควบคู่ที่ไม่ได้สกัดเอาสารปนเปื้อนออกแต่ผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว

$P E, S$ คือ พอลิเมอร์ควบคู่ที่ผ่านการสกัดเอาสารปนเปื้อนออก และผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว

$P_1 S$ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ไม่ได้สกัดเอาคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก แต่ผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว

$P_1 E, S$ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่ผ่านการสกัดเอาคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก และผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว

$P_2 S$ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ไม่ได้สกัดเอาคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก แต่ผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว

$P_2 E, S$ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่ผ่านการสกัดเอาคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออกแล้ว และผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว

$P_3 S$ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ไม่ได้สกัดเอาคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก แต่ผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว

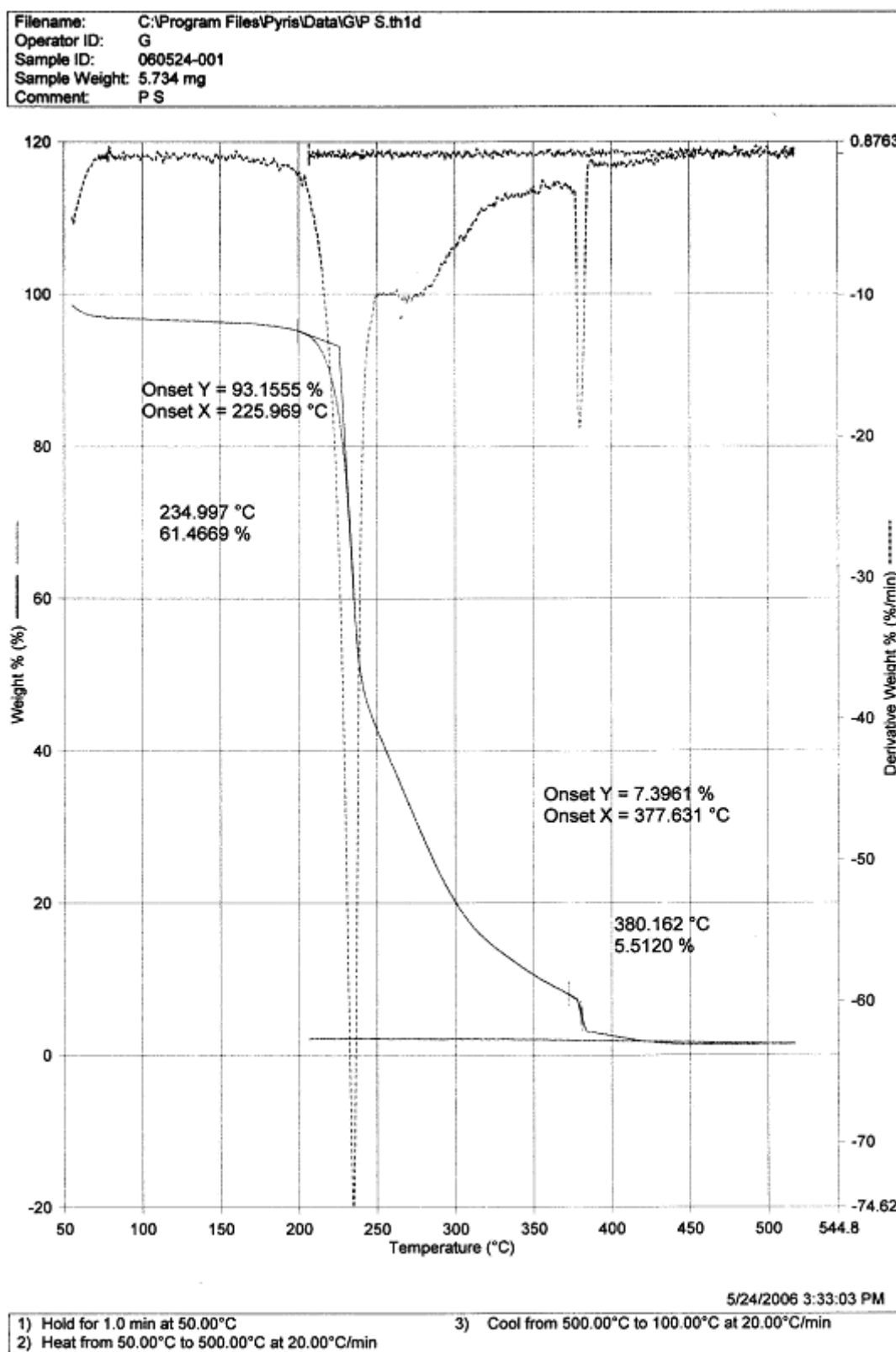
$P_3 E, S$ คือ พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่ผ่านการสกัดเอา คาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก และผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว

ในรูปที่ 4.2ก เป็นเทอร์โมแกรมของสาร $P S$ ซึ่งพบว่าลักษณะเทอร์โมแกรมที่ได้เริ่มมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิ $225.969^{\circ}C$ น้ำหนักของพอลิเมอร์ลดลงประมาณ 7% โดยที่อุณหภูมิ $234.997^{\circ}C$ พอลิเมอร์เริ่มหลอมละลาย น้ำหนักลดลงประมาณ 38.5% และที่อุณหภูมิ $377.631^{\circ}C$ มี

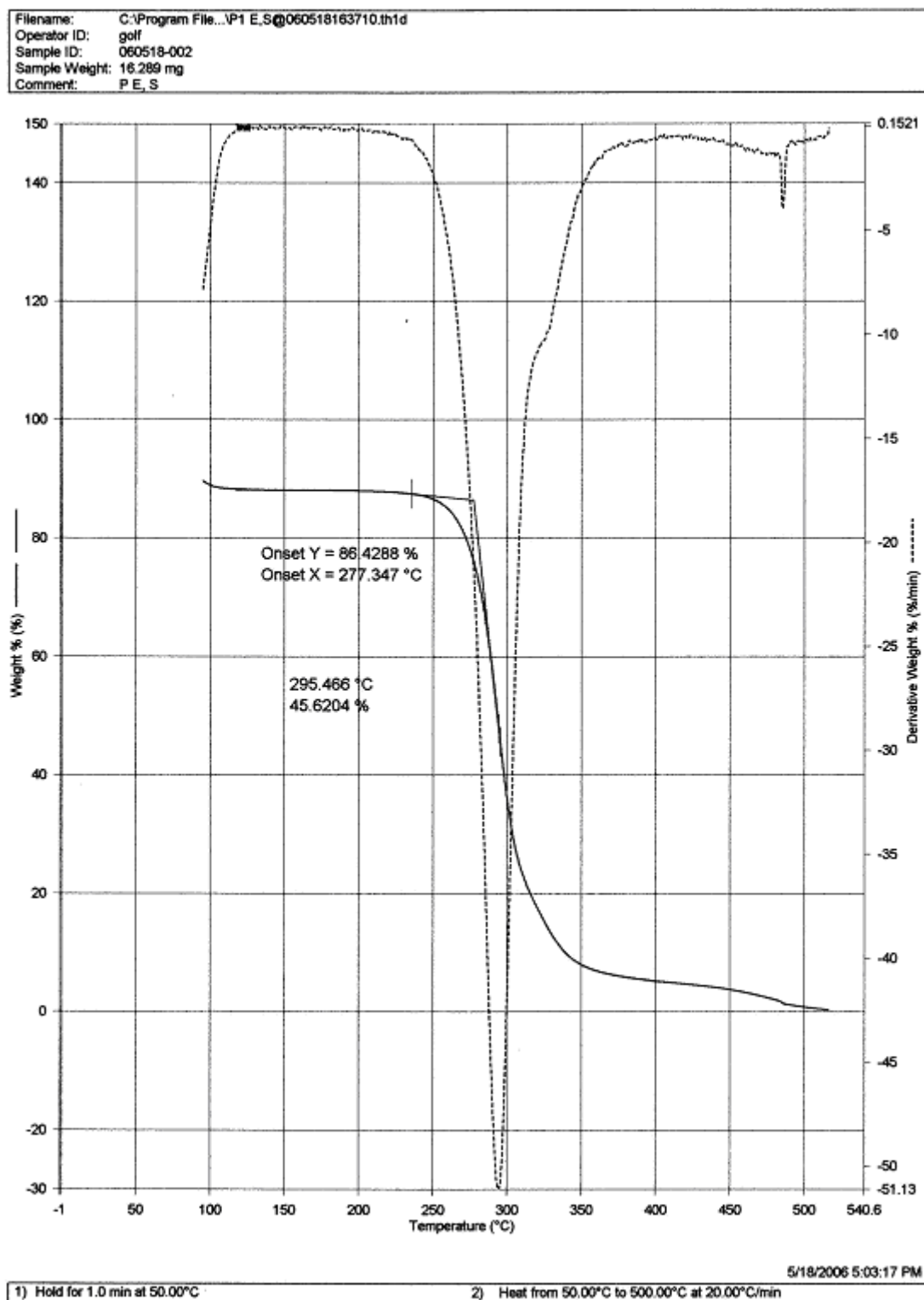
องค์ประกอบในพอลิเมอร์อีกชนิดเริ่มสลายตัวน้ำหนักของพอลิเมอร์ลดลงประมาณ 92.6% โดยที่อุณหภูมิ 380.162 °C เริ่มหลอมละลาย เหลือปริมาณของพอลิเมอร์อยู่ 5.512% และสลายตัวหมดที่อุณหภูมิประมาณ 450 °C

