



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ continuous flow analysis แบบใหม่
โดยการรวม segmented flow analysis กับ flow injection analysis

โดย นาย ยุทธพงษ์ อุดแน่น

30 สิงหาคม 2549

สัญญาเลขที่ MRG4780107

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

**การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ continuous flow analysis แบบใหม่
โดยการรวม segmented flow analysis กับ flow injection analysis**

คณะผู้วิจัย

1. นาย ยุทธพงษ์ อุดแน่น
2. ศ. ดร. เกตุ กรุดพันธ์

สังกัด

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยนเรศวร
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ประกอบด้วย 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เกี่ยวข้องกับการพัฒนาระบบการไหลอย่างต่อเนื่องสำหรับการหาอัตราส่วนโมลและการทำโฟโตเมตริกไทเทรชัน โดยระบบที่ใช้ประกอบด้วยปั๊ม ภาชนะสำหรับทำปฏิกิริยาขนาดเล็ก เครื่องคนสารละลาย แท่งแม่เหล็กคนสารขนาดเล็ก โพลีเซลล์ และเครื่องตรวจวัด ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นภายในภาชนะสำหรับทำปฏิกิริยา การเติมรีเอเจนต์สำหรับทำปฏิกิริยาจะเติมผ่านไมโครปิเปตที่มีความถูกต้องและความแม่นยำสูงอย่างต่อเนื่อง ค่าการดูดกลืนแสงจะคงที่เมื่อสารละลายผสมเกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ ได้นำระบบที่พัฒนาขึ้นไปทดลองใช้หาอัตราส่วนโมลของสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กกับลิแกนด์บางชนิดที่พีเอชต่าง และการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันของเหล็กกับอีดีทีเอ พบว่าได้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำสูง โดยปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการทดลองจะน้อยกว่าที่ใช้ในระบบแบบ และให้จำนวนจุดของข้อมูลได้มากกว่า

ในส่วนที่ 2 ได้ทำการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์โดยอาศัยการไหลแบบใหม่ (เช็กแมนเตดโพลีอินเจคชันอะนาไลซิส, เอสเอฟไอเอ) โดยการรวม 2 เทคนิคระหว่างเช็กแมนเตดอะนาไลซิส กับโพลีอินเจคชันอะนาไลซิส ซึ่งมีการเติมอากาศเข้าไปในกระแสน้ำของเหลวบริเวณที่มีการเกิดปฏิกิริยาจากปั๊มหรือโซลินอยด์วาล์วที่ควบคุมการปิดเปิดจากโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ฟองอากาศที่เติมลงไปจะถูกกำจัดออกก่อนที่ส่วนของปฏิกิริยาจะผ่านไปยังโพลีเซลล์ของเครื่องตรวจวัดที่ผลิตขึ้นเองภายในห้องแลป ไฟเบอร์ออปติกทำหน้าที่นำแสงจากแหล่งกำเนิดแสงยังโพลีเซลล์และจากโพลีเซลล์ไปยังเซนเซอร์ หลอดแอลอีดีถูกนำมาใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงและแอลดีอาร์ใช้เป็นเซนเซอร์สำหรับการตรวจวัดแสง โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่เขียนจากวิซวลเบสิกจะทำหน้าที่สำหรับการเติมอากาศ และเก็บข้อมูลจากเครื่องตรวจวัดได้นำระบบที่พัฒนาขึ้นไปทดลองใช้กับปฏิกิริยาแบบ 1 สาย (ไอรีออน(III) กับ ซาลิไซเลต) และแบบ 2 สาย (ฟอสเฟต-โมลิบดีนัมบลู และไอรีออน(II) กับ 1,10-ฟีแนนโทรีน) และได้ทำการทดสอบการทำงานของระบบดังกล่าว

Abstract

This work consists of 2 parts. The first part involved a development of a small scale continuous flow system for mole ratio determination and photometric titration. The system consisted of a peristaltic pump, a small reaction vessel, magnetic stirrer with a small magnetic bar, flow cell and detector. A continuous reaction was performed in the reaction vessel. The reagent was added continuously by using a micro pipette. The system was applied for the study on mole ratios of iron complexes in various pH media solution and also for photometric titration between iron(III) and EDTA. It was found that the system could provide high accuracy and precision results. The total volume used in one experiment was less than that of the batch system whereas the more data points were obtained.

In the second part, a novel continuous flow analysis technique, segmented flow injection analysis (SFIA), by combining segmentation with flow injection analysis was developed. Air segments were added via a peristaltic pump and/or a solenoid valve into a liquid stream of a reaction zone and were removed from the reaction zone before detection. A local made detector and flow cell were used. Flow-cell with fiber optics was assembled. Light emitting diodes (LED) were used as a light source and light dependent resistor (LDR) was used as a transducer. A computer program written in Visual basic was used for controlling the air segment filling system and collecting data from the detector. The developed system was applied for single and double line reactions of Fe(III)-salicylate, phosphate-molybdenum blue and Fe(II)-1,10-phenanthroline. The system was tested for its performance.

Executive Summary

งานวิจัยนี้แบ่งเป็น 2 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 การพัฒนาระบบการไหลอย่างต่อเนื่องสำหรับการหาอัตราส่วนโมลและการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันงานที่ทำประกอบด้วย

- การศึกษาผลของ pH ที่มีต่ออัตราส่วนจำนวน โมลในสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก
- การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ($\lambda_{\max}$)
- การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อค่าโมลาร์แอบซอร์ปติวิตีของสารประกอบเชิงซ้อนไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต
- การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อ mole ratio ในสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต
- การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อ mole ratio ในสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(II)-1,10-ฟีแนนโทรีน
- การหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)กับลิแกนด์ชนิดต่างๆ
- การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันเพื่อหาปริมาณไอร์ออน(III) โดยใช้ระบบการไหลของสารแบบต่อเนื่อง
 - * การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีตรง
 - * การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีอ้อมโดยใช้โซเดียมซาลิไซเลตเป็น Color developing agent
 - * การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีอ้อมโดยใช้โรโอโซยานเนตเป็น Color developing agent

ตอนที่ 2 พัฒนาระบบการวิเคราะห์แบบ continuous flow analysis โดยการรวม segmented flow analysis กับ flow injection analysis เข้าด้วยกัน งานที่ทำประกอบด้วย

1. ออกแบบและสร้างอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัด (Detector) ในระบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส พร้อมทั้งระบบแสดงผล ซึ่งเป็นโปรแกรมที่สามารถเก็บข้อมูล และประมวลผลได้

2.1 การตรวจสอบการทำงานของ Detector

2.2 การศึกษาเสถียรภาพของสัญญาณ

2.3 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด (linearity range)

2. ออกแบบและทำอุปกรณ์สำหรับแยกฟองอากาศ (Bubble separator) ออกจากสารละลายเพื่อนำมาใช้ในระบบ continuous flow analysis แบบใหม่

3. พัฒนาระบบการวิเคราะห์แบบ continuous flow analysis โดยการรวม segmented flow analysis กับ flow injection analysis เข้าด้วยกัน โดยมีการใส่ segment ของอากาศเข้าไปเพื่อทำให้ Dispersion ที่เกิดขึ้นมีน้อยกว่าในระบบ FIA

4. นำระบบที่พัฒนาขึ้นไปใช้กับปฏิกิริยาต่างๆ

4.1 การศึกษาปฏิกิริยาที่จะนำมาใช้กับระบบ SFIA

4.1.1 ปฏิกิริยาระหว่างไอร์ออน(III) กับ salicylate

4.1.2 ปฏิกิริยาของการเกิดโมลิบดินัมบลู

- การศึกษาผลของขนาด sample loop
- การศึกษาผลของความยาว mixing coil
- เปรียบเทียบ sensitivity ระหว่างระบบ SFIA กับ FIA

4.1.3 ปฏิกิริยาของไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline

- การศึกษาผลของขนาด sample loop
- การศึกษาผลของความยาว mixing coil
- เปรียบเทียบ sensitivity ระหว่างระบบ SFIA กับ FIA

เนื้อหางานวิจัย

Part I

Mole ratio determination and photometric titration with a small scale continuous flow system

บทที่ 1

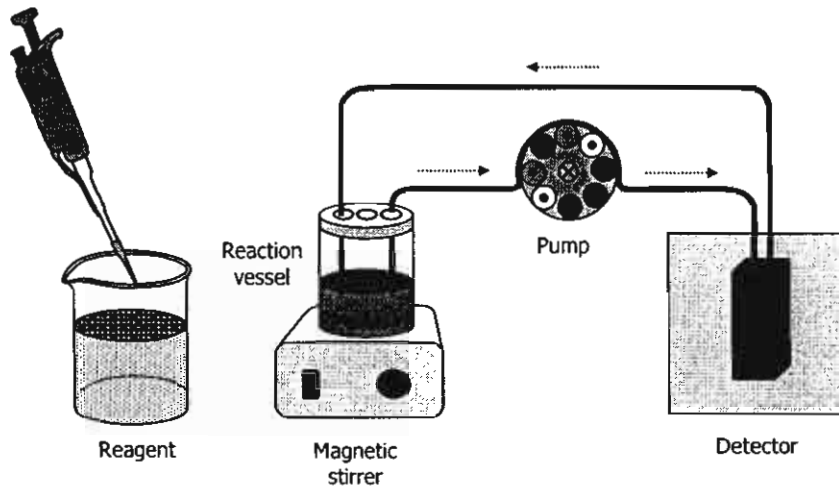
บทนำ

ใน part นี้จะเป็นการศึกษาถึง parameter บางชนิดที่มีผลต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก กับลิแกนด์ชนิดต่างๆ ประกอบด้วยหัวข้อของการทดลองดังนี้

- 1) การออกแบบระบบ continuous flow แบบ small scale
- 2) การศึกษาถึงอิทธิพลของ pH ที่มีต่ออัตราส่วนจำนวนโมลในสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก
- 3) การทำโฟโตเมตริกไทเทรชัน

1.1 การออกแบบระบบ continuous flow แบบ small scale

ได้ออกแบบระบบ continuous flow แบบ small scale สำหรับนำมาใช้สำหรับหา อัตราส่วนจำนวนโมลของไอออนโลหะกับลิแกนด์ในสารประกอบเชิงซ้อน และการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยในการทดลองจะใช้สารละลายทั้งหมดไม่เกิน 10 มิลลิลิตร ดังแสดงในรูป



รูปที่ 1.1 ระบบ continuous flow แบบ small scale

ระบบที่ออกแบบจะเป็นระบบปิดโดยที่สารละลายจะถูกดูดให้ไหลเวียนไปมาระหว่าง Reaction vessel กับ ดีเทคเตอร์ผ่าน peristaltic pump การเติมสารละลายที่ใช้การทำให้เกิดปฏิกิริยาจะทำการเติมจาก micropipette จนเสร็จสิ้นการทดลอง

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือ

1. UV-Vis spectrophotometer, Perkin Elmer, Lambda 20, Germany
2. UV-Vis spectrophotometer, UNICAM 8625, England
3. pH meter, Orion, Model 520A, U.S.A.
4. Magnetic stirrer, Model ST-250, U.S.A.
5. Peristaltic pump, Master flex, Model 77120-62, U.S.A.

2.2 สารเคมี

1. Ammonium ferrous sulfate hexahydrate: $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, A.R. grade, BDH, Germany
2. Ammonium ferric sulfate dodecahydrate: $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, A.R. grade, BDH, Germany
3. Sodium salicylate: $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COONa}$, A.R grade, Merck, Germany
4. Sodium hydroxide: NaOH , A.R. grade, Merck, Germany
5. Sulfuric acid: H_2SO_4 , A.R. grade, BDH
6. 1, 10–Phenanthroline: $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, A.R. grade, Fisher scientific
7. Diaminoethanetetra – acetic acid disodium salt, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, A.R. grade, Merck, Germany
8. Potassium thiocyanate: KSCN , A.R. grade, Merck, Germany

2.3 การเตรียมสารละลาย

2.3.1 สารละลาย 0.01 M ไอร์ออน(III)

ละลาย 0.4821 g ของแอมโมเนียมเฟอร์ริกซัลเฟตด้วยน้ำปราศจากไอออนใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.2 สารละลาย 0.001 M ไอร์ออน(III)

เจือจางจากสารละลาย 0.01 M ของไอร์ออน(III)

2.3.3 สารละลาย 0.001 M ไอร์ออน(II)

ละลาย 0.0392 g ของแอมโมเนียมเฟอร์รัสซัลเฟตด้วยน้ำปราศจากไอออนใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.4 สารละลาย 0.01 M กรดซาลิไซลิก

ละลาย 0.1381 g ของกรดซาลิไซลิกด้วยน้ำปราศจากไอออนใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.5 สารละลาย 0.001 M กรดซาลิไซลิก

เจือจางจากสารละลาย 0.01 M ของกรดซาลิไซลิก โดยปิเปตมา 10 mL ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.6 สารละลาย 0.003 M 1, 10-พีนานโทรีน

ละลาย 0.1487 g ของ 1,10-พีนานโทรีนด้วยน้ำปราศจากไอออน ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 250 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.7 สารละลาย 0.01 M EDTA

ละลาย 0.3722 g ของ EDTA ด้วยน้ำปราศจากไอออนใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.8 สารละลาย 0.001 M EDTA

เจือจางจาก 0.01 M ของ EDTA โดยปิเปตมา 10 mL ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.4 วิธีการทดลอง

2.4.1 การศึกษาผลของ pH ที่มีต่ออัตราส่วนจำนวน โมลในสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก

2.4.1.1 การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max})

เตรียมอนุกรมของสารละลายไอร์ออน(III) โดยปิเปตสารละลาย 0.01 M ของไอร์ออน(III) ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 50 mL จำนวน 8 ใบๆ ละ 0.5 mL ตามด้วยสารละลาย 0.01 M ของกรดซาลิไซลิกลงในขวดแต่ละใบๆ ละ 9.50 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ นำสารละลายทั้งหมดไปวัดสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.4.1.2 การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อค่าโมลาร์แอบซอร์ปติวิตีของสารประกอบเชิงซ้อนไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต

เตรียมอนุกรมของสารละลายผสมระหว่างไอร์ออน(III) กับซาลิไซเลต โดยให้ไอร์ออน(III) เข้มข้น 2.0×10^{-5} 4.0×10^{-5} 6.0×10^{-5} 8.0×10^{-5} และ 1.0×10^{-4} M ตามลำดับ และความเข้มข้นของซาลิไซเลตเท่ากับ 1×10^{-3} M ปรับปริมาตรด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มี pH ที่ต้องการ นำสารละลายทั้งหมดไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยตั้งความยาวคลื่นให้เท่ากับ λ_{max} ของแต่ละ pH

2.4.1.3 การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อ mole ratio ในสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต

โดยปิเปตสารละลาย 0.01 M ของไอร์ออน(III) 0.50 ml ใส่ลงใน reaction vessel ตามด้วย 0.10 M อะซิเตตบัฟเฟอร์ (pH ที่ต้องการศึกษาโดยเริ่มที่ pH 1.5) 9.50 ml ปิดบีมให้สารละลายไหลเข้าสู่ดีเทคเตอร์โดยตั้งความยาวคลื่นให้เท่ากับ λ_{max} ของแต่ละ pH พร้อมทั้งเปิดเครื่องคนสารละลายตลอดการทดลอง เมื่อค่าการดูดกลืนแสงคงที่ให้กดปุ่ม set zero เติมน้ำ 0.01 M ซาลิไซเลตลงไปผสมกับสารละลายใน reaction vessel 0.1 ml ด้วยไมโครปิเปต รอจนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ เติมน้ำกรดซาลิไซลิกลงในสารละลายเดิมอีกจนครบ 20 ครั้ง พร้อมทั้งบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ ทำการทดลองใหม่โดยเปลี่ยน pH ของสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์เป็น 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ

2.4.1.4 การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อ mole ratio ในสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(II)-1,10-พีนานโทรีน

ปิเปตสารละลาย 0.001 M ของไอร์ออน(II) มา 0.50 ml ใส่ลงใน reaction vessel ตามด้วย 0.10 M อะซิเตตบัฟเฟอร์ (pH ที่ต้องการศึกษาโดยเริ่มที่ pH 1.5) 9.50 ml ปิดบีมให้สารละลายไหลเข้าสู่ดีเทคเตอร์โดยตั้งความยาวคลื่นไว้ที่ 510 nm พร้อมทั้งเปิดเครื่องคนสารละลาย ตลอดการทดลองเมื่อค่าการดูดกลืนแสงคงที่ให้กดปุ่ม set zero เติมน้ำสารละลาย 0.003 M 1,10-พีนานโทรีน ลงไปผสมกับสารละลายใน reaction vessel 0.10 ml ด้วยไมโครปิเปต รอจนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ เติมน้ำ 0.003 M 1,10-พีนานโทรีน ลงไปใน

สารละลายเดิมอีกจนครบ 20 ครั้ง พร้อมทั้งบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ ทำการทดลองใหม่โดยเปลี่ยน pH ของสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์เป็น 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 และ 5.0 ตามลำดับ

2.4.2 การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันเพื่อหาปริมาณไอโอรอน(III) โดยใช้ระบบการไหลของสารแบบต่อเนื่อง

2.4.2.1 การหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารประกอบเชิงซ้อนของไอโอรอน(III)กับลิแกนด์ชนิดต่าง ๆ

ปิเปตสารละลาย 0.001 M ของไอโอรอน(III) มา 0.50 mL ใส่ลงในขวดปริมาตร 3 ใบ ตามด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ปริมาตร 9.50 mL และสารละลาย 0.001 M ลิแกนด์ชนิดต่าง ๆ อย่างละ 5 mL ใส่ลงในขวดแต่ละใบ นำสารละลายทั้งหมดไปวัดสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.4.2.2 การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีตรง

ปิเปตสารละลาย 0.001 M ของไอโอรอน(III) มา 0.50 ml ใส่ลงใน reaction vessel ตามด้วย น้ำกลั่น 9.50 ml (ใช้ 0.10 M อะซิเตตบัฟเฟอร์ pH ที่ต้องการศึกษาแทนเมื่อต้องการควบคุม pH) ปิดปั๊มให้สารละลายไหลเข้าสู่ดีเทคเตอร์โดยตั้งความยาวคลื่นไว้ที่ 260 nm พร้อมทั้งเปิดเครื่องคนสารละลาย ตลอดการทดลองเมื่อค่าการดูดกลืนแสงคงที่ให้กดปุ่ม set zero เติมสารละลาย 0.001 M EDTA ลงไปผสมกับสารละลายใน reaction vessel ครั้งละ 0.10 ml ด้วยไมโครปิเปต ประมาณ 20 ครั้ง พร้อมทั้งอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ ทำการทดลองใหม่โดยเปลี่ยนจากน้ำกลั่นเป็นสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 3.0 4.0 และ 5.0 ตามลำดับ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปแก้ไขปริมาตรก่อนนำไป plot เทียบกับปริมาตรของ EDTA

2.4.2.3 การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีอ้อมโดยใช้โซเดียมซาลิไซเลตเป็น Color developing agent

ปิเปตสารละลาย 0.001 M ของไอโอรอน(III) มา 0.50 ml ใส่ลงใน reaction vessel ตามด้วย 0.01 M ของโซเดียมซาลิไซเลต 1.00 ml และน้ำกลั่น 8.50 ml (ใช้ 0.10 M อะซิเตตบัฟเฟอร์ pH ที่ต้องการศึกษาแทนเมื่อต้องการควบคุม pH) ปิดปั๊มให้สารละลายไหลเข้าสู่ดีเทคเตอร์โดยตั้งความยาวคลื่นไว้ที่ 520 nm พร้อมทั้งเปิดเครื่องคนสารละลาย ตลอดการทดลองเมื่อค่าการดูดกลืนแสงคงที่ให้กดปุ่ม set zero เติมสารละลาย 0.001 M EDTA ลงไปผสมกับสารละลายใน reaction vessel ครั้งละ 0.10 ml ด้วยไมโครปิเปต ประมาณ 20 ครั้ง พร้อมทั้งอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ ทำการทดลองใหม่โดยเปลี่ยนจากน้ำกลั่นเป็นสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 3.0 4.0 และ 5.0 ตามลำดับ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปแก้ไขปริมาตรก่อนนำไป plot เทียบกับปริมาตรของ EDTA

2.4.2.4 การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีอ้อมโดยใช้โรโอไฮยานเนตเป็น Color developing agent

ทำการทดลองคล้าย 2.4.2.3 แต่เปลี่ยนจาก 0.01 M ของโซเดียมซาลิไซเลต เป็น 0.01 M แทสเซียมโรโอไฮยานเนต

บทที่ 3

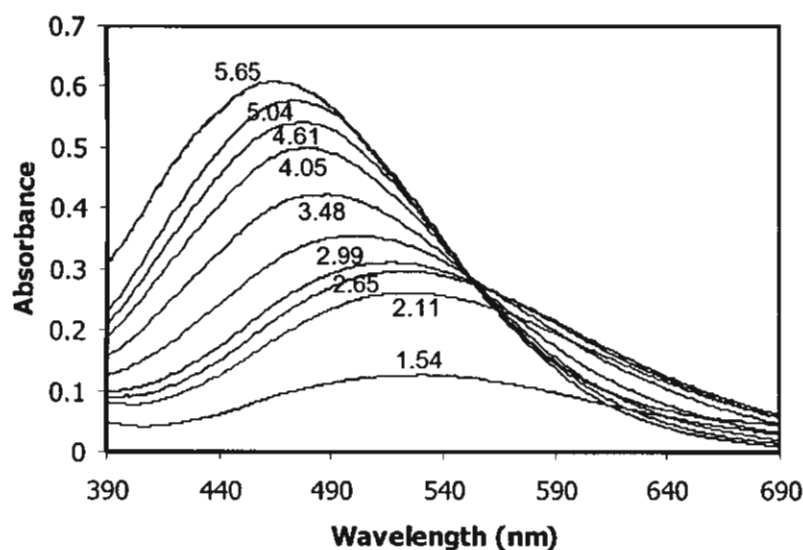
ผลการทดลอง

3.1 ผลของ pH ที่มีต่ออัตราส่วนจำนวน โมลในสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก

ในการทดลองนี้ได้เลือกศึกษาสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กกับลิแกนด์ 2 ชนิด ได้แก่ Salicylic acid ซึ่งเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีม่วงกับไอร์ออน(III) และ 1,10-phenanthroline ซึ่งเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มกับไอร์ออน(II)

3.1.1 ผลของ pH ที่มีต่อค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ($\lambda_{\max}$)

ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของ pH ที่มีต่อค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด($\lambda_{\max}$) ของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III) กับกรดซาลิไซลิก ได้ผลดังรูปที่ 3.1 และตาราง 3.1



รูปที่ 3.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลตที่ pH ต่างๆ

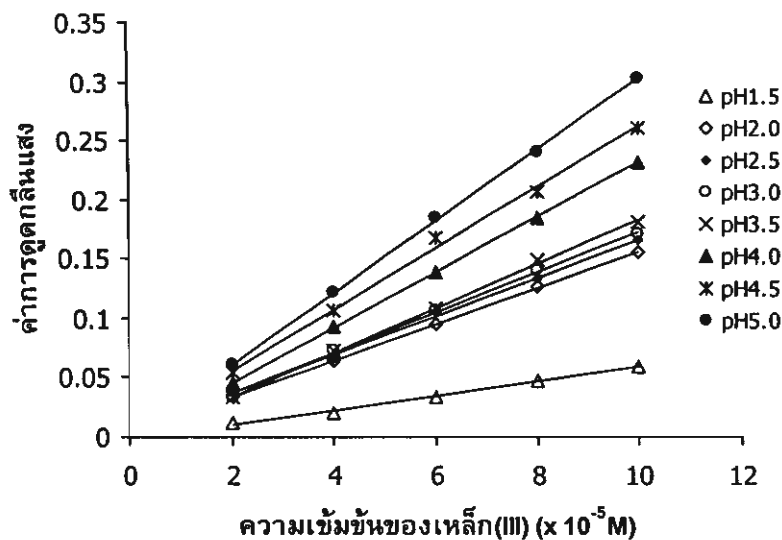
ตาราง 3.1 ความยาวคลื่นสูงสุดในการดูดกลืนแสงของของสารประกอบเชิงซ้อนไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลตที่ pH ต่างๆ

pH	$\lambda_{\max}$	pH	$\lambda_{\max}$
1.54	529.80	4.05	488.09
2.11	523.83	4.61	481.05
2.65	520.49	5.04	479.73
2.99	517.30	5.65	475.92
3.48	501.93		

จากการศึกษาอิทธิพลของ pH ที่มีต่อค่าความยาวคลื่นสูงสุดในการดูดกลืนแสง พบว่าเมื่อ pH เพิ่มขึ้น ความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสงจะลดลง

3.1.2 ผลของ pH ที่มีต่อค่าโมลาร์แอบซอร์ปติวิตีของสารประกอบเชิงซ้อนไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต

ได้ศึกษาผลของ pH ที่มีต่อค่าโมลาร์แอบซอร์ปติวิตีของสารประกอบเชิงซ้อนไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต ในช่วง pH 1.5-5.0 ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลตกับค่าการดูดกลืนแสงที่ pH ต่างๆ

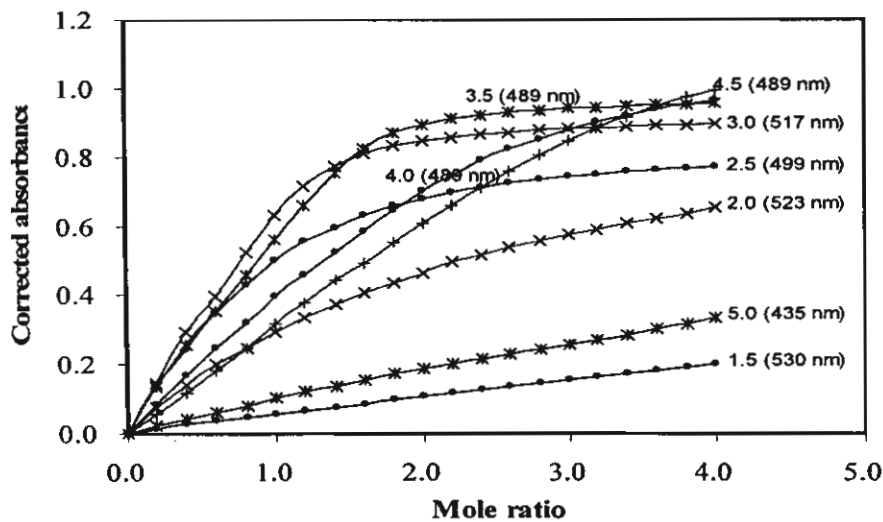
จากกราฟความสัมพันธ์ที่ได้แต่ละเส้นเมื่อนำมาหาความชัน (slope) จะทำให้ได้โมลาร์แอบซอร์ปติวิตีของแต่ละ pH ดังตาราง 3.2 ซึ่งพบว่าเมื่อ pH ของละลายเพิ่มขึ้น ค่าโมลาร์แอบซอร์ปติวิตีจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากเมื่อ pH สูงขึ้น กรดซาลิไซลิกสามารถแตกตัวได้มากขึ้นทำให้โอกาสในการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนแบบ 1:2 เป็น 1:3 มีมากขึ้น ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อน 2 แบบหลังน่าจะมีค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงมากกว่าแบบ 1:1

ตาราง 3.2 โมลาร์แอบซอร์ปติวิตีของสารเชิงซ้อนไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต ที่ pH ต่าง ๆ

pH	โมลาร์แอบซอร์ปติวิตี	pH	โมลาร์แอบซอร์ปติวิตี
1.5	615	3.5	1850
2.0	1535	4.0	2315
2.5	1625	4.5	2575
3.0	1700	5.0	3005

3.1.3) ผลของ pH ที่มีต่อ mole ratio ในสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต

ได้ทำการศึกษาค้นหาผลของ pH ที่มีต่ออัตราส่วนจำนวนโมลของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต โดยใช้ระบบการไหลของสารแบบต่อเนื่อง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 3.3

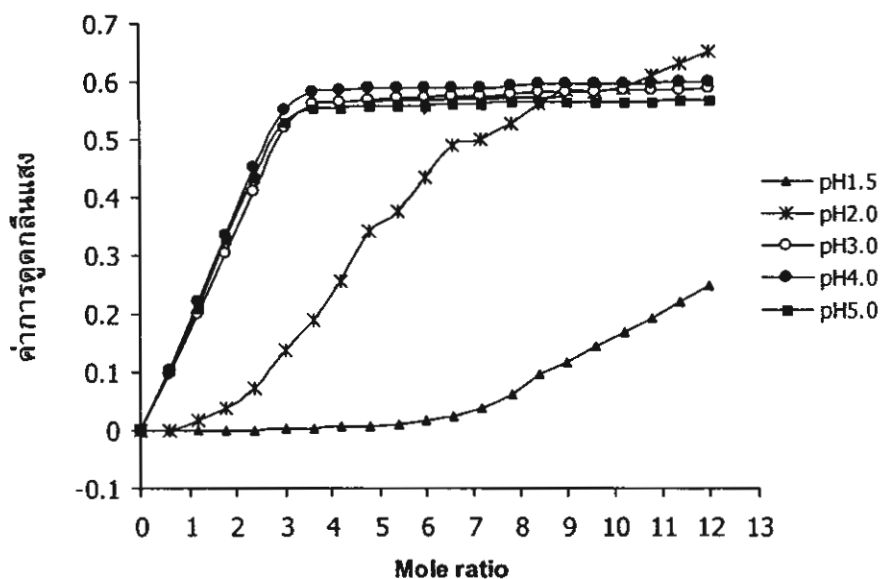


รูป 3.3 อัตราส่วนจำนวนโมลของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต ที่ pH ต่าง ๆ

จากผลการทดลองพบว่า pH มีอิทธิพลต่ออัตราส่วนโมลของไอร์ออน(III) กับซาลิไซเลตในสารประกอบเชิงซ้อนค่อนข้างมาก ในช่วง pH 1.5-2.0 ไม่สามารถหาจุดตัดของกราฟได้ ทำให้ไม่สามารถบอกได้ว่าอัตราส่วนโมลของไอร์ออน(III) กับซาลิไซเลตในสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลตเป็นเท่าไร แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้นเป็น 2.5 3.0 และ 3.5 อัตราส่วนโมลมีค่าเท่ากับ 1.3, 1.4 และ 1.7 ตามลำดับ ส่วนที่ pH ตั้งแต่ 4.0 จนถึง 5.0 ไม่สามารถหาอัตราส่วนโมลของไอร์ออน(III) กับซาลิไซเลตในสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลตได้ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจาก ในสารละลายมีสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต รูปแบบต่างๆ กัน (1:1, 1:2 หรือ 1:3) ผสมกันอยู่ในอัตราส่วนต่างๆ กัน ขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลายทำให้รูปร่างของกราฟในแต่ละ pH แตกต่างกัน