สำหรับรูปที่ 4.2 ข ซึ่งเป็นของสาร PE, S เทอร์โมแกรมที่ได้เริ่มมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิ 277.347 °C น้ำหนักลดลงประมาณ 13.6% โดยที่อุณหภูมิ 295.466 °C พอลิเมอร์เริ่มหลอมละลาย น้ำหนักลดลงประมาณ 54% พอลิเมอร์สลายตัวหมดที่อุณหภูมิประมาณ 500 °C จากเทอร์โมแกรมจะเห็นได้ว่าพอลิเมอร์ที่ผ่านการสกัดเอาสารปนเปื้อนต่างๆ จากการทำปฏิกิริยาออกแล้วจะไม่มีสารอื่น ๆ เจือปนทำให้ไม่พบการสลายตัวของสารอีกชนิดในเทอร์โมแกรม

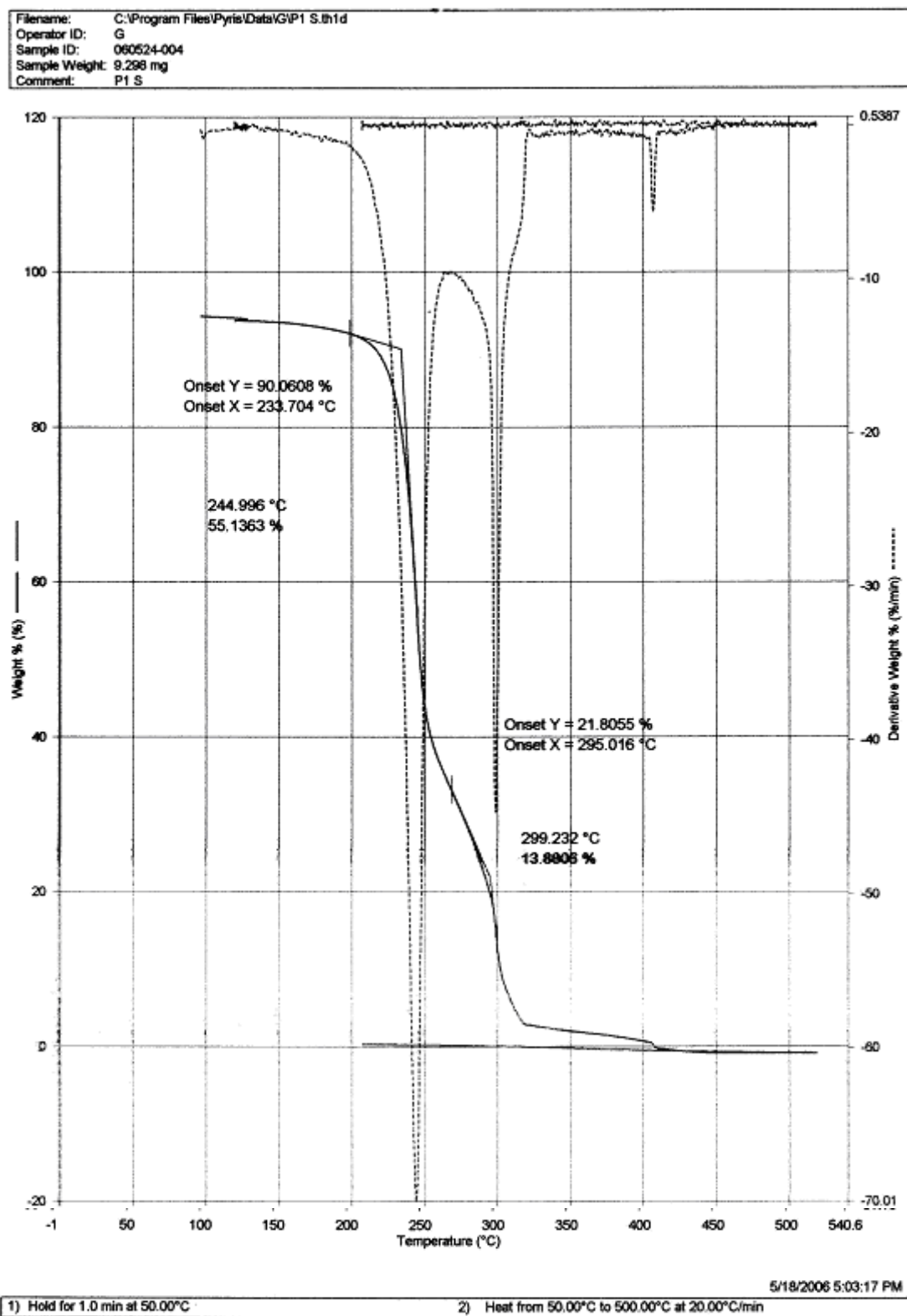
จากรูปที่ 4.2 ค เป็นเทอร์โมแกรมของสาร P₁ S พบว่าได้เริ่มมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิ 233.704 °C น้ำหนักลดลงประมาณ 10% โดยที่อุณหภูมิ 244.996 °C พอลิเมอร์เริ่มหลอมละลาย น้ำหนักลดลงประมาณ 45% และที่อุณหภูมิ 295.016 °C มีองค์ประกอบในพอลิเมอร์อีกชนิดเริ่มสลายตัวน้ำหนักของพอลิเมอร์ลดลงประมาณ 78.2% โดยที่อุณหภูมิ 299.232 °C เริ่มหลอมละลาย เหลือปริมาณของพอลิเมอร์อยู่ 13.8906% และสลายตัวหมดที่อุณหภูมิประมาณ 450 °C



รูปที่ 4.2ก แสดงเทอร์โมแกรมของ P S คือ พอลิเมอร์ควบคุมที่ไม่ได้สกัดเอาสารปนเปื้อนออก แต่ผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว น้ำหนัก 5.734 มิลลิกรัม เสาที่อุณหภูมิ 50-500 °C , 20 °C/นาที่ ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจนที่ 20 psi



รูปที่ 4.2ข แสดงเทอร์โมแกรมของ P E, S คือ พอลิเมอร์ควบคุมที่ผ่านการสกัดเอาสารปนเปื้อนออก และผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว น้ำหนัก 16.289 มิลลิกรัม เผาที่อุณหภูมิ 50-500 °C , 20 °C/นาทื ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจนที่ 20 psi



รูปที่ 4.2ค แสดงเทอร์โมแกรมของ P₁ S คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ไม่ได้สกัดเอาคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก แต่ผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว น้ำหนัก 9.296 มิลลิกรัม เพาที่อุณหภูมิ 50-500 °C , 20 °C/นาทื ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจนที่ 20 psi

รูปที่ 4.2ง เป็นเทอร์โมแกรมของสาร P_1 E, S จากข้อมูลพบว่าได้เริ่มมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิ 215.114 °C น้ำหนักลดลงประมาณ 5% โดยที่อุณหภูมิ 223.743 °C พอลิเมอร์เริ่มหลอมละลาย น้ำหนักลดลงประมาณ 22% และที่อุณหภูมิ 281.075 °C มีองค์ประกอบในพอลิเมอร์อีกชนิดเริ่มสลายตัวน้ำหนักของพอลิเมอร์ลดลงประมาณ 44% โดยที่อุณหภูมิ 284.058 °C เริ่มหลอมละลายเหลือปริมาณของพอลิเมอร์อยู่ 54.5332% และสลายตัวหมดที่อุณหภูมิประมาณ 450 °C