3.1.4) การศึกษาผลของ pH ที่มีต่อ mole ratio ในสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(II)-1,10-ฟีแนนโทโรลีน

ได้ทำการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของ pH ที่มีต่ออัตราส่วนจำนวนโมลของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(II)-1,10-ฟีแนนโทโรลีน โดยใช้ระบบการไหลของสารแบบต่อเนื่อง ได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 3.4



รูป 3.4 อัตราส่วนจำนวนโมลของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(II)-1,10 ฟีแนนโทโรลีน ที่ pH ต่าง ๆ

จากผลการทดลองพบว่า pH มีอิทธิพลต่ออัตราส่วนโมลของไอร์ออน(II) กับ 1,10-ฟีแนนโทรีนจากการศึกษา พบว่าที่ pH 1.5 และ 2.0 ไม่สามารถหาอัตราส่วนจำนวนโมลระหว่างไอร์ออน(II) กับ 1,10-ฟีแนนโทรีนได้ แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้นเป็น 3.0-5.0 อัตราส่วนจำนวนโมลระหว่างไอร์ออน(II) กับ 1,10-ฟีแนนโทรีนไม่ขึ้นกับ pH ดังแสดงในตาราง 3.3 ในที่นี้อาจอธิบายได้ว่าที่ pH ต่ำมากๆ 1,10-ฟีแนนโทรีนทำปฏิกิริยากับไอร์ออน(II) ได้ยาก แต่ที่ pH สูงขึ้นไอร์ออน(II) สามารถทำปฏิกิริยากับ 1,10-ฟีแนนโทรีนได้ดีและมีอัตราส่วนโมลเพียงอัตราส่วนเดียวคือ 1:3 เท่านั้น หรือ 1:3 เป็นรูปแบบที่เสถียรที่สุดทุกๆ pH

ตาราง 3.3 อัตราส่วนโมลของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(II)-1,10-ฟีแนนโทรีน

pH	อัตราส่วนโมล
1.5	-
2.0	-
3.0	1 : 3.06
4.0	1 : 3.08
5.0	1 : 3.08

3.2 การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันเพื่อหาปริมาณไอร์ออน(III) โดยใช้ระบบการไหลของสารแบบต่อเนื่อง

ในการทดลองต่อไปนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบระบบการไหลของสารแบบต่อเนื่องมาใช้ประโยชน์ในเชิงวิเคราะห์แบบโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยเลือกใช้ปฏิกิริยาระหว่าง ไอร์ออน(III) กับสารละลายมาตรฐาน EDTA การไทเทรตจะแบ่งเป็น 2 แบบ ดังนี้

1) โดยวิธีตรง (Direct method)

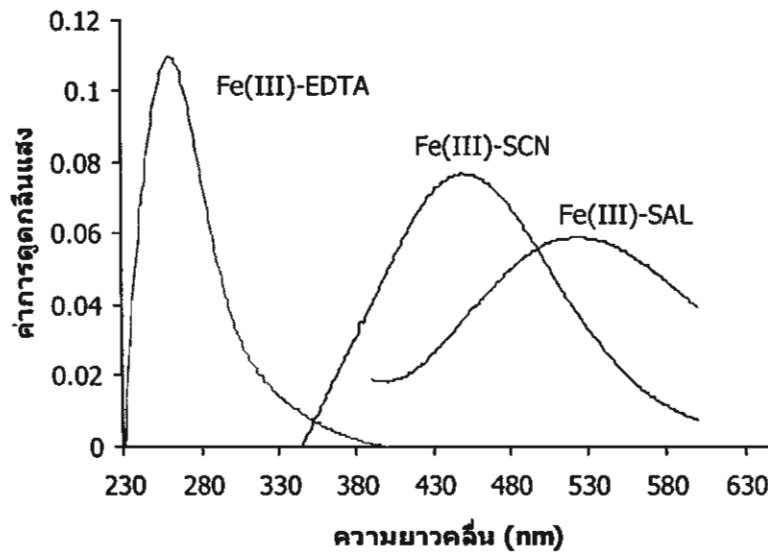
ทำการไทเทรตโดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-EDTA โดยตรง

2) โดยวิธีอ้อม (Indirect method)

ทำการไทเทรตโดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III) กับลิแกนด์ที่ทำให้เกิดสี ได้แก่ ซาลิไซเลต และไรโอไซยานเนต

3.2.1 การหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)กับลิแกนด์ชนิดต่าง ๆ

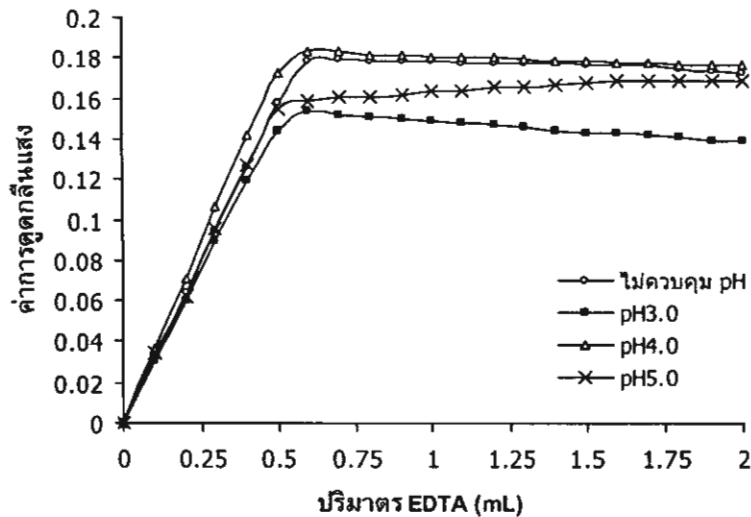
ได้ทำการหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารประกอบเชิงซ้อนไอร์ออน(III)กับ EDTA ไรโอไซยานเนต และซาลิไซเลต ได้สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงดังรูปที่ 3.5 โดยได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III) กับลิแกนด์ทั้งสามชนิดเท่ากับ 260 nm 449 nm และ 520 nm ตามลำดับ



รูป 3.5 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)กับลิแกนด์ชนิดต่างๆ

3.2.2 การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีตรง

ได้ทำการหาปริมาณของไอร์ออน(III) โดยการทำให้โฟโตเมตริกไทเทรชันที่ pH ต่างๆ ด้วยสารละลายมาตรฐาน EDTA ได้ไทเทรชันกราฟดังแสดงในรูปที่ 3.6



รูป 3.6 ไทเทรชันกราฟระหว่างไอร์ออน(III) กับ EDTA (วิธีตรง)

จากกราฟที่ได้นำมาหาจุดยุติและคำนวณหาความเข้มข้นของไอร์ออน(III) ได้ผลดังตารางที่ 3.4

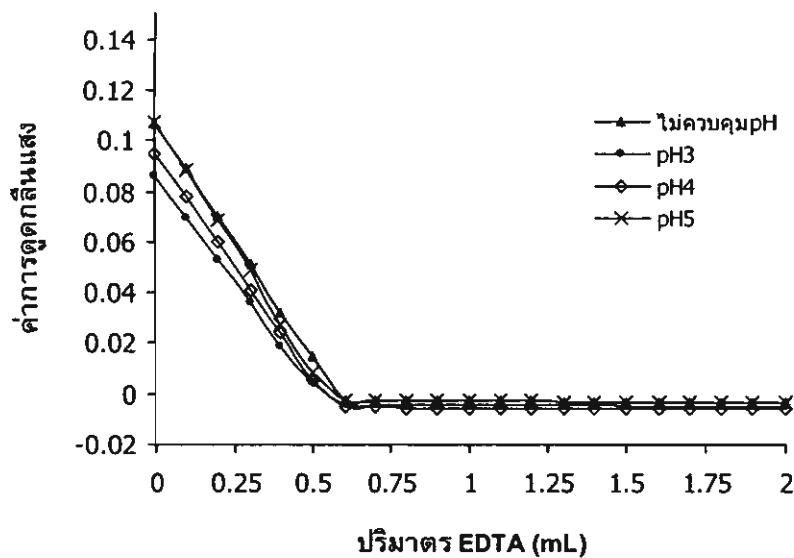
ตาราง 3.4 ปริมาณไอโรน(III) ความแม่นยำ และความถูกต้องจากการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันแบบวิธีตรง

ค่า pH	ความเข้มข้นของไอโรน(III) ที่คำนวณได้ (M) n=3	%RSD
ไม่ควบคุมค่า pH	0.0011	4.5
3.0	0.0011	4.7
4.0	0.0011	4.7
5.0	0.0010	4.8

จากผลที่ได้พบว่า pH มีผลต่อการไทเทรตไม่มาก ในการไทเทรตสามารถทำได้โดยไม่ต้องควบคุม pH ของสารละลายได้โดยให้เปอร์เซ็นต์ของความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

3.2.3 การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีอ้อมโดยใช้โซเดียมซาลิไซเลตเป็น Color developing agent

ได้ทำการหาปริมาณของไอโรน(III) โดยการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีอ้อมโดยใช้โซเดียมซาลิไซเลตเป็น Color developing agent ที่ pH ต่างๆ ด้วยสารละลายมาตรฐาน EDTA ได้ไทเทรชันกราฟดังแสดงในรูปที่ 3.7



รูป 3.7 ไทเทรชันกราฟระหว่างไอโรน(III) กับ EDTA แบบวิธีอ้อม (1)

จากกราฟที่ได้นำมาหาจุดยุติและคำนวณหาความเข้มข้นของไอโรน(III) ได้ผลดังตารางที่ 3.5

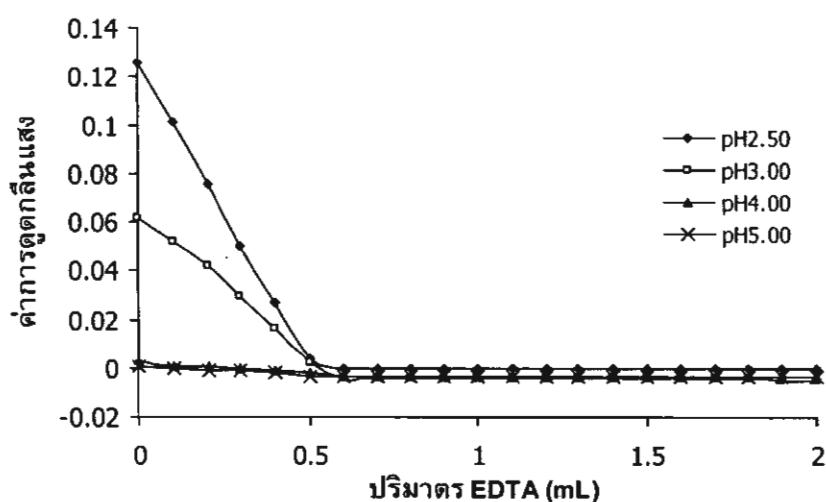
ตาราง 3.5 ปริมาณไอโรออน(III) ความแม่นยำ และความถูกต้องจากการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันแบบวิธีอ้อมโดยใช้โซเดียมซาลิไซเลตเป็น Color developing agent

pH	ความเข้มข้นของไอโรออน(III) ที่คำนวณได้ (M) n=3	%RSD
ไม่ควบคุม pH	0.0012	1.7
3.0	0.0011	1.1
4.0	0.0011	1.0
5.0	0.0011	1.0

จากผลที่ได้พบว่า pH ในช่วง 3.0-5.0 มีผลต่อการไทเทรตไม่มาก ในการไทเทรตอาจทำได้โดยไม่ต้องควบคุม pH แต่ pH ของสารละลายจะต้องไม่เกิน 5.0 จะให้ความแม่นยำที่ดีกว่าวิธีตรง เปอร์เซ็นต์ของความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

1.3.4 การทำโฟโตเมตริกไทเทรชันโดยวิธีอ้อมโดยใช้โซโไฮยาเนตเป็น Color developing agent

ได้ทำการหาปริมาณของไอโรออน(III) โดยการทำให้โฟโตเมตริกไทเทรชันแบบวิธีอ้อม ใช้โซโไฮยาเนตเป็น Color developing agent ที่ pH ต่างๆ ด้วยสารละลายมาตรฐาน EDTA ได้ไทเทรชันกราฟดังแสดงในรูปที่ 3.8



รูป 3.8 ไทเทรชันกราฟระหว่างไอโรออน(III) กับ EDTA แบบวิธีอ้อม (2)

จากกราฟที่ได้นำมาหาจุดยุติและคำนวณหาความเข้มข้นของไอโรออน(III) ได้ผลดังตารางที่ 3.6

ตาราง 3.6 ปริมาณไอร์ออน(III) ความแม่นยำ และความถูกต้องจากการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันแบบวิธีอ้อมโดยใช้ไฮโอไซยานตเป็น Color developing agent

pH	ความเข้มข้นของไอร์ออน(III) ที่คำนวณได้ (M) n=3	%RSD
2.5	0.0010	1.1
3.0	0.0011	1.0
4.0	ไม่สามารถหาได้	-
5.0	ไม่สามารถหาได้	-

จากผลที่ได้พบว่าที่ pH สูงๆ 4.0-5.0 ไม่สามารถหาจุดยุติจากกราฟได้ การไทเทรตจะทำได้ในช่วง pH ต่ำๆ เท่านั้น ในการไทเทรตอาจต้องควบคุม pH ให้มีสภาพเป็นกรดค่อนข้างมาก พบว่าความแม่นยำที่ดีกว่าวิธีตรงและเปอร์เซ็นต์ของความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ระบบการไหลของสารแบบต่อเนื่องที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาใช้ในการศึกษาอิทธิพลของ pH ที่มีต่ออัตราส่วนโมลในสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก และการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยใช้สารละลายในปริมาณที่น้อยแต่สามารถให้จำนวนจุดของมูลบนเส้นกราฟได้มากกว่าระบบ Batch คาดว่าน่าจะนำไปประยุกต์ใช้กับสารประกอบเชิงซ้อนอื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นกัน

pH ของสารละลายมีผลต่ออัตราส่วนโมลของสารประเชิงซ้อนของไอร์ออน(III)-ซาลิไซเลต ค่อนข้างมาก แต่ไม่มีผลต่ออัตราส่วนโมลของสารประเชิงซ้อนของไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline ดังนั้นการนำซาลิไซเลตมาใช้เป็นรีเอเจนต์ในระบบ โฟลอินเจกชันอะนาไลซิสควรต้องควบคุม pH จึงจะทำให้ผลการวิเคราะห์มีความแม่นยำและถูกต้อง

ในการทำโฟโตเมตริกไทเทรชันทั้ง 3 วิธีๆ ที่คาดว่าจะนำมาใช้ได้ดีกว่าวิธีอื่นได้แก่ วิธีอ้อมที่ใช้ซาลิไซเลตเป็น Color developing agent เนื่องจากสามารถทำได้ในช่วง pH ที่กว้างการวัดค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงวิสิเบิล ในขณะที่วิธีตรงต้องใช้ความยาวคลื่นในช่วงอุลตราไวโอเลต ซึ่งเครื่องมือบางรุ่นไม่สามารถใช้ได้และค่าการดูดกลืนแสงในช่วงนี้ค่อนข้างจะแกว่งทำให้อ่านค่าได้ไม่ถูกต้องมากนัก

Part II

**การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ continuous flow
analysis แบบใหม่โดยการรวม segmented
flow analysis กับ flow injection
analysis**