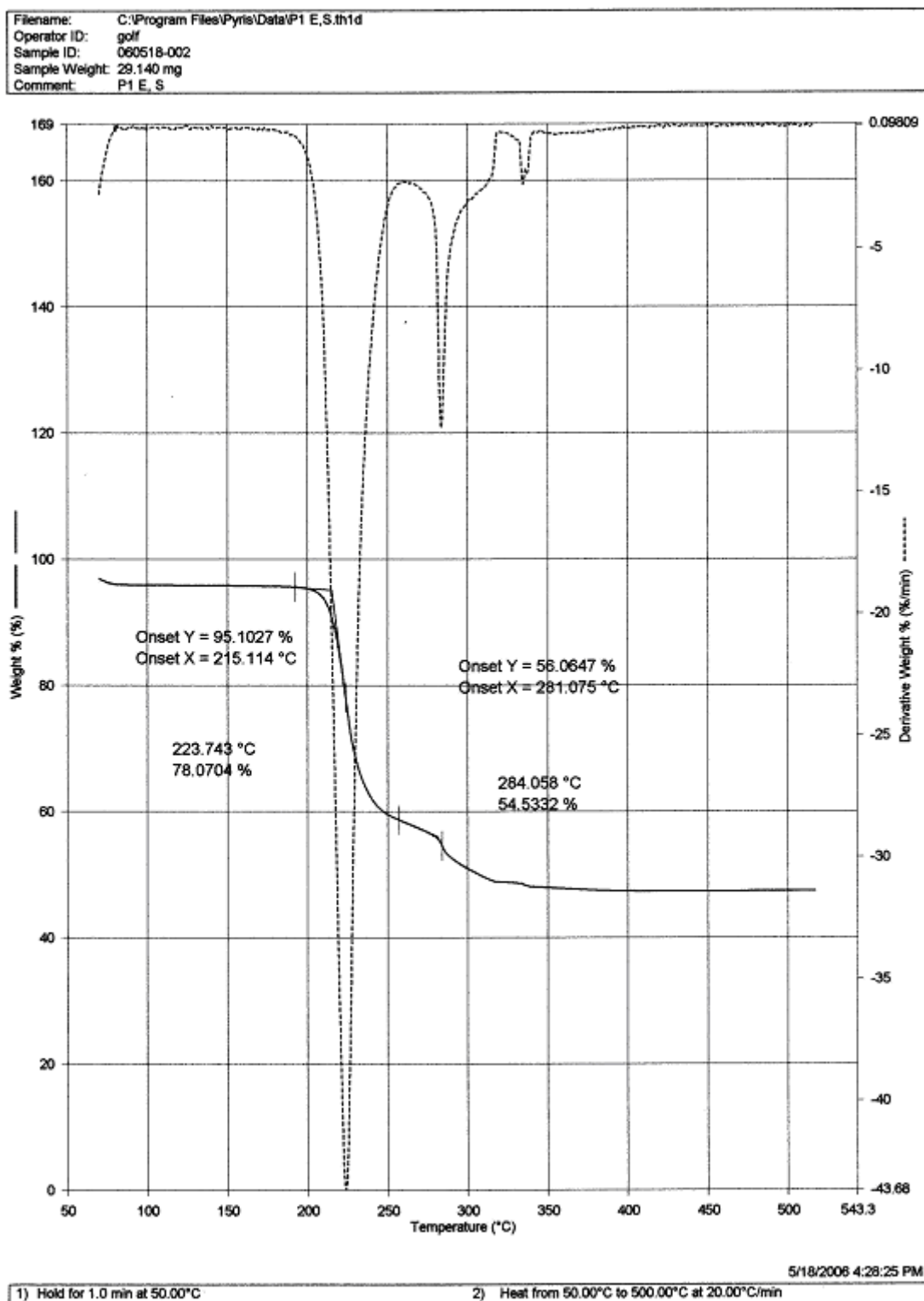
จากรูปที่ 4.2จ เป็นเทอร์โมแกรมของสาร P_2 S จากกราฟเริ่มมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิ 241.226 °C น้ำหนักลดลงประมาณ 7% โดยที่อุณหภูมิ 261.888 °C พอลิเมอร์เริ่มหลอมละลาย น้ำหนักลดลงประมาณ 36% และที่อุณหภูมิ 443.577 °C มีองค์ประกอบในพอลิเมอร์อีกชนิดเริ่มสลายตัวน้ำหนักของพอลิเมอร์ลดลงประมาณ 83.2% โดยที่อุณหภูมิ 332.518 °C เริ่มหลอมละลายเหลือปริมาณของพอลิเมอร์อยู่ 21.8255% และสลายตัวหมดที่อุณหภูมิประมาณ 500 °C

จากรูปที่ 4.2ฉ เทอร์โมแกรมของสาร P_2 E, S ที่ได้เริ่มมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิ 212.942 °C น้ำหนักลดลงประมาณ 10% โดยที่อุณหภูมิ 221.981 °C พอลิเมอร์เริ่มหลอมละลาย น้ำหนักลดลงประมาณ 50% และที่อุณหภูมิ 301.729 °C มีองค์ประกอบในพอลิเมอร์อีกชนิดเริ่มสลายตัวน้ำหนักของพอลิเมอร์ลดลงประมาณ 86% โดยที่อุณหภูมิ 308.806 °C เริ่มหลอมละลายเหลือปริมาณของพอลิเมอร์อยู่ 10.1352% และสลายตัวหมดที่อุณหภูมิประมาณ 900 °C

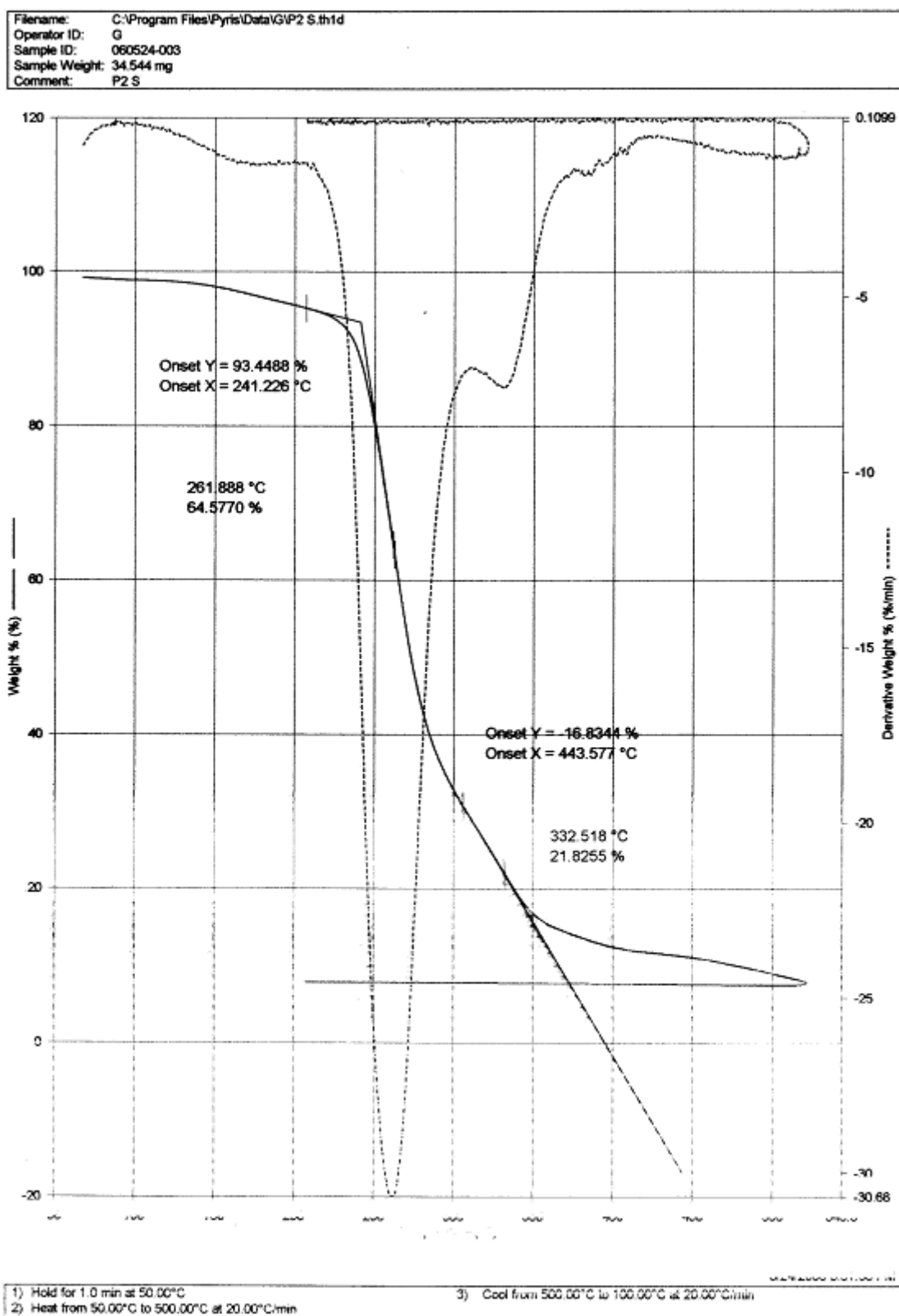
จากรูปที่ 4.2ช เทอร์โมแกรมของสาร P_3 S ที่ได้เริ่มมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิ 232.300 °C น้ำหนักลดลงประมาณ 9% โดยที่อุณหภูมิ 243.136 °C พอลิเมอร์เริ่มหลอมละลาย น้ำหนักลดลงประมาณ 40% และที่อุณหภูมิ 397.342 °C มีองค์ประกอบในพอลิเมอร์อีกชนิดเริ่มสลายตัวน้ำหนักของพอลิเมอร์ลดลงประมาณ 85% โดยที่อุณหภูมิ 400.115 °C เริ่มหลอมละลายเหลือปริมาณของพอลิเมอร์อยู่ 13.7250% และสลายตัวหมดที่อุณหภูมิประมาณ 450 °C

จากรูปที่ 4.2ซ เทอร์โมแกรมของสาร P_3 E, S ที่ได้เริ่มมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิ 250.946 °C น้ำหนักลดลงประมาณ 4% โดยที่อุณหภูมิ 274.904 °C พอลิเมอร์เริ่มหลอมละลาย น้ำหนักลดลงประมาณ 44% และสลายตัวหมดที่อุณหภูมิประมาณ 500 °C

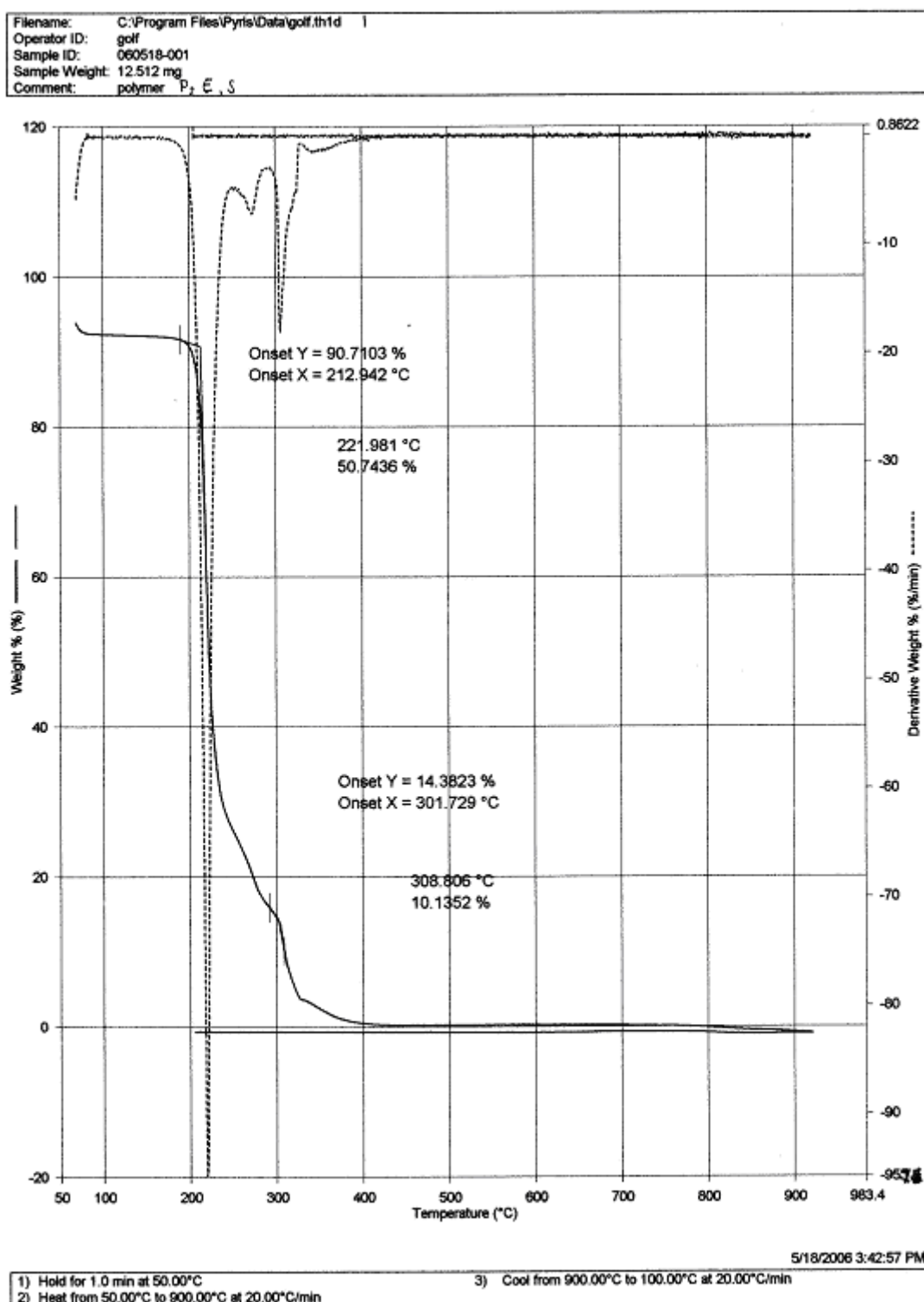
จากเทอร์โมแกรมทั้งหมดจะเห็นว่าพอลิเมอร์ลอกแบบที่ผ่านการสกัดเอาสารปนเปื้อน และคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออกแล้ว ส่วนใหญ่จะมีความบริสุทธิ์สูงกว่าที่ยังไม่ได้สกัดออก



รูปที่ 4.2ง แสดงเทอร์โมแกรมของ P₁ E, S คือ พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่ผ่านการสกัดเอคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก และผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว น้ำหนัก 29.140 กรัม เพาที่อุณหภูมิ 50-500 °C, 20 °C/นาที ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจนที่ 20 psi

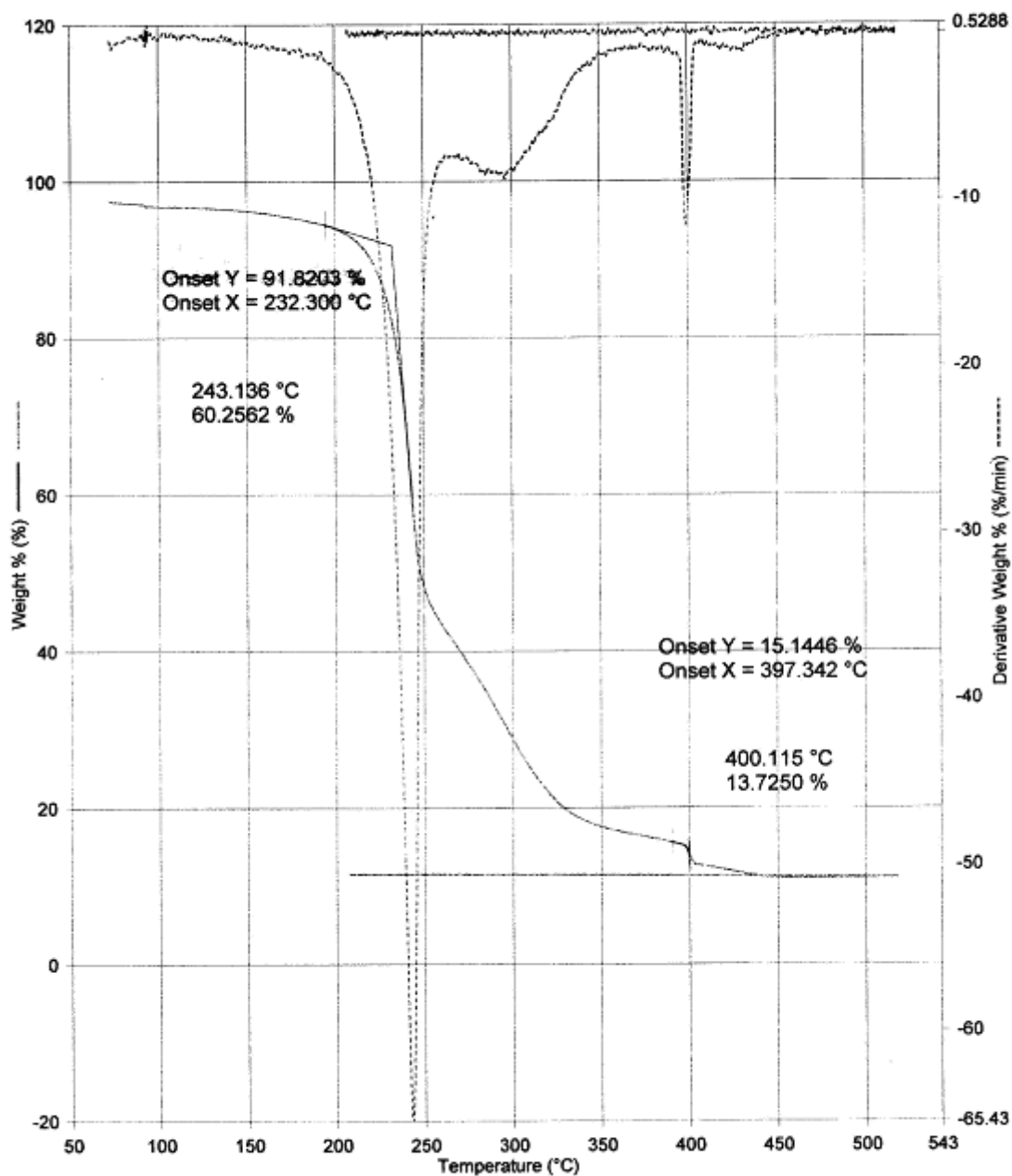


รูปที่ 4.2จ แสดงเทอร์โมแกรมของ P₂ S คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ไม่ได้สกัดเอคาเฟนีน (ตัวต้นแบบ) ออก แต่ผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว น้ำหนัก 34.544 มิลลิกรัม เเผาที่อุณหภูมิ 50-500 °C , 20 °C/นาที ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจนที่ 20 psi



รูปที่ 4.2จ แสดงเทอร์โมแกรมของ P₂ E, S คือ พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่ผ่านการสกัดเอากาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออกแล้ว และผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว น้ำหนัก 12.512 มิลลิกรัม เพาที่อุณหภูมิ 50-900 °C , 20 °C/นาที ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจนที่ 20 psi