บทที่ 1

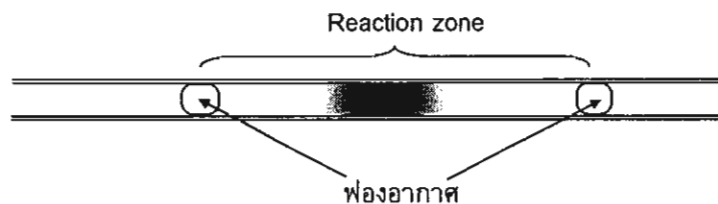
บทนำ

หลักการ

เทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้การไหลแบบต่อเนื่อง (continuous flow analysis) อาจแบ่งเป็นชนิดต่างๆ ได้แก่ เทคนิคที่ใช้ระบบ segmented flow analysis (SFA) ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้การไหลโดยมีอากาศคั่นทำให้เป็นท่อน (segmented) ในท่อเปรียบเหมือนการทำกรวยหนึ่งตัวอย่างใน 1 บีกเกอร์แต่ไหลอย่างต่อเนื่องในท่อ เกิดการผสมในระหว่างไหลแบบ turbulent เพื่อให้การผสมของสารตัวอย่างกับรีเอเจนต์เกิดขึ้นได้สมบูรณ์ ต้องแยกส่วนของอากาศที่คั่นออกก่อนถึงเครื่องเพื่อทำการวัดอย่างต่อเนื่อง ส่วนระบบ flow injection analysis (FIA) เป็นกรวยวิเคราะห์ที่ใช้การไหลที่ไม่มีฟองอากาศคั่นหรือเป็นแบบ unsegmented flow analysis ที่มีข้อดีหลายประการ ได้แก่ รวดเร็วเที่ยงตรง และแม่นยำสูง สามารถใช้ได้กับสารที่มีความเสถียรน้อยได้ ระบบ FIA วิเคราะห์ได้เร็วเพราะไม่จำเป็นต้องรอให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ หรือถึงจุดสมดุล ในระบบ SFA จะมีความไว (sensitivity) ในการตรวจวัดสูงกว่าในระบบ FIA เพราะในระบบ FIA สารตัวอย่างกับรีเอเจนต์ทำปฏิกิริยากันไม่สมบูรณ์ขณะที่ผ่านไปที่เครื่องตรวจวัด แต่ข้อเสียของระบบ SFA คือใช้เวลานานกว่าจึงวิเคราะห์ได้ไม่รวดเร็ว

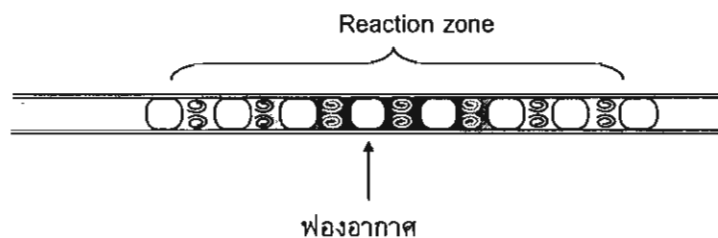
การพัฒนานำเอาวิธีวิเคราะห์แบบ SFA มาใช้ร่วมกับระบบ FIA จะเป็นการรวมเอาจุดดีของวิธีวิเคราะห์ทั้งสองแบบมาใช้ในการวิเคราะห์ร่วมกัน เกิดเทคนิคการวิเคราะห์แบบใหม่ที่เรียกว่า Segmented Flow injection analysis (SFIA) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อวิธีการวิเคราะห์สารตัวอย่างในอีกหลายรูปแบบ การออกแบบระบบเพื่อรวม FIA กับ SFA อาจทำได้ 2 แบบดังนี้

- 1) ให้ฟองอากาศคั่นหัวท้ายของ Reaction zone



รูป 1.1 การเติมฟองอากาศแบบคั่นหัวท้ายของ Reaction zone

- 2) แทรกฟองอากาศอย่างต่อเนื่องบริเวณ Reaction zone



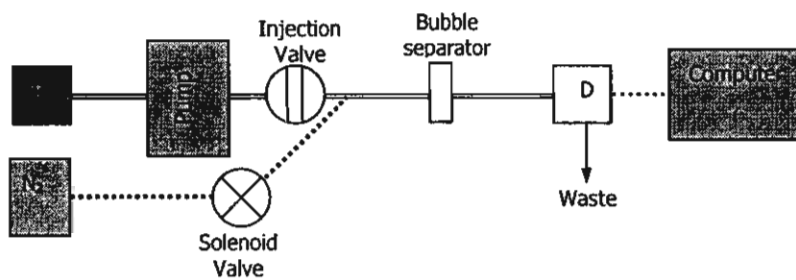
รูป 1.2 การเติมฟองอากาศบริเวณ Reaction zone

ในส่วนของเครื่องมือจะประกอบด้วย

- 1) Pump
- 2) Injection valve
- 3) Solenoid valve
- 4) Nitrogen gas หรือ อากาศ
- 5) Bubble separator
- 6) Detector
- 7) Computer และโปรแกรมสำหรับควบคุมการ

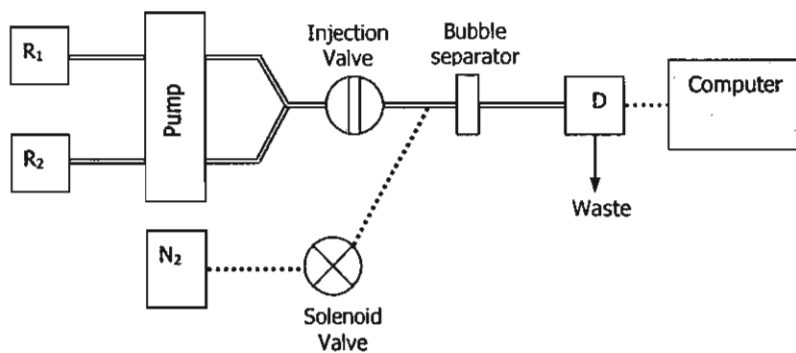
การแทรกฟองอากาศทำได้โดยใช้ Solenoid valve หรือ pump ที่ควบคุมการปิดเปิดโดยโปรแกรมที่เขียนไว้ ระบบที่จะทำการศึกษามี 2 แบบได้แก่

ก. ระบบ SFIA ชนิด 1 line ซึ่งมี manifold ดังแสดงในรูป



รูป 1.3 Manifold ของระบบ SFIA ชนิด 1 line

ข. ระบบ SFIA ชนิด 2 line ซึ่งมี manifold ดังแสดงในรูป



รูป 1.4 Manifold ของระบบ SFIA ชนิด 2 line

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือ

1. Peristaltic pump, Ismatec, Model ISM 827, Switzerland.
2. Peristaltic pump, Master flex, Model 77120-62, U.S.A.
3. Solenoid valve, CKD, Model AB21-02-2, Japan.

2.2 สารเคมี

1. Ammonium ferrous sulfate hexahydrate: $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, A.R. grade, BDH, Germany
2. Ammonium ferric sulfate dodecahydrate: $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, A.R. grade, BDH, Germany
3. Sulfuric acid: H_2SO_4 , A.R. grade, BDH
4. Acetic acid: CH_3COOH , A.R grade, Merck, Germany
5. Sodium hydroxide: NaOH , A.R. grade, Merck, Germany
6. Sodium salicylate: $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COONa}$, A.R grade, Merck, Germany
7. Ammonium molybdate
8. Ascorbic acid
9. Potassium dihydrogen phosphate: KH_2PO_4
10. 1,10 –Phenanthroline: $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, A.R. grade, Fisher scientific

2.3 การเตรียมสารละลาย

2.3.1 สารละลาย 0.01 M sodium salicylate ใน 0.10 M pH 4-5

ละลาย 0.80 g ของโซเดียมซาลิไซเลต 1.0 g ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ 3.0 ml ของกรดอะซิติกด้วยน้ำปราศจากไอออนใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 500 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.1 สารละลาย 1000 ppm ไอร์ออน(III)

ละลาย 0.8640 g ของแอมโมเนียมเฟอร์ริกซัลเฟตด้วยน้ำปราศจากไอออนใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.2 สารละลาย 50 ppm ไอร์ออน(III)

เจือจางจากสารละลาย 1000 ppm ไอร์ออน(III)

2.3.3 สารละลาย 1000 ppm ไอร์ออน(II)

ละลาย 0.7022 g ของแอมโมเนียมเฟอร์รัสซัลเฟตด้วยน้ำปราศจากไอออนใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.4 สารละลาย 50 ppm ไอร์ออน(II)

เจือจางจากสารละลาย 1000 ppm ไอร์ออน(II)

2.3.5 สารละลาย 5×10^{-4} M 1,10-phenanthroline

ละลาย 0.0496 g ของ 1,10-ฟีแนนโทรลีนด้วยน้ำปราศจากไอออน ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 500 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.6 สารละลาย 0.3 % แอมโมเนียมโมลิบเดต

ละลาย 1.5 g แอมโมเนียมโมลิบเดต ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 500 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5.0 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.7 สารละลาย 2.5 % กรดแอสคอร์บิก

ละลาย 2.5 g กรดแอสคอร์บิกใส่ในขวดปริมาตรขนาด 500 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.8 สารละลาย 1000 ppm ฟอสเฟต

ละลาย 0.1433 g ของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตด้วยน้ำปราศจากไอออนใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.9 สารละลาย 50 ppm ฟอสเฟต

เจือจางจากสารละลาย 1000 ppm ฟอสเฟต

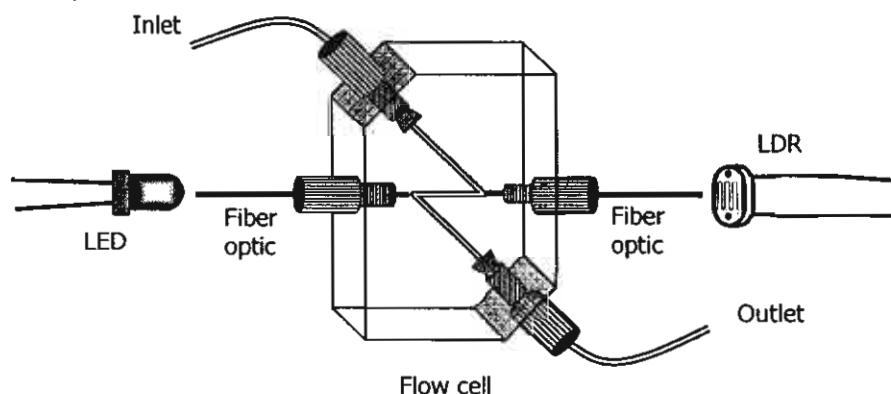
2.4 วิธีการทดลอง

2.4.1 การออกแบบและสร้างอุปกรณ์ที่ใช้ในระบบ Segmented flow injection analysis

2.4.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัด (Detector)

ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้

- 1) Light source ใช้หลอด LED (Light emitting diode) ชนิด Supper bright LED โดยสามารถเปลี่ยนสีของหลอด LED ได้โดยการหมุนสวิทช์
- 2) Flow cell ทำจาก acrylic ที่เจาะเป็นช่อง โดยมีช่องทางให้สารละลายเข้า และออก และมีช่องทางให้แสงผ่านสารละลาย ในที่นี้จะใช้ใยแก้วนำแสงสำหรับเป็นตัวส่งลำแสงไปยังสารที่ต้องการจะวัดและส่งไปยัง Photo detector ที่ทำหน้าที่วัดความเข้มแสง

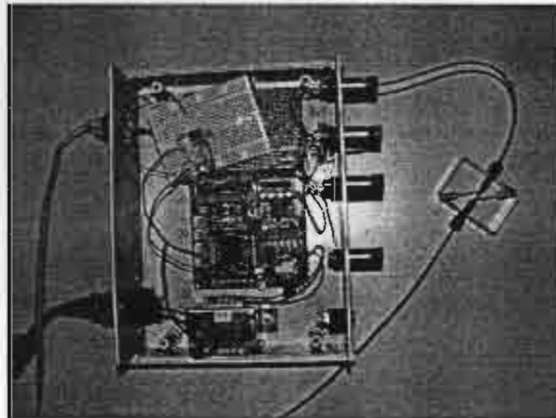


รูป 2.1 Flow cell

- 3) Light sensor ในที่นี้จะใช้ Light dependent resistance (LDR) เป็นตัวรับแสง
- 4) A/D และ Microcontroller circuit
- 5) Microcomputer

6) Software สำหรับรับข้อมูลจาก Sensor เป็น Software ที่เขียนขึ้นเองจากโปรแกรม Visual basic ซึ่งสามารถรับข้อมูลและเก็บไว้ในคอมพิวเตอร์ สามารถเรียกขึ้นมาประมวลผลได้ทันทีเมื่อทำการทดลองเสร็จ

หลักการทำงานเริ่มจากแหล่งกำเนิดแสงชนิด Super bright LED กำเนิดแสงให้กับใยแก้วนำแสง (Fiber optic) นำแสงไปยัง Flow cell ในขณะที่สารละลายที่ต้องการวัดค่าการดูดกลืนแสงไหลผ่าน Flow cell แสงที่ส่งผ่านสารละลายจะถูกส่งผ่านไปยังใยแก้วนำแสงอีกด้านหนึ่งของ Flow cell ตำแหน่งปลายสุดของใยแก้วนำแสงนี้จะมีวงจรของ Photo detector คอยตรวจวัดและแปลงค่าความเข้มแสงให้อยู่ในรูปของแรงดันไฟฟ้าดีซี (D.C. Voltage) โดยที่ความเข้มแสงที่แปรผันตรงกับแรงดันที่เอาต์พุตของวงจร และส่งต่อไปยังตัวแปลงสัญญาณอะนาลอกเป็นดิจิตอล (A/D) แล้วนำข้อมูลดิจิตอลของค่าความเข้มแสงที่ได้ป้อนให้กับ Microcontroller ที่เอาต์พุตของ Controller จะนำข้อมูลดังกล่าวส่งต่อไปยัง Microcontroller แบบอนุกรม (Serial Interfacing) ด้วยมาตรฐาน RS232 (RS232 Port) เพื่อทำการประมวลผล



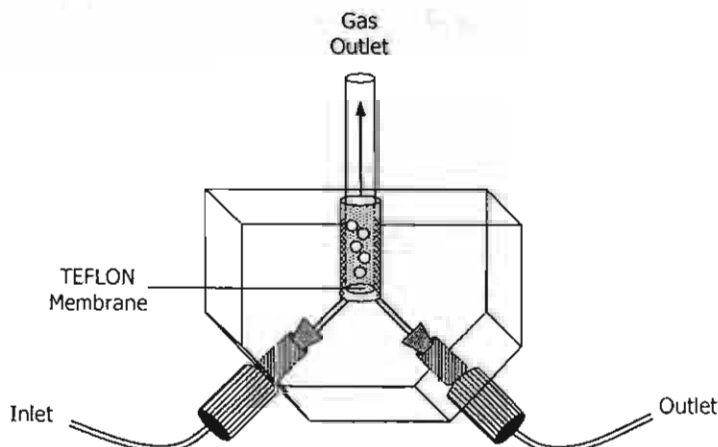
รูป 2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัด (Detector) ในระบบ Segmented flow injection analysis

2.4.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเติมฟองอากาศ

ในที่นี้จะใช้ peristaltic pump และ solenoid valve

2.4.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกฟองอากาศออกจากระบบ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกฟองอากาศออกจากระบบมีลักษณะดังรูป



รูป 2.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกฟองอากาศออกจากระบบ

2.4.2 การตรวจสอบการทำงานของ Detector

การตรวจสอบการทำงานของ detector ที่สร้างขึ้นมากับระบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิสประกอบด้วย