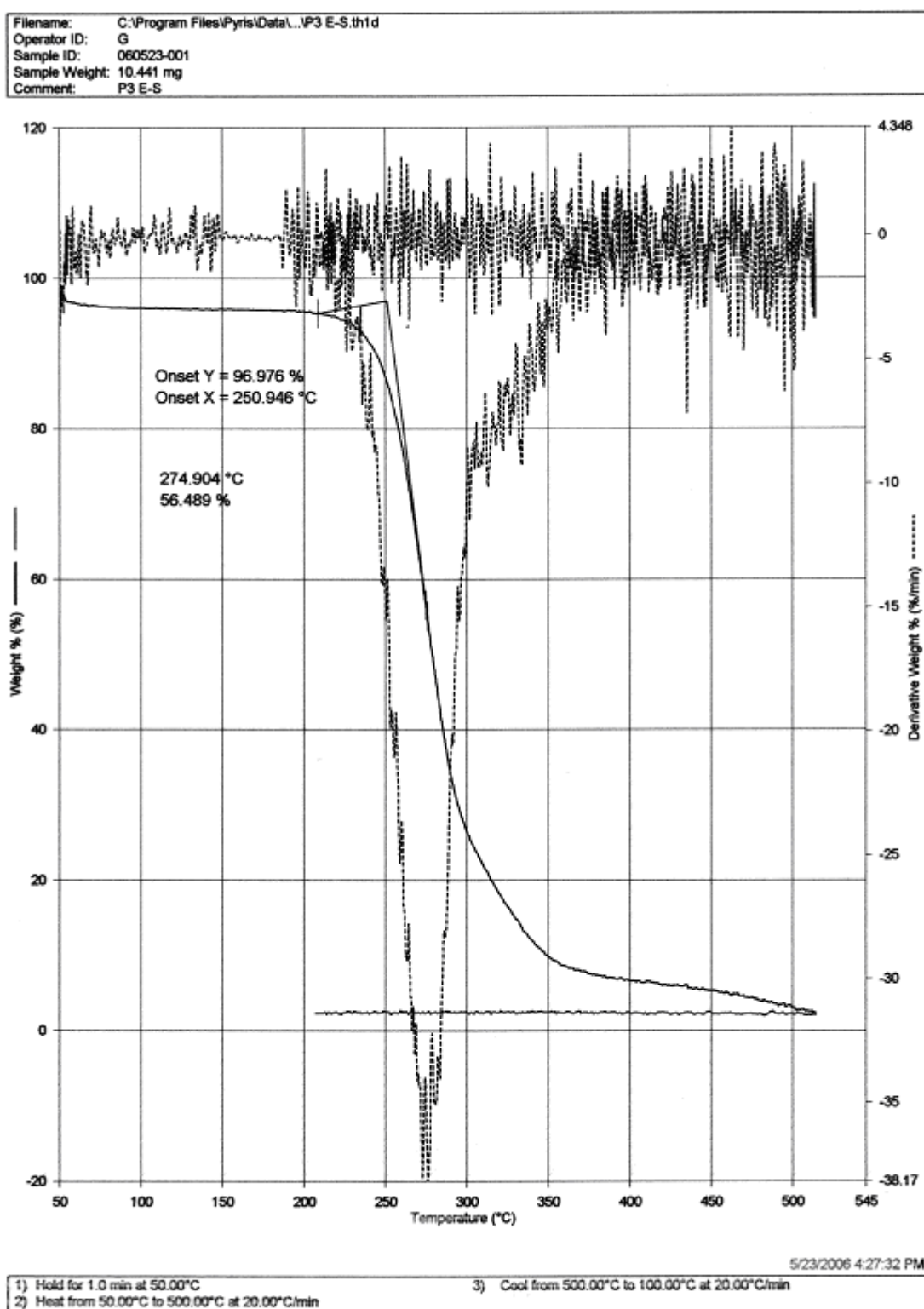
Filename: C:\Program Files\...P3 S@060524154430.th1d
 Operator ID: G
 Sample ID: 060524-002
 Sample Weight: 8.991 mg
 Comment: P3 S



5/24/2006 4:39:13 PM

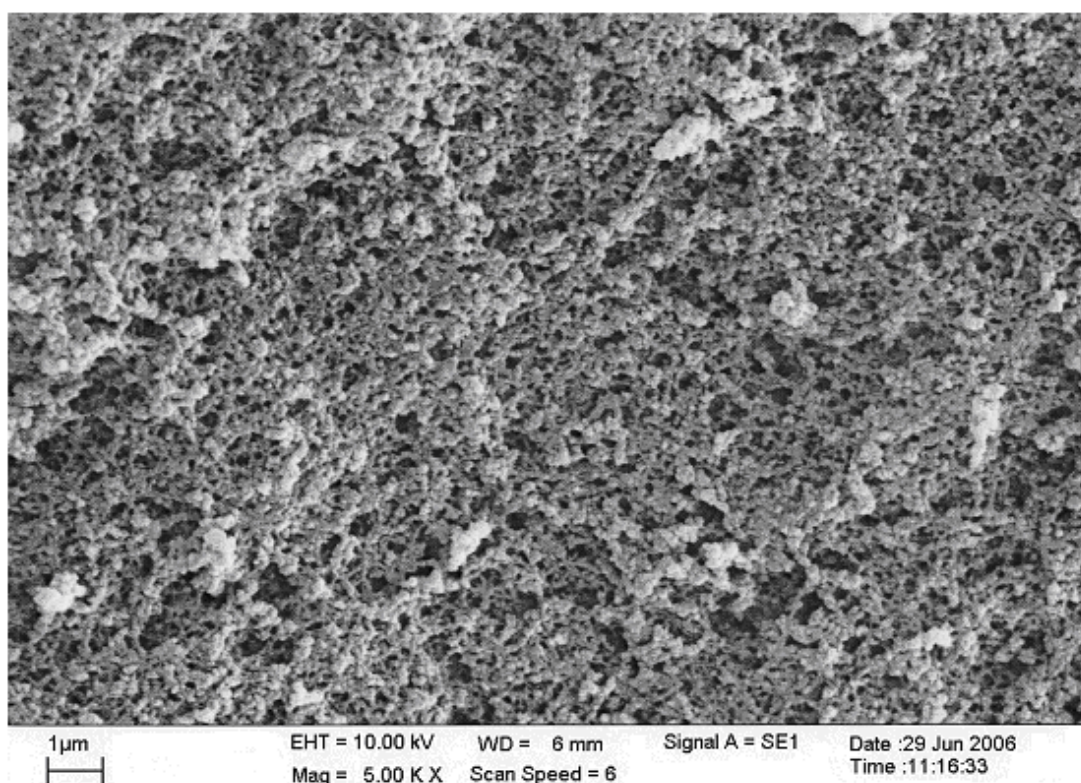
- 1) Hold for 1.0 min at 50.00°C
- 2) Heat from 50.00°C to 500.00°C at 20.00°C/min
- 3) Cool from 500.00°C to 100.00°C at 20.00°C/min

รูปที่ 4.2ข แสดงเทอร์โมแกรมของ P₃ S คือ พอลิเมอร์ลอกแบบที่ไม่ได้สกัดเอาคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก แต่ผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว น้ำหนัก 8.991 มิลลิกรัม เผาที่อุณหภูมิ 50-500 °C , 20 °C/นาที ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจนที่ 20 psi

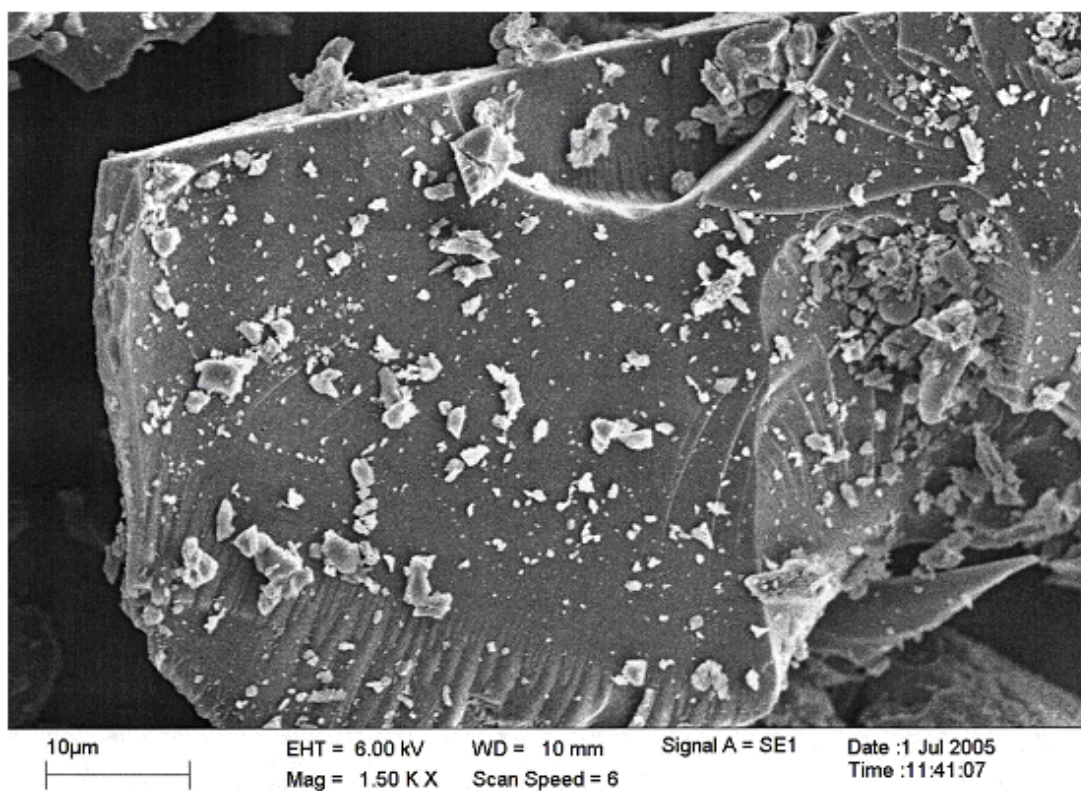


รูปที่ 4.2๗ แสดงเทอร์โมแกรมของ P₃ E, S คือ พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่ผ่านการสกัดเอคาเฟอีน (ตัวต้นแบบ) ออก และผ่านการคัดแยกขนาดแล้ว น้ำหนัก 10.441 มิลลิกรัม เพาที่อุณหภูมิ 50-500 °C , 20 °C/นาที ภายใต้บรรยากาศแก๊สไนโตรเจนที่ 20 psi

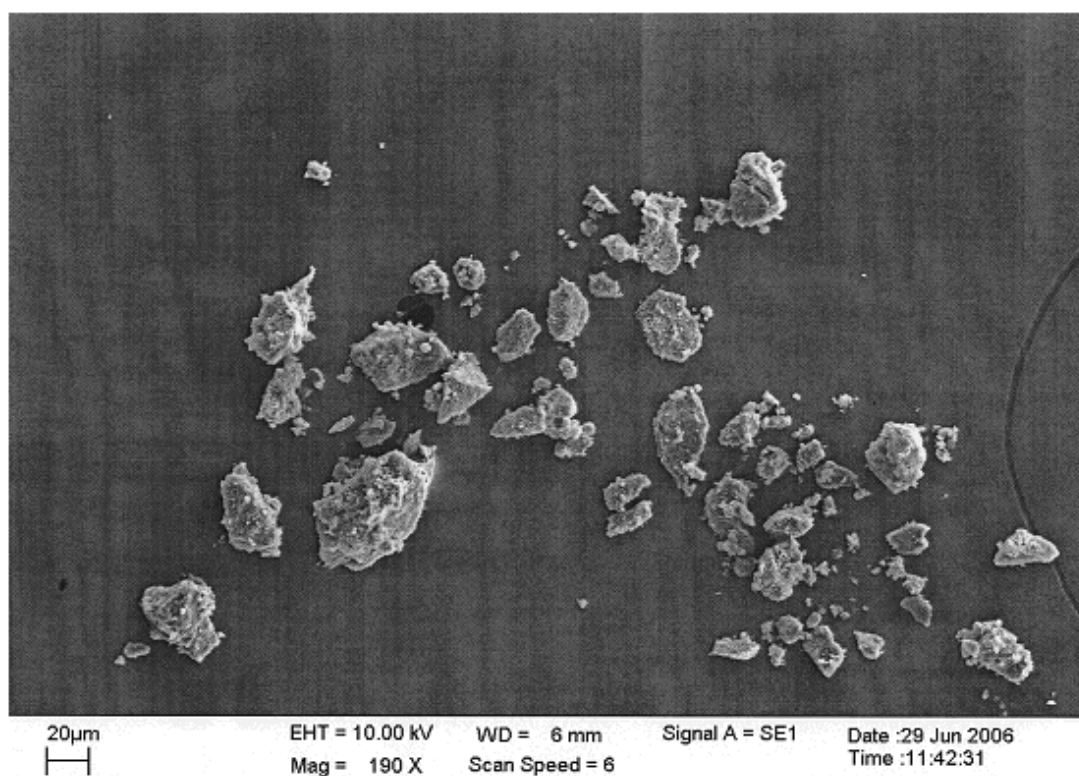
จากการตรวจสอบลักษณะโพรง และอนุภาคของพอลิเมอร์ลอกแบบด้วยเครื่อง SEM แล้วพบว่าได้ผลดังรูปที่ 4.3ก แสดงภาพพื้นผิวของพอลิเมอร์ลอกแบบที่ทำการสกัดเอาตัวต้นแบบ (คาเฟอีน) ออกไป พบว่ามีความเป็นรูพรุน หรือมีโพรงเพิ่มมากขึ้น เปรียบเทียบกับรูปที่ 4.3ข แสดงภาพพื้นผิวของพอลิเมอร์ลอกแบบที่ยังไม่ได้สกัดเอาตัวต้นแบบ (คาเฟอีน) ออกไป ส่วนรูปที่ 4.3ค นั้นแสดงลักษณะรูปร่าง และขนาดโดยทั่วไปของพอลิเมอร์ลอกแบบที่ผ่านการบด และคัดแยกขนาดโดยผ่านที่คัดแยกขนาดอนุภาค 90 ไมโครเมตร พบว่ามีรูปร่างแบบอิสระขนาดแตกต่างกันแต่มีขนาดไม่เกิน 90 ไมโครเมตร



รูปที่ 4.3ก แสดงภาพพื้นผิวของพอลิเมอร์ลอกแบบที่ทำการสกัดเอาตัวต้นแบบ (คาเฟอีน) ออกไป



รูปที่ 4.3ข แสดงภาพพื้นผิวของพอลิเมอร์ลอกแบบที่ยังไม่ได้สกัดเอาตัวต้นแบบ (คาเฟอีน) ออก



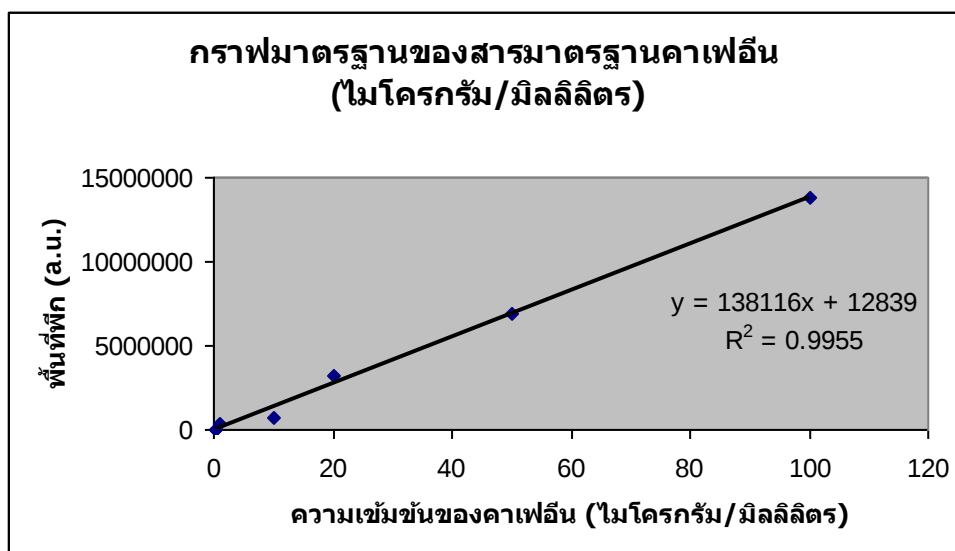
รูปที่ 4.3ค แสดงลักษณะรูปร่าง และขนาดโดยทั่วไปของพอลิเมอร์ลอกแบบที่ผ่านการบด และคัดแยกขนาดโดยผ่านที่คัดแยกขนาดอนุภาค 90 ไมโครเมตร

4.2 ผลการหาค่า reproducibility, %Recovery, ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเชิงเส้น (Linear range), ปริมาตร breakthrough และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r^2)

การหาค่า Response factor ของสารแต่ละชนิดสามารถหาได้จากการสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค จะได้กราฟเป็นเส้นตรง ความชันของกราฟมาตรฐานนี้ คือ Response factor ของสารนั้น ๆ ซึ่งในการทดลองนี้เราทำการพล็อตกราฟมาตรฐานของคาเฟอีนตามข้อมูลในตารางที่ 4.4 ได้กราฟมาตรฐานดังรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงข้อมูลความเข้มข้นของคาเฟอีนกับพื้นที่ใต้พีค

ความเข้มข้นของคาเฟอีน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	พื้นที่พีค (a.u.)
0.25	24757.67
0.50	32710.33
1.0	413588
10	758965.67
20	3264976.33
50	6900965.67
100	13796490