- 1) การศึกษาการ Drift ของ baseline
- 2) ช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด (linearity range)
- 3) Reproducibility ของสัญญาณที่ความเข้มข้นต่างๆ

2.4.2.1 การศึกษาเสถียรภาพของสัญญาณ

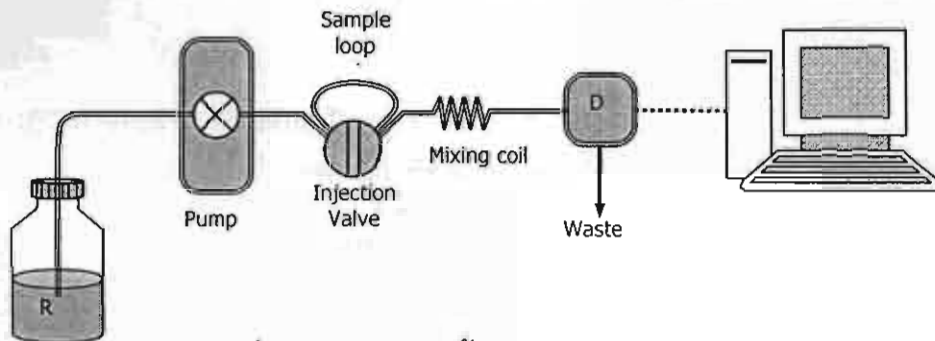
ทำการทดลอง flow น้ำผ่านเข้าไปในระบบและบันทึกสัญญาณในช่วงเวลาหนึ่ง

2.4.2.2 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด (linearity range)

การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงโดยใช้ 2 วิธีดังนี้

- 1) ฉีดน้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปในระบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิสที่มีน้ำเป็นกระแสตัวพา
- 2) ใช้ระบบโฟลอินเจกชันอะนาลิซิสของปฏิกิริยาระหว่างไอร์ออน(III) กับ salicylate

Manifold ที่ใช้



รูป 2.4 Manifold สำหรับตรวจสอบการทำงานของ Detector

R = 0.01 M sodium salicylate ใน 0.10 M acetate buffer pH 4-5

Mixing coil = 50 cm

Sample loop = 25 μ l หลอด LED : สีน้ำเงิน

ทำการฉีดสารละลายของ Fe(III) ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, และ 20 ppm เข้าไปในกระแสตัวพาของ 0.01 M Sodium salicylate ใน 0.10 M pH 4-5 acetate buffer โดยใช้อัตราการไหล 2.5 ml/min

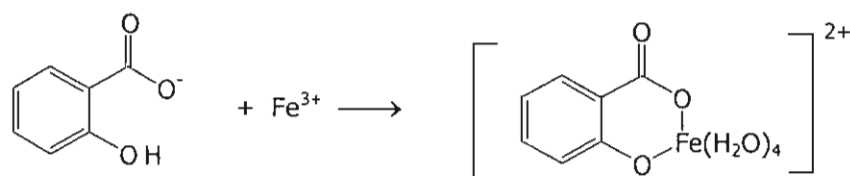
2.4.1.3 การตรวจสอบ Reproducibility ของสัญญาณ

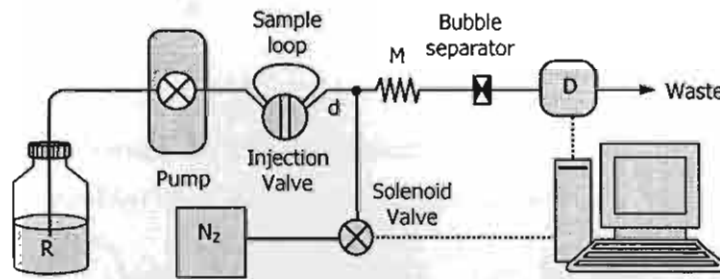
ทำการฉีดสารละลายของ Fe(III) ที่ความเข้มข้น 4 ppm และ 18 ppm เข้าไปในกระแสตัวพาของ 0.01 M Sodium salicylate 10 ครั้ง และทำการบันทึก Flgram และวัดความสูงของ peak

2.4.3 การศึกษาปฏิกิริยาที่จะนำมาใช้กับระบบ SFIA

2.4.3.1 ปฏิกิริยาระหว่างไอร์ออน(III) กับ salicylate

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังสมการ



Manifold ที่ใช้

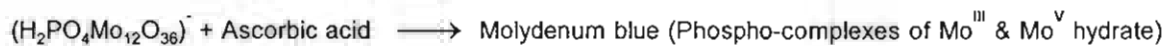
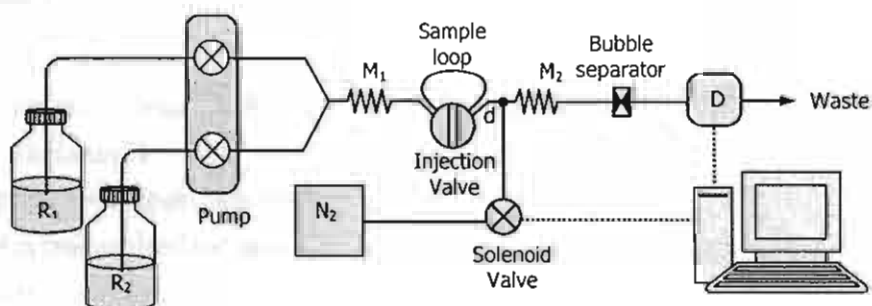
รูป 2.5 Manifold ของระบบ SFIA ชนิด 1 line สำหรับปฏิกิริยาระหว่างไอร์ออน(III) กับ salicylate

R = 0.01 M sodium salicylate ใน 0.10 M pH 4-5 acetate buffer, M = 50 cm, Sample loop = 50 μ l
หลอด LED: สีน้ำเงิน, อัตราการไหล: 2.5 ml/min

ทำการฉีดสารละลายของ Fe(III) ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm เข้าไปในกระแสตัวพาของ 0.01 M Sodium salicylate ใน 0.10 M pH 4-5 acetate buffer ผ่าน manifold แบบเดิมอากาศและไม่เติมอากาศ เปรียบเทียบกัน

2.4.3.2 ปฏิกิริยาของการเกิดโมลิบดีนัมบลู

ปฏิกิริยาของการเกิดโมลิบดีนัมบลูใช้สำหรับการหาปริมาณฟอสเฟต ปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังสมการ

Manifold ที่ใช้

รูป 2.6 Manifold ของระบบ SFIA สำหรับปฏิกิริยาของการเกิดโมลิบดีนัมบลู

R₁ = 0.3% (w/v) แอมโมเนียมโมลิบเดตในกรดซัลฟูริก, R₂ = 0.5% Ascorbic acid, M₁ = 25 cm
M₂ = vary, หลอด LED: สีแดง, อัตราการไหล 2.4 ml/min

2.4.3.2.1 การศึกษาผลของขนาด sample loop

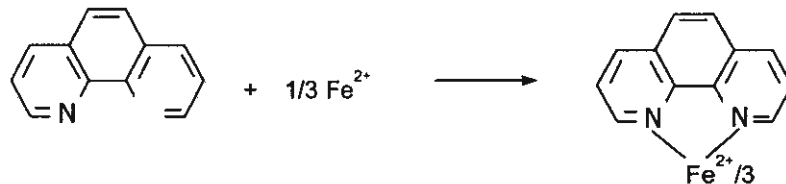
ทำการทดลองโดยฉีดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm ผ่าน manifold แบบเดิมอากาศและไม่เติมอากาศ โดยใช้ sample loop ขนาด 50, 100 และ 200 μ l เปรียบเทียบ sensitivity ของทั้งสองวิธี

2.4.3.2.2 การศึกษาผลของความยาว mixing coil

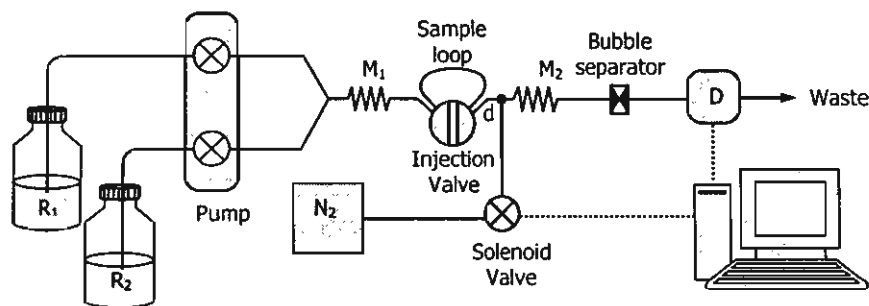
ทำการทดลองโดยฉีดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 ppm ผ่าน manifold แบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศ โดยใช้ sample loop ขนาด 0, 100, 200 และ 300 μl เปรียบเทียบ sensitivity ของทั้งสองวิธี

2.4.3.3 ปฏิกริยาของไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline

การหาปริมาณเหล็กจะใช้ปฏิกิริยาของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ 1,10-phenanthroline ดังสมการ



Manifold ที่ใช้



รูป 2.7 Manifold ของระบบ SFIA สำหรับปฏิกิริยาของไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline

$R_1 = 0.1 \text{ M}$ acetate buffer, $R_2 = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 1,10-phenanthroline, $M_1 = 25 \text{ cm}$, $M_2 = \text{vary}$
หลอด LED: สีน้ำเงิน (510 nm), อัตราการไหล: 2.4 ml/min

2.4.3.3.1 การศึกษาผลของขนาด sample loop

ทำการทดลองโดยฉีดสารละลายมาตรฐานไอร์ออน(II) เข้มข้น 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 ppm ผ่าน manifold แบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศ โดยใช้ sample loop ขนาด 50, 100 และ 200 μl เปรียบเทียบ sensitivity ของทั้งสองวิธี

2.4.3.3.2 การศึกษาผลของความยาว mixing coil

ทำการทดลองโดยฉีดสารละลายมาตรฐานไอร์ออน(II) เข้มข้น 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 ppm ผ่าน manifold แบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศ โดยใช้ sample loop ขนาด 0, 50, 100 และ 200 μl เปรียบเทียบ sensitivity ของทั้งสองวิธี

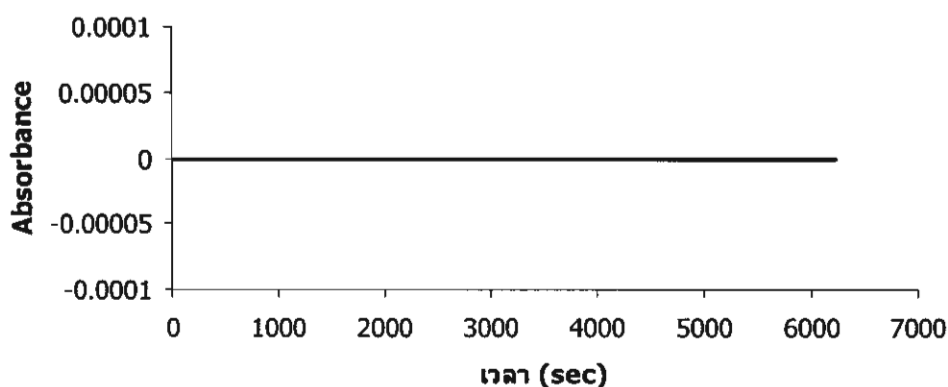
บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ผลการตรวจสอบการทำงานของ Detector

3.1.1 การศึกษาเสถียรภาพของสัญญาณ

จากการทดลองโดย flow น้ำผ่านเข้าไปในระบบและบันทึกสัญญาณในช่วงเวลาหนึ่ง พบว่าสัญญาณที่ได้ค่อนข้างคงที่ ดังแสดงในรูป

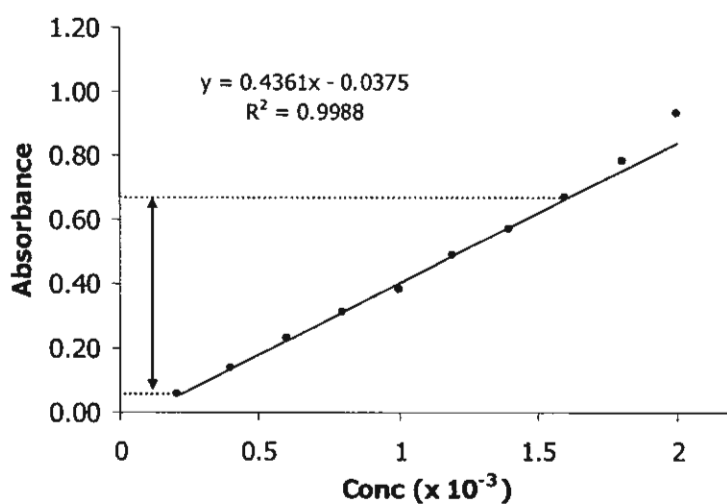


รูป 3.1 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณในช่วงเวลาที่กำหนดของ Detector

3.1.2 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด (linearity range)

1) ใช้น้ำสี

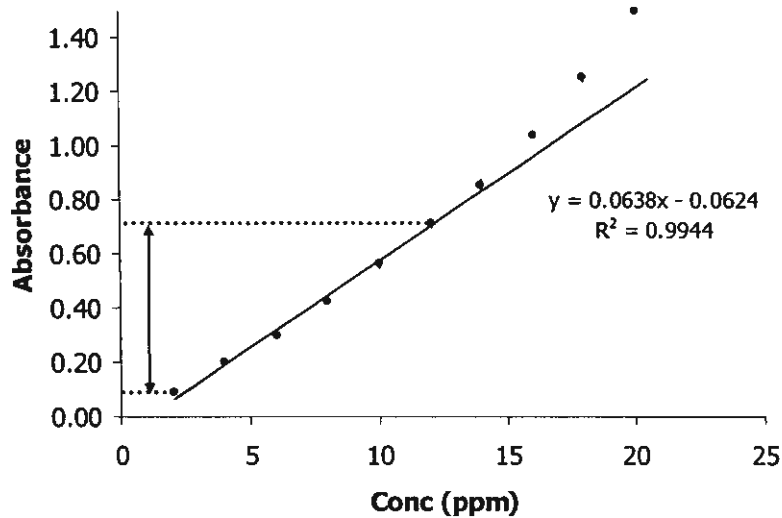
ได้ทำการฉีดน้ำสีที่มีความเข้มข้นต่างๆ ไปในระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสที่มีน้ำเป็นกระแสตัวพาได้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับสัญญาณดังรูปที่ 3.1



รูป 3.2 ช่วงความเป็นเส้นตรงของระบบตรวจวัดโดยใช้น้ำสี

พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของระบบตรวจวัดจะอยู่ในช่วงประมาณ 0.05-0.7 Absorbance

2) ใช้ระบบโพลีอินเจกชันอะนาลิซิสของปฏิกิริยาระหว่างไอร์ออน(III) กับ salicylate
ได้ผลการทดลองดังรูป

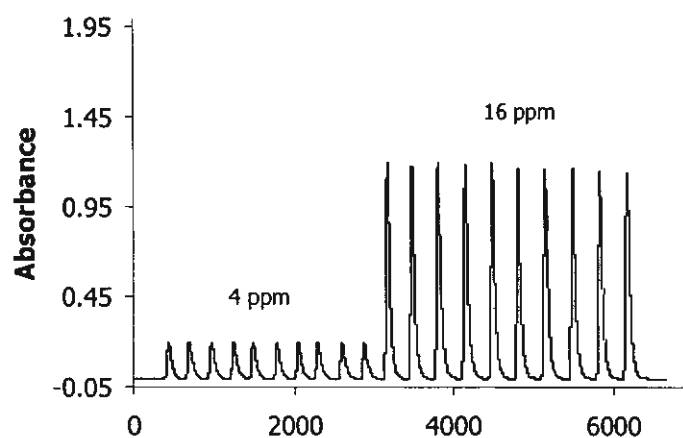


รูป 3.3 ช่วงความเป็นเส้นตรงของระบบตรวจวัดจากปฏิกิริยาของไอร์ออน(III)

พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของระบบตรวจวัดจะอยู่ในช่วงประมาณ 0.05-0.7 Absorbance เช่นเดียวกัน

3.1.3 การตรวจสอบ Reproducibility ของสัญญาณ

ได้ทำการฉีดสารละลายของ Fe(III) ที่ความเข้มข้น 4 ppm และ 18 ppm เข้าไปในกระแสดัฟฟาของ 0.01 M Sodium salicylate 10 ครั้ง และทำการบันทึก Flgarm และวัดความสูงของ peak ที่ได้ดังแสดงในรูป



รูป 3.4 Flgarm ของไอร์ออน(III) ที่ความเข้มข้น 4 และ 6 ppm

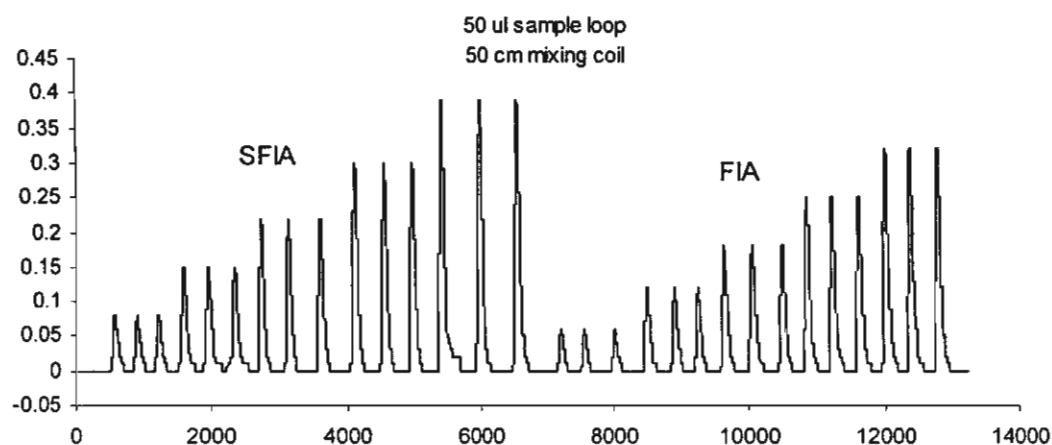
จากผลการทดลองพบว่าค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณที่ความเข้มข้น 4 ppm เท่ากับ 0.003 คิดเป็น %RSD = 1.57 % และที่ความเข้มข้น 18 ppm เท่ากับ 0.022 คิดเป็น %RSD = 1.83 % ตามลำดับ

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าเครื่องมือที่สร้างขึ้นให้สัญญาณของการตรวจวัดที่คงที่สม่ำเสมอในช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ที่กว้างตั้งแต่ 0.05-0.7 Absorbance และมีความแม่นยำหรือ reproducibility ที่ดีในระดับหนึ่ง และสามารถนำไปใช้สำหรับเป็นเครื่องตรวจวัดในระบบ flow injection analysis

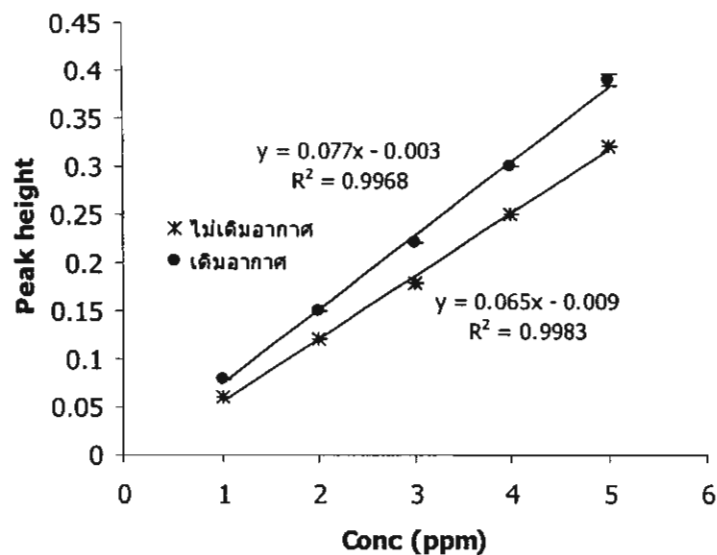
3.2 การศึกษาปฏิกิริยาที่จะนำมาใช้กับระบบ SFIA

3.2.1 ปฏิกิริยาระหว่างไอโรออน(III) กับ salicylate

ได้ประยุกต์ระบบ SFIA กับปฏิกิริยาระหว่างไอโรออน(III) กับ salicylate ได้ peak signal และ Calibration graph ดังรูป



รูป 3.5 เปรียบเทียบ Peak signal ของระบบ FIA กับ SFIA



รูป 3.6 เปรียบเทียบ Calibration graph ของระบบ FIA กับ SFIA

จาก Calibration graph ที่ได้เมื่อนำมาเปรียบเทียบ sensitivity พบว่าของระบบ SFIA ให้ sensitivity ที่สูงกว่าระบบ FIA ดังสรุปในตารางที่ 3.1

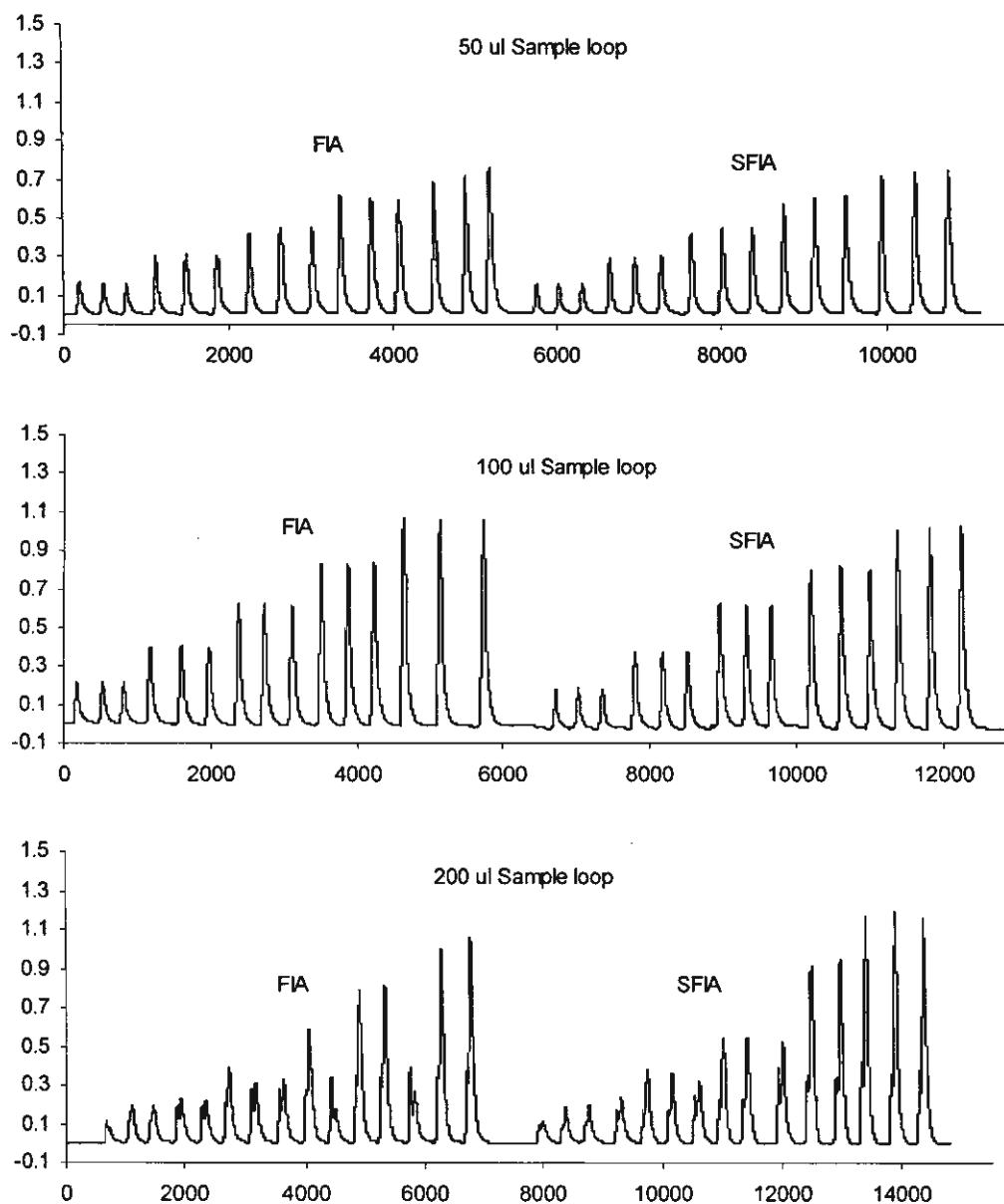
ตาราง 3.1 เปรียบเทียบ Sensitivity ระหว่างระบบ FIA (ไม่เติมอากาศ) กับระบบ SFIA (เติมอากาศ)

ครั้งที่	Calibration sensitivity		เพิ่มขึ้น (เท่า)
	FIA	SFIA	
1	0.0557	0.0677	1.162
2	0.060	0.070	1.172
3	0.065	0.077	1.185
4	0.0603	0.0723	1.199

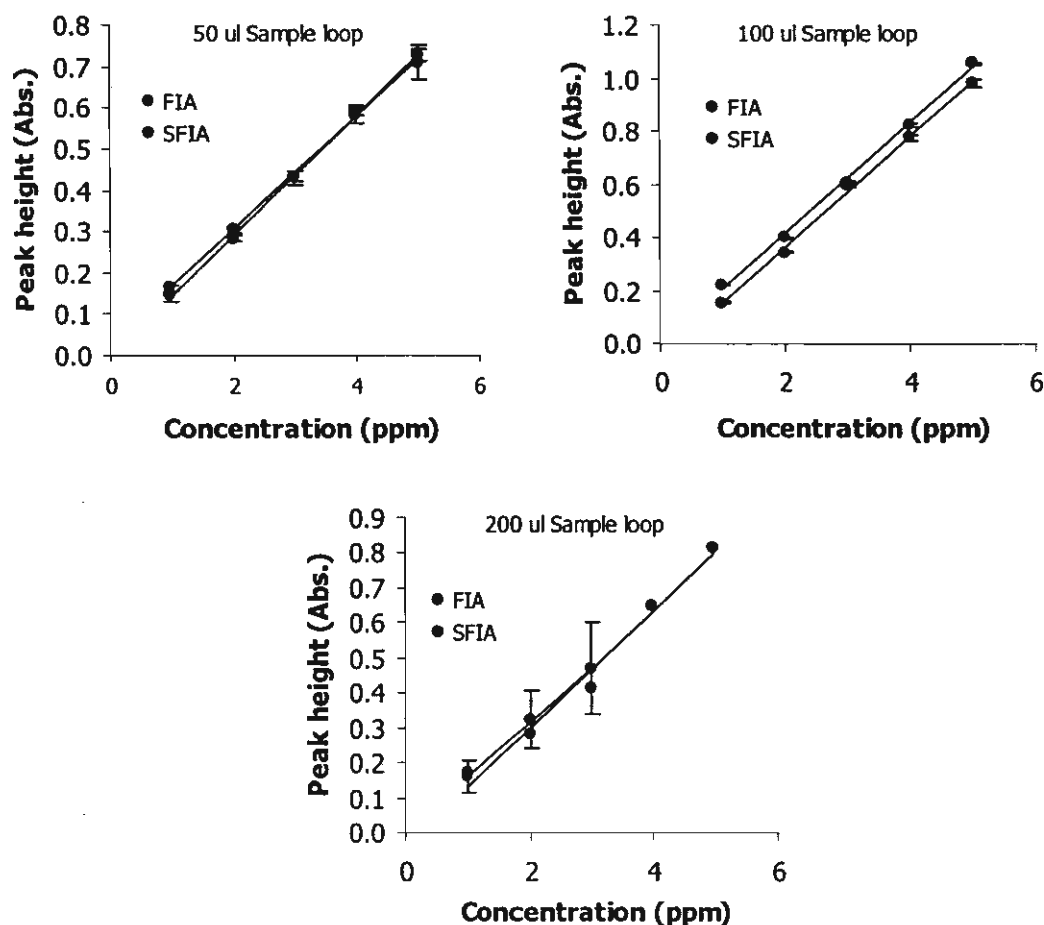
3.2.2 ปฏิกริยาของการเกิดโมลิตินัมบลู

3.2.2.1 การศึกษาผลของขนาด sample

ได้ทำการศึกษาผลของขนาด sample loop ที่มีต่อ sensitivity โดยใช้ manifold ที่ไม่มี mixing coil ได้ Flgram และ Calibration graph ดังรูป



รูป 3.7 เปรียบเทียบ Peak signal ของระบบ FIA กับ SFIA เมื่อ sample loop มีขนาดต่างกัน



รูป 3.8 เปรียบเทียบ Calibration graph ของระบบ FIA กับ SFIA เมื่อ sample loop มีขนาดต่างกัน

ตาราง 3.2 เปรียบเทียบ Performance ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA เมื่อใช้ Sample loop ขนาดต่างๆ กัน

Sample loop (µl)	FIA			SFIA		
	slope	R ²	ลักษณะ peak	slope	R ²	ลักษณะ peak
50	0.138	0.9985	ปกติ	0.1467	0.9999	ปกติ
100	0.2093	0.9978	ปกติ	0.2093	0.9976	ปกติ
200	0.1635	0.9798	แตกเป็น 2 peak	0.155	0.999	แตกเป็น 2 peak

ตาราง 3.3 เปรียบเทียบ Sensitivity ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA เมื่อใช้ Sample loop ขนาดต่างๆ กัน

Sample loop (µl)	Calibration sensitivity		เพิ่มขึ้น (เท่า)
	FIA	SFIA	
50	0.138	0.1467	1.1
100	0.2093	0.2093	1.0
200	0.1635	0.155	0.9

จากผลการทดลองพบว่าในระบบที่ไม่มี mixing coil การเพิ่มขนาดของ sample loop ไม่ได้ทำให้ sensitivity ของระบบ SFIA แตกต่างไปจากของระบบ FIA เลย แต่จะทำให้ peak ที่ได้แตก และ reproducibility ไม่ดี ทั้งในระบบ FIA และระบบ SFIA เนื่องการ dispersion เกิดได้น้อยเกินไป การใส่ mixing coil น่าจะทำให้การ disperse เกิดได้มากกว่าในขณะเดียวกันก็ promote mixing ไปด้วย

3.2.2.2 การศึกษาผลของความยาว mixing coil

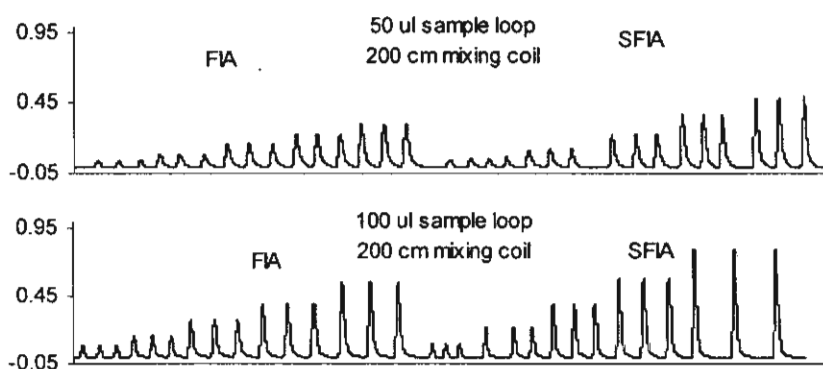
ได้ทำการศึกษาคผลของความยาว mixing coil ที่มีต่อ sensitivity โดย vary ความยาวของ mixing coil ตั้งแต่ 0, 50, 100, 200 และ 300 cm และ ขนาดของ sample loop คงที่ 50 และ 100 μ l ได้ผลดังตาราง

ตาราง 3.4 เปรียบเทียบ Sensitivity ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA เมื่อใช้ sample loop ขนาด 50 μ l

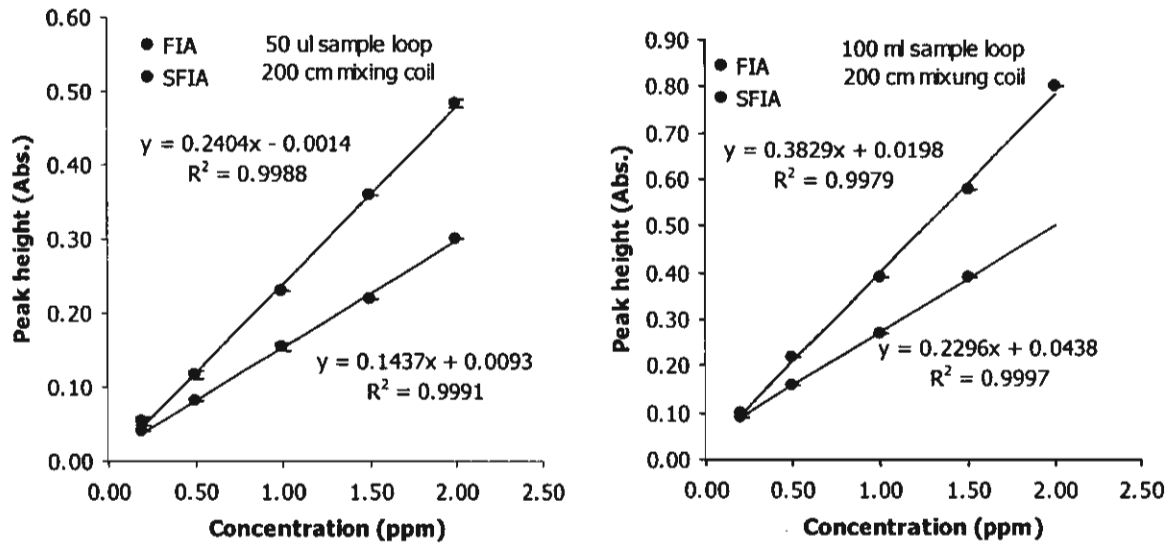
mixing coil (cm)	Calibration sensitivity		เพิ่มขึ้น (เท่า)
	FIA	SFIA	
0	0.1380	0.1467	1.06
100	0.1697	0.235	1.38
200	0.1437	0.2404	1.67
300	0.114	0.1959	1.72

ตาราง 3.5 เปรียบเทียบ Sensitivity ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA เมื่อใช้ sample loop ขนาด 100 μ l

mixing coil (cm)	Calibration sensitivity		เพิ่มขึ้น (เท่า)
	FIA	SFIA	
0	0.1324	0.1457	1.10
100	0.2405	0.2861	1.19
200	0.2296	0.3829	1.67
300	0.2048	0.3857	1.88

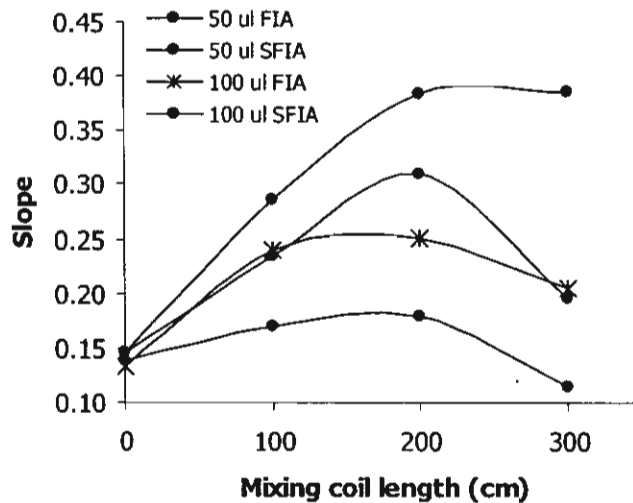


รูป 3.7 Peak signal ตัวอย่างของระบบ FIA กับ SFIA ที่สภาวะการทดลองที่ให้ผลที่ดีที่สุด



รูป 3.8 Calibration graph ตัวอย่างของระบบ FIA กับ SFIA ที่สภาวะการทดลองที่ให้ผลที่ดีที่สุด

จากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มความยาวของ mixing coil จะทำให้ sensitivity ของระบบ FIA และ SFIA สำหรับปฏิกิริยาของการเกิดโมลิตินับเพิ่มขึ้น โดยระบบ SFIA จะเพิ่มด้วยอัตราที่มากกว่าเมื่อขนาดของ sample loop เท่ากันดังรูป



รูป 3.9 Sensitivity ของระบบ FIA และ SFIA ที่ความยาวของ mixing coil ต่างๆ กัน

ระบบ SFIA สามารถเพิ่ม sensitivity ได้มากกว่าระบบ FIA ที่เหมือนกันถึง 1.72 เท่า เมื่อความยาวของ mixing coil มากขึ้นและมีแนวโน้มจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มความยาวของ mixing coil ให้มากขึ้น ซึ่งอธิบายได้ว่าเมื่อความยาวของ mixing coil เพิ่มขึ้นการแพร่กระจาย (Dispersion) ในทั้ง 2 ระบบจะเกิดได้มากขึ้นแต่ในระบบ FIA จะเกิดขึ้นได้มากกว่าในระบบ SFIA ซึ่งถูก block โดยฟองอากาศ การแพร่กระจายนี้สามารถวัดได้จากความกว้างของ

ฐาน peak ดังข้อมูลในตาราง (ของ 50 μ l sample loop 200 cm mixing coil และ 100 μ l sample loop 200 cm mixing)

ตาราง 3.6 เปรียบเทียบ ความกว้างของฐาน peak ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA ที่สภาวะต่างๆ

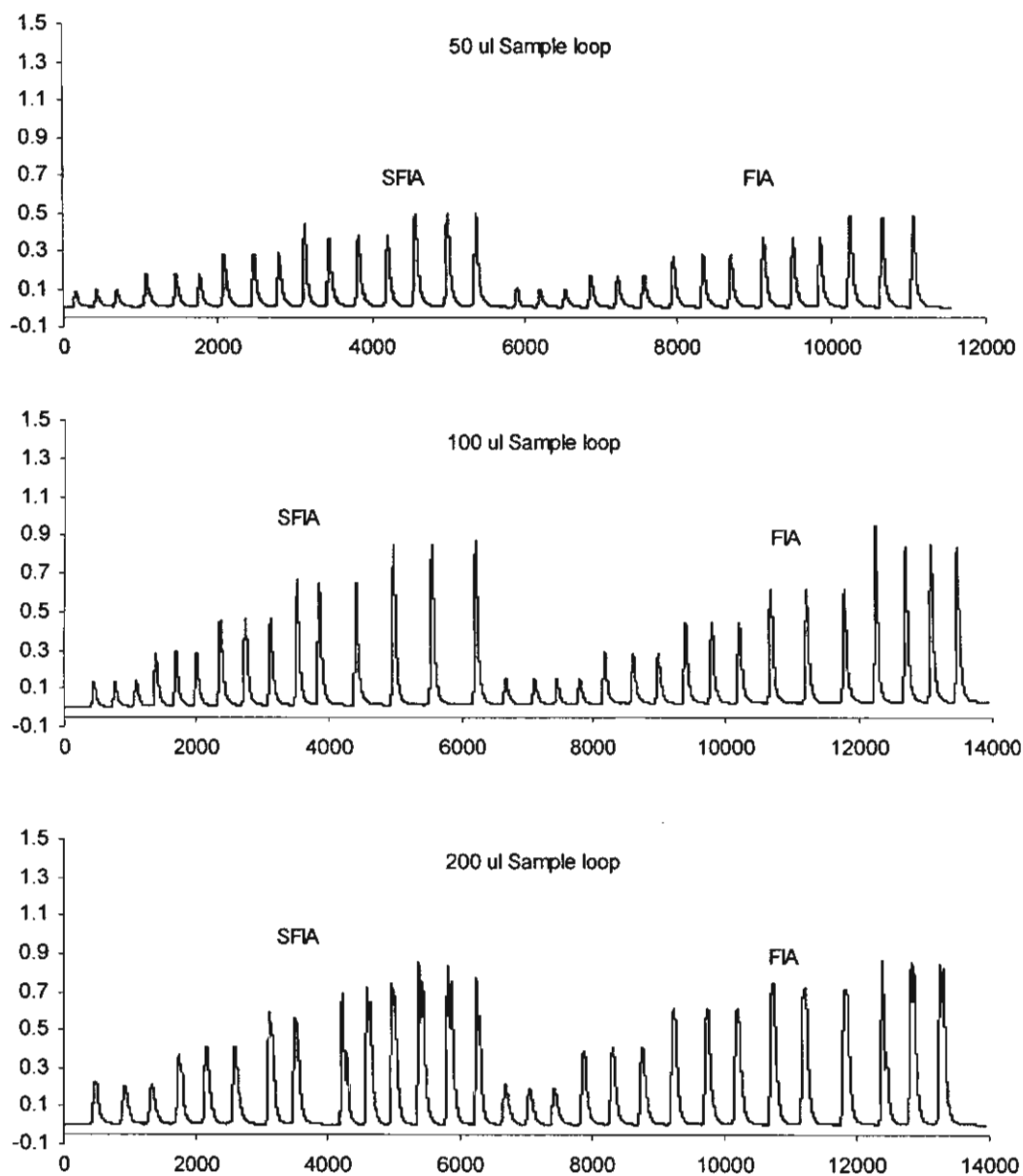
ความเข้มข้น (ppm)	ความกว้างของฐาน peak (50 μ l, Data point)		ความกว้างของฐาน peak (100 μ l, Data point)	
	FIA	SFIA	FIA	SFIA
0.20	101	135	114	107
0.50	198	198	251	215
1.00	232	206	342	267
1.50	264	226	339	286
2.00	276	240	401	358

นอกจากนี้การเติมฟองอากาศจะช่วยให้การผสม ระหว่าง reagent กับสารตัวอย่างเกิดได้ดีขึ้นทำให้ sensitivity ของระบบ SFIA ดีกว่าของระบบ FIA

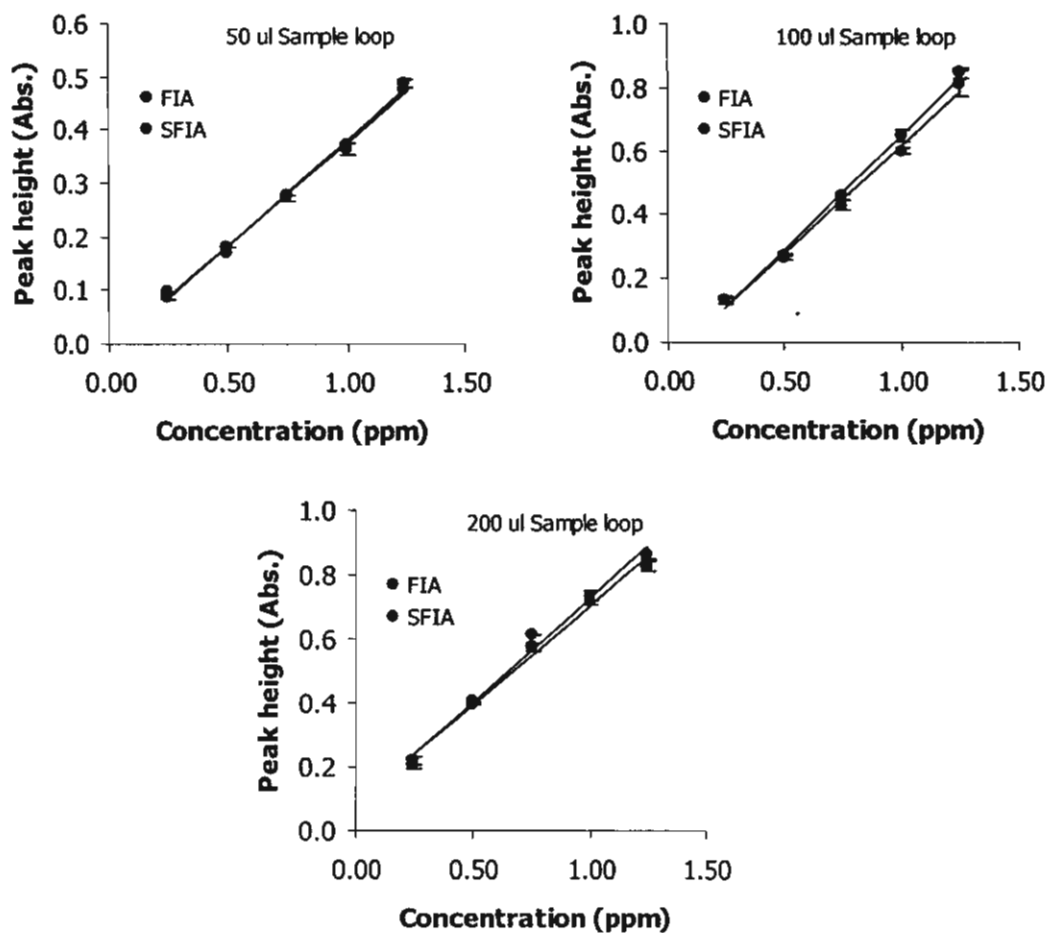
3.2.3 ปฏิกริยาของไอโรออน(II) กับ 1,10-phenanthroline

3.2.3.1 การศึกษามลของขนาด sample loop

ได้ทำการศึกษามลของขนาด sample loop ที่มีต่อ sensitivity โดยใช้ manifold ที่ไม่มี mixing coil และ vary ขนาดของ sample loop เป็น 50, 100 และ 200 μ l ได้ Figram และ Calibration graph ดังรูป



รูป 3.10 เปรียบเทียบ Peak signal ของระบบ FIA กับ SFIA เมื่อ sample loop มีขนาดต่างกัน



รูป 3.11 เปรียบเทียบ Calibration graph ของระบบ FIA กับ SFIA เมื่อ sample loop มีขนาดต่างกัน

ตาราง 3.7 เปรียบเทียบ Performance ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA เมื่อใช้ Sample loop ขนาดต่างๆ กัน

Sample loop (µl)	FIA			SFIA		
	slope	R ²	ลักษณะ peak	slope	R ²	ลักษณะ peak
50	0.384	0.9965	ปกติ	0.3933	0.9963	ปกติ
100	0.6813	0.9932	ปกติ	0.7227	0.9965	ปกติ
200	0.6543	0.9852	แตกเป็น 2 peak	0.6173	0.9892	แตกเป็น 2 peak

ตาราง 3.8 เปรียบเทียบ Sensitivity ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA เมื่อใช้ Sample loop ขนาดต่างๆ กัน

Sample loop (µl)	Calibration sensitivity		เพิ่มขึ้น (เท่า)
	FIA	SFIA	
50	0.384	0.3933	1.0
100	0.6813	0.7227	1.1
200	0.6543	0.6173	0.9

จากผลการทดลองพบว่าในระบบที่ไม่มี mixing coil การเพิ่มขนาดของ sample loop ไม่ได้ทำให้ sensitivity ของระบบ SFIA แตกต่างไปจากของระบบ FIA เลย แต่จะทำให้ peak ที่ได้แตก และ reproducibility ไม่ดี ทั้งในระบบ FIA และระบบ SFIA เนื่องการ dispersion เกิดได้น้อยเกินไปซึ่งผลที่ได้จะเหมือนกับปฏิกิริยาของการเกิดโมลิตินัมบลู

3.2.2.2 การศึกษาผลของความยาว mixing coil

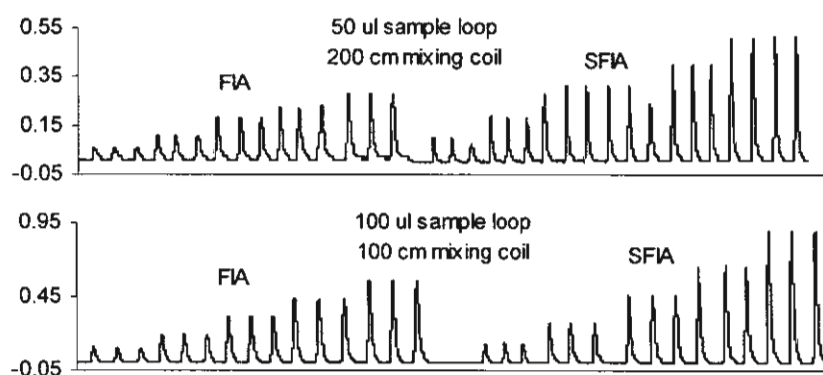
ได้ทำการศึกษาค่าผลของความยาว mixing coil ที่มีต่อ sensitivity โดย vary ความยาวของ mixing coil ตั้งแต่ 0, 50, 100 และ 200 cm และ ขนาดของ sample loop คงที่ 50 และ 100 μ l ได้ผลดังตาราง

ตาราง 3.9 เปรียบเทียบ Sensitivity ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA เมื่อใช้ sample loop ขนาด 50 μ l

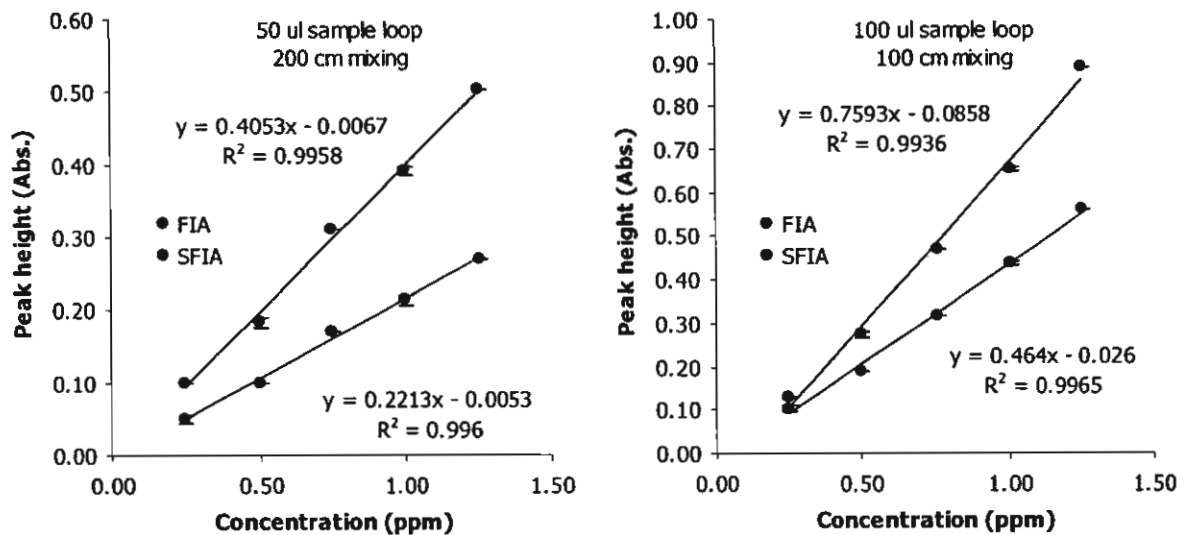
mixing coil (cm)	Calibration sensitivity		เพิ่มขึ้น (เท่า)
	FIA	SFIA	
0	0.392	0.393	1.00
50	0.294	0.340	1.16
100	0.244	0.402	1.65
200	0.2231	0.4024	1.80

ตาราง 3.10 เปรียบเทียบ Sensitivity ระหว่างระบบ FIA กับระบบ SFIA เมื่อใช้ sample loop ขนาด 100 μ l

mixing coil (cm)	Calibration sensitivity		เพิ่มขึ้น (เท่า)
	FIA	SFIA	
0	0.600	0.600	1.00
50	0.624	0.776	1.24
100	0.464	0.7593	1.64
200	0.360	0.580	1.61

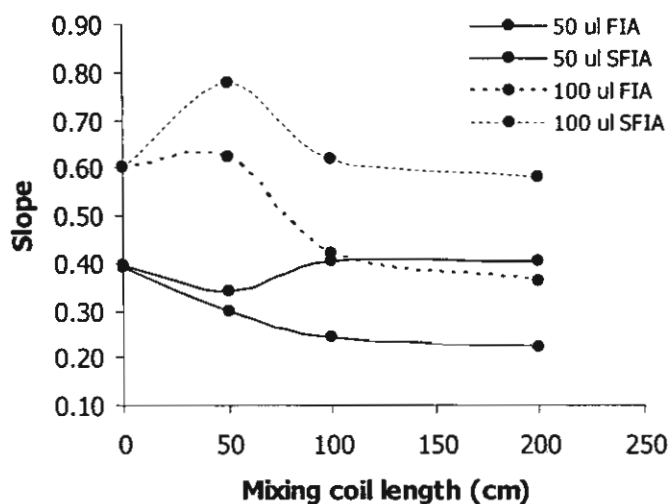


รูป 3.12 Peak signal ตัวอย่างของระบบ FIA กับ SFIA ที่สภาวะการทดลองที่ให้ผลที่ดีที่สุด



รูป 3.13 Calibration graph ตัวอย่างของระบบ FIA กับ SFIA ที่สภาวะการทดลองที่ให้ผลที่ดีที่สุด

จากผลการทดลองพบว่าในปฏิกิริยาของไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline การเพิ่มความยาวของ mixing coil ในระบบที่ใช้ sample loop ขนาด 50 µl นั้นไม่ได้ทำให้ sensitivity ของระบบ SFIA เพิ่มขึ้นและดูเหมือนจะคงที่ ส่วนในระบบ FIA การเพิ่มความยาวของ mixing coil จะทำให้ sensitivity ลดลง และเมื่อเปลี่ยนขนาดของ sample loop เป็น 100 µl sensitivity ของทั้งระบบ SFIA และ FIA จะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ mixing coil ยาว 50 cm แต่เมื่อเพิ่มความยาวของ mixing coil เป็น 100 และ 200 cm sensitivity ของทั้ง 2 ระบบจะลดลง ซึ่งต่างจากระบบของการเกิดโมลิบดีนัมบลู ดังแสดงในรูป



รูป 3.12 Sensitivity ของระบบ FIA และ SFIA ที่ความยาวของ mixing coil ต่างๆ กัน

อธิบายได้ว่าเนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline สามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วการเพิ่มความยาวของ mixing coil จึงไม่มีความจำเป็นและจะทำให้การ disperse เกิดมากขึ้น sensitivity จึงมีแนวโน้มที่จะ

ลดลง และเมื่อพิจารณาจาก sensitivity ที่ดีที่สุดของสภาวะการทดลองทั้งหมดของทั้งสองระบบ พบว่าระบบ SFIA สามารถเพิ่ม sensitivity จากระบบ FIA ที่เหมือนกันได้เพียง 1.24 เท่า โดยมี sensitivity เท่ากับ 0.776 และ 0.624 ตามลำดับ

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าระบบ SFIA ที่พัฒนาขึ้นสามารถเพิ่ม Sensitivity ได้มากกว่าระบบ FIA ที่มีลักษณะของ manifold ที่เหมือนเมื่อนำไปใช้กับปฏิกิริยาทั้ง 3 ชนิดได้แก่ ปฏิกิริยาระหว่างไอร์ออน(III) กับ salicylate ปฏิกิริยาของการเกิดโมลิบดีนัมบลู และปฏิกิริยาของไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline ทั้งนี้เนื่องจากการเติมอากาศจะทำให้การแพร่กระจาย (Dispersion) เกิดได้น้อยลงเพราะถูกจำกัดโดยฟองอากาศที่เติมลงไปคั่นระหว่าง reaction zone นอกจากนี้การเติมอากาศยังช่วยให้การผสม (Degree of mixing) ระหว่างรีเอเจนต์กับสารที่สนใจเกิดได้ดีขึ้น และพบว่าการเพิ่มขึ้นของ Sensitivity ของระบบ SFIA สำหรับปฏิกิริยาของไอร์ออน(III) กับ salicylate เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.18 ในขณะที่ระบบ SFIA ของโมลิบดีนัมบลู และไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline สามารถเพิ่ม sensitivity จากระบบ FIA ที่เหมือนกันได้สูงสุดประมาณ 2 เท่า

ระบบ SFIA ที่พัฒนาขึ้นเหมาะสำหรับปฏิกิริยาที่มีอัตราเร็วของปฏิกิริยาค่อนข้างช้า แต่สำหรับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้รวดเร็ว sensitivity ของระบบจะไม่ค่อยแตกต่างจากระบบ FIA ที่มีรูปแบบเหมือนกันมากนัก ข้อดีอีกอย่างหนึ่งของระบบ SFIA ก็คือช่วยลดผลเนื่องจากความแตกต่างของดรเรนซ์ที่หักเหแสงระหว่าง reagent กับสารมาตรฐานและ/หรือสารตัวอย่าง นอกจากนี้ manifold ของปฏิกิริยาหนึ่งๆ สามารถใช้กับปฏิกิริยาอื่นๆ ได้ เช่นในงานวิจัยนี้ manifold ของระบบ SFIA สำหรับปฏิกิริยาการเกิดโมลิบดีนัมบลู สามารถใช้ร่วมกับปฏิกิริยาของไอร์ออน(II) กับ 1,10-phenanthroline ได้

เอกสารอ้างอิง

- 1) G. W. Ewing, Instrumental Methods of Chemical Analysis, 3rd ed., McGraw-Hill Kogakusha, Ltd., 1960.
- 2) Z. D. Hill, P. MacCarthy, J. Chem. Educ., **63**, 1986, 162.
- 3) <http://www.chem.ucsb.edu/~laverman/Chem153/153labs/jobsmethod.PDF>
- 4) J. S. Fritz, G. H. Schenk, Quantitative Analytical Chemistry, 5th ed., Allyn and bacon Inc., Massachusetts, 1987
- 5) E. Martell, Stability Constants of Metal-ion Complexes, Alden & Mowbray ,Oxford, 1971.
- 6) K. Grudpan, P. Ampan, Y. Udnan, S. Jaysavati, S. Lapanantnoppakhun, J. Jakmunee, G.D. Christian and J. Ruzicka, "Stopped-flow Injection Simultaneous Determination of Phosphate and Silicate Using Molybdenum Blue", *Talanta*, 58(2002), 1319.
- 7) J. Jakmunee, Y. Udnan, R.Morrison, R. Bckett, I. Mckinnon and K. Grudpan, "A Low-Cost Light-Scattering Detector for the Flow-Injection Nephelometric Determination of Sulfate", *Anal. Sci.*, 19(2003),1495.
- 8) Y. Udnan, J. Jakmunee, S. Jayasavati, G.D. Christian, R.E. Synovec and K. Grudpan, "Cost-effective flow injection spectrophotometric assay of iron content in pharmaceutical preparations using salicylate reagent", *Talanta*, 64(2004), 11237.

ภาคผนวก

บทคัดย่อการประชุม (Poster Presentation)

นักวิจัยรุ่นใหม่ ... พบ ... เมธีวิจัยอาวุโส สกว.

13-15 ตุลาคม 2548

โรงแรมริเจนท์ เชียงใหม่ จ. เพชรบูรณ์

สนับสนุนโดย

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.)

กระทรวงศึกษาธิการ

และ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

Development of a novel continuous flow analysis technique by combining segmented flow analysis with flow injection analysis

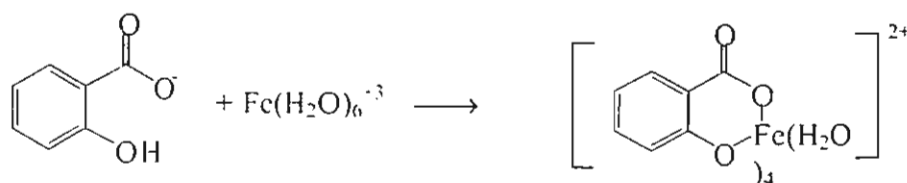
Yuthapong Udnanakongkarn.k psu.ac.th .aroon Jakmunee^{b,c} and Kate Grudpan^{b,c*}

^aDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Naresuan University, Phisanulok, 65000, Thailand

^bDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

^cInstitute of Science and Technology Research and Development Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

Abstract—A novel continuous flow analysis technique by combining segmented flow analysis with flow injection analysis was developed and will be applied for the reaction between iron(III) and salicylate. In this work a novel method, using small scale of flow system, for determination of mole ratio between iron(III) and salicylate in a complex was studied. It was found that the mole ratio between iron(III) and salicylate was about 1:1. The method will be applied to another complexing ion.



Keywords— Continuous flow analysis, Segmented flow analysis, Flow injection analysis, Iron(III), Salicylate, Small scale, Mole ratio

* Corresponding author. Tel.: 0-5526-1000-4 ext. 3440; fax: 0-55 26-1000 ext. 3401; e-mail: yuth13@yahoo.com



The 5th Annual Symposium on TRF Senior Research Scholar on “Development of Micro-and Nano-scale Analysis by Flow-based Techniques II”

12 August 2006

Chiang Mai University
Chiang Mai, THAILAND

Research Laboratory for Development of Analytical Instrumentation
Institute for Science and Technology Research and Development

**Research Laboratory for Excellence in Development of Miniaturization
in Flow-based Analysis**
Faculty of Science

Chiang Mai University

Under auspices of

The Thailand Research Fund (TRF)



Mole Ratio Determination and Photometric Titration with a Small Scale Continuous Flow System

Yuthapong Udnan¹, Jaroon Jakmunee^{2,3} and Kate Grudpan^{2,3}

¹ *Department of Chemistry, Faculty of Science, Naresuan University, Phisanulok, 65000, Thailand*

² *Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand*

³ *Institute for Science and Technology Research and Development, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand*

A small scale continuous flow system for mole ratio determination and photometric titration was developed. The system consisted of a peristaltic pump, a small reaction vessel, magnetic stirrer with a small magnetic bar, flow cell and detector. A continuous reaction was performed in the reaction vessel. The reagent was added continuously by a micro pipette. The system was well applied for the determination of mole ratio of iron complexes in various pH media solution and also for photometric titration between iron(III) and EDTA. It was found that the system yielded in high accuracy and precision results. The total volume used in one experiment was less than that of the batch system whereas the more data points were obtained.