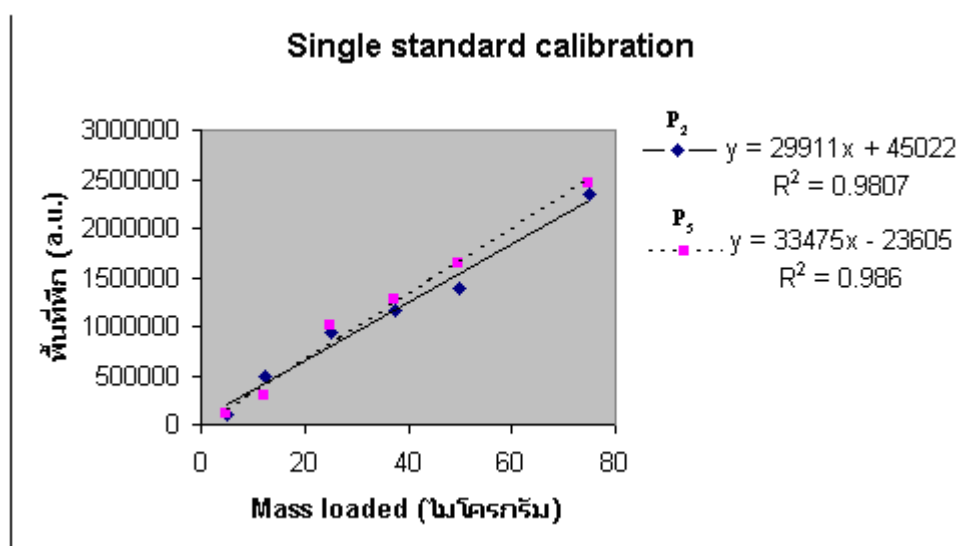
รูปที่ 4.4 แสดงกราฟมาตรฐานของคาเฟอีนโดยทำการพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของคาเฟอีน (ไมโครกรัม / มิลลิลิตร) และพื้นที่ใต้พีค (a.u.)

การหาปริมาตร Breakthrough คือหาปริมาตรที่เหมาะสมที่อนุภาคของพอลิเมอร์ลอคแบบจำนวน 200 ไมโครกรัม จะสามารถแสดงประสิทธิภาพในการจับจำเพาะกับคาเฟอีนได้ดีที่สุด โดยใช้สารมาตรฐานคาเฟอีนเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร ในการ loading ซึ่งจะทำให้การเปลี่ยนแปลงปริมาตรดังนี้ 100, 250, 500, 750, 1000 และ 1500 ไมโครลิตร จะได้ข้อมูลดังตารางที่ 4.5 นำข้อมูลที่ได้มาสร้าง Single standard calibration ดังแสดงในรูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงข้อมูลทั้งหมดจากการสร้าง Single standard calibration

Loading volume (ไมโครลิตร)	Mass loaded (ไมโครกรัม)	พื้นที่ฟีก (a.u.)*		สมการกราฟมาตรฐาน		r^2
		P_2	P_3	P_2	$y = 29911x + 45022$	
100	5.0	93519.33	92837	P_3	$y = 33475x - 23605$	0.986
250	12.5	487630.5	293111			
500	25.0	930862.5	1006214			
750	37.5	1155285	1255300			
1,000	50.0	1392796	1625771			
1,500	75.0	2341891	2447500			

*ค่าเฉลี่ยจากการทำซ้ำ 3 ครั้ง



รูปที่ 4.5 แสดง Single standard calibration ของ P_2 และ P_3 ซึ่งทำการพล็อตระหว่าง Mass loaded (ไมโครกรัม) และพื้นที่ฟีก (a.u.)

จากสมการ Langmuir คือ

$$q = \frac{q_m K_a C}{1 + K_a C} \quad (4.1)$$

$q = q_m$ ก็ต่อเมื่อเป็นพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่ใช้เป็นชั้นเดียว (Monolayer) และ K_a เป็นค่าคงที่

ดังนั้นจากสมการที่ (4.1) จะได้

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{K_a q_m C} \quad (4.2)$$

จากสมการที่ 4.2 เมื่อทำการพล็อตกราฟระหว่าง $\frac{1}{q}$ และ $\frac{1}{C}$ จะได้กราฟเป็นเส้นตรง ได้ค่าจุดตัดแกน Y คือ $\frac{1}{q_m}$ และได้ค่าความชัน คือ $\frac{1}{K_a q_m}$ [32]

Langmuir Isotherm เป็น Isotherm ที่นิยมใช้สำหรับอธิบายสมดุลในการดูดซับ โดยใน Langmuir Isotherm นี้เราจะตั้งสมมติฐานว่าตัวดูดซับ (adsorbent) มีพื้นผิวที่จะให้เกิดการดูดซับได้จำกัด (เช่นอาจเกิดการดูดซับได้เพียงชั้นเดียวเท่านั้น) โดยถ้าพื้นผิวนี้เต็มแล้วอัตราการดูดซับจะเท่ากับอัตราการปล่อยสารที่ถูกดูดซับออกจากพื้นผิวและยังสมมติว่าการดูดซับเป็นกระบวนการที่ผันกลับได้ (ไม่คิดถึงพลังงานที่ใช้) โดยสมการที่ใช้อธิบาย Langmuir Isotherm คือ

$$\frac{X}{M} = \frac{abC_e}{(1 + aC_e)} \quad (4.3)$$

โดยที่ a เป็นค่าคงที่ ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดของโมเลกุลใหญ่ขึ้น

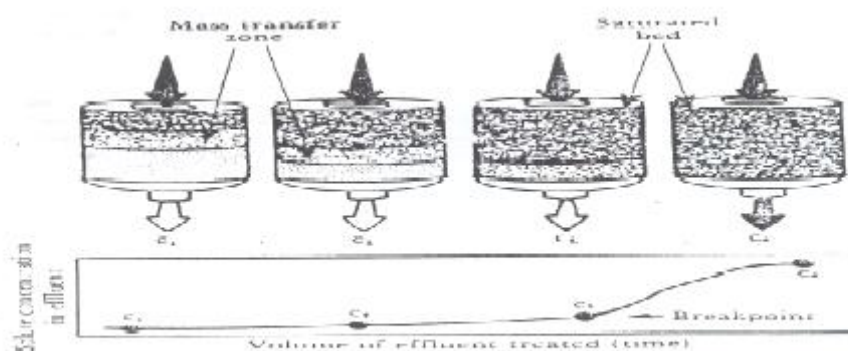
b เป็นค่าคงที่ที่เท่ากับปริมาณสารที่ถูกจับยึดแบบชั้นเดียวนบนพื้นผิวทั้งหมด

ในกรณีที่มีการดูดซับสาร 2 ชนิด สมการการดูดซับของ Langmuir สามารถเขียนได้ดังต่อไปนี้

$$\frac{X_A}{M} = \frac{a_A b_A C_A}{(1 + a_A C_A + a_B C_B)} \quad (4.4)$$

$$\frac{X_B}{M} = \frac{a_B b_B C_B}{(1 + a_A C_A + a_B C_B)} \quad (4.5)$$

ในการสกัดสารของ SPE cartridge นั้นเราทำการทดลองโดยการ loading สารละลายมาตรฐาน คาเฟอีนเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เข้าไปที่ปริมาตรต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 100-1,500 ไมโครลิตร และถ้าเราสามารถวัดความเข้มข้นที่จุดต่าง ๆ ภายใน cartridge ได้เราจะได้กราฟ ความเข้มข้นของสารที่ลดลงเรื่อย ๆ จากความเข้มข้นเท่าตอนแรก จนกระทั่งออกเป็นความเข้มข้นเป็นศูนย์ โดยกราฟนี้จะค่อย ๆ เคลื่อนที่ไปเรื่อย ๆ จากปลายด้านหนึ่งของ SPE cartridge ด้านขาเข้าไปยังปลายขาออก เพราะพอลิเมอร์ล็อกแบบโมเลกุลช่วงแรก ๆ จะถูกใช้งานก่อน ทำให้พื้นผิวเต็มก่อน และเมื่อพื้นผิวเต็มก็จะไม่สามารถดูดซับอีกได้ ดังนั้นความเข้มข้นของสารที่เราสนใจจึงไม่ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4.6 ซึ่งเราเรียกส่วนที่เกิดการดูดซับนี้ว่า Mass Transfer Zone (MTZ) และเมื่อ MTZ เคลื่อนที่ไปจนถึงปลายขาออก เราจะพบว่ามีการดูดซับส่วนหนึ่งแล้วหลุดออกมา เราเรียกจุดที่มีสารที่เราต้องการดูดซับเริ่มเจือปนออกมานี้ว่าจุด breakthrough ซึ่งเป็นจุดที่ SPE cartridge ไม่สามารถทำงานได้ 100% อีกต่อไป [33]



รูปที่ 4.6 แสดงเส้นโค้งการถ่ายเทมวลในระหว่างการดูดซับ (Breakthrough curve) [34]

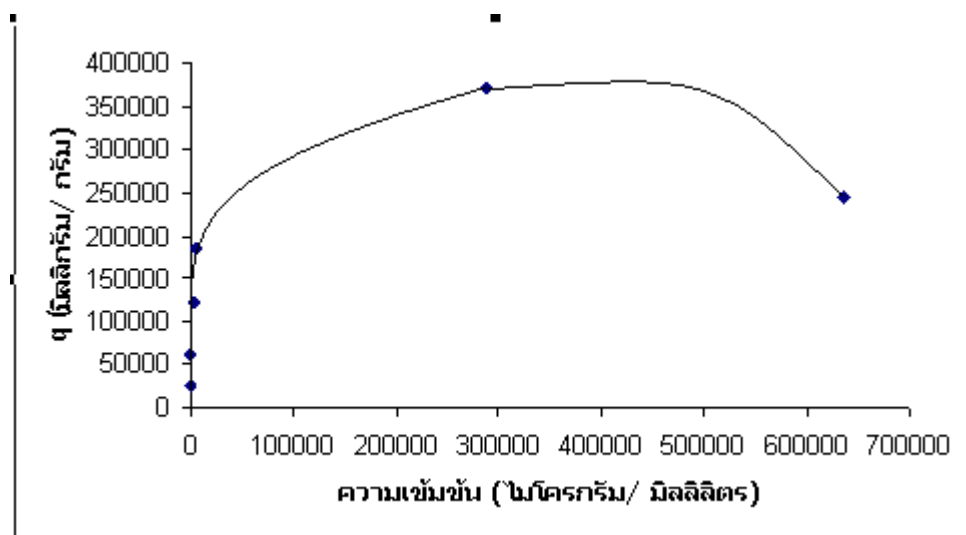
ตารางที่ 4.6 แสดงข้อมูลที่ได้จากการทดลอง และนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของคาเฟอีนที่ถูกชะออกมาจาก SPE cartridge และนำมาพล็อตกราฟหาปริมาตรที่เหมาะสมในการ loading

Loading volume (ไมโครลิตร)	Mass loaded (มิลลิกรัม)	q (มิลลิกรัม/ กรัม)		ความเข้มข้นของคาเฟอีน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)*	
		P ₂ 0.20324 กรัม	P ₃ 0.20175 กรัม	P ₂	P ₃
100	5.0 x 10 ³	24.6 x 10 ³	24.8 x 10 ³	0	0
250	12.5 x 10 ³	61.5 x 10 ³	61.9 x 10 ³	852.67	952.333
500	25.0 x 10 ³	123 x 10 ³	123.9 x 10 ³	3213.67	9222

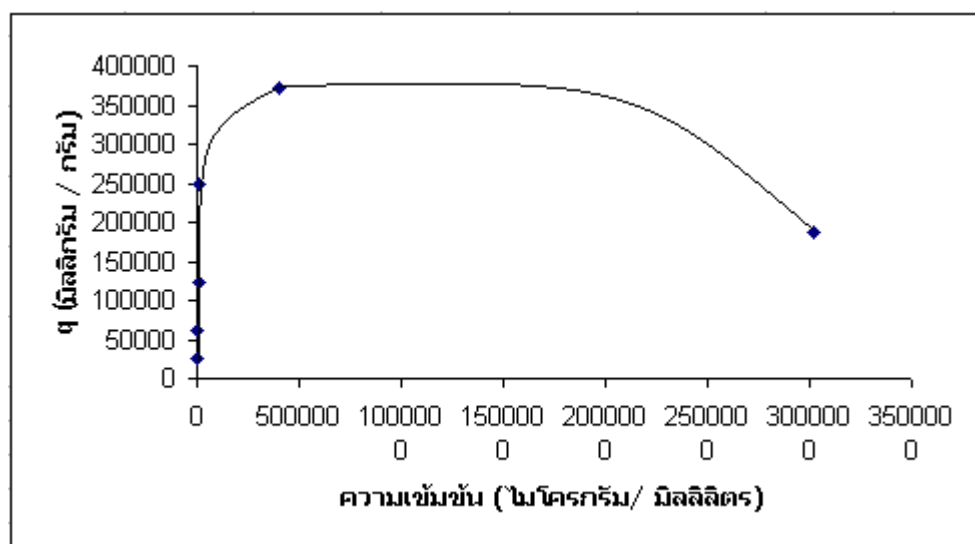
ตารางที่ 4.6(ต่อ)

750	37.5×10^3	184.5×10^3	185.9×10^3	5546.67	3018357.33
1,000	50.0×10^3	246×10^3	247.8×10^3	635847.67	9273
1,500	75.0×10^3	369×10^3	371.7×10^3	287218	399046

* ค่าเฉลี่ยจากการทำซ้ำ 3 ครั้ง

รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง q (อัตราส่วนของปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ (มิลลิกรัม)

ต่อปริมาณของพอลิเมอร์ลอกแบบชนิด P_2 จำนวน 0.20324 กรัม) ที่บรรจุใน SPE cartridge กับ ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)

รูปที่ 4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง q (อัตราส่วนของปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ (มิลลิกรัม)

ต่อ ปริมาณของพอลิเมอร์ลอกแบบชนิด P_3 จำนวน 0.201754 กรัม) ที่บรรจุใน SPE cartridge กับ ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)

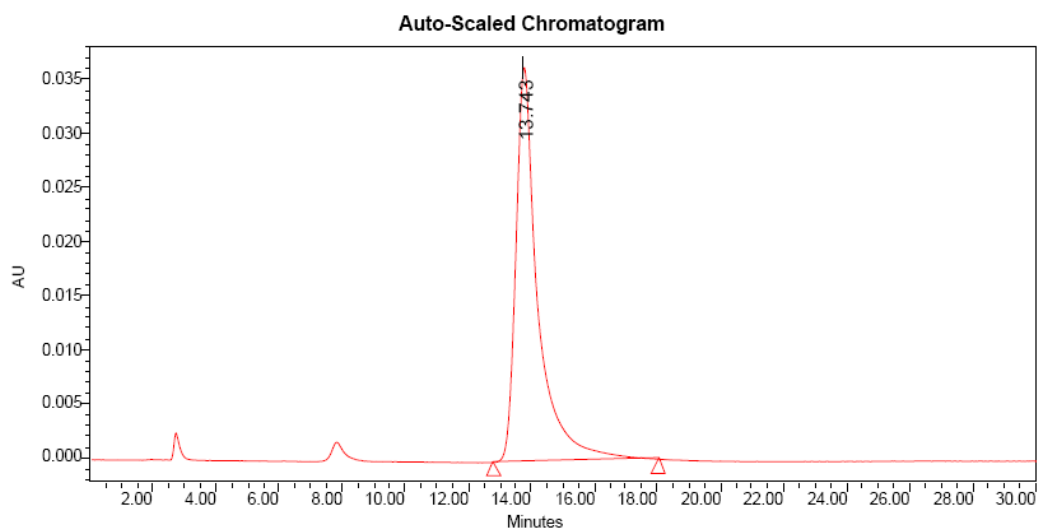
รูปที่ 4.7 แสดงการหาปริมาณในการ loading ที่เหมาะสมของคาเฟอีนที่ได้จากการ loading ที่ปริมาณที่แตกต่างกันใน SPE cartridge โดยมีพอลิเมอร์ลอกแบบบรรจุอยู่จำนวน 200 มิลลิกรัม จากรูปที่ 4.7 และ 4.8 แสดงให้เห็นว่าที่ปริมาณ 1,000 ไมโครลิตร พอลิเมอร์ลอกแบบชนิด P_2 และ P_3 สามารถแสดงประสิทธิภาพในการดูดซับคาเฟอีนได้ดีที่สุด

ตารางที่ 4.7 แสดงค่า % Recovery ของคาเฟอีน (50 ไมโครกรัม / มิลลิตร) ของพอลิเมอร์ลอกแบบทั้ง 4 ชนิด ซึ่งผลการทดลองได้มาจากการทำซ้ำ 3 ครั้ง

Fractions	%Recovery			
	P	P_1	P_2	P_3
Load caffeine (50 ไมโครกรัม/ มิลลิตร)	0.20	0.0	0.0	0.0
Load buffer (0.05 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4\text{-NH}_3(\text{aq})$, pH 9)	8.16	1.10	0.1	0.15
1st washing (0.05 M $\text{CH}_3\text{COONH}_4\text{-NH}_3(\text{aq})$, pH 9)	7.58	1.63	0.2	0.45
1st elution (ACN-TEA 1 %)	11.20	80.6	90.31	89.65
2nd elution (ACN- CH_3COOH 1%)	60.5	16.1	9.35	20.30
Total	87.64	99.43	99.96	113.55

จะเห็นว่า P_3 มี % Recovery มากกว่า 100% เนื่องจากการเตรียมพอลิเมอร์ลอกแบบนั้นในการสกัดสกัดคาเฟอีนซึ่งเป็นตัวต้นแบบออกมาไม่หมดนั่นเอง

จากรูปที่ 4.9 นี้แสดงให้เห็นถึงความจำเพาะของพอลิเมอร์ลอกแบบชนิด P_2 ที่มีความจำเพาะต่อคาเฟอีน



รูปที่ 4.9 แสดงการสัักของพอลิเมอร์ชนิด P_2 ที่สัักสารผสมของคาเฟอีน ซีไอโบรมีน และซีไอฟูลีน ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร