



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ เทคนิคโฟลอินเจกชันอย่างง่ายสำหรับการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว SIMPLE FLOW INJECTION SPECTROPHOTOMETRIC FOR DETERMINATION OF LEAD

โดย รศ.ดร.วิรัช เรืองศรีตระกูล และคณะ

มิถุนายน 2552

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ เทคนิคฟลออินเจคชั่นอย่างง่ายสำหรับการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว
SIMPLE FLOW INJECTION SPECTROPHOTOMETRIC
FOR DETERMINATION OF LEAD

คณะผู้วิจัย

1. รศ.ดร. วิรัช เรืองศรีตระกูล
2. รศ.ดร. สายสุนีย์ เหลียวเรืองรัตน์
3. Prof. Dr. Alberto Chisvert

สังกัด

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Faculty of Sciences, University of Alicante
SPAIN

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

เทคนิคโฟลอินเจกชันอย่างง่ายสำหรับการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว

วิรัช เรืองศรีตระกูล¹, Alberto Chisvert², สายสุนีย์ เหลี้ยวเรืองรัตน์³

¹ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย

² Faculty of Sciences, University of Alicante, SPAIN

³ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเทศไทย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว (II) โดยเปรียบเทียบวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริกซึ่งเป็นวิธีแบบดั้งเดิมกับวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นคือ วิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส (Flow Injection Analysis; FIA) ซึ่งมีความไวต่อการวิเคราะห์ มีความถูกต้องและแม่นยำ มากกว่าวิธีแบบดั้งเดิม รวมทั้งมีการใช้ เครื่องมือที่มีราคาถูก และใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย สารละลายผสมระหว่างสารละลายไดโซโซน สารละลายโซเดียมไดดีซิลซัลเฟตและสารละลายกรดซัลฟูริก เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายตะกั่ว จะให้สารละลายสีน้ำเงินซึ่งดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นที่ 500 นาโนเมตร และถูกนำมาใช้ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมรวมทั้งเปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน

วิธีสเปกโตรโฟโตเมตริก จะได้กราฟมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 2.0–15.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0.9985 ตัวทำละลายของสารละลายไดโซโซนที่เหมาะสมคือ สารละลาย 75 % เอทานอล อัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายผสม Dithizone: SDS: H_2SO_4 คือ 1: 5: 3 และความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายทั้ง 3 ชนิด คือ 0.0025 % (w/v), 0.8 และ 0.75 โมลต่อลิตร ตามลำดับ ลำดับในการผสม คือ Dithizone, H_2SO_4 และ Sodium Dodecyl Sulfate ตามลำดับ ค่าความเข้มข้นของสารที่ต่ำสุดที่สามารถตรวจพบและสามารถตรวจวัดปริมาณได้ เท่ากับ 0.39 $\mu\text{g ml}^{-1}$ และ 1.30 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ตามลำดับ ได้เปอร์เซ็นต์ร้อยละการวิเคราะห์แบบย้อนกลับของตะกั่วเท่ากับ 97.00 – 110.50 %

การวิเคราะห์โดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส ใช้การวัดที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร จะได้กราฟมาตรฐานที่มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1.0-12.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0.9981 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย H_2SO_4 , Sodium Dodecyl Sulfate และ Dithizone คือ 0.75, 0.4 โมลต่อลิตร และ 0.0025 % (w/v) ตามลำดับ ความยาวท่อที่ใช้ในการผสมสารมีด้วยกัน 2 ตัว คือ MC 1 และ MC 2 ค่าที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ คือ ความยาว 100 และ 150 cm ตามลำดับ อัตราการไหลของตัวทำละลายทั้ง 3 ตัวคือ H_2SO_4 , Sodium Dodecyl Sulfate และ Dithizone มีค่าที่เหมาะสมเท่ากับ 2.0, 2.0 และ 1.5 มิลลิเมตรต่อนาที ตามลำดับ และปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ คือ 150 μl ค่าความเข้มข้นของสารที่ต่ำสุดที่สามารถตรวจพบและสามารถตรวจวัดปริมาณได้ เท่ากับ 0.027 $\mu\text{g ml}^{-1}$ และ 0.090 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ตามลำดับ ได้เปอร์เซ็นต์ร้อยละการวิเคราะห์แบบย้อนกลับของตะกั่ว เท่ากับ 97.25 – 106.00 % การศึกษาผลรบกวนพบว่าจากการเติมไอออนเข้าไปไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมการเปรียบเทียบการวิเคราะห์กับวิธีมาตรฐานให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากผลการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า วิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสที่ถูกพัฒนาขึ้นนี้ เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโลหะตะกั่วได้

กุญแจคำ : โฟลอินเจกชันอะนาไลซิส, ตะกั่ว, ไดโซโซน

SIMPLE FLOW INJECTION SPECTROPHOTOMETRIC FOR DETERMINATION OF LEAD

Wirat Ruengsitagoon¹, Alberto Chisvert², Saisunee Liawruangrath³

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002 THAILAND

² Faculty of Sciences, University of Alicante, SPAIN

³ Faculty of Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200 THAILAND

ABSTRACT

The objective of this study is comparison of methodologies for lead (II) analysis by using conventional UV - Visible spectrophotometric and developed flow injection analysis (FIA) method. This FIA method has higher sensitivity, accuracy, precision than conventional method including uses an inexpensive instrument and less volume of sample. The mixture solution of diphenylthiocarbazone (dithizone), sodium dodecyl sulfate (SDS) and sulfuric acid (H₂SO₄) were reacted with Pb (II), resulting in an intense blue complex with suitable maximum absorption at wavelength 500 nm. The mixture was used to optimize and compare with a standard method.

The standard curve of UV - visible spectrophotometric method was done in the concentration range of 2.0 – 15.0 µg ml⁻¹ and the correlation coefficient was 0.9985. The suitable solvent for dithizone is 75 % ethanol. The appropriate ratio of mixture between Dithizone: SDS: H₂SO₄ was 1: 5: 3. The optimal concentration of each solutions in the mixture was 0.0025 % (w/v), 0.8 and 0.75 mol l⁻¹, respectively. The mixing order of these solutions were dithizone, sulfuric and sodium dodecyl sulfate, respectively. The detection limit and the quantification limit were 0.39 and 1.30 µg ml⁻¹, respectively. The percentage recovery of Pb (II) was found in the range of 97.00 – 110.50 %.

The flow injection analysis method, the measuring wavelength was 500 nm. The standard curve was done in concentration range of 1.0 – 12.0 µg ml⁻¹ and the correlation coefficient was 0.9981. The optimal concentration of sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and diphenylthiocarbazone were 0.75, 0.4 mol l⁻¹ and 0.0025 % (w/v), respectively. The optimal reaction coil length of MC 1 and MC 2 were 100 and 150 cm, respectively. The flow rate of sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and diphenylthiocarbazone were 2.0, 2.0 and 1.5 ml min⁻¹, respectively. The appropriate sample volume was 150 µl. The detection limit and the quantification limit were 0.027 and 0.090 µg ml⁻¹. The percentage recovery of Pb (II) was found in the range of 97.25 – 106.00 %. There was no interference effects from traditional ions. This methods was compared with the standard method for analysis of Pb (II) by using all optimal parameters. It had shown no significant difference at the 95% confidence. From the results, we could concluded that the developed FIA method has an efficiency method for Pb (II) analysis.

Keywords : Flow Injection Analysis, Lead, Dithizone

Executive Summary

ได้ศึกษาวิธีการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว (Pb^{2+}) โดยใช้ *วิธีแบบคั่งเดิม (Batch Analysis)* ได้ทราบว่าปฏิกิริยาพื้นฐานระหว่างไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}) กับ 1,5-Diphenylthiocarbazone สามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถตรวจวัดการดูดกลืนคลื่นแสง ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรีได้ และการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการวัดการดูดกลืนคลื่นแสงได้ โดยใช้สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) ช่วยในการขยายสัญญาณ (Enhancer) ได้ จากการศึกษาเบื้องต้นนี้ได้ศึกษาในรายละเอียดของสภาวะการทดลองต่อไปนี้ คือ

- ความยาวคลื่นที่เหมาะสมของการวัดสารประกอบเชิงซ้อน ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไอออนตะกั่ว (Pb^{2+}) กับ 1,5-Diphenylthiocarbazone ด้วยการวัดการดูดกลืนคลื่นแสง
- ศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน พบการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนจากปฏิกิริยาของรีเอเจนต์ (1,5-Diphenylthiocarbazone) สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) กรณีนี้คือ Sodium dodecyl sulfate และสารละลายตัวพา (Carrier) ในกรณีนี้ คือกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ทำการบันทึกสเปกตรัมเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม
- อัตราส่วนการผสมกันของรีเอเจนต์ คือ 1,5-Diphenylthiocarbazone : Surfactant : H_2SO_4 ที่ให้ประสิทธิภาพของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เหมาะสมที่สุด
- ความเข้มข้นที่เหมาะสมของรีเอเจนต์ คือ 1,5-Diphenylthiocarbazone, Surfactant และ H_2SO_4 ที่ให้ประสิทธิภาพของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เหมาะสมที่สุด
- ชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับ 1,5-Diphenylthiocarbazone ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมมีการใช้ IsoAmyl alcohol ซึ่งพบปัญหาว่าหากนำไปพัฒนาในระบบโฟลอินเจกชันจะพบสารละลายมีการแยกชั้นกันอยู่ไม่สามารถใช้ในระบบท่อได้ จึงได้ศึกษาผลของแอลกอฮอล์ชนิดเมธานอลและเอทานอล
- ลำดับของการผสมของสารละลาย (Order of Mixing) เพื่อเป็นประโยชน์ในการออกแบบระบบโฟลอินเจกชัน
- สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว โดยใช้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อดูความเป็นไปได้ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวไปสู่ระบบโฟลอินเจกชัน

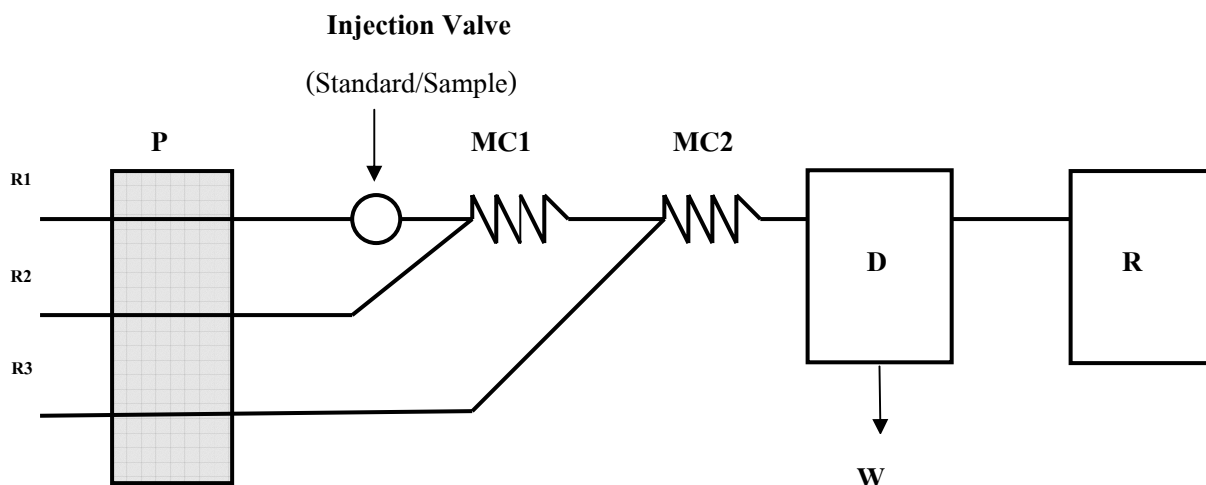
ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี

Parameter Studied	Range Studied	Optimum Level
Wavelength (nm)	200-700	500
Mole Ratio (Dithizone: SDS: H ₂ SO ₄)	1:5:1, 3:5:1, 5:5:1, 1:5:5, 1:3:1, 1:7:1, 1:5:3	1:5:3
SDS Concentration (mol l ⁻¹)	0.1,0.2,0.4,0.6, 0.8, 1.0	0.8
Dithizone Concentration (%w/v)	0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01, 0.02	0.0025
H ₂ SO ₄ Concentration (mol l ⁻¹)	0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5	0.75
Ethanol (%v/v)	60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 , 100	75
Mixing Order	D:S:H, S:H:D, H:D:S, D:H:S, H:S:D, S:D:H	D:H:S (Dithizone: H ₂ SO ₄ : SDS)

ตารางที่ 2 ผลที่ได้จากการประเมินวิธีการวิเคราะห์โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี

Analytical Characteristics	Founded
Linear Equation	$y = 0.0077x - 0.0013$
Slope	0.0077
Correlation coefficient : r^2	0.9985
Linear Ranges ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	2-15
LOD ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	0.39
LOQ ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	1.30

จากการศึกษาปฏิกิริยาพื้นฐานได้ออกแบบระบบโพลินเจกชั่น ดังได้แสดงในรูปที่ 1 โดยมีกรด (Inject) สารละลายตะกั่วเข้าไปในสารละลายตัวพา (H₂SO₄ ; R1) เพื่อให้ทำปฏิกิริยากับ 1,5-Diphenyl -thiocarbazone (Dithizone ; R3) โดยใช้สารลดแรงตึงผิว (Sodium dodecyl sulfate ; R2) เป็นตัวช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการวิเคราะห์ (Enhancer)



รูปที่ 1 การออกแบบระบบโฟลอินเจกชัน (Flow Manifold) สำหรับการพัฒนาเทคนิคโฟลอินเจกชันอย่างง่ายสำหรับการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว

(R1, R2, R3 : Reagents ; P : Pump , MC1, MC2 : Mixing Coils ; D : Detector ; R ; Chart Recorder , W ; Waste)

ได้พัฒนาระบบโฟลอินเจกชันด้วยพื้นฐานการออกแบบระบบโฟลอินเจกชัน ทำการประเมินวิธีวิเคราะห์ (Validation Method) โดยศึกษาสภาวะการเปลี่ยนแปลงของเงื่อนไขการวิเคราะห์ต่างๆ ดังนี้

- ความเข้มข้นที่เหมาะสมของรีเอเจนต์ คือ 1,5-Diphenylthiocarbazone, Surfactant และ H_2SO_4 ที่ให้ประสิทธิภาพของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เหมาะสม โดยการวัดความสูงของสัญญาณ (Peak Height)
- ความเร็วที่เหมาะสมของรีเอเจนต์สำหรับใช้ในระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส สำหรับสารละลาย 1,5-Diphenylthiocarbazone, Surfactant และ H_2SO_4 ที่ให้ประสิทธิภาพของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนเหมาะสมที่สุด โดยการวัดความสูงของสัญญาณ (Peak Height)
- การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 1 ซึ่งผสมระหว่างสารละลายตะกั่ว Pb (II) พร้อมด้วยสารละลายตัวพา H_2SO_4 ผสมกับสารละลาย Sodium dodecyl sulfate ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลอง
- การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 2 ซึ่งผสมระหว่างสารละลายผสมของสารละลายตะกั่ว Pb (II) พร้อมด้วยสารละลายตัวพา H_2SO_4 และ

Sodium dodecyl sulfate ผสมกับสารละลาย 1,5-Diphenylthiocarbazone (Dithizone) ที่เหมาะสม
สำหรับการใช้ในการทดลอง

- การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ (Injection Volume) ในการวิเคราะห์
โดยทำการฉีดเข้าระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสผ่าน Injector แบบแรงดันต่ำ
- สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานตะกั่วโดยใช้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม
- คำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOD) และค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์
ปริมาณ (LOQ)
- ศึกษาผลการรบกวน (Interferences) ของไอออน ความแม่นยำของการวิเคราะห์ซ้ำ (Re-
peatability) ความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ด้วยการเปรียบเทียบวิธีโฟลอินเจกชันอะนา-
ไลซิสกับวิธีอะตอมมิคแอบซอร์บชันสเปกโตรเมตรี และทำการหาความแตกต่างของวิธีทั้งสองโดย
การทดสอบทางสถิติ

ตารางที่ 3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว Pb(II) โดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส

Parameter Studied	Range Studied	Optimum Level
Wavelength (nm)	200 - 700	500
H ₂ SO ₄ Concentration (mol l ⁻¹)	0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5	0.75
SDS Concentration (mol l ⁻¹)	0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8	0.4
Dithizone Concentration (%w/v)	0.000625, 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01	0.0025
H ₂ SO ₄ Flow Rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	2.0
SDS Flow Rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	2.0
Dithizone Flow Rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	1.5
Mixing Coil [I] (cm) [Pb(II) + H ₂ SO ₄ + SDS]	50, 100, 150, 200, 250	100
Mixing Coil [II] (cm) [Pb(II) + H ₂ SO ₄ + SDS + Dithizone]	50, 100, 150, 200, 250	150
Injection Volume (μl)	50, 100, 150, 200, 250	150

ตารางที่ 4 ผลที่ได้จากการประเมินผลการทดลองโดยวิธีโฟลอินเจกซ์อะนาไลซิส

Analytical Characteristics	Founded
Linear Equation	$y = 127.96x - 69.935$
Slope	127.96
Correlation coefficient : r^2	0.9981
Linear Ranges ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	1-12
LOD ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	0.027
LOQ ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	0.090

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ได้สนับสนุนการวิจัย ภายใต้โครงการพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ ประจำปี พ.ศ. 2551 รวมทั้งผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านสถานที่สำหรับการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สายสุณีย์ เหลือขวัญรัตน์ อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเทศไทย และ Prof. Dr. Alberto Chisvert อาจารย์ประจำภาควิชาเคมีวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย Alicante ประเทศสเปน ที่ได้ให้คำแนะนำในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งให้คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับงานวิจัยสำหรับการส่งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ผลงานวิจัย ในวารสารวิจัยระดับนานาชาติ

ผู้วิจัย

มิถุนายน 2552

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	III
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	IV
Executive Summary	V
กิตติกรรมประกาศ	X
สารบัญ	XI
สารบัญตาราง	XII
สารบัญรูปภาพ	XIV
บทที่ 1	1
1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของปัญหา	1
1.2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	11
1.4 ขอบเขตการวิจัย	11
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	11
บทที่ 2	12
2.1 อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมี	12
2.2 วิธีการศึกษา	12
2.3 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี	14
2.4 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส	15
2.5 ประเมินวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส	16
บทที่ 3 ผลการศึกษา	17
3.1 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี	17
3.2 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส	32
บทที่ 4 สรุปผลการศึกษา	57
4.1 สรุปผลการศึกษา	57
4.2 ข้อเสนอแนะ	61
4.3 สิ่งที่จะพัฒนาต่อไป	61
เอกสารอ้างอิง	62
ภาคผนวก	65
Manuscript	68

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของรีเอเจนต์ Dithizone: SDS: H_2SO_4	18
ตารางที่ 3.2 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วน Dithizone: SDS: H_2SO_4 ต่อค่าสมการเส้นตรง	19
ตารางที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone)	20
ตารางที่ 3.4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายไดไธโซน (Dithizone) ต่อค่าสมการเส้นตรง	21
ตารางที่ 3.5 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS)	22
ตารางที่ 3.6 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) ต่อค่าสมการเส้นตรง	23
ตารางที่ 3.7 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4)	24
ตารางที่ 3.8 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ต่อค่าสมการเส้นตรง	25
ตารางที่ 3.9 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายเอทานอลและเมทานอลในการละลายสาร 1,5-Diphenylthiocarbazone (Dithizone)	26
ตารางที่ 3.10 การเปลี่ยนแปลงลำดับการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว Dithizone: SDS: H_2SO_4	27
ตารางที่ 3.11 การเปลี่ยนแปลงของลำดับการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัวต่อค่าสมการเส้นตรง	29
ตารางที่ 3.12 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลาย Pb (II) ที่ความเข้มข้น 2-15 $\mu g\ ml^{-1}$ ที่ให้กราฟมาตรฐานที่เป็นเส้นตรง	29
ตารางที่ 3.13 การศึกษาประสิทธิภาพการวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Recovery) ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี (n=5)	31
ตารางที่ 3.14 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4)	33
ตารางที่ 3.15 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ต่อค่าสมการเส้นตรง	34
ตารางที่ 3.16 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS)	35
ตารางที่ 3.17 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) ต่อค่าสมการเส้นตรง	36
ตารางที่ 3.18 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone)	37
ตารางที่ 3.19 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone) ต่อค่าสมการเส้นตรง	38
ตารางที่ 3.20 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายกรดซัลฟูริก	39
ตารางที่ 3.21 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายกรดซัลฟูริกต่อค่าสมการเส้นตรง	40
ตารางที่ 3.22 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต	41
ตารางที่ 3.23 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟตต่อค่าสมการเส้นตรง	42

	หน้า
ตารางที่ 3.24 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายไดโครโซน	43
ตารางที่ 3.25 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายไดโครโซนต่อค่าสมการเส้นตรง	44
ตารางที่ 3.26 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 1	45
ตารางที่ 3.27 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อ (Reaction coil) หมายเลข 1 ต่อค่าสมการเส้นตรง	46
ตารางที่ 3.28 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 2	47
ตารางที่ 3.29 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อ (Reaction coil) หมายเลข 2 ต่อค่าสมการเส้นตรง	48
ตารางที่ 3.30 การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ (Injection Volume)	49
ตารางที่ 3.31 การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรสารตัวอย่าง (Injection Volume) ต่อค่าสมการเส้นตรง	50
ตารางที่ 3.32 ผลการศึกษาผลรบกวนของไอออนชนิดต่าง ๆ ต่อการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว	51
ตารางที่ 3.33 ค่าความสูงของสัญญาณสารละลายมาตรฐาน Pb (II) ที่ความเข้มข้น 1-12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (n=5)	52
ตารางที่ 3.34 การศึกษาประสิทธิภาพการวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Recovery) ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส (n=5)	54
ตารางที่ 3.35 การศึกษา Repeatability ของการวิเคราะห์หาปริมาณ Pb(II) (n=12)	55
ตารางที่ 3.36 ค่าการวัดปริมาณตะกั่วในตัวอย่างน้ำโดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสกับวิธีอะตอมมิกสเปกโทรโฟโตเมตรี	56
ตารางที่ 4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี	57
ตารางที่ 4.2 ผลที่ได้จากการประเมินวิธีการวิเคราะห์โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี	58
ตารางที่ 4.3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส	59
ตารางที่ 4.4 ผลที่ได้จากการประเมินผลการทดลองโดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส	59

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1.1	เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer อาศัยหลักการเกิดอะตอมอิสระซึ่งจะมีการดูดเปลวไฟระหว่างก๊าซอะเซทิลีนและอากาศ	7
รูปที่ 1.2	เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่จำเป็นต้องมีหลอดให้พลังงานที่มาจากโลหะชนิดเดียวกับธาตุที่ทำการวิเคราะห์ซึ่งทำให้มีค่าใช้จ่ายที่สูง	8
รูปที่ 1.3	ส่วนประกอบอย่างง่ายของระบบ Flow Injection analysis	9
รูปที่ 1.4	ระบบ Flow Injection Analysis แบบง่ายที่สามารถจัดสร้างขึ้นได้ในห้องทดลอง	9
รูปที่ 1.5	สูตรโครงสร้างของไดไธโซน	10
รูปที่ 1.6	สูตรโครงสร้างของโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต	10
รูปที่ 3.1	สเปกตรัมของสารมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ที่ได้จากค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200 – 700 nm	17
รูปที่ 3.2	การเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วน Dithizone: SDS: H ₂ SO ₄	19
รูปที่ 3.3	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone)	21
รูปที่ 3.4	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS)	23
รูปที่ 3.5	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H ₂ SO ₄)	25
รูปที่ 3.6	การเปลี่ยนแปลงลำดับการผสมรีเอเจนต์	28
รูปที่ 3.7	การเปลี่ยนแปลงเข้มข้นของสารตะกั่ว Pb (II) ที่ความเข้มข้น 2 - 15 µg ml ⁻¹	30
รูปที่ 3.8	การออกแบบระบบโฟลอินเจกชัน (Flow Manifold) สำหรับการพัฒนาเทคนิคโฟลอินเจกชันอย่างง่ายสำหรับการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว	32
รูปที่ 3.9	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H ₂ SO ₄)	34
รูปที่ 3.10	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS)	36
รูปที่ 3.11	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone)	38
รูปที่ 3.12	การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow Rate) สารละลายกรดซัลฟูริก (H ₂ SO ₄)	40
รูปที่ 3.13	การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow Rate) สารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS)	42
รูปที่ 3.14	การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow Rate) สารละลายไดไธโซน (Dithizone)	44
รูปที่ 3.15	การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 1	46
รูปที่ 3.16	การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 2	48
รูปที่ 3.17	การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ (Injection Volume)	50
รูปที่ 3.18	กราฟสารละลายมาตรฐาน Pb (II) ที่ความเข้มข้น 1-12 µg ml ⁻¹ (n=5)	52

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของปัญหา

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณไอออน(Ion)นั้นเป็นสิ่งที่จำเป็นในปัจจุบัน ไม่ว่าจะเป็นการวิเคราะห์ไอออนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับคุณภาพชีวิตโดยตรง เช่น ปริมาณไอออนที่เป็นองค์ประกอบของอาหาร อาหารเสริม วิตามิน น้ำ น้ำดื่ม น้ำแร่ รวมทั้งเกลือแร่ และแร่ธาตุต่างๆ เช่น ปริมาณของเหล็ก (Fe) ดีบุก (Sn) อะลูมิเนียม(Al) สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) โพแทสเซียม (K) เป็นต้น หรือในปัจจุบันการวิเคราะห์ไอออนในส่วนที่เป็นโลหะหนัก จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับ การควบคุมคุณภาพของสิ่งต่างๆ ได้แก่สิ่งแวดล้อม อาหาร หรือเภสัชภัณฑ์ ซึ่งนับวันจะมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น เป็นต้น เช่น ปริมาณของโลหะหนัก ตะกั่ว (Pb) สารหนู (As) หรือสารปรอท (Hg) เป็นต้น การตรวจวิเคราะห์ปริมาณไอออนต่างๆเหล่านี้ ในปัจจุบันสามารถทำได้โดยใช้เครื่อง Atomic Absorption / Atomic Emission Spectrophotometer หรือเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า เช่น Polarography แต่ข้อจำกัดในการใช้เครื่องมือดังกล่าว คือ เครื่องมือดังกล่าวมีราคาที่สูงและค่าใช้จ่ายของการตรวจวิเคราะห์ต่อตัวอย่างค่อนข้างสูง และจำเป็นต้องใช้บุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะด้าน ดังนั้นในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ปริมาณโลหะตะกั่ว โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชัน(Flow Injection Analysis) หรือที่เรียกย่อๆว่า : FIA ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถพัฒนาขึ้นมาโดยใช้เครื่องมือพื้นฐานที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไป ซึ่งจะได้พัฒนาการวิเคราะห์ให้เป็นระบบกึ่งอัตโนมัติที่จะสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้รวดเร็ว (High sample throughput rate) ที่มีความเร็วในการวิเคราะห์ได้สูงถึง 30-100 ตัวอย่างต่อชั่วโมง จะเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ประหยัด (Cost effectiveness) และใช้เครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ที่ง่าย (Simple instrumentation) รวมทั้งบุคลากรที่ใช้งานก็ไม่จำเป็นต้องมีความรู้ความสามารถเฉพาะด้านก็จะสามารถปฏิบัติงานได้ดีเมื่อได้ฝึกหัดหรือทดลองใช้ในเวลาอันสั้น อีกทั้งยังสามารถนำไปพัฒนาต่อเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไอออนในตัวอย่างต่างๆที่เหมาะสมต่อไป เช่น การควบคุมคุณภาพอาหาร หรือ ตัวอย่างน้ำจากกระบวนการกำจัดน้ำเสีย หรือ การวิเคราะห์ปริมาณไอออน โดยเฉพาะสารตะกั่วในตำรับยาแผนไทย (Traditional drugs) เป็นต้น

งานวิจัยนี้จะได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว ด้วยวิธีโฟลวอินเจกชัน (Flow Injection Analysis ; FIA) โดยอาศัยหลักการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (Complexing Compounds) ระหว่างไอออนตะกั่วกับ 1,5-Diphenylthiocarbazone ซึ่งสามารถพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าว

ให้สามารถใช้งานร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคโฟลอินเจกชัน เพื่อให้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณไอออนโลหะตะกั่วแบบกึ่งอัตโนมัติได้ต่อไป ซึ่งจะเป็นวิธีการตรวจวัดที่ง่าย ให้ความสะดวกในการตรวจวัด มีค่าใช้จ่ายที่ต่ำ การนำไปประยุกต์ใช้งานสามารถนำไปใช้งานในภาครัฐและผู้ประกอบการเอกชน เพื่อให้การควบคุมปริมาณไอออนของโลหะดังกล่าวในอาหาร เกษษัณท์ หรือในด้านสิ่งแวดล้อมให้เป็นไปตามมาตรฐาน (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98, 2529.) และมาตรฐานสากลต่อไป

1.2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (literature review) และเอกสารอ้างอิง

กมลดา ต้นธีระธรรม, เขียวลักษณ์ วรรณะพิศิษฐ์ และจุไรรัตน์ รักวาทิน (2531) ได้ศึกษาการตรวจวัดปริมาณตะกั่วในยาแผนโบราณ ชนิดยาผง ยาเม็ด ยาลูกกลอน และยาน้ำแขวนตะกอน ด้วยวิธีอะตอมมิกแอ็บซอร์ปชันสเปกโตรเมตรี พบการปนเปื้อนของตะกั่วจำนวน 58 ตัวอย่างจากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 465 ตัวอย่าง

อมลา วงศ์พุทธรพิทักษ์ (2537) ได้ศึกษาการปนเปื้อนของอาหารไทยระหว่าง พ.ศ. 2530-2534 จากการศึกษาการปนเปื้อนในด้านเคมี โดยศึกษาโลหะจำนวน 10 ชนิด ในผักผลไม้ สัตว์ทะเล สัตว์ปีก สรุปได้ว่าอาหารทะเลมีการปนเปื้อนของสารปรอท และแคดเมียม มากกว่าอาหารอื่น สำหรับตะกั่วเคยพบสูงมากในไข่เยี่ยวม้า แต่หลังจากการปรับเปลี่ยนวิธีการผลิต ทำให้ปริมาณตะกั่วลดลงอยู่ในมาตรฐานที่กำหนดไว้

Lau, O. et al. (1985) ได้ทำการศึกษาการหาปริมาณโลหะปรอทในยาเม็ด (ตำรับยาจีน) โดยวิธีการทำให้เป็นไอ (Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry) โดยทำการเตรียมตัวอย่างโดยทำการย่อยตัวอย่างด้วยสารละลายของกรดไฮโดรคลอริก และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แล้วทำการวัดปริมาณโลหะปรอทโดยวิธีการทำให้เป็นไอ และได้ทำการศึกษาผลที่ได้จากการแยกโลหะปรอทจากตัวอย่างยา โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลร่วมกับกรดประเภทอื่นๆ จำนวนทั้งหมดสามอัตราส่วน พบว่าความถูกต้องของการวิเคราะห์มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานร้อยละ 3.2 มีค่าเปอร์เซ็นต์การสกัดแบบย้อนกลับ (Percent Recoveries) ร้อยละ 97

Sheppard, B.S., Heitkemper, D.T. และ Gastin, C.M. (1994) ได้ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสารหนู แคดเมียมและตะกั่วในอาหารทะเล โดยมีการเตรียมตัวอย่างโดยใช้ระบบไมโครเวฟ (Microwave Digestion) และวัดปริมาณโลหะเหล่านี้โดยเทคนิค ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission and Mass Spectrometry) ได้ทำการศึกษาในตัวอย่างอาหารประเภทกุ้ง ปลาและหอย พบว่าการวิเคราะห์ให้ความถูกต้องในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะ

สารหนู ตะกั่วและแคดเมียม จากการวัดจำนวนซ้ำๆ จำนวน 10 ครั้ง ค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 10.0, 0.067 และ 0.069 ไมโครกรัม ตามลำดับ โดยพบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 2.1, 5.6 และ 2.5 % ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์การสกัดแบบย้อนกลับ (Percent Recoveries) อยู่ในช่วงร้อยละ 75- 117

Yaman, M. และ Gucer, S. (1995) ได้ทำการศึกษาปริมาณโลหะแคดเมียมและตะกั่วในตัวอย่างผัก โดยวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค Activated-Carbon Enrichment แล้ววัดปริมาณโลหะด้วยเทคนิค Atomic Absorption Spectroscopy เทคนิคการเตรียมสารตัวอย่างจะใช้สารละลาย 8-hydroxyquinoline หรือ Cupferron ที่ใช้เป็นสารที่ทำให้เกิดสารประกอบที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 4.8 และ 4.4 ความถูกต้องในการวิเคราะห์พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมมีค่า 2 % ที่ความเข้มข้น 7.0 ไมโครกรัมต่อลิตร และของปริมาณตะกั่วมีค่า 3 % ที่ความเข้มข้น 7.0 ไมโครกรัมต่อลิตร (ทำการวิเคราะห์ซ้ำๆ 12 ครั้ง) มีเปอร์เซ็นต์การสกัดแบบย้อนกลับ (Percent Recoveries) อยู่ในช่วงร้อยละ 100-107 และ 96 – 106 ตามลำดับ ประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ สามารถวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดของปริมาณโลหะแคดเมียมและตะกั่ว มีค่าเท่ากับ 0.06 และ 0.48 นาโนกรัมต่อกรัม ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ตามลำดับ

Lamble, K. และ Hill, S.J. (1995) ได้ทำการศึกษาตัวอย่าง Trace Metal ในตัวอย่างใบชา โดยใช้การย่อยตัวอย่างแบบไมโครเวฟและวิเคราะห์ปริมาณโลหะโดยเทคนิค ICP (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry) ในการย่อยสารตัวอย่างใช้กรดไนตริกผสมกับกรดเปอร์คลอริก ใช้เวลาประมาณ 35 นาทีต่อตัวอย่าง ซึ่งเร็วกว่าการเตรียมตัวอย่างชนิดที่ให้ความร้อนด้วยเตาความร้อน ที่ต้องใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างถึง 120 นาทีต่อตัวอย่าง มีการศึกษาปริมาณโลหะอะลูมิเนียม แบเรียม แคลเซียม ทองแดง แมกนีเซียม แมงกานีสและทองแดง

Chow, P.T.Y. et al. (1995) ได้ทำการศึกษาปริมาณตะกั่ว ทองแดงและปรอทในตัวอย่างยาแผนโบราณของจีน (Traditional Chinese medicines) โดยใช้เทคนิค Atomic Absorption Spectroscopy กระบวนการเตรียมสารตัวอย่างใช้การย่อยด้วยสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 10 % ปริมาตร/ปริมาตร ใช้เวลาในการย่อยสารตัวอย่างที่เหมาะสมจะใช้เวลา 3 ชั่วโมง พบว่าประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์มีค่าเปอร์เซ็นต์การสกัดย้อนกลับ (Percent recoveries) ของโลหะทั้งสามตัวมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 94-110 ปริมาณต่ำสุดที่จะสามารถวิเคราะห์ปริมาณโลหะได้มีค่าเท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อกรัม สำหรับโลหะตะกั่ว 0.2 ไมโครกรัมต่อกรัม สำหรับโลหะทองแดง และ 0.03 ไมโครกรัมต่อกรัม สำหรับโลหะปรอท ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะตะกั่ว ทองแดงและปรอท มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.7, 0.7 และ 6.5 ตามลำดับ

Hornig, C.J. (1996) ได้ศึกษาการหาปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างปัสสาวะโดยใช้เทคนิค Differential-Pulse anodic stripping voltammetry โดยใช้ขั้วใช้งาน (Working Electrode) เป็นแบบ

Hanging mercury drop electrode ซึ่งใช้ในการตรวจวัดปริมาณโลหะสังกะสี แคดเมียม ตะกั่วและทองแดง โดยตัวอย่างจะถูกเตรียมร่วมกับสารละลายของกรดผสมพบปริมาณโลหะเหล่านี้ มีปริมาณที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม (Control Worker) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Slaveykova, V.I. และ Hoenig, M. (1997) ได้ทำการศึกษาการหาปริมาณโลหะดีบุก ในตัวอย่างซีเมนต์ และใช้เทคนิค Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric ได้ศึกษาการใช้สารลดการรบกวนการวิเคราะห์ (Chemical Modifier) โดยใช้สารประกอบของทั้งสแตน แมกนีเซียม พาราเดียม เออร์เรียมและฟอสเฟต ซึ่งพบว่าสารลดการรบกวนการวิเคราะห์ที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด คือสารประกอบผสมระหว่างเออร์เรียมและแมกนีเซียม พบว่าประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์มีค่าเปอร์เซ็นต์การสกัดย้อนกลับ (Percent recoveries) สำหรับโลหะดีบุกและตะกั่วมีค่าร้อยละ 91.8-101.0 และ 95.2-102.0 ตามลำดับ ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณโลหะตะกั่วและดีบุกมีค่าเท่ากับ 7 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ 9 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

Mierzwa, J., Adeloju, S.B. and Dhindsa, H.S. (1997) ได้ทำการศึกษาหาปริมาณสารหนูในยาสูบโดยเทคนิค Hydried Generation Atomic Absorption Spectrometry ทำการย่อยตัวอย่างด้วยสารละลายกรดไนตริก มีประสิทธิภาพในการสกัดแบบย้อนกลับ (Percent recoveries) ในช่วงร้อยละ 93-94 ใช้สารละลาย L-Cysteine เป็นสารละลายที่ทำหน้าที่รีดิวซ์สารละลายตัวอย่างที่ทำกรย่อยโดยการใช้อัลซีนไมโครเวฟ สามารถทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานสารหนูในช่วงความเข้มข้น 0.5-0.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานร้อยละ 7.6 พบว่ามีปัจจัยที่มีผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์คือ ความเป็นเนื้อเดียวกันของสารตัวอย่าง (Homogeneity) และขนาดของการเตรียมสารตัวอย่าง (Particle Size)

Lee, K.H., Liu, S.H. และ Jiang, S.J. (1998) ได้ศึกษาการหาปริมาณของแคดเมียมและตะกั่ว ในตัวอย่างปัสสาวะโดยใช้เทคนิค Electrothermal vaporization isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry (ETV-ID-ICP-MS) โดยปริมาณอัตราส่วนไอโซโทปจะคำนวณจากพื้นที่ใต้พีค (Peak Area) ของแต่ละไอโซโทปและได้ใช้การระเหยที่อุณหภูมิต่ำสำหรับแยกโลหะที่ต้องการออกจากตัวอย่างปัสสาวะ โดยมีการเติมสารละลาย 1% ของกรดไนตริกในการแยกโลหะที่ต้องการวิเคราะห์ พบว่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์สำหรับแคดเมียมและตะกั่ว มีค่าเท่ากับ 0.02 และ 0.005 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Tony, K.A. et al. (1999) ได้ใช้ระบบ Flow Injection แบบ On-line ในการช่วยเพิ่มความเข้มข้น (Preconcentration) ของสารละลายตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก โคบอลต์ นิกเกิล แมงกานีส และสังกะสี ในตัวอย่างน้ำทะเลด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์บชัน

การช่วยเพิ่มความเข้มข้นจะใช้คอลัมน์ขนาดเล็กที่บรรจุสารประเภท C18 สารละลายที่ใช้ในการชะโลหะตัวอย่างออกมาจะเป็นสารละลายเมธานอลที่ทำให้มีสถานะเป็นกรด (pH มากกว่าหรือเท่ากับ 2) พบค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์โลหะหนัก โคบอลต์ นิกเกิล แมงกานีส และสังกะสี ในตัวอย่างน้ำทะเลจะมีค่าเท่ากับ 4.0, 1.0, 1.0, 0.5 และ 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ด้วยอัตราเร็ว 30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

Pomazal, K. et al. (1999) ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณโลหะทองแดง เหล็ก แมงกานีส และสังกะสี ในตัวอย่างเลือดด้วยเทคนิค HPLC-ICP-AES กระบวนการแยกสารตัวอย่างจะใช้ร่วมกับเทคนิค Size Exclusion Chromatography ในสถานะที่เหมาะสมพบค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์โลหะทองแดง เหล็ก แมงกานีส และสังกะสีมีค่าเท่ากับ 0.03, 0.026, 0.8 และ 0.09 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Ražić, S. et al. (2003) ได้ศึกษาธาตุปริมาณน้อยได้แก่ สังกะสี (Zn) เหล็ก (Fe) ทองแดง (Cu) แมงกานีส (Mn) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) สตรอนเตียม (Sr) นิกเกิล (Ni) และลิเทียม (Li) ในส่วนที่เป็นรากและส่วนเหนือพื้นดิน ตัวอย่างสมุนไพรจะเตรียมด้วยการเผาในเตาความร้อน (Furnace) ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง การวัดปริมาณโลหะต่างๆ ทำด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี พบปริมาณโลหะหนักจากปริมาณที่สูงไปต่ำในตัวอย่างสมุนไพรดังนี้ คือ โลหะเหล็ก > แมงกานีส > แคลเซียม > สังกะสี > ทองแดง > สตรอนเตียม > แมกนีเซียม > นิกเกิล > ลิเทียม ตามลำดับ

Gomez, M.R. et al. (2004) ได้ศึกษาการวิเคราะห์โซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) ลิเทียม (Li) โดยใช้เทคนิคอะตอมมิกอีมิสชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (AES) และปริมาณโลหะแคลเซียม (Ca) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) แมกนีเซียม (Mg) และแมงกานีส (Mn) โดยใช้เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (AAS) การเตรียมตัวอย่างจะทำการย่อยด้วยกรดผสมระหว่างกรดไนตริก (HNO_3) และกรดเปอร์คลอริก (HClO_4) พบปริมาณโลหะหนักจากปริมาณสูงไปต่ำในตัวอย่างอนุพันธ์ของ *Hypericum perforatum* คือ โพแทสเซียม > โซเดียม > แคลเซียม > แมกนีเซียม > แมงกานีส > สังกะสี > ทองแดง > นิกเกิล > ลิเทียม ตามลำดับ

Ajasa, A.M.D. et al. (2004) ได้ศึกษาปริมาณโลหะหนัก คือ โลหะเหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) ตะกั่ว (Pb) และสังกะสี (Zn) รวมทั้งโลหะที่เป็นสารอาหาร คือ โซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แมกนีเซียม (Mg) และแคลเซียม (Ca) สมุนไพรจะเตรียมด้วยการย่อยผ่านคลื่นไมโครเวฟ (Microwave Digester) ทำการวัดด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (AAS) ส่วนฟอสฟอรัส (P) จะตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี

(Spectrophotometry) ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ผลการวิเคราะห์โลหะต่างๆ พบว่ามีปริมาณอยู่ในช่วงกว้างขึ้นอยู่กับชนิดของพืชสมุนไพรที่ทำการวิเคราะห์

Caldas, E.D. and Machado, L.L. (2004) ได้ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณโลหะแคดเมียม (Cd)ปรอท (Hg) และตะกั่ว (Pb) ในพืชสมุนไพรของบราซิลสิบชนิด การเตรียมตัวอย่างจะทำการย่อยด้วยกรดไนตริก (HNO_3) ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โลหะแคดเมียมและตะกั่ววิเคราะห์ด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (AAS) พบปริมาณอยู่ในช่วง 0.56-7.0 และ 5.6-70.0 (Intake, $\mu\text{g}/\text{week}$) ตามลำดับ และสำหรับโลหะปรอทวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์แบบไอเย็น (Cold Vapour Techniques) พบปริมาณอยู่ในช่วง 0.04-0.38 (Intake, $\mu\text{g}/\text{week}$)

Ražić, S. et al. (2005) ได้ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณโลหะทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) แมงกานีส (Mn) เหล็ก (Fe) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) อะลูมิเนียม (Al) แบเรียม (Ba) และโบรอน (B) ในตัวอย่างทั้งหมด 26 ชนิด โดยใช้เทคนิคอะตอมมิกอินดักชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (AES) อะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (AAS) และอินดักทีฟคัปเปิลพลาสมา (Inductive Couple Plasma ; ICP) พบปริมาณโลหะทุกชนิดมีค่าปริมาณโลหะอยู่ในช่วง 0.34-250.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Kalny, P. et al. (2007) ได้ศึกษาปริมาณโลหะแบเรียม (Ba) แคดเมียม (Cd) โครเมียม (Cr) ทองแดง (Cu) เหล็ก (Fe) นิกเกิล (Ni) ตะกั่ว (Pb) และสังกะสี (Zn) ในสมุนไพรของประเทศโปแลนด์จำนวน 3 ชนิด โดยใช้เทคนิคแกรไฟต์เฟอร์เนต (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry ; GFAAS) การเตรียมตัวอย่างจะเตรียมผ่านการย่อยตัวอย่างด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave Digester) ปริมาณโลหะต่างๆ ที่ทำการตรวจวัดขึ้นอยู่กับชนิดของสมุนไพรที่ศึกษา จากรายงานการตรวจวิเคราะห์จะพบว่าโลหะต่างๆ อยู่ในระดับที่ต่ำกว่าระดับที่จะเกิดพิษต่อมนุษย์ได้

Konieczynski, P. and Wesolowski, M. (2007) ได้ศึกษาปริมาณโลหะแคลเซียม (Ca) ทองแดง (Cu) เหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) แมกนีเซียม (Mg) โพแทสเซียม (K) โซเดียม (Na) และแมงกานีส (Mn) ในสมุนไพรของประเทศโปแลนด์จำนวน 27 ชนิด ตัวอย่างจะทำการย่อยด้วยสารละลายผสมระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และกรดไนตริก (HNO_3) ในอัตราส่วน 3 : 5 เทคนิคการวิเคราะห์จะใช้เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (AAS) พบปริมาณโลหะทุกชนิดมีค่าปริมาณโลหะอยู่ในช่วง 0.49-51,440 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะที่สนใจศึกษา

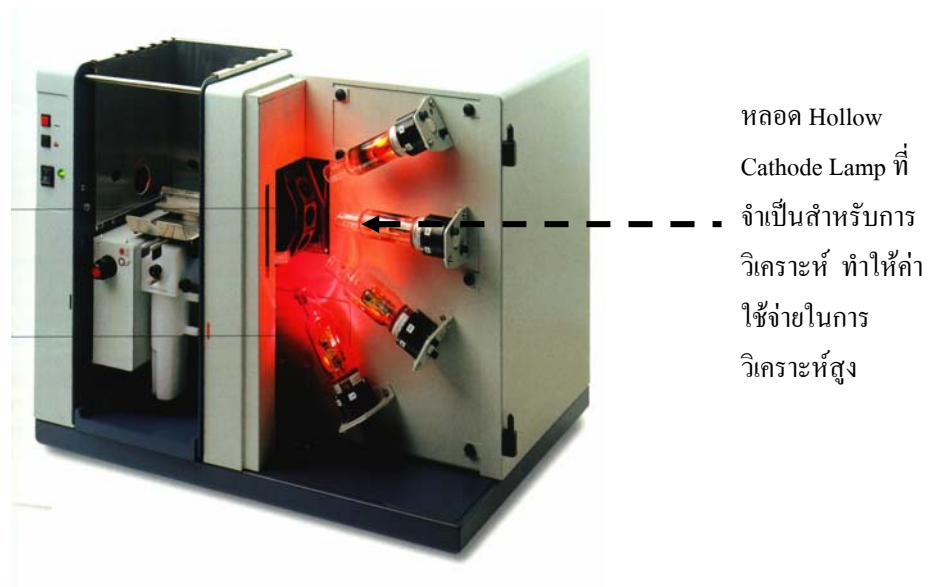
การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว โดยทั่วไปสามารถใช้วิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคที่เรียกว่า Atomic Absorption Spectrophotometry ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล่านี้ ได้โดยการเตรียมสารตัวอย่างในรูปของของเหลว แล้วนำตัวอย่างไปผ่านเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (ดังแสดงในรูปที่ 1.1) ซึ่งจะมีการจุดเปลวไฟระหว่างก๊าซอะเซทิลีนและอากาศ ที่จะให้อุณหภูมิในเปลวไฟมีความร้อนประมาณ 2000°C อะตอมอิสระที่เกิดจากการให้ความร้อนจากเปลวไฟจะเกิดการดูดกลืนคลื่นแสง โดยจะขึ้นอยู่กับชนิดของไอออนของสารที่ทำการวิเคราะห์ วิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิค Atomic Absorption Spectrophotometry จะมีข้อจำกัดที่ผู้วิเคราะห์จะต้องมีทักษะเฉพาะด้าน และในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะใดๆจะต้องมีหลอดที่เรียกว่า Hollow Cathod Lamp (HCL) สำหรับการวิเคราะห์โลหะชนิดนั้นๆ (ดังแสดงในรูปที่ 1.2) จึงเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะดังกล่าว

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณโลหะปนเปื้อน ซึ่งรวมทั้งการวิเคราะห์ปริมาณโลหะตะกั่ว นั้นพบว่าไม่มีรายงานการวิจัยในระดับนานาชาติที่มีการรายงานเกี่ยวกับการใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณโลหะตะกั่วด้วยเทคนิคโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส ที่ใช้ร่วมกับการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารละลายตัวอย่างและ 1,5 Diphenylthiocarbazone จึงมีความน่าสนใจที่จะพัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณโลหะตะกั่ว โดยใช้เทคนิคโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส และมีความคาดหวังที่ผลงานศึกษาดังกล่าวจะสามารถลงตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติได้



บริเวณเปลวไฟ

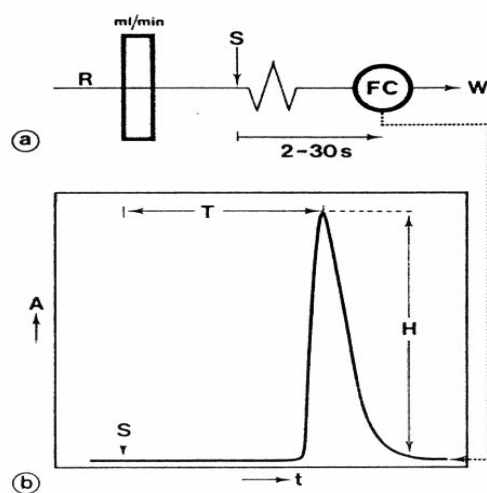
รูปที่ 1.1 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer อาศัยหลักการเกิดอะตอมอิสระ ซึ่งจะมีการจุดเปลวไฟระหว่างก๊าซอะเซทิลีนและอากาศ
(ที่มา : คู่มือเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ของ VARIAN รุ่น SpectraAA 220)



รูปที่ 1.2 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่จำเป็นต้องมีหลอดให้พลังงานที่ทำมาจากโลหะชนิดเดียวกับธาตุที่ทำการวิเคราะห์ซึ่งทำให้มีค่าใช้จ่ายที่สูง
(ที่มา : คู่มือเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ของ VARIAN รุ่น SpectrAA 220)

การวิเคราะห์สารตัวอย่างโดยเทคนิคโฟลอินเจกชัน (Flow Injection Analysis) เป็นวิธีการวิเคราะห์สารตัวอย่าง ด้วยหลักการอย่างง่าย ๆ ดังนี้ ในระบบโฟลอินเจกชันจะประกอบไปด้วยส่วนประกอบต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ (1.3, 1.4) ดังนี้

Ruzicka (1981,1988) และ Fang (1993) ระบบการวิเคราะห์จะประกอบไปด้วย สารตัวนำ (Carrier) หรือสารเคมี (Reagent) ; **R** จะถูกนำเข้าสู่ระบบการวิเคราะห์ด้วยปั๊ม (Pump) ขนาดเล็กที่แทนด้วยสัญญาณสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดเล็ก ที่สามารถควบคุมความเร็วของสารละลายอยู่ในช่วง $0.5 - 10.0 \text{ ml min}^{-1}$ จากนั้นสารตัวอย่าง ; **S** จะถูกใส่เข้าไปในระบบและทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมกับสารตัวนำ (Carrier) หรือสารเคมี (Reagent) ; **R** และจะถูกตรวจวัดสัญญาณที่เหมาะสมกับปฏิกิริยาที่ตัวตรวจวัด ; **FC** จะได้สัญญาณออกมาในรูปของ FI-Gram ดังแสดงในรูปที่ (1.3) ซึ่งความสูงหรือพื้นที่ใต้พีคของสัญญาณจะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของสารซึ่งจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำปริมาณวิเคราะห์ได้

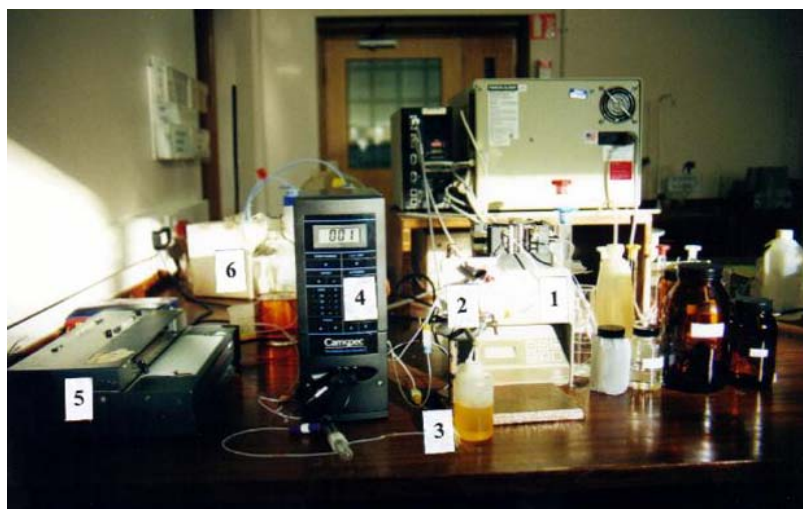


รูปที่ 1.3 ส่วนประกอบอย่างง่ายของระบบ Flow Injection Analysis

(a) สารตัวนำ (Carrier) หรือสารเคมี (Reagent) ; R สารตัวอย่าง ; S ตัวตรวจวัด ; FC สารทิ้งจากการวิเคราะห์ ; W

(b) FI-Gram ที่ได้จากการวิเคราะห์

(ที่มา : Ruzicka, J. and Hansen, E.H. 1981. *Flow Injection Analysis*, John Wiley & Son, New York.)



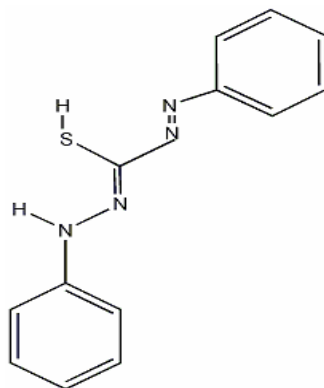
รูปที่ 1.4 ระบบ Flow Injection Analysis แบบง่ายที่สามารถจัดสร้างขึ้นได้ในห้องทดลอง

1 : Pump ; 2 : Injector ; 3 : Reagent ; 4 : Detector ; 5 : Recorder ; 6 : Waste

(ที่มา : เครื่องมือ ณ School of Chemistry, The University of Hull, Hull, UK.

ระหว่างที่ผู้วิจัย ไปศึกษาวิจัย ณ สถาบันดังกล่าว)

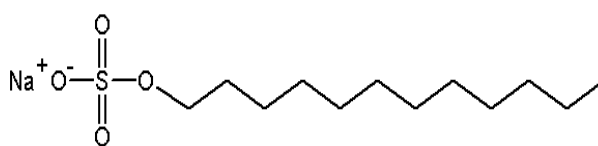
สารประกอบไดไธโซนและโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต



รูปที่ 1.5 สูตรโครงสร้างของไดไธโซน

ไดไธโซนเป็นของแข็งสีม่วงดำไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในแอมโมเนีย คลอโรฟอร์มและคาร์บอนเตตระคลอไรด์ ได้สารละลายสีเขียว เนื่องจากไดไธโซนและสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไดไธโซนและโลหะที่สนใจจะไม่ละลายน้ำ จึงต้องใช้ตัวทำละลายในสารผสมระหว่างน้ำ แอลกอฮอล์ พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนของไดไธโซนกับโลหะจะให้สีต่างกัน ได้หลายสี ตัวอย่างเช่นสีเหลือง แดง หรือม่วง ขึ้นกับชนิดของโลหะ ดังตัวอย่างในการวิเคราะห์สังกะสีที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 จะให้สารประกอบเชิงซ้อนซึ่งมีไดไธโซนสีแดงอมชมพู

(<http://www.chemindustry.com/chemicals/239610.html>)



รูปที่ 1.6 สูตรโครงสร้างของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตมีสูตรโมเลกุล $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$ มีน้ำหนักอะตอมเท่ากับ 288.38 จุดหลอมเหลว 204 – 207 องศาเซลเซียส เป็นสารสีขาวหรือครีมมีกลิ่นอ่อนเป็นสารไม่มีประจุเกิดจากการทำปฏิกิริยาของ Fatty alcohol กับ Ethylene oxide เข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจ การสัมผัสทางผิวหนัง มีพิษปานกลาง ใช้เป็นสารสำคัญในการผลิตยาเป็นตัวช่วยในการลดแรงตึงผิว เช่น ในการผลิตยาในรูปแบบอัลชันใช้เป็นตัวทำให้น้ำกับน้ำมันผสมเข้ากันได้

(http://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_dodecyl_sulfate)

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อพัฒนาการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วโดยใช้เทคนิคโฟลอินเจกชัน
- 2) เปรียบเทียบประสิทธิภาพ และความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นมาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน
- 3) ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นทดสอบกับตัวอย่างที่เหมาะสม

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ทำการพัฒนาระบบ Flow Injection Analysis สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว เช่น โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับ 1,5-Diphenylthiocarbazone และจะได้ทดสอบวิธีที่พัฒนาขึ้นโดยประยุกต์กับตัวอย่างที่เหมาะสม เช่น ตัวอย่างน้ำ และ/หรือ ตัวอย่างเภสัชภัณฑ์บางชนิด เป็นต้น

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

- 1) ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วโดยเทคนิคโฟลอินเจกชัน ที่มีประสิทธิภาพ และความถูกต้องในการใช้งานที่ดี
- 2) สามารถนำวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวนี้ไปประยุกต์ใช้งานจริง ในการวิเคราะห์กับชนิดของตัวอย่างที่เหมาะสม
- 3) สามารถเผยแพร่วิธีวิเคราะห์ดังกล่าวไปยังห้องปฏิบัติการต่างๆ ที่มีเครื่องมือพื้นฐานที่เหมาะสมกับวิธีวิเคราะห์ดังกล่าว

บทที่ 2

วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมี

2.1.1 อุปกรณ์ - เครื่องมือ

- 1) UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu[®], UV-1700 ; Japan
Software UV Prove version 2.0 Shimadzu[®] ; Japan
- 2) Peristaltic Pump, Eyela[®], MP3 ; Japan
- 3) Sample Injection Port, Upchurch Scientific[®], V450 ; USA
- 4) Detection system, Thermo Separation TSP[®], UV2000 ; USA
- 5) Recorder, Kipp & Zonen[®], DB50 ; The Netherland
- 6) Silicon Tubling (1.15 mm i.d. x 3.2 mm o.d.) Eyela[®] ; Japan
- 7) PTFE Tubling (0.8 mm i.d.) Upchurch[®] ; USA

2.1.2 สารเคมี

- 1) สารมาตรฐานตะกั่ว (Pb (II); BDH Spectrosol; England)
- 2) กรดซัลฟูริก (H₂SO₄; Lab Scan; Ireland)
- 3) โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate; C₁₂H₂₅OSO₃Na; SDS; AJAX Finechem; Australia)
- 4) ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (Iso-Amyl alcohol; (CH₃)₂CHCH₂CH₂OH; AJAX Finechem; Australia)
- 5) ไดไทโซน (Dithizone; C₆H₅NHNHCSN=NC₆H₅; Merck; Germany)
- 6) เอทานอล (Ethanol; EtOH; Merck; Germany)

2.2 วิธีการศึกษา

2.2.1 การเตรียมสารละลาย

- 1) การเตรียมสารละลายตะกั่ว Pb (II) ที่ช่วงความเข้มข้นต่างๆ
เตรียมจากสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ที่มีความเข้มข้น 1000 µg ml⁻¹ นำไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 15 µg ml⁻¹ ด้วยการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

2). เตรียมสารละลายไดไธโซน (Dithizone) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชั่งไดไธโซน (Dithizone) มา 0.1 g จากนั้นละลายและปรับปริมาตรด้วย 75 % เอทานอล ปรับปริมาตรจนครบ 100 ml จะได้สารละลายไดไธโซนที่ความเข้มข้น 0.1 % (w/v) จากนั้นทำการเจือจางสารละลายไดไธโซนให้ได้ความเข้มข้น 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01 และ 0.02 % (w/v) โดยการปิเปตสารละลายไดไธโซนที่ความเข้มข้น 0.1 % (w/v) มา 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 และ 20.0 ml ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 100 ml ด้วย 75 % เอทานอล

3) เตรียมสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate , SDS) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชั่งโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) มา 144 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนครบ 500 ml จะได้สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 1.0 mol l^{-1} จากนั้นทำการเจือจางสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตให้ได้ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 mol l^{-1} โดยการปิเปตสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต มา 10, 20, 40, 60 และ 80 ml ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 100 ml ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

4) เตรียมสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เตรียมจากสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 2.0 mol l^{-1} ด้วยการปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นมา 112.8 ml นำมาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนจนมีปริมาตร 1000 ml ทำการปิเปตสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2 mol l^{-1} มา 25, 37.5, 50, 62.5 และ 75 ml ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนครบ 100 ml จะได้กรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 และ 1.25 mol l^{-1}

5) เตรียมสารละลายเอทานอล (Ethanol) ที่ความเข้มข้น 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70 และ 65 % (v/v) โดยการปิเปตสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 100 % มา 95, 90, 85, 80, 75, 70 และ 65 ml ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนครบ 100 ml

6) เตรียมสารละลายเมทานอล (Methanol) ที่ความเข้มข้น 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70 และ 65 % (v/v) โดยการปิเปตสารละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 100 % มา 95, 90, 85, 80, 75, 70 และ 65 ml ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนครบ 100 ml

2.3 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี

1) ศึกษา spectrum ของสารมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) เพื่อดูค่าการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่น 200 – 700 nm โดยการนำสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ที่เข้มข้น 4, 6 และ $8 \mu\text{g ml}^{-1}$ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200 - 700 nm หาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะตะกั่ว โดยใช้วิธีวิวิธสีเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

2) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว คือ Dithizone: SDS: H_2SO_4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของการผสมโดยการศึกษาระยะยาวรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว ดังนี้ คือ Dithizone: SDS: H_2SO_4 จากนั้นทำการเปรียบเทียบอัตราส่วนตามอัตราส่วนดังต่อไปนี้ คือ 1: 5: 1, 3: 5: 1, 5: 5: 1, 1: 3: 1, 1: 7: 1, 1: 5: 3 และ 1: 5: 5 ตามลำดับ นำสารละลายที่ได้ไปทำการศึกษาโดยวิธีวิวิธสีเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

3) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี โดยการนำสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ที่เข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ $15 \mu\text{g ml}^{-1}$ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยวิธีวิวิธสีเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

3.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไฮโซน (Dithizone) ที่ความเข้มข้น 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01 และ 0.02 % (w/v) ตามลำดับ นำสารละลายที่ได้จากการศึกษานี้ไปวัดโดยวิธีวิวิธสีเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

3.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mol l^{-1} ตามลำดับ นำสารละลายที่ได้ไปทำการศึกษาโดยวิธีวิวิธสีเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

3.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ที่ความเข้มข้น 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 และ 1.50 mol l^{-1} ตามลำดับ นำสารละลายที่ได้ไปทำการศึกษาโดยวิธีวิวิธสีเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี

4) ศึกษาความแตกต่างระหว่างตัวทำละลายเอทานอลเพื่อหาเปอร์เซ็นต์เอทานอลที่สามารถทำให้ ไดไฮโซนละลาย เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70 และ 65 %

5) ศึกษาความแตกต่างระหว่างตัวทำละลายเมทานอลเพื่อหาเปอร์เซ็นต์เมทานอลที่สามารถทำให้ไดไฮโซนละลาย เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70 และ 65 %

6) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงลำดับในการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว คือ Dithizone: SDS: H_2SO_4 ลำดับที่ใช้ในการผสมมีดังนี้ คือ D:S:H, H:S:D, S:H:D, S:D:H, H:D:S และ D:H:S

ตามลำดับ นำสารละลายที่ได้ตามลำดับในการผสมนี้ไปทำการศึกษาโดยวิธียูวีวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี

7) ศึกษากราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) โดยใช้วิธี สเปกโทรโฟโตเมตรี โดยการนำสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ที่เข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 15 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ตามลำดับ

2.4 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส

1) ออกแบบ manifolds ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว

2) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว โดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส โดยการนำตะกั่ว Pb (II) ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 nm โดยใช้วิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส คำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOD) และค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ)

2.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน(Dithizone) ที่ความเข้มข้น 0.000625, 0.00125, 0.0025, 0.005 และ 0.01 % (w/v) ตามลำดับ

2.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ที่ความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 และ 1.50 mol l^{-1} ตามลำดับ

2.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 mol l^{-1} ตามลำดับ

3) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว

3.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายไดไธโซน (dithizone) โดยใช้อัตราในการไหล 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ml min^{-1}

3.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) โดยใช้อัตราในการไหล 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ml min^{-1}

3.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) โดยใช้อัตราในการไหล 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ml min^{-1}

4) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Mixing coil)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Mixing coil) ที่ความยาว 50, 100, 150, 200 และ 250 cm

5) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ ฉีดเข้าไปในระบบที่ปริมาตร 50, 100, 150, 200 และ 250 μl

2.5 ประเมินวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส (Validation)

1) ความแม่นยำ (Precision)

โดยการนำสารละลายมาตรฐาน Pb (II) ไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 500 nm จะได้ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงในหน่วยความสูงของสัญญาณ (Peak Height)

ทำการวัดซ้ำตัวอย่างสารละลาย Pb (II) ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ โดยแต่ละความเข้มข้นจะทำการวัดค่าสัญญาณโดยการทำซ้ำ 5 ครั้ง นำค่าที่ได้ไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Percentage of Recovery)

2) ความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ (Linearity)

เตรียมสารละลายตะกั่ว Pb (II) ในช่วงความเข้มข้น 1 – 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ นำไปผ่านระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส ผสมกับสารละลายกรดซัลฟูริก สารละลายโซเดียมโอดีซิลซัลเฟตและสารละลายไดไฮโซน นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 500 nm ทำการบันทึกสัญญาณ FI-Gram ทำการคำนวณสมการเส้นตรงสำหรับกราฟมาตรฐานตะกั่ว

3) การศึกษา Repeatability ของการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว (II)

เตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ความเข้มข้น 4 และ 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (II) จำนวน 12 ครั้ง และนำข้อมูลที่ได้ไปทำการคำนวณทางสถิติ

4) การศึกษาการรบกวนของตัวรบกวน (Interferences)

เป็นการเติมไอออนเข้าไปในการวิเคราะห์ เพื่อศึกษาผลรบกวนของไอออนที่เพิ่มเข้าไปว่ามีผลต่อการวิเคราะห์หรือไม่ ไอออนที่ศึกษาได้แก่ คือ Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , As^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Sn^{2+} , Al^{3+} และ Cu^{2+} ตามลำดับ การศึกษาได้แก่การเตรียมสารมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ที่ความเข้มข้น 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ จากนั้นเติมตัวรบกวนต่างๆ ทำการวิเคราะห์และเปรียบเทียบสัญญาณที่วัดได้ในกรณีที่ไม่มีและมีไอออนรบกวนอยู่ในสารละลายมาตรฐานตะกั่ว

5) การวัดตัวอย่างโดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

โดยการทำการเตรียมความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างตะกั่ว Pb (II) ที่ทำการเตรียมขึ้นในห้องปฏิบัติการที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำไปทำการวัดหาปริมาณตะกั่วโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น คือ วิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส เปรียบเทียบกับวิธีอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรโฟโตเมตรี

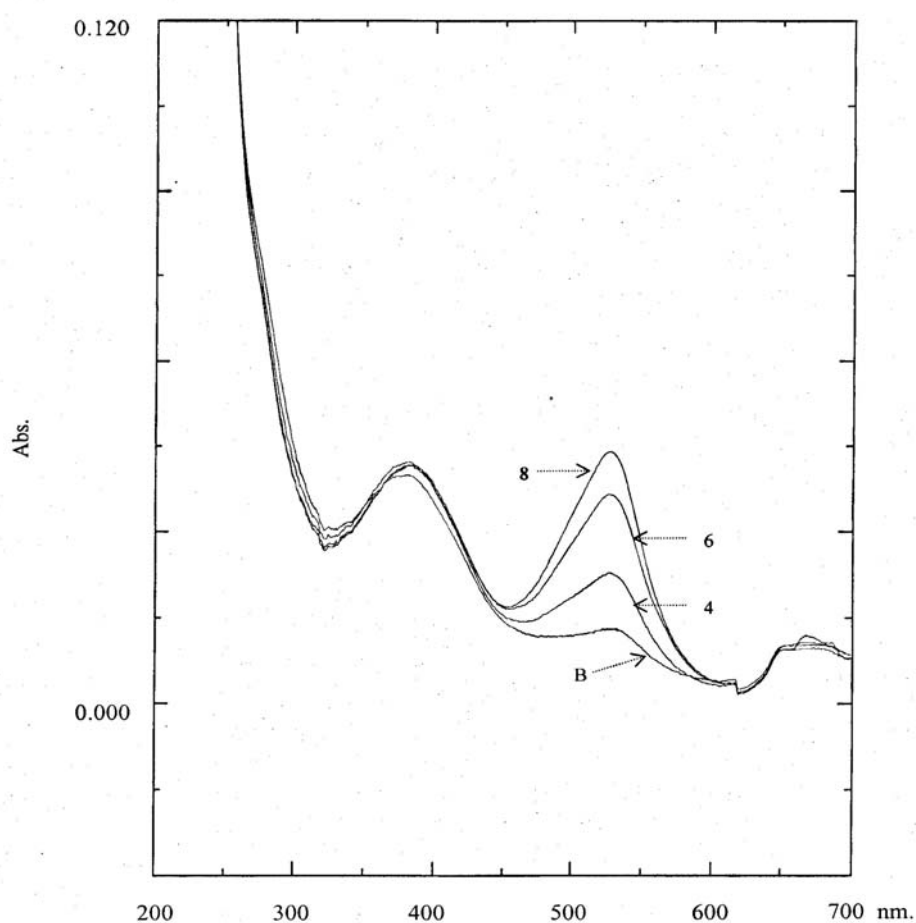
บทที่ 3

ผลการศึกษา

3.1 : การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี

ผลการศึกษาสเปกตรัมของสารมาตรฐานตะกั่วและรีเอเจนต์ 1,5-Diphenylthiocarbazone

: Surfactant : Carrier



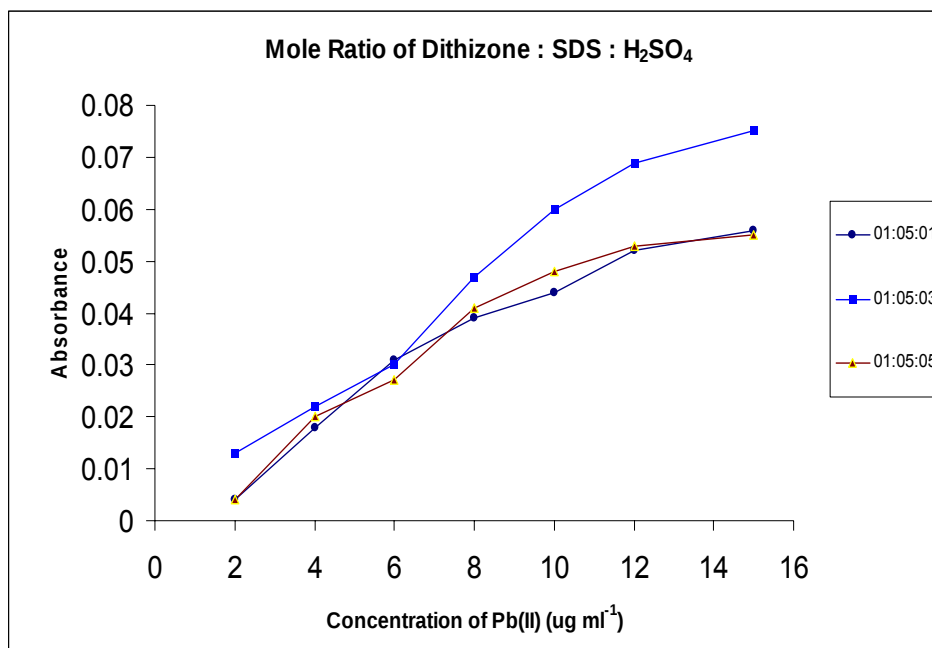
รูปที่ 3.1 สเปกตรัมของสารมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ที่ได้จากการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่น 200 – 700 nm (B : blank ; 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$; 6 $\mu\text{g ml}^{-1}$; 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$)

การบันทึกค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารมาตรฐานตะกั่วที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ 1,5-Diphenylthiocarbazone, Surfactant และ H_2SO_4 พบว่ามีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 500 nm

ตารางที่ 3.1 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของรีเอเจนต์ Dithizone: SDS: H₂SO₄

Mole Ratio Dithizone:SDS:H ₂ SO ₄	Concentration of Pb (II) (µg ml ⁻¹)	Absorbance (Abs.)				r ²
		1	2	3	Mean	
1:5:1	blank	0.002	0.002	0.002	0.002	0.9382
	2	0.004	0.003	0.004	0.004	
	4	0.017	0.018	0.019	0.018	
	6	0.030	0.030	0.031	0.031	
	8	0.039	0.038	0.039	0.039	
	10	0.044	0.045	0.044	0.044	
	12	0.052	0.051	0.052	0.052	
	15	0.056	0.056	0.056	0.056	
1:5:3	blank	0.002	0.002	0.002	0.002	0.9712
	2	0.013	0.012	0.013	0.013	
	4	0.021	0.022	0.023	0.022	
	6	0.029	0.030	0.030	0.030	
	8	0.047	0.046	0.047	0.047	
	10	0.060	0.062	0.059	0.060	
	12	0.070	0.069	0.069	0.069	
	15	0.075	0.074	0.076	0.075	
1:5:5	blank	0.001	0.002	0.002	0.002	0.9179
	2	0.004	0.003	0.004	0.004	
	4	0.020	0.020	0.021	0.020	
	6	0.026	0.027	0.028	0.027	
	8	0.041	0.040	0.042	0.041	
	10	0.046	0.049	0.048	0.048	
	12	0.053	0.052	0.054	0.053	
	15	0.055	0.055	0.054	0.055	
3:5:1	สารละลายเกิดการแยกชั้นไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน					
5:5:1	สารละลายเกิดการแยกชั้นไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน					
1:3:1	สารละลายเกิดการแยกชั้นไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน					
1:7:1	สารละลายเกิดการแยกชั้นไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน					

ตารางที่ 3.1 เป็นผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว คือ Dithizone: SDS: H₂SO₄ จากผลการศึกษาพบว่าอัตราส่วนในการผสมของรีเอเจนต์ 1: 5: 1, 1: 5: 3 และ 1: 5: 5 ได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.9382, 0.9712 และ 0.9179 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 ส่วนอัตราส่วน 3: 5: 1, 5: 5: 1, 1: 3: 1 และ 1: 7: 1 พบว่าสารละลายเกิดการแยกชั้นไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันไม่สามารถที่จะวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงได้



รูปที่ 3.2 การเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วน Dithizone: SDS: H₂SO₄

การเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว คือ Dithizone: SDS: H₂SO₄ พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของอัตราส่วนดังกล่าว คือ 1: 5: 3 ของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว ที่ให้ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและค่าความสัมพันธ์ของการเป็นเส้นตรง (r^2) ที่เหมาะสม

ตารางที่ 3.2 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วน Dithizone: SDS: H₂SO₄ ต่อค่าสมการเส้นตรง

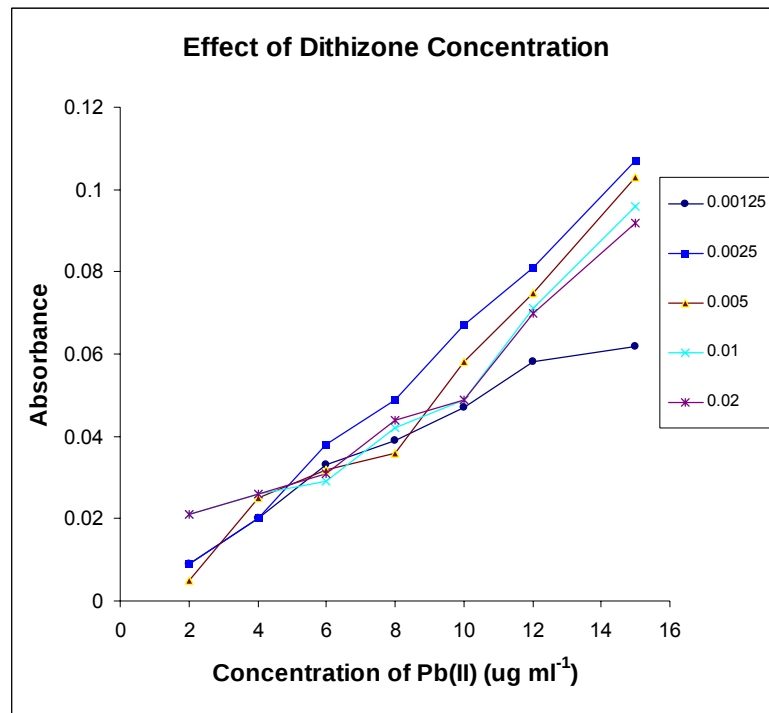
Mole ratio of reagents	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
1: 5: 1	$y = 0.0040x + 0.0026$	0.9382
1: 5: 3	$y = 0.0052x + 0.0028$	0.9712
1: 5: 5	$y = 0.0040x + 0.0028$	0.9179
3: 5: 1	ND*	ND*
5: 5: 1	ND*	ND*
1: 3: 1	ND*	ND*
1: 7: 1	ND*	ND*

ND* วัดค่าไม่ได้เนื่องจากสารละลายแยกชั้น

ตารางที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone)

Dithizone (% w/v)	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Absorbance (Abs.)				r^2
		1	2	3	Mean	
0.00125	blank	0.001	0.001	0.001	0.001	0.9700
	2	0.010	0.008	0.009	0.009	
	4	0.019	0.021	0.020	0.020	
	6	0.032	0.033	0.033	0.033	
	8	0.040	0.038	0.039	0.039	
	10	0.047	0.047	0.048	0.047	
	12	0.059	0.058	0.058	0.058	
	15	0.062	0.063	0.062	0.062	
0.0025	blank	0.001	0.002	0.001	0.001	0.9965
	2	0.008	0.010	0.008	0.009	
	4	0.020	0.021	0.020	0.020	
	6	0.038	0.038	0.037	0.038	
	8	0.049	0.050	0.048	0.049	
	10	0.067	0.066	0.068	0.067	
	12	0.080	0.083	0.081	0.081	
	15	0.107	0.108	0.107	0.107	
0.005	blank	0.003	0.002	0.002	0.002	0.9681
	2	0.005	0.004	0.005	0.005	
	4	0.026	0.024	0.024	0.025	
	6	0.032	0.031	0.032	0.032	
	8	0.036	0.036	0.037	0.036	
	10	0.059	0.058	0.058	0.058	
	12	0.075	0.074	0.075	0.075	
	15	0.102	0.103	0.103	0.103	
0.01	blank	0.002	0.002	0.002	0.002	0.9300
	2	0.022	0.020	0.020	0.021	
	4	0.027	0.025	0.025	0.026	
	6	0.029	0.029	0.028	0.029	
	8	0.042	0.043	0.042	0.042	
	10	0.049	0.050	0.049	0.049	
	12	0.070	0.072	0.072	0.071	
	15	0.096	0.097	0.095	0.096	
0.02	blank	0.001	0.001	0.001	0.001	0.9472
	2	0.022	0.021	0.021	0.021	
	4	0.026	0.027	0.026	0.026	
	6	0.030	0.031	0.031	0.031	
	8	0.044	0.044	0.044	0.044	
	10	0.049	0.049	0.049	0.049	
	12	0.069	0.070	0.072	0.070	
	15	0.092	0.092	0.092	0.092	

ตารางที่ 3.3 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone) ที่ความเข้มข้น 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01 และ 0.02 % (w/v) จากการศึกษาจะได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.9700, 0.9965, 0.9681, 0.9300 และ 0.9472 ตามลำดับ จากผลการศึกษาความเข้มข้นที่ให้ค่าที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 0.0025 % (w/v)



รูปที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone)

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone) เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไปนั้น พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.0025 % (w/v) ที่ให้ค่าการดูดกลืนคลีนแสงและค่าความสัมพันธ์ของการเป็นเส้นตรง (r^2) ที่เหมาะสม

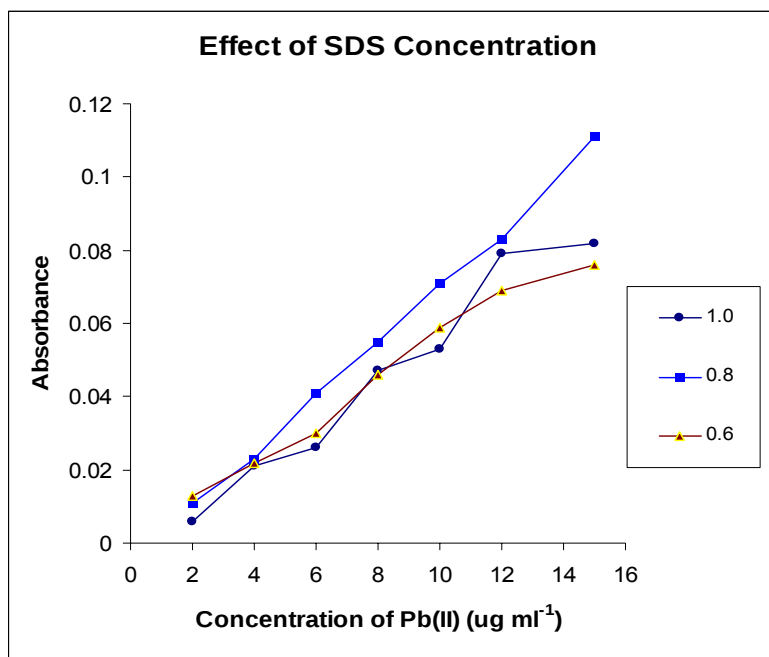
ตารางที่ 3.4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายไดไธโซน (Dithizone) ต่อค่าสมการเส้นตรง

Concentration of Dithizone (% w/v)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
0.00125	$y = 0.0042x + 0.0043$	0.9700
0.0025	$y = 0.0076x + 0.0086$	0.9965
0.005	$y = 0.0072x - 0.0107$	0.9681
0.01	$y = 0.0058x + 0.0009$	0.9300
0.02	$y = 0.0055x + 0.0031$	0.9472

ตารางที่ 3.5 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS)

Concentration of SDS (mol l^{-1})	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Absorbance (Abs.)				r^2
		1	2	3	Mean	
1.0	blank	0.001	0.001	0.001	0.001	0.9626
	2	0.006	0.006	0.005	0.006	
	4	0.022	0.020	0.021	0.021	
	6	0.027	0.027	0.025	0.026	
	8	0.048	0.045	0.045	0.047	
	10	0.052	0.053	0.053	0.053	
	12	0.079	0.079	0.079	0.079	
	15	0.082	0.083	0.080	0.082	
0.8	blank	0.002	0.002	0.002	0.002	0.9973
	2	0.011	0.012	0.011	0.011	
	4	0.023	0.024	0.023	0.023	
	6	0.041	0.040	0.042	0.041	
	8	0.054	0.055	0.056	0.055	
	10	0.071	0.070	0.071	0.071	
	12	0.083	0.083	0.082	0.083	
	15	0.111	0.112	0.110	0.111	
0.6	blank	0.001	0.001	0.001	0.001	0.9784
	2	0.012	0.012	0.014	0.013	
	4	0.022	0.022	0.022	0.022	
	6	0.030	0.030	0.029	0.030	
	8	0.045	0.046	0.047	0.046	
	10	0.059	0.059	0.060	0.059	
	12	0.069	0.069	0.069	0.069	
	15	0.075	0.076	0.076	0.076	
0.4	สารละลายเกิดการแยกชั้นไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน					
0.2	สารละลายเกิดการแยกชั้นไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน					
0.1	สารละลายเกิดการแยกชั้นไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน					

ตารางที่ 3.5 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) ที่ความเข้มข้น 0.6, 0.8 และ 1.0 mol l^{-1} จากการศึกษาเมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงพบค่า Correlation coefficient : r^2 เท่ากับ 0.9784, 0.9973 และ 0.9626 ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.4 mol l^{-1} ปรากฏว่าทั้งสามความเข้มข้นนี้เกิดการแยกชั้นของสารละลายทำให้ไม่สามารถวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงได้



รูปที่ 3.4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ค่าความเข้มข้นที่ให้ค่าเหมาะสมที่สุดคือ ความเข้มข้น 0.8 mol l⁻¹ ที่ให้ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและค่าความสัมพันธ์ของการเป็นเส้นตรง (r^2) ที่เหมาะสม

ตารางที่ 3.6 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) ต่อค่าสมการเส้นตรง

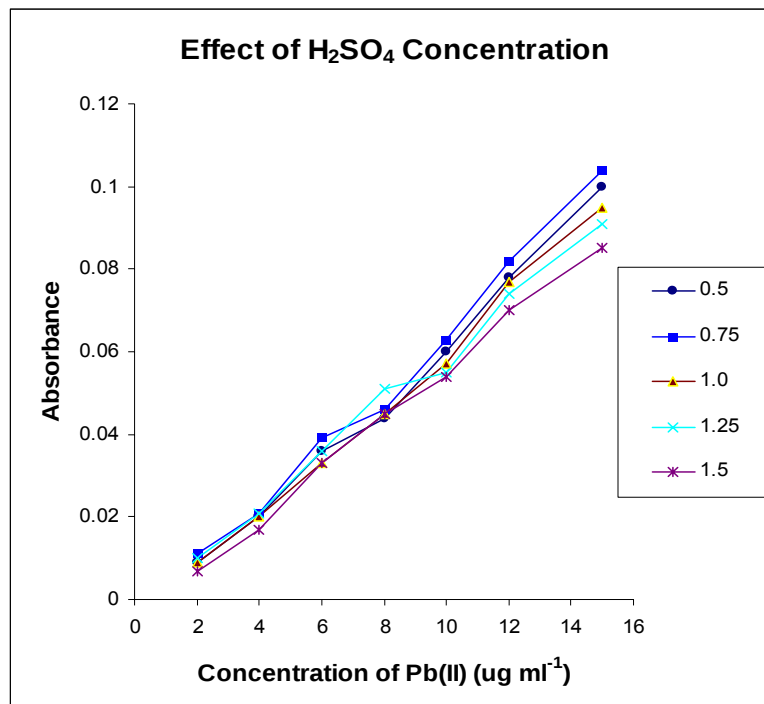
Concentration of Sodium dodecyl sulfate (SDS) (mol l ⁻¹)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
0.1	ND*	ND*
0.2	ND*	ND*
0.4	ND*	ND*
0.6	$y = 0.0052x + 0.0023$	0.9784
0.8	$y = 0.0076x - 0.0058$	0.9973
1.0	$y = 0.0067x - 0.0060$	0.9626

ND* วัดค่าไม่ได้เนื่องจากสารละลายแยกชั้น

ตารางที่ 3.7 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

Concentration of H_2SO_4 (mol l^{-1})	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Absorbance (Abs.)				r^2
		1	2	3	Mean	
0.5	blank	0.002	0.002	0.002	0.002	0.9930
	2	0.009	0.008	0.009	0.009	
	4	0.020	0.020	0.020	0.020	
	6	0.036	0.036	0.035	0.036	
	8	0.044	0.045	0.044	0.044	
	10	0.061	0.060	0.060	0.060	
	12	0.079	0.077	0.077	0.078	
	15	0.100	0.100	0.100	0.100	
0.75	blank	0.001	0.000	0.000	0.000	0.9910
	2	0.011	0.011	0.011	0.011	
	4	0.021	0.021	0.021	0.021	
	6	0.039	0.039	0.038	0.039	
	8	0.046	0.046	0.045	0.046	
	10	0.063	0.063	0.063	0.063	
	12	0.083	0.081	0.081	0.082	
	15	0.103	0.104	0.104	0.104	
1.0	blank	0.001	0.001	0.001	0.001	0.9943
	2	0.009	0.009	0.009	0.009	
	4	0.020	0.020	0.020	0.020	
	6	0.033	0.033	0.032	0.033	
	8	0.044	0.045	0.045	0.045	
	10	0.057	0.057	0.058	0.057	
	12	0.077	0.077	0.077	0.077	
	15	0.095	0.095	0.095	0.095	
1.25	blank	0.001	0.001	0.001	0.001	0.9913
	2	0.010	0.010	0.010	0.010	
	4	0.021	0.021	0.021	0.021	
	6	0.036	0.036	0.036	0.036	
	8	0.050	0.050	0.052	0.051	
	10	0.055	0.055	0.056	0.055	
	12	0.074	0.074	0.074	0.074	
	15	0.091	0.091	0.091	0.091	
1.50	blank	0.002	0.002	0.002	0.002	0.9961
	2	0.007	0.007	0.007	0.007	
	4	0.018	0.018	0.016	0.017	
	6	0.033	0.032	0.033	0.033	
	8	0.045	0.045	0.045	0.045	
	10	0.054	0.054	0.054	0.054	
	12	0.071	0.070	0.070	0.070	
	15	0.085	0.087	0.084	0.085	

ตารางที่ 3.7 เป็นผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ที่ความเข้มข้น 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 และ 1.5 mol l^{-1} จากการศึกษาเมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงจะมีค่า Correlation coefficient : r^2 เท่ากับ 0.9930, 0.9910, 0.9943, 0.9913 และ 0.9961 ตามลำดับ จากผลการศึกษาจะทำการเลือกความเข้มข้นที่ให้ค่าที่เหมาะสมสำหรับนำไปทำการศึกษาต่อไป



รูปที่ 3.5 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) พบค่าความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น H_2SO_4 เท่ากับ 0.5 mol l^{-1} ไปทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 3.8 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ต่อค่าสมการเส้นตรง

Concentration of H_2SO_4 (mol l^{-1})	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
0.5	$y = 0.0070x - 0.0076$	0.9930
0.75	$y = 0.0072x - 0.0065$	0.9910
1.0	$y = 0.0067x - 0.0067$	0.9943
1.25	$y = 0.0062x - 0.0025$	0.9913
1.5	$y = 0.0061x - 0.0053$	0.9961

ตารางที่ 3.9 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายเอทานอลและเมทานอล
ในการละลายสาร 1,5-Diphenylthiocarbazone (Dithizone)

Concentration of Alcohol (% v/v)	Methanol	Ethanol
100	ละลาย	ละลาย
95	ละลาย	ละลาย
90	ละลาย	ละลาย
85	ละลาย	ละลาย
80	ละลาย	ละลาย
75	ละลาย	ละลาย
70	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
65	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย

ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลและเมทานอล ในการใช้เป็นตัวทำละลายไดโครโซน ซึ่งในปฏิกิริยาที่ได้พบทวนวรรณกรรมพบว่าการรายงานการใช้ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ แต่พบว่าปัญหาการละลายของสารดังกล่าวกับไดโครโซนจะมีปัญหาเรื่องสารละลายจะแยกชั้นเมื่อรวมกับรีเอเจนต์ตัวอื่นหากมีการเขย่าเพื่อผสมสารละลายไม่ดีพอ ซึ่งจากการสังเกตดังกล่าวย่อมทำให้เกิดปัญหาหากมีการใช้ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย ในการพัฒนาระบบโฟลอินเจกชัน เนื่องจากการผสมของสารละลายรีเอเจนต์ในระบบท่อจะไม่สามารถทำให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกันได้ง่ายนัก เพราะในเทคนิคโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสเป็นการอาศัยเพียงการเคลื่อนที่ของสารละลายภายในท่อแต่เพียงอย่างเดียว จึงจำเป็นต้องศึกษาถึงแอลกอฮอล์ชนิดอื่นๆ ซึ่งได้แก่เอทานอลและเมทานอล โดยศึกษาที่ความเข้มข้น 65-100 % v/v ปรากฏว่าการละลายสารไดโครโซนโดยสารละลายเอทานอลและเมทานอลไม่แตกต่างกันและมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ซึ่งมีการรายงานมาก่อนหน้านี้ จึงเลือกใช้เอทานอลเนื่องจากคำนึงถึงความปลอดภัย และความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลที่ละลายได้ดีที่สุดคือ ที่ความเข้มข้นในช่วง 75-100 % v/v ของเอทานอล ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ 75 % v/v ใช้เป็นตัวทำละลายไดโครโซนที่เหมาะสมต่อไป

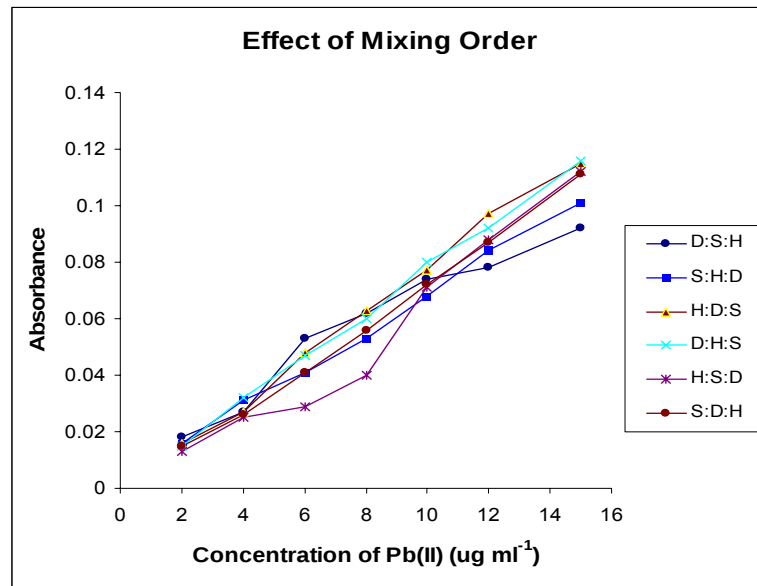
ตารางที่ 3.10 การเปลี่ยนแปลงลำดับการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว Dithizone: SDS: H₂SO₄

Order of mixing reagent	Concentration of Pb (II) (µg ml ⁻¹)	Absorbance (Abs.)				r ²
		1	2	3	Mean	
Dithizone: SDS: H ₂ SO ₄	blank	0.002	0.002	0.002	0.002	0.9520
	2	0.018	0.018	0.019	0.018	
	4	0.027	0.027	0.028	0.027	
	6	0.054	0.053	0.053	0.053	
	8	0.061	0.062	0.063	0.062	
	10	0.073	0.075	0.075	0.074	
	12	0.079	0.078	0.078	0.078	
	15	0.092	0.092	0.093	0.092	
SDS: H ₂ SO ₄ : Dithizone	blank	0.001	0.001	0.001	0.001	0.9969
	2	0.015	0.016	0.016	0.016	
	4	0.032	0.031	0.030	0.031	
	6	0.040	0.044	0.040	0.041	
	8	0.052	0.052	0.055	0.053	
	10	0.068	0.068	0.069	0.068	
	12	0.084	0.083	0.084	0.084	
	15	0.102	0.102	0.100	0.101	
H ₂ SO ₄ : Dithizone : SDS	blank	0.000	0.000	0.000	0.000	0.9955
	2	0.016	0.016	0.016	0.016	
	4	0.027	0.026	0.027	0.027	
	6	0.049	0.047	0.048	0.048	
	8	0.064	0.063	0.063	0.063	
	10	0.077	0.077	0.076	0.077	
	12	0.097	0.097	0.097	0.097	
	15	0.115	0.115	0.116	0.115	
Dithizone: H ₂ SO ₄ :SDS	blank	0.001	0.001	0.001	0.001	0.9983
	2	0.014	0.015	0.015	0.015	
	4	0.032	0.030	0.033	0.032	
	6	0.048	0.046	0.046	0.047	
	8	0.059	0.060	0.062	0.060	
	10	0.080	0.079	0.080	0.080	
	12	0.092	0.091	0.092	0.092	
	15	0.117	0.116	0.116	0.116	
H ₂ SO ₄ :SDS: Dithizone	blank	0.002	0.002	0.002	0.002	0.9959
	2	0.013	0.013	0.013	0.013	
	4	0.025	0.025	0.024	0.025	
	6	0.030	0.028	0.029	0.029	
	8	0.040	0.040	0.041	0.040	
	10	0.072	0.072	0.069	0.071	
	12	0.088	0.088	0.087	0.088	
	15	0.113	0.112	0.112	0.112	

ตารางที่ 3.10 การเปลี่ยนแปลงลำดับการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว Dithizone: SDS: H₂SO₄ (ต่อ)

Order of mixing reagent	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Absorbance (Abs.)				r^2
		1	2	3	Mean	
SDS: Dithizone: H ₂ SO ₄	blank	0.001	0.001	0.002	0.001	0.9980
	2	0.014	0.016	0.015	0.015	
	4	0.028	0.025	0.026	0.026	
	6	0.040	0.042	0.041	0.041	
	8	0.057	0.055	0.056	0.056	
	10	0.073	0.071	0.072	0.072	
	12	0.088	0.087	0.089	0.087	
	15	0.112	0.112	0.110	0.111	

ตารางที่ 3.10 การเปลี่ยนแปลงลำดับในการผสมของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว คือ Dithizone: SDS: H₂SO₄ (D:S:H) จากการศึกษพบว่าลำดับในการผสมคือ D: S : H, H : S : D, S : H : D, S : D : H, H : D : S และ D : H : S ได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.9520, 0.9969, 0.9955, 0.9983, 0.9959 และ 0.9980 ตามลำดับ



รูปที่ 3.6 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลำดับการผสมรีเอเจนต์

การเปลี่ยนแปลงลำดับการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว เพื่อหาลำดับการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ลำดับในการผสมรีเอเจนต์ ที่เหมาะสม คือ D: H: S (Dithizone, H₂SO₄, SDS) ที่ให้ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและค่าความสัมพันธ์ของการเป็นเส้นตรง (r^2) ที่เหมาะสม

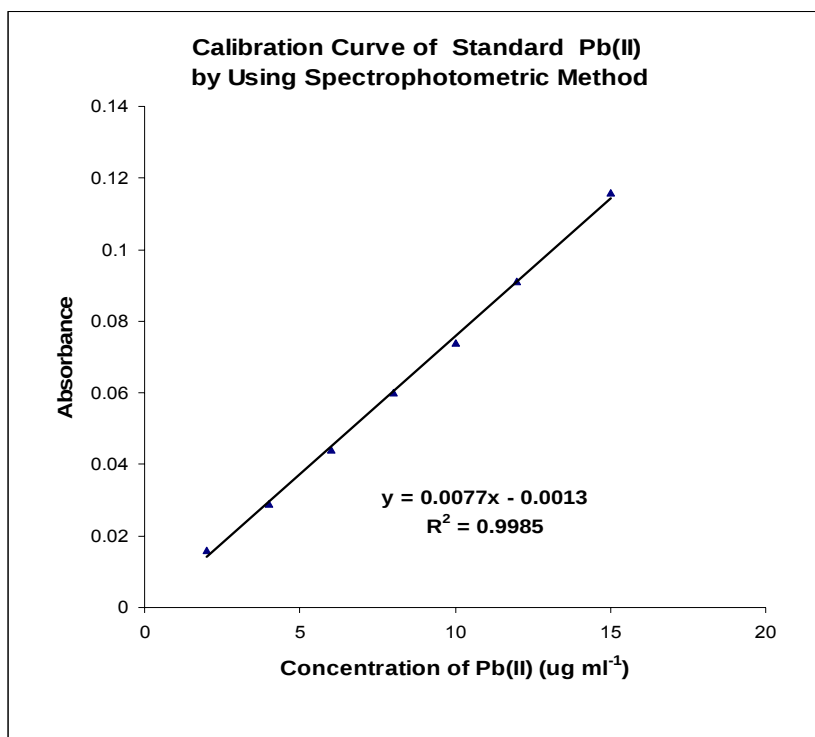
ตารางที่ 3.11 การเปลี่ยนแปลงของลำดับการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัวต่อค่าสมการเส้นตรง

Order of mixing reagent	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
D : S : H	$y = 0.0058x + 0.0105$	0.9520
S : H : D	$y = 0.0066x + 0.0028$	0.9969
H : D : S	$y = 0.0079x - 0.0009$	0.9955
D : H : S	$y = 0.0077x + 0.0002$	0.9983
H : S : D	$y = 0.0079x - 0.0104$	0.9590
S : D : H	$y = 0.0075x - 0.0270$	0.9980

จากสัญลักษณ์ **D** แทน สารละลายไดไรโซน (Dithizone), **S** แทน สารละลายโซเดียมโดดีลซัลเฟต (SDS) และ **H** แทน สารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

ตารางที่ 3.12 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลาย Pb (II) ที่ความเข้มข้น 2-15 $\mu g\ ml^{-1}$ ที่ให้กราฟมาตรฐานที่เป็นเส้นตรง

Concentration of Pb (II) ($\mu g\ ml^{-1}$)	Absorbance (Abs.)			Mean
	1	2	3	
blank	0.001	0.002	0.001	0.001
2	0.016	0.015	0.016	0.016
4	0.028	0.029	0.029	0.029
6	0.044	0.045	0.043	0.044
8	0.060	0.059	0.060	0.060
10	0.075	0.074	0.074	0.074
12	0.091	0.091	0.091	0.091
15	0.117	0.115	0.116	0.116



รูปที่ 3.7 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลาย Pb (II) ที่ความเข้มข้น 2-15 $\mu\text{g ml}^{-1}$

- ค่า **Limit of detection (LOD)** คือ ความเข้มข้นของสารที่ต่ำสุดที่สามารถตรวจพบ
สามารถคำนวณได้จาก

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน $y = 0.0077x - 0.0013$

หาได้จากสมการ $y = 3S_B + Y_B$

y = Peak Height (mV)

S_B = Standard deviation ของ Peak Height Blank (mV)

Y_B = Intercept ใน regression line

แทนค่า

$$y = 3 \times 0.001 - 0.0013$$

$$y = 0.0017$$

จาก Standard curve ได้สมการเส้นตรง $y = 0.0077x - 0.0013$

$$x = (y + 0.0013)/0.0077$$

แทนค่า $y = 0.0017$ ได้

$$x = (0.0017 + 0.0013)/0.0077$$

จากการคำนวณได้ค่า LOD

$$= 0.39 \mu\text{g ml}^{-1}$$

- ค่า **Limit of Quantification (LOQ)** คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถตรวจวัดปริมาณได้ โดยมีค่าความแม่นยำและความถูกต้องเป็นที่ยอมรับ

$$\text{หาได้จากสมการ } y = 10S_B + Y_B$$

$$y = \text{Peak Height (mV)}$$

$$S_B = \text{Standard deviation ของ Peak Height Blank (mV)}$$

$$Y_B = \text{Intercept ใน regression line (y = a + bx)}$$

แทนค่า

$$y = 10 \times 0.001 - 0.0013$$

$$y = .0087$$

$$\text{จาก Standard curve ได้สมการเส้นตรง } y = 0.0077x - 0.0013$$

$$x = (y + 0.0013) / 0.0077$$

$$\text{แทนค่า } y = 0.0087 \text{ ได้}$$

$$x = (0.0087 + 0.0013) / 0.0077$$

จากการคำนวณได้ค่า LOQ

$$= 1.30 \mu\text{g ml}^{-1}$$

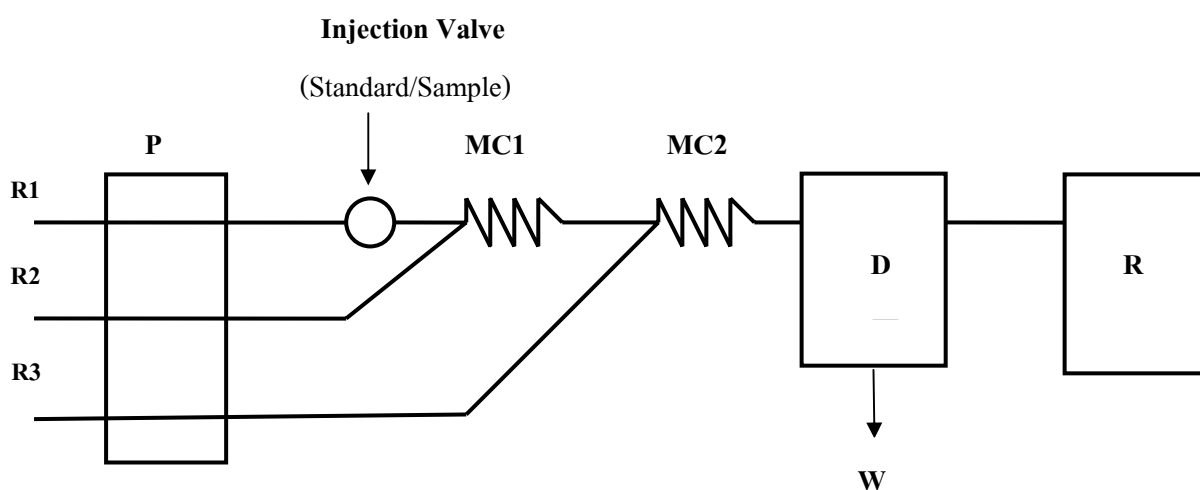
ตารางที่ 3.13 การศึกษาประสิทธิภาพการวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Recovery) ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี (n=5)

Sample No	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)		Percentage Recoveries (%)
	Added	Founded	
2	2.00	2.21	110.50
3	4.00	3.99	99.75
4	6.00	6.22	103.67
5	8.00	8.27	103.38
6	10.00	9.70	97.00
7	12.00	12.28	102.33

การศึกษาประสิทธิภาพการวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Recovery) ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) พบค่าเปอร์เซ็นต์การวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Percentage Recoveries) มีค่าอยู่ในช่วง 97.00 – 110.50 %

3.2 : การวัดปริมาณตะกั่วด้วยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส

จากการศึกษาปฏิกิริยาพื้นฐานได้ออกแบบระบบโฟลอินเจกชัน ดังได้แสดงในรูปที่ 3.8 โดยมีการฉีด (Injected) สารละลายมาตรฐานตะกั่วเข้าไปในสารละลายตัวพา (H_2SO_4 ; R1) เพื่อให้ทำปฏิกิริยากับ 1,5-Diphenylthiocarbazone (Dithizone ; R3) โดยใช้สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) (SDS ; R2) เป็นตัวช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการวิเคราะห์ (Enhancer) จากการออกแบบระบบโฟลอินเจกชันนี้ จะได้ทำการศึกษาความเป็นไปได้ในขั้นตอนของการศึกษาต่อไปด้วยการทำการประเมินวิธีวิเคราะห์ (Validation Method) ด้วยการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 500 nm



รูปที่ 3.8 การออกแบบระบบโฟลอินเจกชัน (Flow Manifold) สำหรับการพัฒนาเทคนิคโฟลอินเจกชันอย่างง่ายสำหรับการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว

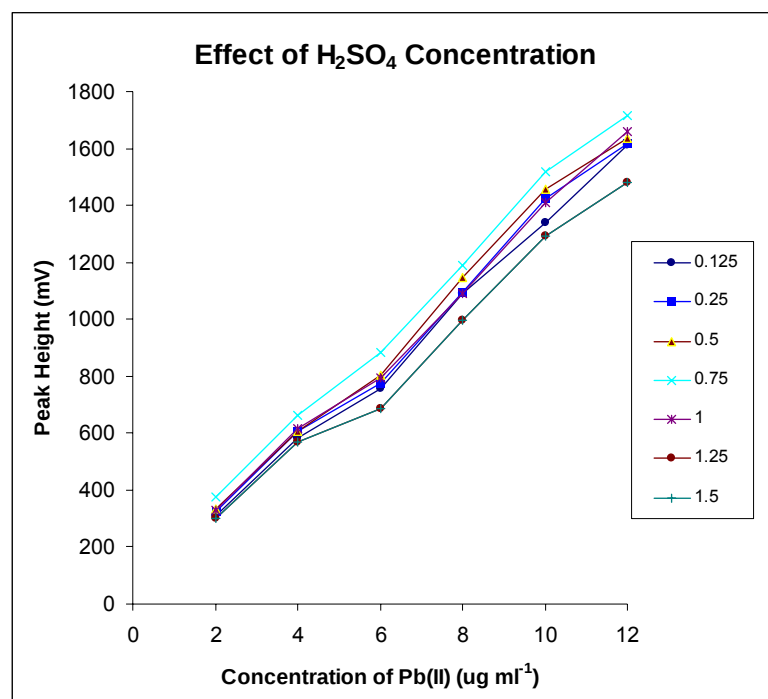
(R1, R2, R3 : Reagents ; P : Pump , MC1, MC2 : Mixing Coils ; D : Detector ;

R ; Chart Recorder , W ; Waste)

ตารางที่ 3.14 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

Concentration of H_2SO_4 (mol l^{-1})	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Peak Height (mV)						r^2
		1	2	3	4	5	Mean	
0.125	2	300	310	300	320	310	308	0.9961
	4	580	600	590	590	560	584	
	6	760	760	760	750	760	758	
	8	1070	1070	1090	1100	1120	1090	
	10	1330	1340	1350	1340	1340	1340	
	12	1600	1610	1620	1610	1610	1610	
0.25	2	310	330	330	330	330	326	0.9928
	4	610	620	610	610	590	608	
	6	780	770	770	780	780	776	
	8	1100	1090	1100	1100	1090	1096	
	10	1430	1420	1410	1440	1430	1426	
	12	1620	1620	1630	1630	1590	1618	
0.50	2	340	340	340	320	320	332	0.9932
	4	620	600	610	600	610	608	
	6	810	790	790	810	810	802	
	8	1140	1140	1150	1150	1150	1146	
	10	1460	1450	1450	1460	1470	1458	
	12	1630	1620	1630	1630	1660	1634	
0.75	2	360	380	380	380	380	376	0.9963
	4	660	660	660	670	660	662	
	6	890	880	880	890	870	882	
	8	1190	1200	1180	1180	1190	1188	
	10	1520	1530	1500	1520	1520	1518	
	12	1710	1720	1720	1710	1720	1716	
1.0	2	330	330	320	340	330	330	0.9951
	4	610	610	610	620	620	614	
	6	790	800	790	780	800	792	
	8	1100	1100	1080	1080	1090	1090	
	10	1420	1410	1440	1390	1400	1412	
	12	1680	1660	1650	1650	1650	1658	
1.25	2	320	320	320	330	330	324	0.9954
	4	600	590	600	590	600	596	
	6	750	760	750	760	760	756	
	8	1060	1050	1060	1060	1060	1058	
	10	1340	1320	1310	1330	1350	1330	
	12	1530	1550	1520	1560	1540	1540	
1.50	2	300	310	300	300	300	302	0.9893
	4	580	570	570	560	560	568	
	6	700	690	680	680	680	686	
	8	1000	990	990	1000	990	994	
	10	1290	1290	1300	1300	1290	1294	
	12	1480	1480	1490	1480	1480	1482	

ตารางที่ 3.14 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ที่ความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25 และ 1.50 mol l^{-1} จากการศึกษาเมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนคลีนแสงจะได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.9961, 0.9928, 0.9932, 0.9963, 0.9951, 0.9954 และ 0.9893 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.15



รูปที่ 3.9 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟูริก(H_2SO_4) เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ค่าความเข้มข้นที่ให้ค่าที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 0.75 mol l^{-1}

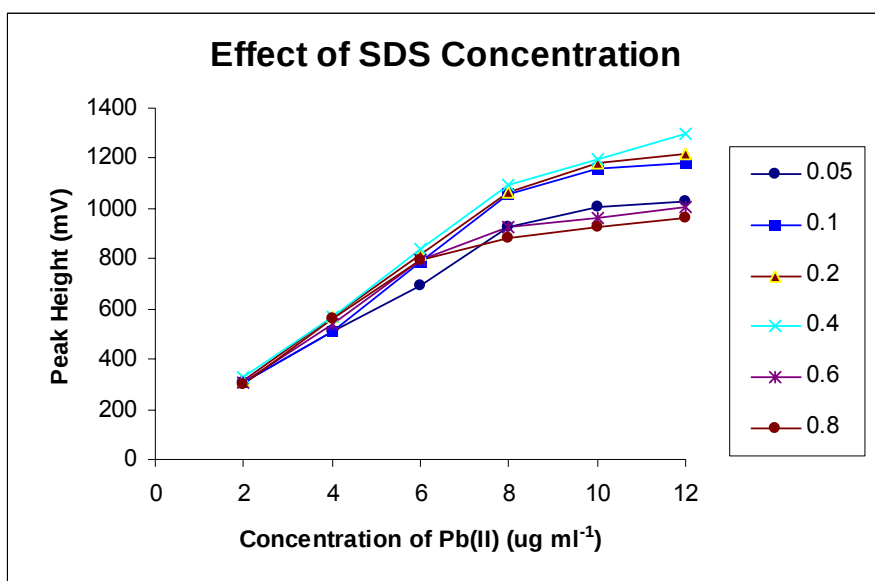
ตารางที่ 3.15 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ต่อค่าสมการเส้นตรง

Concentration of H_2SO_4 (mol l^{-1})	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
0.125	$y = 130.14x + 37.33$	0.9961
0.25	$y = 131.91x + 51.60$	0.9928
0.50	$y = 134.34x + 56.27$	0.9932
0.75	$y = 136.77x + 99.60$	0.9963
1.00	$y = 133.31x + 49.47$	0.9951
1.25	$y = 122.63x + 75.60$	0.9954
1.50	$y = 119.80x + 49.07$	0.9893

ตารางที่ 3.16 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS)

Concentration of SDS (mol l ⁻¹)	Concentration of Pb (II) (µg ml ⁻¹)	Peak Height (mV)						r ²
		1	2	3	4	5	Mean	
0.05	2	310	300	300	310	310	306	0.9427
	4	500	510	500	520	530	512	
	6	680	700	690	690	700	692	
	8	940	920	930	920	910	924	
	10	1000	1000	1000	1010	1010	1004	
	12	1010	1010	1120	1000	1010	1030	
0.1	2	300	310	290	300	300	308	0.9371
	4	500	510	520	520	500	510	
	6	770	790	780	790	790	784	
	8	1050	1050	1070	1060	1070	1060	
	10	1180	1160	1150	1150	1160	1160	
	12	1190	1200	1180	1180	1150	1180	
0.2	2	330	310	300	310	310	312	0.9469
	4	580	550	550	580	570	566	
	6	820	820	820	810	810	816	
	8	1050	1050	1080	1080	1080	1068	
	10	1180	1190	1180	1180	1170	1180	
	12	1210	1200	1230	1240	1220	1220	
0.4	2	350	330	350	320	300	330	0.9652
	4	580	580	560	550	560	566	
	6	850	840	830	850	830	840	
	8	1080	1090	1090	1100	1100	1092	
	10	1190	1210	1190	1200	1200	1198	
	12	1310	1300	1300	1300	1290	1300	
0.6	2	320	310	300	290	310	306	0.8921
	4	540	550	540	540	510	536	
	6	790	800	800	800	790	796	
	8	920	920	930	920	930	924	
	10	980	960	960	970	960	966	
	12	1000	1010	1000	1010	1010	1006	
0.8	2	310	300	300	290	310	302	0.8694
	4	550	550	560	570	580	562	
	6	810	800	790	770	790	792	
	8	890	870	890	880	890	884	
	10	920	930	930	920	920	924	
	12	960	970	980	960	950	964	

จากตารางที่ 3.16 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 mol l⁻¹ จากการศึกษาเมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง จะได้ค่า Correlation coefficient : r² มีค่าเท่ากับ 0.9427, 0.9371, 0.9469, 0.9652, 0.8921 และ 0.8694 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.17



รูปที่ 3.10 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS)

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ค่าความเข้มข้นที่ให้ค่าที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 0.4 mol l⁻¹ ที่ให้ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงและค่าความสัมพันธ์ของการเป็นเส้นตรง (r²) ที่เหมาะสม

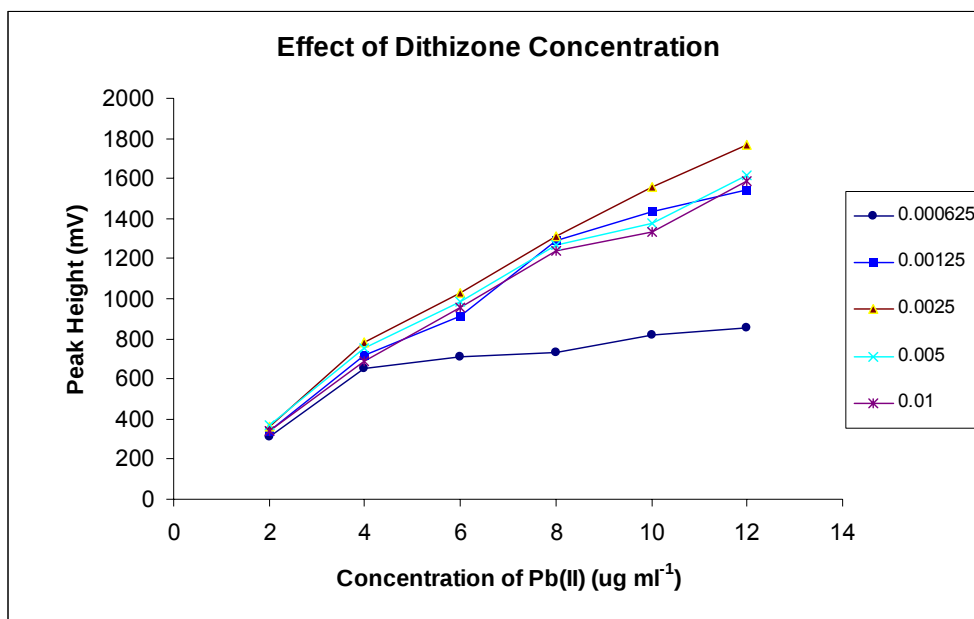
ตารางที่ 3.17 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) ต่อค่าสมการเส้นตรง

Concentration of SDS (mol l ⁻¹)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r ²
0.05	y = 76.114x + 211.87	0.9427
0.1	y = 94.086x + 175.07	0.9371
0.2	y = 94.771x + 196.93	0.9469
0.4	y = 99.971x + 187.87	0.9652
0.6	y = 70.257x + 263.87	0.8921
0.8	y = 64.114x + 289.20	0.8694

ตารางที่ 3.18 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone)

Dithizone (% w/v)	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Peak Height (mV)						r^2
		1	2	3	4	5	Mean	
0.000625	2	300	310	310	310	310	308	0.7854
	4	660	650	650	660	650	654	
	6	720	710	710	700	750	712	
	8	730	720	730	720	720	730	
	10	830	810	800	830	820	818	
	12	860	860	850	870	850	858	
0.00125	2	340	340	340	340	340	340	0.9657
	4	730	710	710	710	710	714	
	6	920	910	920	900	900	910	
	8	1270	1300	1290	1270	1280	1288	
	10	1440	1400	1450	1460	1430	1436	
	12	1570	1540	1550	1560	1510	1546	
0.0025	2	360	360	370	360	370	364	0.9882
	4	760	770	790	790	790	780	
	6	1020	1020	1030	1030	1040	1028	
	8	1300	1310	1300	1310	1320	1308	
	10	1560	1550	1560	1570	1560	1560	
	12	1750	1740	1780	1770	1790	1740	
0.005	2	370	360	370	360	370	366	0.9753
	4	750	750	740	770	750	752	
	6	1000	990	980	980	990	988	
	8	1280	1260	1280	1270	1260	1270	
	10	1390	1400	1380	1360	1360	1378	
	12	1620	1610	1630	1610	1610	1616	
0.01	2	350	340	350	340	340	344	0.9785
	4	700	670	690	690	700	690	
	6	960	970	950	950	940	954	
	8	1240	1250	1240	1230	1230	1238	
	10	1340	1340	1330	1340	1330	1336	
	12	1590	1580	1590	1580	1580	1584	

ตารางที่ 3.18 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone) ที่ความเข้มข้น 0.000625, 0.00125, 0.0025, 0.005 และ 0.01 % (w/v) การทดลองจะได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.7854, 0.9657, 0.9882, 0.9753 และ 0.9785 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.19 จากผลการศึกษาก็จะทำการเลือกความเข้มข้นที่ให้ค่าที่เหมาะสมที่สุดเพื่อศึกษาขั้นต่อไป



รูปที่ 3.11 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone) เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ค่าความเข้มข้นที่ให้ค่าเหมาะสมที่สุด คือ ความเข้มข้น 0.0025 % (w/v)

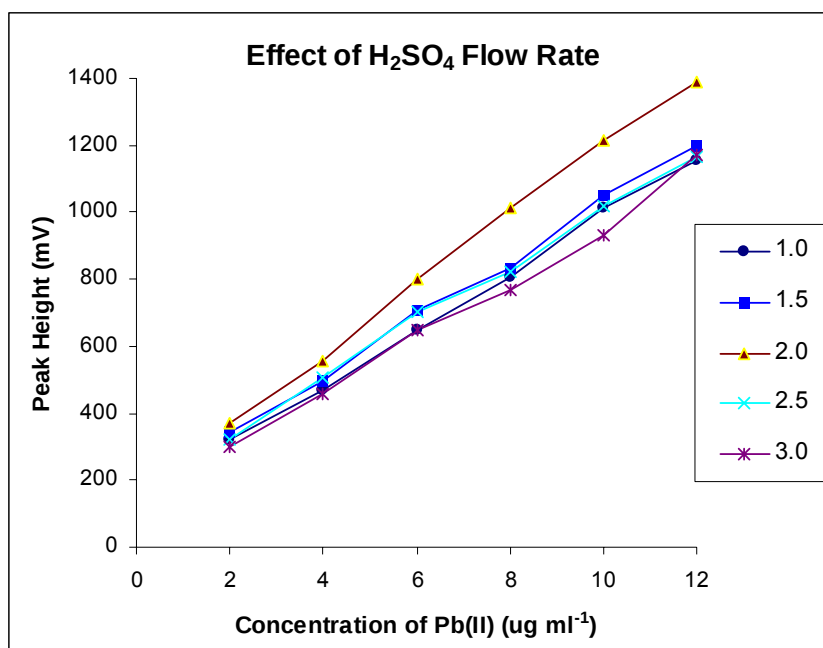
ตารางที่ 3.19 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายไดไธโซน (Dithizone) ต่อค่าสมการเส้นตรง

Concentration of Dithizone (% w/v)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
0.000625	$y = 46.571x + 354.00$	0.7854
0.00125	$y = 122.49x + 181.60$	0.9657
0.0025	$y = 137.57x + 171.33$	0.9882
0.005	$y = 120.14x + 220.67$	0.9753
0.01	$y = 120.31x + 82.13$	0.9785

ตารางที่ 3.20 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายกรดซัลฟูริก

Flow rate of H_2SO_4 (ml min^{-1})	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Peak Height (mV)						r^2
		1	2	3	4	5	Mean	
1.0	2	340	320	320	320	320	324	0.9978
	4	490	460	470	450	470	468	
	6	660	640	640	660	650	650	
	8	810	800	800	820	800	806	
	10	1020	1000	1020	1020	1010	1014	
	12	1180	1160	1140	1140	1160	1156	
1.5	2	330	340	340	370	330	342	0.9960
	4	510	490	480	500	490	494	
	6	700	710	720	710	710	710	
	8	840	840	830	830	820	832	
	10	1050	1050	1060	1050	1050	1052	
	12	1210	1210	1200	1180	1190	1198	
2.0	2	380	390	350	360	380	372	0.9980
	4	560	540	580	560	550	558	
	6	810	790	820	800	790	802	
	8	1010	1010	1020	1000	1020	1012	
	10	1210	1210	1200	1230	1220	1214	
	12	1390	1380	1400	1380	1400	1390	
2.5	2	320	320	330	320	320	322	0.9965
	4	480	510	510	510	510	504	
	6	700	710	720	680	710	704	
	8	830	820	830	830	800	822	
	10	1010	1030	1020	1010	1010	1016	
	12	1160	1170	1170	1170	1150	1164	
3.0	2	290	310	310	290	310	302	0.9919
	4	450	460	470	460	450	458	
	6	660	640	650	640	650	648	
	8	780	770	750	770	770	768	
	10	920	930	940	920	940	930	
	12	1130	1120	1100	1110	1100	1172	

ตารางที่ 3.20 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายกรดซัลฟูริก ที่อัตราการไหล 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ml min^{-1} จากการศึกษาเมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงจากอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายกรดซัลฟูริกต่างๆ กัน จะได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.9978, 0.9960, 0.9980, 0.9965 และ 0.9919 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.21



รูปที่ 3.12 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายกรดซัลฟูริก

การศึกษการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายกรดซัลฟูริก เพื่อหาอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายกรดซัลฟูริก ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ค่าที่ให้ค่าอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายกรดซัลฟูริกที่เหมาะสม คือ อัตราการไหล 2.0 ml min^{-1} ไปทำการศึกษต่อไป

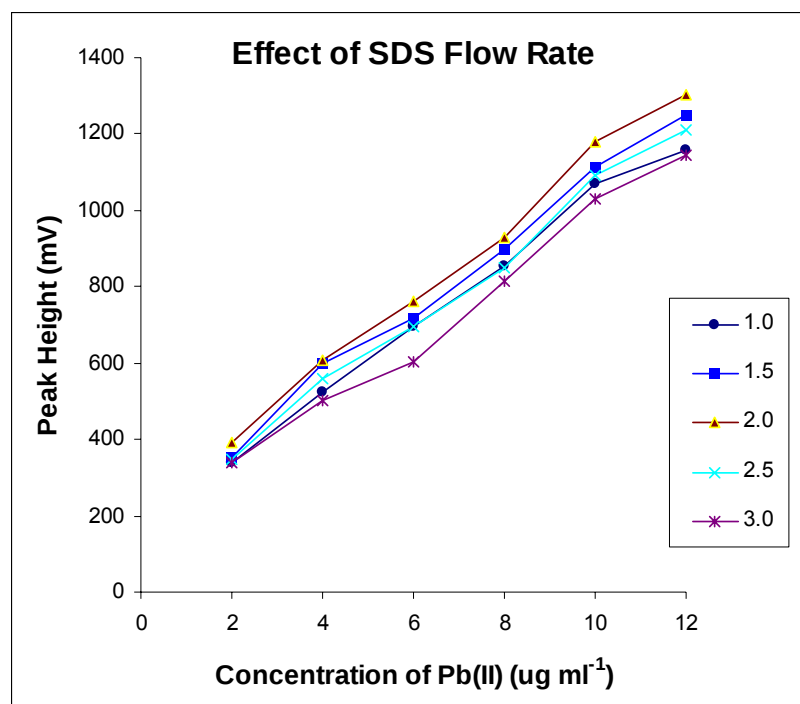
ตารางที่ 3.21 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายกรดซัลฟูริกต่อค่าสมการเส้นตรง

Flow rate of H_2SO_4 (ml min^{-1})	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
1.0	$y = 85.057x + 140.93$	0.9978
1.5	$y = 86.800x + 163.73$	0.9960
2.0	$y = 103.830x + 164.53$	0.9980
2.5	$y = 83.771x + 168.93$	0.9965
3.0	$y = 84.086x + 124.40$	0.9919

ตารางที่ 3.22 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายโซเดียมโคดีซิลซัลเฟต

Flow rate of SDS (ml min ⁻¹)	Concentration of Pb (II) (µg ml ⁻¹)	Peak Height (mV)						r ²
		1	2	3	4	5	Mean	
1.0	2	330	330	330	350	350	338	0.9933
	4	530	530	510	520	520	522	
	6	690	680	700	700	700	694	
	8	860	840	840	860	860	852	
	10	1060	1070	1070	1070	1080	1070	
	12	1180	1160	1140	1120	1160	1140	
1.5	2	350	360	360	350	350	354	0.9934
	4	600	600	590	610	590	598	
	6	710	720	720	710	720	716	
	8	890	900	910	900	890	898	
	10	1110	1110	1110	1120	1120	1114	
	12	1270	1260	1230	1250	1250	1252	
2.0	2	400	380	400	390	390	392	0.9942
	4	600	620	600	600	620	608	
	6	740	780	770	750	770	762	
	8	940	940	930	930	910	930	
	10	1180	1180	1190	1170	1190	1182	
	12	1310	1300	1300	1300	1310	1304	
2.5	2	360	350	360	350	330	350	0.9932
	4	570	550	570	560	540	558	
	6	690	690	700	700	700	696	
	8	860	830	850	850	860	850	
	10	1100	1100	1100	1080	1090	1094	
	12	1220	1220	1200	1210	1210	1212	
3.0	2	340	340	340	340	330	338	0.9899
	4	510	500	510	490	500	502	
	6	610	610	600	600	600	604	
	8	820	830	830	800	800	816	
	10	1030	1040	1030	1040	1010	1030	
	12	1160	1170	1130	1130	1130	1144	

ตารางที่ 3.22 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโคดีซิลซัลเฟต ที่อัตราการไหล 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ml min⁻¹ จากการทดลองเมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนคลิ่นแสงที่อัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโคดีซิลซัลเฟตต่างๆ กัน จะได้ค่า r²: Correlation coefficient มีค่าเท่ากับ 0.9933, 0.9934, 0.9942, 0.9932 และ 0.9899 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.23



รูปที่ 3.13 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต

การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต เพื่อหาอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟตที่เหมาะสม ที่จะใช้ในการศึกษาต่อไป พบค่าที่ให้ค่าอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) ที่เหมาะสม คือ อัตราการไหล 2.0 ml min⁻¹

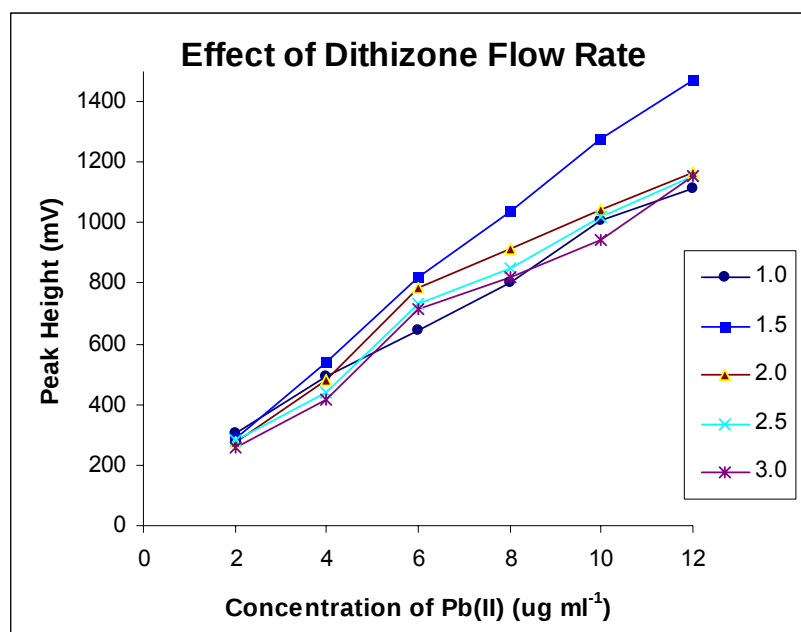
ตารางที่ 3.23 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต ต่อค่าสมการเส้นตรง

Flow rate of SDS (ml min ⁻¹)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r ²
1.0	y = 85.886x + 174.80	0.9933
1.5	y = 88.857x + 200.00	0.9934
2.0	y = 92.143x + 218.00	0.9942
2.5	y = 86.743x + 186.13	0.9932
3.0	y = 83.229x + 156.40	0.9899

ตารางที่ 3.24 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายไดโครโซน

Flow rate of Dithizone (ml min ⁻¹)	Concentration of Pb (II) (µg ml ⁻¹)	Peak Height (mV)						r ²
		1	2	3	4	5	Mean	
1.0	2	300	320	310	300	280	302	0.9958
	4	490	500	490	490	490	492	
	6	670	650	650	620	620	642	
	8	800	800	800	810	810	804	
	10	1000	1000	1010	1010	1010	1006	
	12	1120	1130	1110	1100	1110	1114	
1.5	2	290	300	290	270	280	286	0.9968
	4	540	550	530	520	560	540	
	6	820	820	830	820	810	820	
	8	1050	1040	1040	1020	1050	1040	
	10	1270	1280	1290	1280	1270	1278	
	12	1460	1470	1470	1470	1480	1470	
2.0	2	280	290	280	270	270	278	0.9665
	4	480	480	490	470	490	482	
	6	780	790	800	780	790	788	
	8	920	930	910	900	920	916	
	10	1040	1050	1040	1050	1030	1042	
	12	1170	1160	1170	1180	1150	1166	
2.5	2	280	280	300	280	280	284	0.9839
	4	450	430	430	450	440	440	
	6	740	730	730	730	720	730	
	8	860	850	860	850	840	852	
	10	1040	1010	1030	1020	1000	1020	
	12	1140	1150	1150	1180	1140	1152	
3.0	2	250	230	260	260	280	256	0.9798
	4	420	420	430	400	400	414	
	6	720	730	700	720	710	716	
	8	820	820	820	820	820	820	
	10	950	960	920	940	940	942	
	12	1150	1160	1150	1160	1160	1156	

ตารางที่ 3.24 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายไดโครโซน ที่อัตราการไหล 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ml min⁻¹ จากการศึกษาเมื่อทำการวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่อัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายไดโครโซนต่างๆกัน จะได้ค่า Correlation coefficient : r² มีค่าเท่ากับ 0.9958, 0.9968, 0.9665, 0.9839 และ 0.9798 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.25



รูปที่ 3.14 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายไดไฮโซน

การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายไดไฮโซน เพื่อหาอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายไดไฮโซน ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ค่าที่ให้ค่าอัตราการไหล (Flow rate) ของสารละลายไดไฮโซนที่เหมาะสม คือ อัตราการไหล 1.5 ml min⁻¹ ที่ให้ค่าการดูดกลืนคลีนแสงและค่าความสัมพันธ์ของการเป็นเส้นตรง (r^2) ที่เหมาะสม ไปทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 3.25 การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล (Flow rate) สารละลายไดไฮโซนต่อค่าสมการเส้นตรง

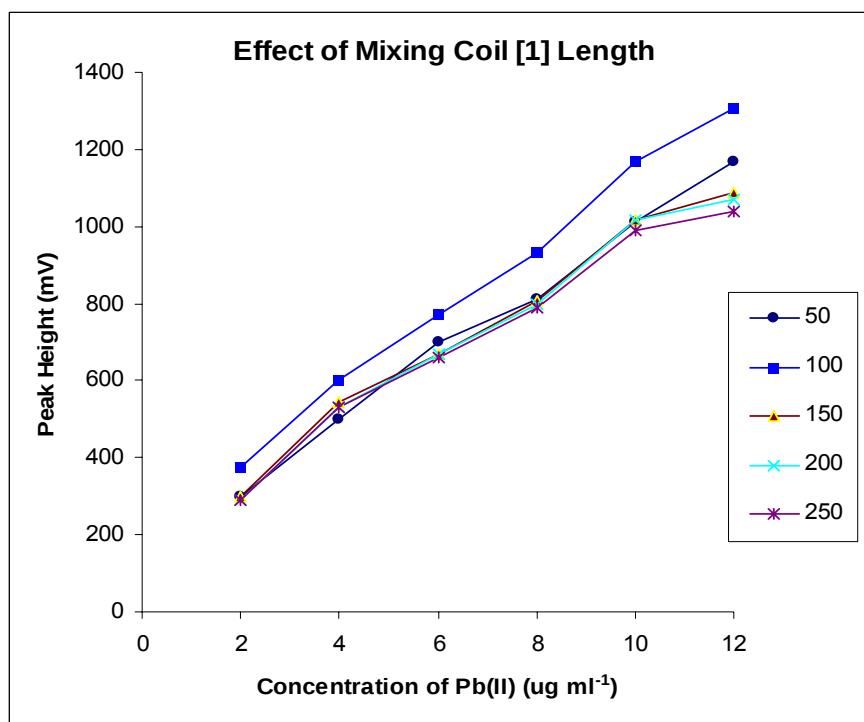
Flow rate of Dithizone (ml min ⁻¹)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
1.0	$y = 82.343x + 150.27$	0.9958
1.5	$y = 119.34x + 70.267$	0.9968
2.0	$y = 89.257x + 153.87$	0.9665
2.5	$y = 88.600x + 126.13$	0.9839
3.0	$y = 88.400x + 98.53$	0.9798

ตารางที่ 3.26 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 1

Length of Reaction coil (cm)	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Peak Height (mV)						r^2
		1	2	3	4	5	Mean	
50	2	280	310	290	310	300	298	0.9952
	4	490	490	510	490	510	498	
	6	680	710	700	700	700	698	
	8	820	820	800	800	810	810	
	10	1010	1010	1010	1020	1010	1012	
	12	1170	1160	1170	1170	1160	1166	
100	2	370	370	380	380	370	374	0.9959
	4	610	610	600	600	590	602	
	6	780	770	770	760	770	770	
	8	930	940	920	930	940	932	
	10	1150	1170	1170	1180	1170	1168	
	12	1300	1310	1310	1300	1310	1306	
150	2	300	310	300	290	300	300	0.9823
	4	560	540	540	540	530	542	
	6	670	670	680	650	670	668	
	8	810	800	800	810	810	806	
	10	1010	1030	1020	1010	1020	1018	
	12	1100	1080	1090	1080	1080	1086	
200	2	300	290	300	290	280	292	0.9785
	4	540	540	540	540	530	532	
	6	680	650	680	670	660	668	
	8	800	790	790	800	810	798	
	10	1010	1020	1020	1020	1010	1016	
	12	1070	1060	1090	1060	1060	1068	
250	2	290	280	290	300	290	290	0.9753
	4	530	530	530	530	540	532	
	6	660	660	650	670	650	658	
	8	780	790	800	790	790	790	
	10	1000	990	990	980	1000	992	
	12	1050	1040	1030	1030	1040	1038	

MC 1 = H_2SO_4 + SDS, MC 2 = Dithizone + H_2SO_4 + SDS

ตารางที่ 3.26 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 1 ซึ่งผสมระหว่างสารละลายตะกั่ว Pb (II) พร้อมด้วยสารละลายตัวพา H_2SO_4 และ Sodium dodecyl sulfate จะได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.9952, 0.9959, 0.9823, 0.9785 และ 0.9753 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.27



รูปที่ 3.15 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 1

การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 1 ซึ่งผสมระหว่างสารละลายตะกั่ว Pb (II) พร้อมด้วยสารละลายตัวพา H_2SO_4 และ Sodium dodecyl sulfate ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ความยาวท่อหมายเลข 1 ที่เหมาะสม คือ ความยาว 100 cm

ตารางที่ 3.27 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อ (Reaction coil) หมายเลข 1 ต่อค่าสมการเส้นตรง

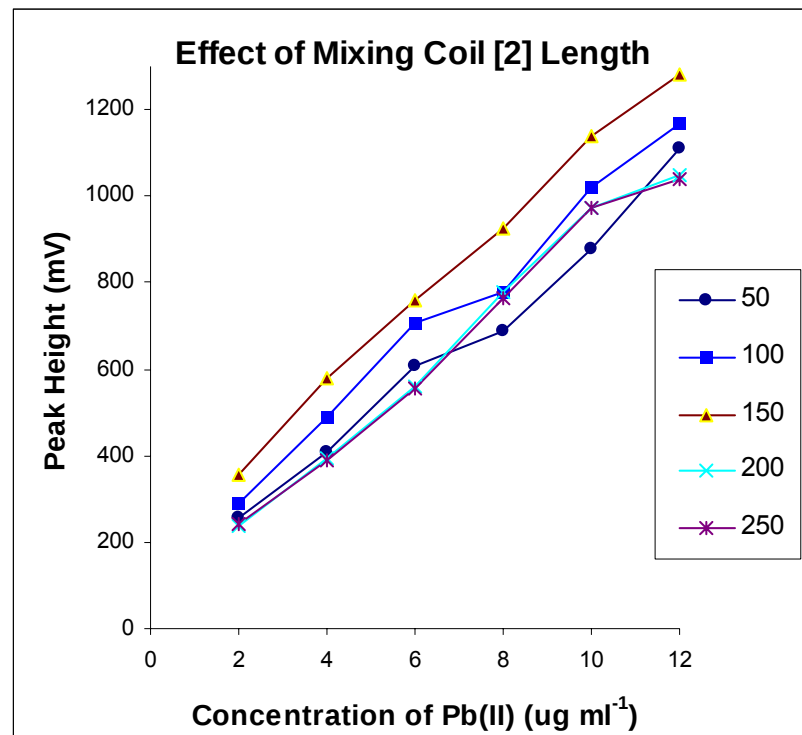
Reaction coil length (cm)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
50	$y = 85.629x + 147.60$	0.9952
100	$y = 93.143x + 206.67$	0.9959
150	$y = 78.514x + 187.07$	0.9823
200	$y = 78.029x + 182.8$	0.9785
250	$y = 75.029x + 191.47$	0.9753

ตารางที่ 3.28 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 2

Length of Reaction coil (cm)	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Peak Height (mV)						r^2
		1	2	3	4	5	Mean	
50	2	240	260	260	270	260	258	0.9873
	4	420	410	400	410	400	408	
	6	610	610	590	620	610	608	
	8	690	700	690	680	690	690	
	10	880	870	880	880	880	878	
	12	1120	1100	1120	1110	1100	1110	
100	2	300	290	290	290	280	290	0.9888
	4	490	490	490	480	500	490	
	6	710	700	700	710	710	706	
	8	780	770	780	780	780	778	
	10	1030	1030	1010	1010	1010	1018	
	12	1170	1170	1170	1160	1160	1166	
150	2	360	350	350	360	350	354	0.9965
	4	600	580	570	570	580	580	
	6	750	760	770	760	760	760	
	8	920	920	920	930	930	924	
	10	1140	1130	1140	1120	1120	1140	
	12	1300	1260	1280	1280	1280	1280	
200	2	240	240	240	230	240	238	0.9886
	4	410	380	380	400	400	394	
	6	570	550	560	560	570	562	
	8	790	770	770	790	780	780	
	10	980	970	950	980	980	972	
	12	1070	1040	1040	1040	1050	1048	
250	2	230	240	250	250	250	244	0.9867
	4	390	390	390	400	380	390	
	6	550	550	550	560	560	554	
	8	760	770	760	760	770	764	
	10	970	970	970	980	980	974	
	12	1030	1040	1030	1050	1040	1038	

MC 1 = H_2SO_4 + SDS, MC 2 = Dithizone + H_2SO_4 + SDS

ตารางที่ 3.28 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 2 ที่ผสมระหว่างสารละลายผสมของสารละลายตะกั่ว Pb (II) พร้อมด้วยสารละลายตัวพา H_2SO_4 และ Sodium dodecyl sulfate ผสมกับสารละลาย Dithizone จะได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.9873, 0.9888, 0.9965, 0.9886 และ 0.9867 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.29



รูปที่ 3.16 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 2

การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อผสมสารละลาย (Reaction coil) หมายเลข 2 ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ความยาวท่อหมายเลข 2 ที่เหมาะสม คือ ความยาว 150 cm ไปทำการศึกษาสำหรับขั้นตอนต่อไป

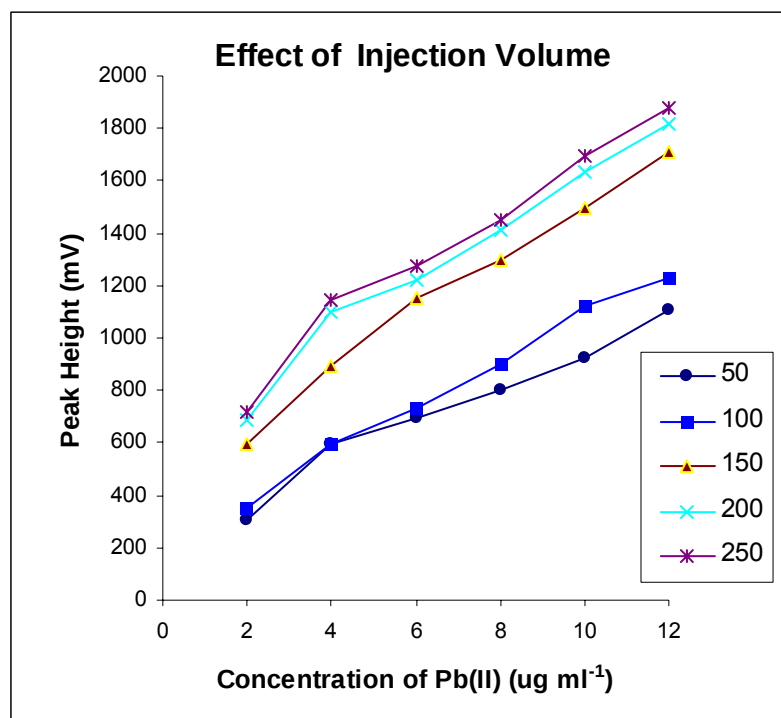
ตารางที่ 3.29 การเปลี่ยนแปลงความยาวท่อ (Reaction coil) หมายเลข 2 ต่อค่าสมการเส้นตรง

Reaction coil length (cm)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
50	$y = 82.171x + 83.467$	0.9873
100	$y = 86.229x + 137.73$	0.9888
150	$y = 92.486x + 192.27$	0.9965
200	$y = 85.743x + 65.467$	0.9886
250	$y = 84.743x + 67.467$	0.9867

ตารางที่ 3.30 การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ (Injection Volume)

Injection Volume (μl)	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Peak Height (mV)						r^2
		1	2	3	4	5	Mean	
50	2	300	320	300	300	300	304	0.9654
	4	590	590	600	600	610	598	
	6	700	700	690	700	690	696	
	8	810	790	810	800	800	802	
	10	930	930	940	910	900	922	
	12	1120	1110	1100	1110	1100	1108	
100	2	340	340	360	350	350	348	0.9914
	4	600	580	590	600	590	592	
	6	730	730	740	730	720	730	
	8	900	910	900	900	890	900	
	10	1110	1130	1120	1120	1130	1120	
	12	1220	1220	1240	1230	1230	1228	
150	2	580	590	600	590	610	594	0.9883
	4	890	890	900	900	900	896	
	6	1140	1150	1170	1150	1150	1152	
	8	1310	1310	1290	1290	1300	1300	
	10	1500	1480	1500	1500	1510	1498	
	12	1700	1700	1720	1720	1710	1710	
200	2	680	690	700	690	680	688	0.9737
	4	1090	1090	1110	1110	1100	1102	
	6	1220	1220	1220	1220	1210	1218	
	8	1410	1420	1420	1420	1400	1414	
	10	1650	1640	1630	1630	1630	1636	
	12	1820	1820	1820	1810	1820	1818	
250	2	730	720	710	720	720	720	0.9731
	4	1130	1150	1150	1150	1140	1144	
	6	1270	1280	1270	1280	1270	1274	
	8	1450	1460	1440	1450	1440	1448	
	10	1690	1690	1700	1700	1690	1694	
	12	1880	1890	1890	1880	1860	1880	

ตารางที่ 3.30 การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ (Injection Volume)
 จากการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง ได้ค่า Correlation coefficient : r^2 มีค่าเท่ากับ 0.9654, 0.9914, 0.9883, 0.9739 และ 0.9731 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.31



รูปที่ 3.17 การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ (Injection Volume)

การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ (Injection Volume) ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองต่อไป ปริมาตรสารตัวอย่างที่ให้ค่าที่เหมาะสม คือ ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์เท่ากับ 150 μl นำไปใช้ในการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 3.31 การเปลี่ยนแปลงขนาดปริมาตรสารตัวอย่าง (Injection Volume) ต่อค่าสมการเส้นตรง

Injection Volume (μl)	Linear regression equation	Correlation coefficient ; r^2
50	$y = 72.829x + 228.53$	0.9654
100	$y = 87.914x + 204.27$	0.9914
150	$y = 107.630x + 438.27$	0.9883
200	$y = 106.400x + 567.87$	0.9739
250	$y = 108.91x + 597.60$	0.9731

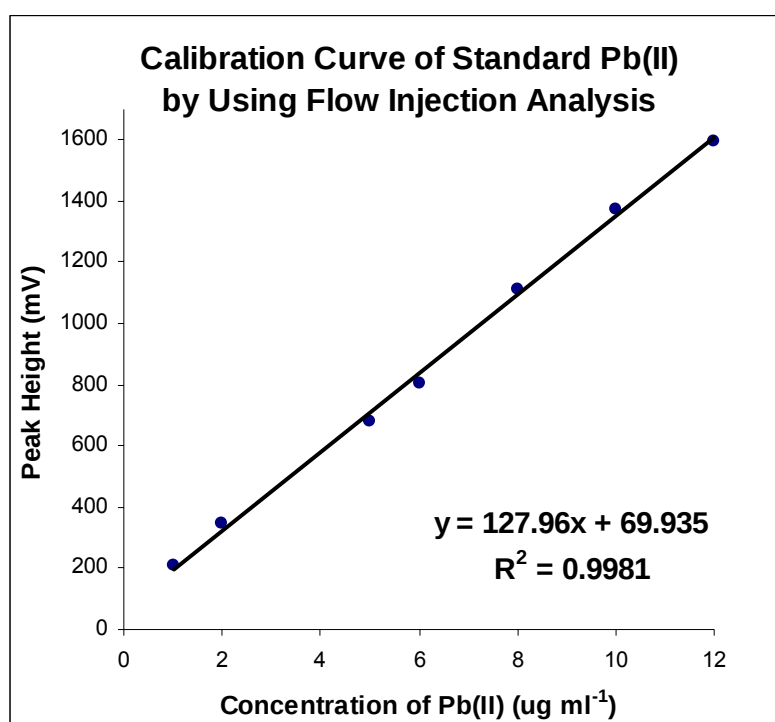
ตารางที่ 3.32 ผลการศึกษาผลกระทบของไอออนชนิดต่าง ๆ ต่อการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว (โดยศึกษาด้วยการใช้สารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) $4 \mu\text{g ml}^{-1}$)

Interferences	Peak height (mV)	% Relative height
None	730	100.00
Mg ²⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	650	89.04
Mn ²⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	590	80.82
Ca ²⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	640	87.67
As ²⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	680	93.15
Hg ²⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	620	84.93
Zn ²⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	660	90.41
Sn ²⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	630	86.30
Al ³⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	650	98.04
Cu ²⁺ $40 \mu\text{g ml}^{-1}$	590	80.80

ผลการศึกษาผลกระทบของไอออนชนิดต่างๆ โดยศึกษาที่มีความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆต่อความเข้มข้นของสารปรอทเท่ากับ 10 เท่า ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานที่มีไอออนรบกวนเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) พบว่าไอออนรบกวนมีผลการรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณไอออนต่างๆ มีเปอร์เซ็นต์การรบกวนสัมพัทธ์ (% Relative Height) มีค่าอยู่ระหว่างในช่วง 80.80-98.04 % หรือพบการรบกวนการวิเคราะห์จากน้อยไปมากจากไอออนต่างๆ ดังนี้ คือ Al³⁺, As²⁺, Zn²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Sn²⁺, Hg²⁺, Mn²⁺ และ Cu²⁺ ตามลำดับ

ตารางที่ 3.33 ค่าความสูงของสัญญาณสารละลายมาตรฐาน Pb (II) ที่ความเข้มข้น 1-12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (n=5)

Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Peak Height (mv)					Mean
	peak 1	peak 2	peak 3	peak 4	peak 5	
1	220	190	220	200	200	206
2	350	360	330	340	340	344
4	690	670	670	680	700	682
6	810	790	790	820	820	806
8	1110	1110	1110	1100	1120	1110
10	1400	1360	1360	1370	1380	1374
12	1590	1590	1590	1600	1600	1598



รูปที่ 3.18 กราฟสารละลายมาตรฐาน Pb (II) ที่ความเข้มข้น 1-12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (n=5)

เปรียบเทียบค่าความสูงของ (Peak Height) ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน จำนวนสมการเส้นตรง (linear regression) ค่าความเป็นเส้นตรง (Correlation Coefficient : r^2) และคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOD) และค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ)

- ค่า **Limit of detection (LOD)** คือ ความเข้มข้นของสารที่ต่ำสุดที่สามารถตรวจพบสามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน $y = 127.96x - 69.935$

และหาได้จากสมการ $y = 3S_B + Y_B$

เมื่อ $y = \text{Peak Height (mV)}$

$S_B = \text{Standard deviation ของ Peak Height Blank (mV)}$

$Y_B = \text{Intercept ใน regression line}$

แทนค่า $y = 3 \times 1.15 - 69.935 = -66.485$

จาก Standard curve ได้สมการเส้นตรง $y = 127.96x - 69.935$

$$x = (y + 69.935) / 127.96$$

แทนค่า $y = -66.485$ ได้ $x = (-66.485 + 69.935) / 127.96$

จากการคำนวณได้ค่า LOD $= 0.027 \mu\text{g ml}^{-1}$

- ค่า **Limit of Quantification (LOQ)** คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถตรวจวัดปริมาณได้โดยมีค่าความแม่นยำและความถูกต้องเป็นที่ยอมรับ

หาได้จากสมการ $y = 10S_B + Y_B$

$y = \text{Peak Height (mV)}$

$S_B = \text{Standard deviation ของ Peak Height Blank (mV)}$

$Y_B = \text{Intercept ใน regression line (y = a + bx)}$

แทนค่า $y = 10 \times 1.15 - 69.935 = -58.435$

จาก Standard curve ได้สมการเส้นตรง $y = 127.96x - 69.935$

$$x = (y + 69.935) / 127.96$$

แทนค่า $y = -58.435$ ได้ $x = (-58.435 + 69.935) / 127.96$

จากการคำนวณได้ค่า LOQ $= 0.090 \mu\text{g ml}^{-1}$

ตารางที่ 3.34 การศึกษาประสิทธิภาพการวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Recovery) ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส (n=5)

Sample No	Concentration of Pb (II) ($\mu\text{g ml}^{-1}$)		Percentage Recoveries (%)
	Added	Founded	
1	1.00	1.06	106.00
2	2.00	2.09	104.50
3	4.00	3.89	97.25
4	6.00	6.18	103.00
5	8.00	8.22	102.75
6	10.00	10.28	102.80
7	12.00	11.89	99.08

การศึกษาประสิทธิภาพการวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Recovery) ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) ด้วยการเติม (Added) สารละลายมาตรฐานตะกั่วลงไปในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นในช่วง $1 - 12 \mu\text{g ml}^{-1}$ จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไปในการวิเคราะห์ตัวอย่าง โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมลงไปตัวอย่างละ 5 ครั้ง (n=5) ทำการบันทึกค่าความสูงของพีค (Peak Height) จากค่าความสูงของสัญญาณที่ได้ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การวิเคราะห์แบบย้อนกลับ (Percentage Recoveries) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.34 ซึ่งพบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์การวิเคราะห์แบบย้อนกลับอยู่ในช่วง 97.25 – 106.00 %

ตารางที่ 3.35 การศึกษา Repeatability ของการวิเคราะห์หาปริมาณ Pb (II) (n=12)

No. of experiments	Peak Height (mV)	
	Pb (II) 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$	Pb (II) 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$
1	680	1110
2	680	1110
3	680	1110
4	680	1110
5	690	1120
6	680	1110
7	680	1110
8	680	1110
9	680	1100
10	680	1110
11	680	1110
12	680	1110
Mean	680.83	1110.00
SD	2.89	4.28
RSD	0.42	0.38

การศึกษา Repeatability ของการวิเคราะห์หาปริมาณ Pb (II) โดยใช้สารละลายมาตรฐาน ตะกั่วที่ความเข้มข้น 4 และ 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ทำการวิเคราะห์จำนวนทั้งหมด 12 ครั้ง (n=12) พบว่า ค่าเฉลี่ยของ ความสูงของพีค (Peak Height) มีค่าเท่ากับ 680.83 และ 1110.00 mV ตามลำดับ และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) เท่ากับ 0.42 และ 0.38 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ต่ำ ทำให้สามารถสรุปได้ว่าการวิเคราะห์ซ้ำ (Repeatability) ของการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วโดยวิธีโพลีอิเล็กโทรดอะนาลิซิสเป็นวิธีที่เชื่อถือได้

ตารางที่ 3.36 ค่าการวัดปริมาณตะกั่วในตัวอย่างน้ำโดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส
กับวิธีอะตอมมิกสเปกโทรโฟโตเมตรี

Sample	Proposed Method	Compared Method	t-test
	FIA	AAS	
A	3.48	3.66	-0.18
B	5.57	5.41	0.16
C	2.32	2.30	0.02
D	6.55	6.66	-0.11
E	1.32	1.26	0.06
F	6.62	6.75	-0.13
G	2.15	2.22	-0.07
H	3.82	3.67	0.15
I	2.01	1.98	0.03
J	1.15	1.32	-0.17
K	4.41	4.59	-0.18
L	3.38	3.09	0.29
D =			-0.01083
Sd =			0.15474
t =			-0.24256

จากการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว Pb (II) ด้วยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส คือ วิธีที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน คือ วิธีอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรโฟโตเมตรี เมื่อทดสอบทางสถิติ ผลการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี ให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อค่า Critical Value (t) ที่เปิดจากตารางมีค่าเท่ากับ 2.20 และค่า $|t|$ ที่ได้จาก การคำนวณ มีค่าเท่ากับ 0.24

จากสมการ

$$t = D(\sqrt{n} / Sd)$$

$$t = -0.01083(\sqrt{12} / 0.15474)$$

$$t = -0.24256$$

บทที่ 4

สรุปผลการศึกษา

4.1 สรุปผลการศึกษา

ได้ทำการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐาน ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Pb (II) โดยใช้วิธีสเปกโตรโฟโตเมตรีและวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสในช่วงความเข้มข้น 2-15 $\mu\text{g ml}^{-1}$ และ 1-12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ พบว่ากราฟมาตรฐานให้ค่า Correlation coefficient : r^2 เท่ากับ 0.9985 และ 0.9981 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี

Parameter Studied	Range Studied	Optimum Level
Wavelength (nm)	200-700	500
Mole Ratio (Dithizone: SDS: H_2SO_4)	1:5:1, 3:5:1, 5:5:1, 1:5:5, 1:3:1, 1:7:1, 1:5:3	1:5:3
SDS Concentration (mol l^{-1})	0.1,0.2,0.4,0.6, 0.8, 1.0	0.8
Dithizone Concentration (%w/v)	0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01, 0.02	0.0025
H_2SO_4 Concentration (mol l^{-1})	0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5	0.75
Ethanol (%v/v)	60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 , 100	75
Mixing Order	D:S:H, S:H:D, H:D:S, D:H:S, H:S:D, S:D:H	D:H:S (Dithizone: H_2SO_4 : SDS)

ตารางที่ 4.2 ผลที่ได้จากการประเมินวิธีการวิเคราะห์โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี

Analytical Characteristics	Founded
Linear Equation	$y = 0.0077x - 0.0013$
Slope	0.0077
Correlation coefficient : r^2	0.9985
Linear Ranges ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	2 - 15
LOD ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	0.39
LOQ ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	1.30

จากตารางที่ 4.1 วิธีสเปกโตรโฟโตเมตรีสำหรับการวัดปริมาณตะกั่วจะเหมาะสมที่ความยาวคลื่น 500 nm อัตราส่วนที่ใช้ในการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว ที่เหมาะสมกับการวัดปริมาณสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (II) คือ Dithizone: SDS: H_2SO_4 ในอัตราส่วนที่เหมาะสมเท่ากับ 1:5: 3 การศึกษาความเข้มข้นของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว เพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ พบว่าสารละลายโซเดียมโคดีซิลซัลเฟตที่ศึกษาในช่วงความเข้มข้น $0.2 - 1.0 \text{ mol l}^{-1}$ จะมีความเข้มข้นเหมาะสมที่สุดมีค่าเท่ากับ 0.8 mol l^{-1} สารละลายกรดซัลฟูริกที่ศึกษาในช่วงความเข้มข้น $0.5 - 1.5 \text{ mol l}^{-1}$ จะมีค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษามีค่าเท่ากับ 0.75 mol l^{-1} และสารละลายไดโครโซนที่ศึกษาในช่วงความเข้มข้น $0.00125 - 0.0025 (\% \text{w/v})$ จะมีค่าที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษามีค่าเท่ากับ $0.0025 (\% \text{w/v})$

ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของตัวทำละลายแอลกอฮอล์ เพื่อหาแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมสำหรับการละลายไดโครโซน เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับระบบโฟลอินเจกชันที่จะพัฒนาขึ้น ได้ศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลที่เป็นตัวทำละลายไดโครโซนในช่วงความเข้มข้นระหว่าง $65 - 100 (\% \text{v/v})$ พบว่าความเข้มข้นที่ $75 (\% \text{v/v})$ ของสารละลายเอทานอลมีความเหมาะสมมากที่สุด ได้ศึกษาลำดับในการผสมรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัว พบลำดับในการผสมที่เหมาะสม คือ Dithizone, H_2SO_4 , SDS และได้ทำการสร้างกราฟมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ $2-15 \mu\text{g ml}^{-1}$ ได้สมการเส้นตรง คือ $Y = 0.0077X - 0.0013$ มีค่าความเป็นเส้นตรง r^2 เท่ากับ 0.9985

ตารางที่ 4.3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว Pb (II) โดยวิธีโฟลอินเจกชัน-อะนาไลซิส

Parameter Studied	Range Studied	Optimum Level
Wavelength (nm)	200-700	500
H ₂ SO ₄ Concentration (mol l ⁻¹)	0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5	0.75
SDS Concentration (mol l ⁻¹)	0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8	0.4
Dithizone Concentration (%w/v)	0.000625, 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01	0.0025
H ₂ SO ₄ Flow Rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	2.0
SDS Flow Rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	2.0
Dithizone Flow Rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	1.5
Mixing Coil [I] (cm) [Pb(II) + H ₂ SO ₄ + SDS]	50, 100, 150, 200, 250	100
Mixing Coil [II] (cm) [Pb(II) + H ₂ SO ₄ + SDS + Dithizone]	50, 100, 150, 200, 250	150
Injection Volume (μl)	50, 100, 150, 200, 250	150

ตารางที่ 4.4 ผลที่ได้จากการประเมินผลการทดลองโดยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส

Analytical Characteristics	Founded
Linear Equation	$y = 127.96x - 69.935$
Slope	127.96
Correlation coefficient : r^2	0.9981
Linear Ranges (μg ml ⁻¹)	1-12
LOD (μg ml ⁻¹)	0.027
LOQ (μg ml ⁻¹)	0.090

วิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสสำหรับการวัดปริมาณตะกั่ว Pb (II) ได้ทำการศึกษาโดยวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 500 nm ได้ทำการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของรีเอเจนต์ทั้ง 3 ตัวที่ประกอบไปด้วยซัลฟูริก (H_2SO_4) โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate) และไดไธโซน (Dithizone) เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด สารละลายไดไธโซนได้ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.000625 - 0.01 % (w/v) ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดได้แก่ 0.0025 % (w/v) สำหรับสารละลายกรดซัลฟูริกได้ศึกษาในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.125 - 1.5 mol l^{-1} พบว่าค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์มีค่าเท่ากับ 0.75 mol l^{-1} สำหรับสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตได้ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.05 - 0.8 mol l^{-1} ค่าที่เหมาะสมได้แก่ความเข้มข้น 0.4 mol l^{-1}

ได้ศึกษาการผสมกันของสารละลายรีเอเจนต์ต่างๆ ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส ได้มีการออกแบบโดยมีตำแหน่งการผสมสารละลายสองตำแหน่งเรียกว่า Mixing Coil 1 (MC1) ซึ่งผสมระหว่างสารละลายตะกั่ว Pb (II) พร้อมด้วยสารละลายตัวพาซัลฟูริก (H_2SO_4) และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate) และ Mixing Coil 2 (MC2) ที่ผสมระหว่างสารละลายผสมของสารละลายตะกั่ว Pb (II) พร้อมด้วยสารละลายตัวพาซัลฟูริก (H_2SO_4) และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate) ผสมกับสารละลายไดไธโซน (Dithizone) ได้ทำการศึกษความยาวของตำแหน่งการผสมสารละลายทั้ง MC1 และ MC2 ในช่วงความยาว 50 - 250 cm พบว่าความยาวของตำแหน่งการผสมสารละลายทั้ง MC1 และ MC2 จะมีค่าที่เหมาะสมเท่ากับ 100 และ 150 cm ตามลำดับ

ได้ศึกษาอัตราเร็วของสารละลายซัลฟูริก (H_2SO_4) โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate) และไดไธโซน (Dithizone) ในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยเทคนิคโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส ได้ทำการศึกษด้วยการเปลี่ยนแปลงความเร็วของสารละลายรีเอเจนต์ทั้งในช่วงอัตราเร็วของสารละลายระหว่าง 1.0 - 3.0 ml min^{-1} พบอัตราเร็วที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว ของสารรีเอเจนต์ทั้ง 3 มีค่าที่เท่ากับอัตราเร็ว 2.0, 2.0 และ 1.5 ml min^{-1} ตามลำดับ ปริมาณสารละลายตัวอย่างที่ได้ศึกษาอยู่ในช่วง 50 - 250 μl พบว่าปริมาณสารละลายตัวอย่างที่เหมาะสมมีค่าเท่ากับ 150 μl และได้ทำการสร้างกราฟมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 1-12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ได้สมการเส้นตรงคือ $Y = 127.96X + 69.935$ มีค่าความเป็นเส้นตรง r^2 เท่ากับ 0.9981

ผลการศึกษาผลกระทบของไอออนชนิดต่างๆ ได้ศึกษาไอออนรบกวนที่มีความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ ต่อความเข้มข้นของสารตะกั่วเท่ากับ 5 เท่า พบว่าไอออนรบกวนมีผลการรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วจากน้อยไปมากจากไอออนต่างๆ เป็นดังนี้คือ Al^{3+} , As^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sn^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} และ Cu^{2+} ตามลำดับ

เมื่อนำผลที่ได้ไปทำการประเมินวิธีการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วจาก 2 วิธี คือ วิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสที่พัฒนาขึ้น และเมื่อนำไปทำการเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานซึ่งได้เลือกใช้วิธีอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตริก จากการทดสอบทางสถิติด้วย Student *t*-test พบว่าที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % ของทั้ง 2 วิธี ให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วด้วยวิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสนั้น การควบคุมอัตราการไหลของสารละลายรีเอเจนต์ต่างๆ ต้องมีอัตราเร็วที่ค่อนข้างคงที่ (Stable) มิฉะนั้นอาจจะมีฟองอากาศเกิดขึ้นในระบบได้ อันเนื่องมาจากการเกิดปรากฏการณ์ที่เรียก Turbulant Flow
2. ท่อ(Tubling) ที่ใช้ในกระบวนการวิเคราะห์ในระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส หากเป็นท่อที่ทนต่อความเป็นกรด-ด่างและสารละลายอินทรีย์ จะทำให้อายุการใช้งานของระบบท่อดังกล่าวนานสมเหตุผล
3. ในการเตรียมสารละลายโคโรโซน หากมีการเตรียมใหม่ (Freshly) ทุกครั้งก่อนการใช้งานจะทำให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องยิ่งขึ้น
4. ในการเตรียมสารละลายโคโรโซนสามารถเตรียมได้ทั้งในสารละลายเอธานอล หรือ เมธานอล ขึ้นอยู่กับความสะดวกของห้องปฏิบัติการ แต่หากใช้สารละลายเอธานอลจะมีความปลอดภัยที่สูงกว่า

4.3 สิ่งที่จะพัฒนาหรือศึกษาต่อไป

วิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสเป็นวิธีที่ง่าย มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ที่ต่ำเมื่อเทียบกับเทคนิคที่ใช้เครื่องมือระดับสูงในการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องแม่นยำที่ยอมรับได้ สามารถที่จะพัฒนาขึ้นใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆ ได้ง่าย เพียงแต่มีองค์ประกอบที่สำคัญสี่ส่วน ซึ่งได้แก่ ปัม-แรงดันต่ำ ระบบฉีดสารตัวอย่าง ตัวตรวจวัดและส่วนบันทึกสัญญาณ สิ่งที่จะสามารถพัฒนาต่อไป เทคนิคโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสสามารถที่จะพัฒนาการวิเคราะห์ปริมาณสารต่างๆ ได้และสามารถประยุกต์การใช้งาน นอกจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงจากวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริก ยังน่าสนใจที่จะพัฒนาการวิเคราะห์โดยใช้ตัวตรวจวัดแบบสเปกโตรฟลูออโรเมตริก หรือเคมีลูมิเนสเซนซ์ ซึ่งต่างก็เป็นตัวตรวจวัดที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจวัดปริมาณสารต่างๆ

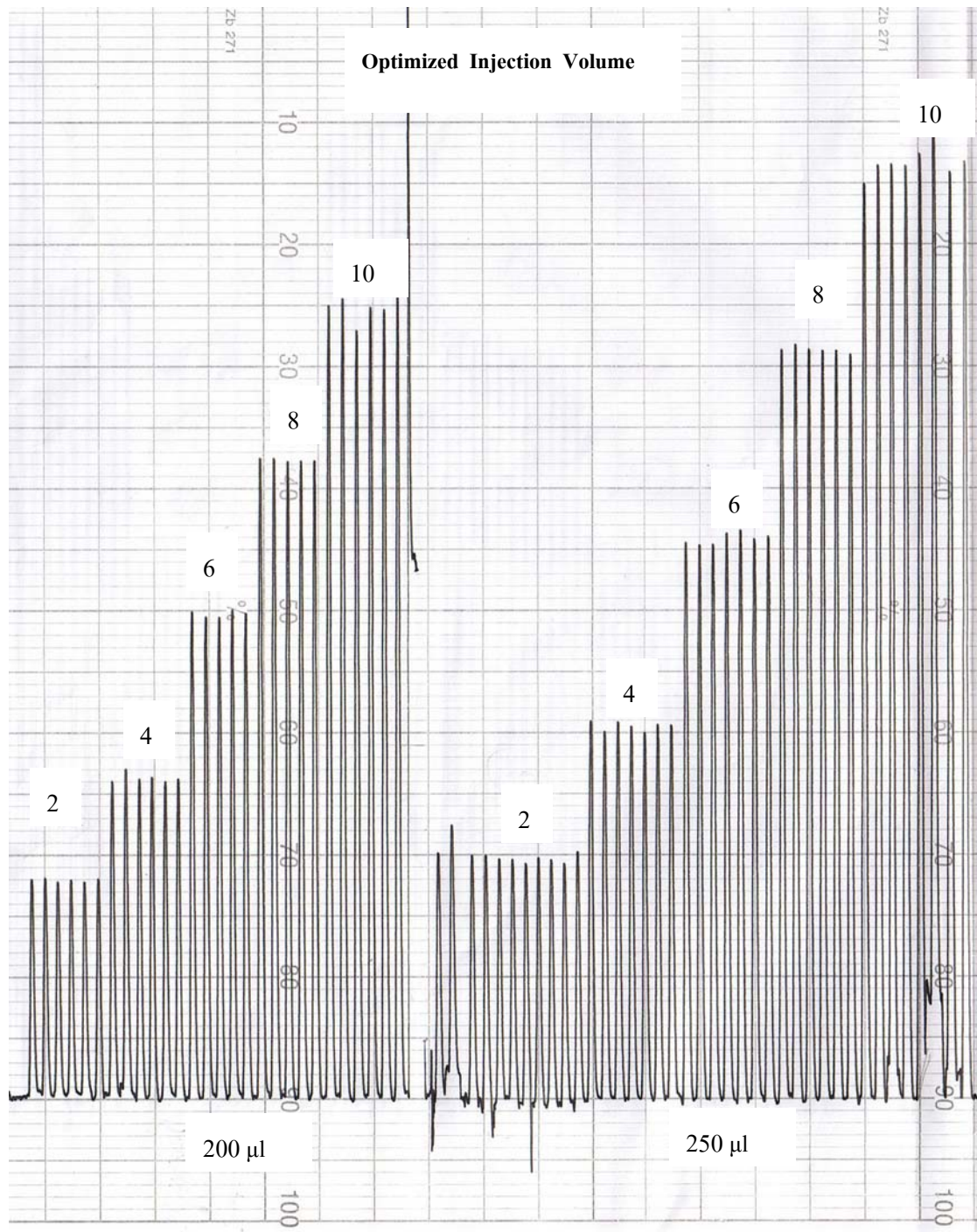
เอกสารอ้างอิง

1. กมลดา ต้นธีระธรรม, เยาวลักษณ์ วรรณะพิศิษฐ์ และจุไรรัตน์ รั้วทาทิน. 2531. การวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในยาแผนโบราณโดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโตรโฟโตเมตรี. *ว. กรมวิทย์. พ.* 30(1) : 9-13.
2. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98. 2529. มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน. กระทรวงสาธารณสุข.
3. อมรา วงศ์พุทธพิทักษ์. 2537. การปนเปื้อนของอาหารไทยระหว่าง พ.ศ. 2530-2534. *ว. กรมวิทย์. พ.* 36(1) : 19-30.
4. Ajasa, A.M.O., Bello, M.O., Ibrahim, A.O., Ogunwande, I. A. and Olawore, N.O. 2004. Heavy trace metals and macronutrients status in herbal plants of Nigeria. *Food Chemistry*. 85 : 67-71.
5. Caldas, E.D. and Machado, L.L. 2004. Cadmium mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. *Food and Chemical Toxicology*. 42 : 599-603.
6. Chow, P.Y.T. ; Chua, T.H. ; Tang, K.F. and Ow, B. Y. 1995. Dilute Acid Digestion Procedure for the Determination of Lead, Copper and Mercury in Traditional Chinese Medicines by Atomic Absorption Spectrometry. *Analyst*. 120(4) : 1221-1223.
7. Fang, Z. 1993. *Flow Injection Separation and Preconcentration*, VCH, Weinheim.
8. Gomez, M.R., Cerutti, S., Olsina, R.A., Silva, M. and Martínez, L.D. 2004. Metal content monitoring in *Hypericum perforatum* pharmaceutical derivatives by atomic absorption and emission spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 34 : 569-576.
9. Horng, C. 1996. Simultaneous Determination of Urinary Zinc, Cadmium, Lead and Copper Concentrations in Steel Production Workers by Differential-pulse Anodic Stripping Voltammetry. *Analyst*. 121(10) : 1511-1514.
10. Kalny, P. Fijalek, Z. Daszczuk, A. and Ostapczuk, P. 2007. Determination of selected microelement in polish herbs and their infusions. *Science of the Total Environmental*. 381 : 99 – 104.
11. Konieczynski, P. and Wesolowski, M. 2007. Total phosphorus and its extractable form in plant drugs. Interrelation with selected micro- and macroelements. *Food Chemistry*. 103 : 210-216.

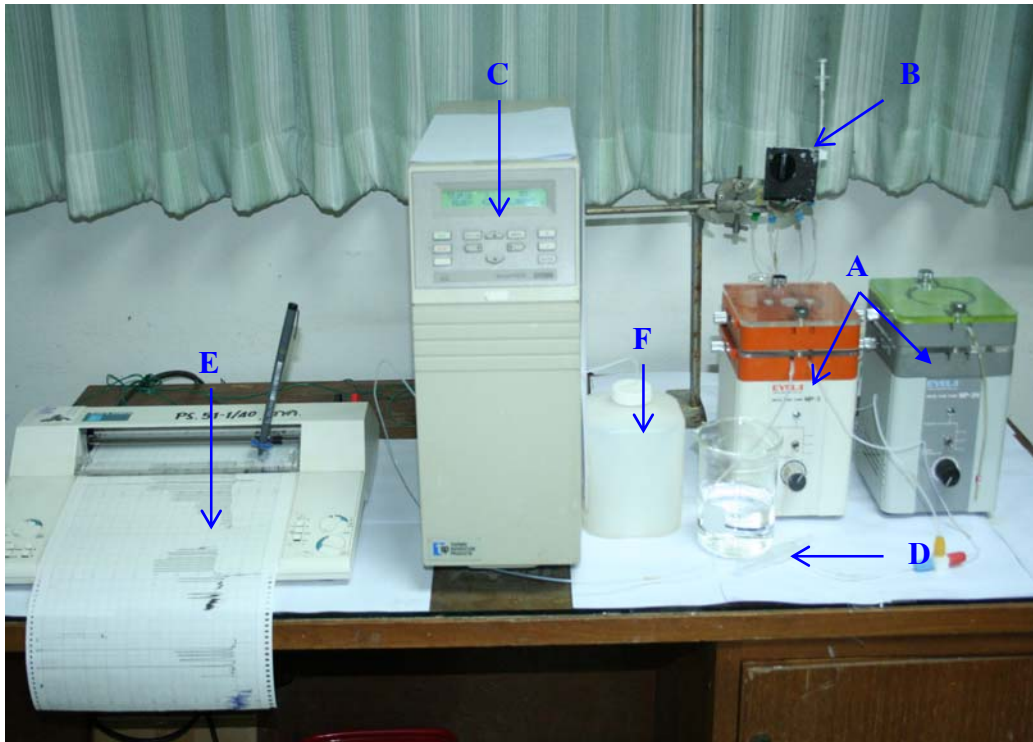
11. Lambel, K. and Hill, S.J. 1995. Determination of Trace Metals in Tea Using Both Microwave Digestion at Atmospheric Pressure and Inductively Coupled Plasma atomic Emission Spectrometry. *Analyst*. 120(20) : 413-417.
12. Lau, O. ; Hon, P. ; Cheung, C. and Chau, M. 1985. Determination of Mercury in Medicinal Pills by Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry. *Analyst*. 110(5) : 483-485.
13. Lee, K. ; Liu, S. and Jiang, S. 1998. Determination of Cadmium and Lead in Urine by Electrothermal Vaporization Isotope Dilution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Analyst*. 123(7) : 1557-1560.
14. Murcia, N.S.; Lundquist, E.G., Russo, R.O. and Peters, D.G. 1990. *J. Chem. Ed.* (67) 7.
15. Mierzwa, J. ; Adloju, S.B. and Dhindsa, H.S. 1997. Slurry Sampling for Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometric Determination of Arsenic in Cigarette Tobaccos. *Analyst*. 122 (6) : 539-542.
16. Pomazal, K. ; Prohaska, C. ; Steffan, I. ; Reich, G. and Huber, J.F.K. 1999. Determination of Cu, Fe, Mn and Zn in Blood Fractions by SEC-HPLC-ICP-AES Coupling. *Analyst*. 124(4) : 657-663.
17. Ražić, S., Onjia, A. and Potkonjak, B. 2003. Trace elements analysis of *Echinacea purpurea*-herbal medicinal. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 33 : 845-850.
18. Ražić, S., Onjia, A., Dogo, S., Slavković, L. and Popović, A. 2005. Determination of metal content in some herbal drugs-Empirical and chemometric approach. *Talanta*. 67 : 233-239.
19. Ruzicka, J. and Hansen, E.H. 1981. *Flow Injection Analysis*, John Wiley & Son, New York.
20. Ruzicka, J. and Hansen, E.H. 1988. *Flow Injection Analysis*, 2nd ed., John Wiley & Son, New York
21. Sheppard, B.S. ; Heitkemper, D.T. and Gaston, C.M. 1994. Microwave Digestion for Determination of Arsenic, Cadmium and Lead in Seafood Products by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission and Mass Spectrometry. *Analyst*. 119(8) : 1683-1686.
22. Slaveykova, V.I. and Hoening, M. 1997. Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Lead and Tin in Slurries, Optimization Study. *Analyst*. 122(4) : 337-343.
23. Thai Herbal Pharmacopoeia. Volume II. 2000. Department of Medical Sciences. Ministry of Public Health. Nonthaburi.

24. Tony, K.A. ; Kartikeyan, S. ; Vijayalakshmy, B. ; Prasada Rao, T. and Padmanabha I., C.S. 1999. Flow Injection on-line Preconcentration and Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Iron, Cobalt, Nickel, Manganese and Zinc in Sea-Water. *Analyst*. 142(2) : 191-195.
25. Yaman, M. and Gucer, S. 1995. Determination of Cadmium and Lead in Vegetables after Activated-Carbon Enrichment by Atomic Absorption Spectrometry. *Analyst*. 120(1) : 101-105.
26. <http://www.chemindustry.com/chemicals/239610.html> (Cited on 16 th February 2009)
27. http://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_dodecyl_sulfate (Cited on 16 th February 2009)

ภาคผนวก



ตัวอย่าง FI grams ที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว



เครื่องโพลินเจคชันอะนาไลซิสที่ใช้ในการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว

- | | |
|------------------------------------|---|
| A : ปั๊มแรงดันต่ำ (pump) | B : ระบบฉีดสาร (injector) |
| C : เครื่องตรวจวัด (detector) | D : ท่อผสมสารละลาย (mixing coil) |
| E : เครื่องบันทึกสัญญาณ (recorder) | F : สารละลายหลังการเกิดปฏิกิริยา(waste) |

Manuscript :**Simple Flow Injection Spectrophotometric for Determination of Lead**Wirat Ruengsitagoon^{*1}, Alberto Chisvert², Saisunee Liawruangrath³¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002 THAILAND² Faculty of Sciences, University of Alicante, SPAIN³ Faculty of Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200 THAILAND**Abstract**

A simple flow injection colourimetric procedure for determining lead was proposed. It is based on the reaction between lead in sulfuric acid with 1,5-diphenylthiocarbazone and sodium dodecyl sulfate, resulting in an intense blue complex with a suitable absorption at 500 nm. A standard or sample solution was injected into the sulfuric acid stream (flow rate 2.0 ml min⁻¹) which was then merged with sodium dodecyl sulfate stream (flow rate 2.0 ml min⁻¹) and 1,5-diphenylthiocarbazone stream (flow rate 1.5 ml min⁻¹). Optimum conditions for determining lead were investigated by univariate method. Under the optimum conditions, a linear calibration graph was obtained over the range 1.0–12.0 µg ml⁻¹ and the detection limit was 0.027 µg ml⁻¹ (s/n=3). The relative standard deviation of the proposed method calculated from 10 replicate injection of 4.0 and 8.0 µg ml⁻¹ lead were 0.42 % and 0.38 %, respectively. The sample throughput was 80 h⁻¹. The proposed method has been satisfactorily applied to the determination of lead in water samples.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : wirat_ru@kku.ac.th (W. Ruengsitagoon)

1. Introduction

Lead (Pb) poisoning of person has been described as the most consequential environmental health problem in the country [1]. Of most concern is lead's adverse effect on the nervous system of the developing fetus and small child ; thus exposure of pregnant women prompts concern [2]. Although very low doses cause no obvious adverse health effects on the fetus or small child, low doses are associated with a lowered intelligency quotient [3].

A simple and accurate analytical method is required for the quantitation of lead, which are present in the water samples. Several methods have been reported for the determination of lead, including spectrophotometric [4-8], electrochemical method [9-11], atomic absorption spectrophotometry [12-14], chromatography [15-17] and capillary electrophoresis [18,19]. These propose method are time consuming, imprecise and require multiple steps of extraction and purification. Therefor, it is necessary to develop a simply method for quantitation of lead.

Lead has been determined by using flow injection analysis through complexation with 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-dimethylaminophenol [20, 21], 4-(2 pyridylazo)resorcinol [22], arsenazo [23], malachite green and iodide [24] and meso-tetra(4-trimethylammoniumphenyl) porphyrin [25]. However, flow injection method for the determination of lead in water sample using 1,5-diphenylthiocarbazone with sodium dodecyl sulfate as complexing agent and enhancer is not yet available in the literature.

This paper studies a rapid, sensitive and cost-effective flow injection method for determination lead base on the spectrophotometric detection of the blue complex formed by the reaction between lead standard in sulfuric acid, 1,5-diphenylthiocarbazone and

sodium dodecyl sulfate reagent. The resulting of this complex is measured the optimum absorption at 500 nm.

2. Experiment

2.1 Apparatus

The flow injection manifold consisted of a peristaltic pump (Eyela[®] MP3A, Tokyo Rikakikai Co.,Ltd., Japan), and the standard or sample solution was injected via a four way PTFE rotary valve with a 150 μ l sample loop (Upchurch Scientific[®] model V450, Oak Harbor, WA). PVC tubing (Elkay[®], Galway, Ireland) with 0.8 mm i.d. was used as a flow line for sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and 1,5-diphenylthiocarbazone, and Y-shaped connectors were used for merging the reagent streams. A mixing coil used was made from PTFE tubing with appropriate in length for the recommended configuration. The FI peaks were acquired by using a UV-visible detector (Thermo Separation Product[®], TSP UV-2000, USA), coupled with a chart recorder (Kipp & Zonen[®] BD50, The Netherlands).

2.2 Reagents and solutions

All chemicals were of analytical reagent grade and were used without further purifications. Lead Nitrate standard (1,000 μ g ml⁻¹) was purchased from BDH Spectrosol (England). Solutions of the desired concentrations were obtained by diluting the stock solution to volume with deionize distillation water.

The solution of sodium dodecyl sulfate (1.0 mol l⁻¹) was obtained by dissolving 144 g of sodium dodecyl sulfate (Ajax Finechem, Australia) in deionize distillation water and diluting to 500 ml. Solution (0.1 % w/v) of 1,5-diphenylthiocarbazone (Panreac, Spain) was prepared by dissolving 0.1 g in 75% of ethanol and diluting to 100

ml. Sulfuric solution (1 mol l^{-1}) was prepared by measured 56.5 ml and diluting to 1000 ml with deionize distillation water.

2.3 Recommended procedure

Using the three channel manifold as shown in Fig. 1, a $150 \mu\text{l}$ sample or standard solution containing lead was injected into the reagent stream consisting of 0.75 mol l^{-1} sulfuric acid and 0.4 mol l^{-1} of sodium dodecyl sulfate at the same optimum flow rate of 2.0 ml min^{-1} which were then merged with 0.0025% 1,5-diphenylthiocarbazone with an optimum flow rate of 1.5 ml min^{-1} . Subsequently, the sample zone flowed through the 100 and 150 cm in reaction coil length of mixing coil No 1 and mixing coil No 2, respectively, where the complexation was occurred. The signal was monitored by the spectrophotometer detector at 500 nm and the FI signal was recorded on a chart recorder.

Fig. 1

3. Results and discussion

The proposed flow system was undertaken development of FI procedure for analysis of lead based on the complexation between lead ion, sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and 1,5-diphenylthiocarbazone solution resulting in intense blue soluble complex having an absorption maximum at 500 nm. The present work was developed and optimized by an univariate method. The variable by variable method was applied to select the optimum conditions for the flow injection spectrophotometric determination of lead.

3.1 Effect of absorption spectra

The absorption spectra of the complexation between lead, sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and 1,5-diphenylthiocarbazone were recorded using a spectrophotometer. The absorption spectra were studied from 200 to 700 nm. In order to achieve the greatest sensitivity, measurements were made at 595 nm in further studies. (Fig. 2)

Fig. 2

3.2 Effect of sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and 1,5-diphenylthiocarbazone reagent concentration

The effect of varying concentration of sulfuric acid reagent solution between 0.125 – 1.50 mol l⁻¹ were examined. The highest peak height was recorded when the concentration of sulfuric acid solution was 0.75 mol l⁻¹ and was therefore chosen as optimum concentration. Further increasing in sulfuric acid concentration the peak height decreased gradually up to 1.50 mol l⁻¹. (Fig. 3)

The concentration of sodium dodecyl sulfate solution was optimized. Various concentrations over the range 0.05 – 0.80 mol l⁻¹ were investigated. It was found that the peak height increased with increasing sodium dodecyl sulfate concentration and reached a maximum peak height at 0.4 mol l⁻¹, above which the peak height decreased. Thus 0.4 mol l⁻¹ of sodium dodecyl sulfate was used subsequently. (Fig. 4)

The effect of various concentrations of 1,5-diphenylthiocarbazone solutions (0.000625 - 0.01 % w/v) on the absorption of the Pb (II)- reagents complex (as peak height) was examined. The 1,5-diphenylthiocarbazone concentration which exhibited the greatest peak height was found to be 0.0025 % w/v and was therefore chosen as

optimum concentration. Further increasing in 1,5-diphenylthiocarbazone concentration the peak height decreased gradually up to 0.01% w/v (Fig. 5)

Fig. 3

Fig 4

Fig. 5

3.3 *Effect of mixing coil length and injection loop volume*

These study were carried out at various mixing coil lengths between 50 – 250 cm for mixing coil No 1 (H₂SO₄, sodium dodecyl sulfate) and mixing coil No 2 (H₂SO₄, sodium dodecyl sulfate, 1,5-diphenylthiocarbazone), injection loop volumes between 50 and 250 µl on the complexation produced were investigated. These were found that the peak height increased with the mixing coil No 1 and No 2 length up to 100 cm and 150 cm, respectively. Both mixing coil lengths of 50, 100, 150, 200 and 250 cm provided the peak height of 698, 770, 668, 668, 658 mV and 608, 706, 760, 562, 554 mV, respectively. The optimum mixing coil length of No 1 and No 2 for subsequence studied were 100 cm and 150 cm, respectively. (Fig. 6)

The influence of the sample/standard volume on the absorbance was investigated by injecting volumes in the range 50-250 µl of 6 µg ml⁻¹ lead standard solution. It was show that peak height increased from 696 to 1320 mV on inccessing the injection volume from 50 to 250 µl. It was found that the peak height increased with the injection volume up to 150 µl, and the injection volume of 50, 100, 150, 200 and 250 µl produced the peak height of 696, 730, 1042, 1218 and 1320 mV, respectively. The appropriate peak height was reached at 150 µl. The most suitable injection loop volume values for further use was 150 µl, respectively. (Fig. 7)

Fig. 6

Fig. 7

3.4 Effect of sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and 1,5-diphenylthiocarbazone reagent flow rate

The effect of flow rate of sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and 1,5-diphenylthiocarbazone solution were investigated on the determination of lead standard ($6 \mu\text{g ml}^{-1}$). The peak height increased from the flow rate of 1.0 to 3.0 ml min^{-1} for all reagent streams. The peak height increased with increasing flow rate of each stream up to a sulfuric acid of 2.0 ml min^{-1} , due to a sodium dodecyl sulfate of 2.0 ml min^{-1} and merge with a 1,5-diphenylthiocarbazone solution of 1.5 ml min^{-1} above which the peak height slightly decreased. Thus 2.0 ml min^{-1} of sulfuric acid, 2.0 ml min^{-1} of sodium dodecyl sulfate and 1.5 ml min^{-1} of 1,5-diphenylthiocarbazone solution were regarded as the optimum flow rate. (Fig. 8)

Fig. 8

3.5 Analytical characteristics

Analytical characteristics for determination of lead were studied under the optimum conditions. (Table 1)

Table 1

3.5.1 Calibration curve

Using the proposed FI manifold for determination of lead under the optimum conditions, the linear calibration graph over the range of $1.0 - 12.0 \mu\text{g ml}^{-1}$ lead was established which can be expressed by the regression equation $y = 127.96x - 69.935$ ($r^2=0.9981$) where y represents the peak height in mV and x is lead concentration in $\mu\text{g ml}^{-1}$ after subtraction of blank. Thus, the amounts of lead in sample can be quantified according to the above regression lines of equation. The detection limits was defined as the concentration of analyte that gives the signal that different from the blank by an amount equal to three times the standard deviation of the blank signal ($s/n=3$). It were

found to be $0.027 \mu\text{g ml}^{-1}$. The quantitation limits (defined as ten times standard deviation) were studied and resulted to be $0.092 \mu\text{g ml}^{-1}$.

3.5.2 Reproducibility and accuracy

The relative standard deviation of the proposed method (peak height in mV) calculated from 12 replicate injection of 4.0 and $8.0 \mu\text{g ml}^{-1}$ of lead were 0.42% and 0.38% , respectively. The recoveries were determined with the standard addition method in water sample. Lead ($1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0$ and $12.0 \mu\text{g ml}^{-1}$) were added and mixed with sample, the water sample were analyzed using the proposed method. The percentage recoveries of $1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0$ and $12.0 \mu\text{g ml}^{-1}$ ($n = 5$) of lead were found to be $106.00, 104.50, 97.25, 103.00, 102.75, 102.80$ and 99.08% , respectively, showing that the proposed method could provide acceptable method efficiency and recovery of this analysis method was good.

3.5.3 Interferences

Effects of some possible interfering ions on the determination of lead were investigated for the maximum w/w ratio of interfering ions lead up to $10 : 1$. Synthetic sample solutions containing $4.0 \mu\text{g ml}^{-1}$ of lead and different concentration of some metal ions were tested, and peak heights obtained were measured. Most cations was interfered, interestingly the foreign-ion caused an error had shown in Table 2 with the percentage of relative height for determining the analyte of interest. These were found that the percentage relative height of some possible interfering ions were in range of $80.80 - 98.04 \%$. However, the most serious interferece was from copper (II) and manganese (II).

Table 2**3.5.4 Analysis of andrographolide from *A. paniculata***

The recommended method has been applied to the determination of lead in natural water samples. The results obtained were compared favorably with those obtained by FAAS. The accuracy was found to be high verified by the student *t*-test [26] because the calculated student *t*-test value (0.24) was less than the theoretical value (2.20, $n = 12$) at a confident level of 95% (P value of 0.05). The comparison between the proposed FIA and FAAS method was accepted with reasonable agreement. (Table 3)

Table 3**4. Conclusion**

The proposed FI spectrophotometric method has proved to be simple and sensitive for lead determination. The linearity of the calibration graph is in the useful concentration range for quantitation of lead in water. The detection limit of this method was reasonable accepted. The method developed is simple, economic, rapid, providing a good sample frequency of 80 h^{-1} , and is especially suitable for routine analysis.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the Commission on Higher Education (CHE) and the Thailand Research Fund (TRF) for financial support (MRG5180044). The special thanks will also expressed to Pharmaceutical Chemistry Department, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, for their partial support of the research.

References

1. G.W. Vanloon and S.J. Duffy, Environmental Chemistry, Oxford University Press, Oxford, 2005.
2. M.K. Hill, Understanding Environmental Pollution, Cambridge University Press, Cambridge, 1997.
3. R. M. Harrison, Pollution: Case, Effects, and Control, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1995.
4. L. Zaijun, Y. Yuling, T. Jian, and P.Jiaomai, Talanta 60(2003)123.
5. S. Igarashi, A. Manaka, M. Terunuma and M. Kaneki. Anal. Lett. 36(2003)2393.
6. H. Khan, M. Jamaluddin Ahmed and M. Iqbal Bhanger, Spectroscopy 20(2006)285.
7. L. Lang, K. Chiu, K and Q. Lang, Pharm. Tech. 32(2008)74.
8. H. Khan, M. Jamaluddin Ahmed and M. Iqbal Bhanger, Anal. Sci. 23(2007)193.
9. R.R. Dalangin and H. Gunasingham, Anal. Chim. Acta 291(1994)81.
10. N. Zhou, W. Frech and E. Lundberg, Anal. Chim. Acta 153(1983)23.
11. J.F. Coetzee and C.W. Gardner Jr, Anal. Chem. 58(1986)608.
12. J.L. Manzoori, M. Amjadi and J. Abulhassani, Anal. Chim. Acta 644 (2009)48.
13. A.N. Anthemidis and K.-I.G. Ioannou. Talanta 79(2009)86.
14. G. Xiang, Y. Huang and Y. Luo, Microchim. Acta 165(2009)237.
15. L.-F. Chang, S.-J.Jiang and A.C. Sahayam. J. of Chromatograp. A 1176(2007)143.
16. S. Tanikkul, J. Jakmune, S. Lapanantnoppakhun, M. Rayanakorn, P. Sooksamiti, R.E. Synovec, G.D. Christian and G. Grudpan, Talanta 64(2004)1241.
17. G. Centineo, E.B. González and A. Sanz-Medel. J. of Chromatograp. A 1034(2004)191.
18. T.-H., Lee and S.-J. Jiang, J. Anal. At. Spectrom. 20(2005)1270.
19. W. Liu and H.K. Lee, Inter. J. Envi. Anal. Chem. 20(1999)161.

20. M. Luconi, M. F. Silva, R. A. Olsina and L. Fernandez, *Talanta* 54(2001)45.
21. A. Gong, X. Zhu, X. Huang and Y. Zhang. *Spectrochim. Acta Part A* 69(2008)189.
22. M. Kuramochi, K. Tomioka, M. Fujinami and K. Oguma, *Talanta* 68(2005)287.
23. M. Zenki, K. Minamisawa and T. Yokoyama, *Talanta* 68(2005)281.
24. R.B.R. Mesquita, S.M.V. Fernandes and A.O.S.S. Rangel, *Talanta* 62(2004)395.
25. L. Yuanqian, H. Jingmei, Y. Jingguo, Z. Bo and H. Yuanqing, *Anal. Chim. Acta* 461(2002)181.
26. J.C. Miller and J. N. Miller, *Statistics for Analytical Chemistry*, Ellis horwood limited, Chichester,1986.

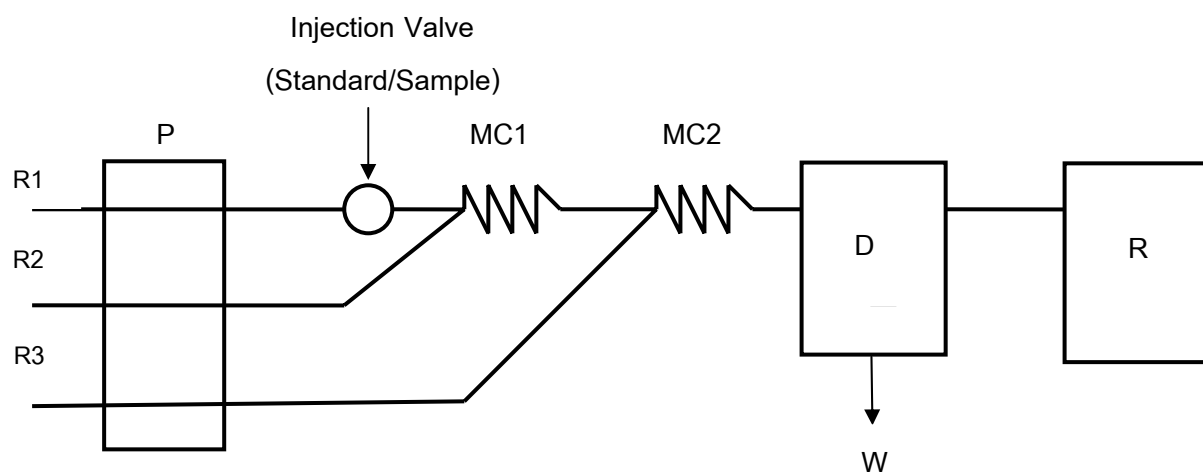


Fig. 1 Proposed FI manifolds ; R1, sulfuric acid ; R2, sodium dodecyl sulfate ; R3, 1,5-diphenylthiocarbazone ; P, Pump ; MC 1, Mixing coil No 1 ; MC 2, Mixing coil No 2 ; D, Detector ; R, Recorder ; W, Waste.

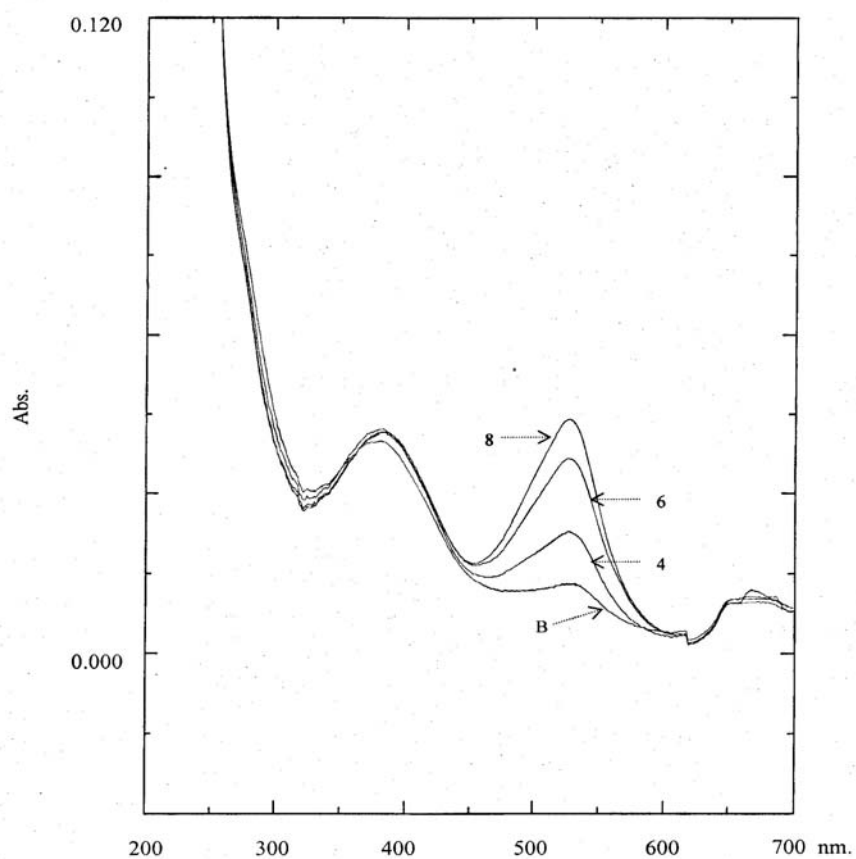


Fig. 2 Absorption spectra of lead with sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate and 1,5-diphenylthiocarbazone reagent.
(B : blank ; 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$; 6 $\mu\text{g ml}^{-1}$; 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$)

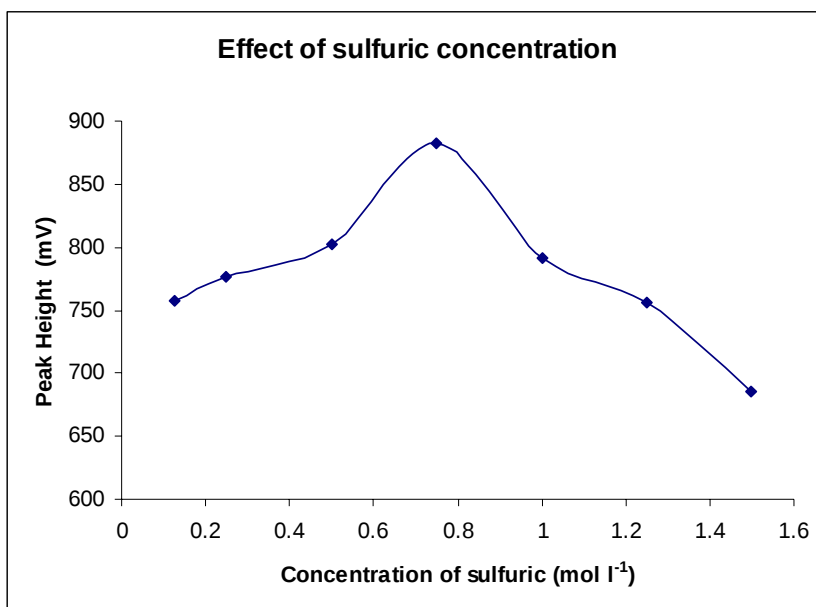


Fig. 3 Effect of sulfuric concentration on the mean of peak height (n=5) of 6 $\mu\text{g ml}^{-1}$ lead standard solution.

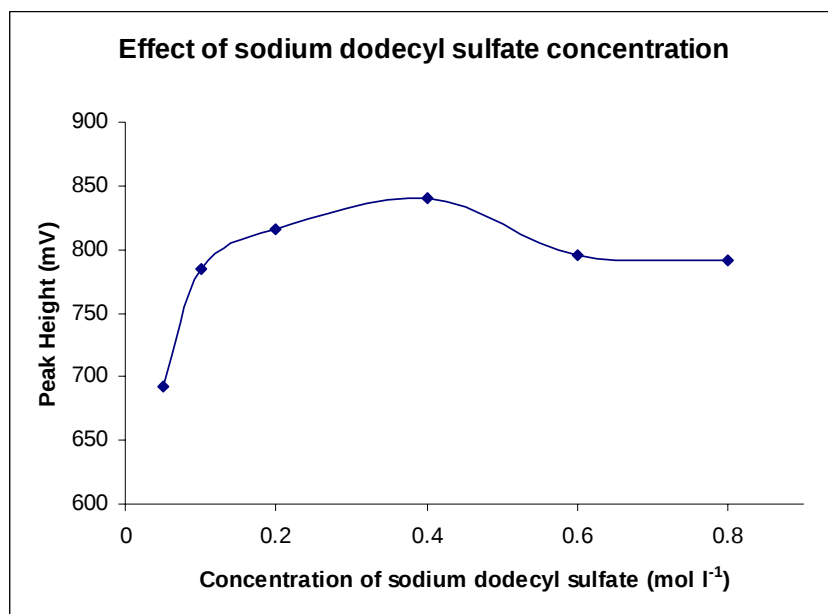


Fig. 4 Effect of sodium dodecyl sulfate concentration on the mean of peak height (n=5) of $6 \mu\text{g ml}^{-1}$ lead standard solution.

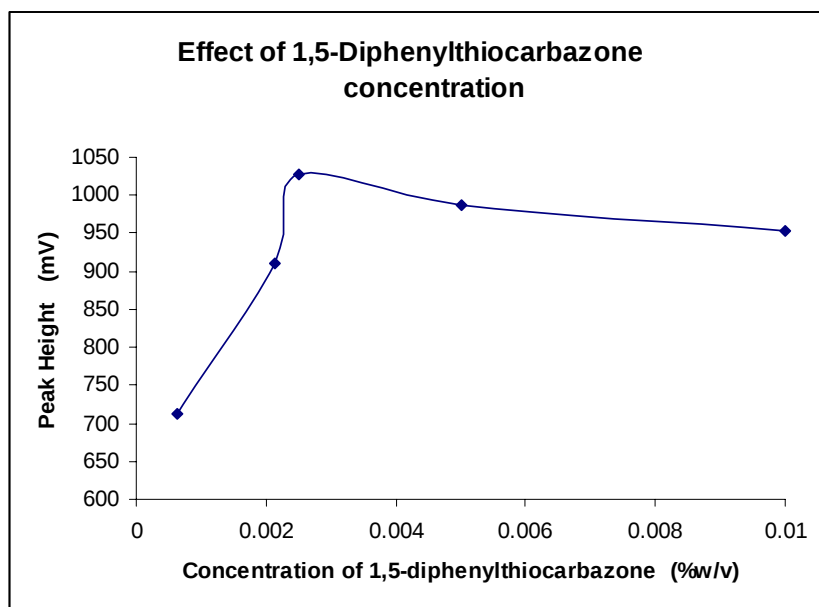


Fig. 5 Effect of 1,5-diphenylthiocarbazone concentration on the mean of peak height (n=5) of $6 \mu\text{g ml}^{-1}$ lead standard solution.

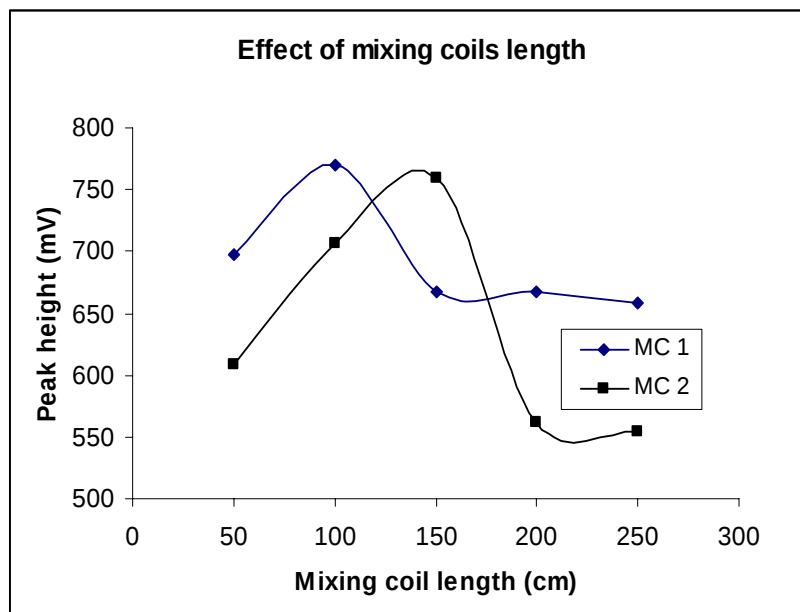


Fig. 6 Effect of mixing coil length on the mean of peak height (n=5) of $6 \mu\text{g ml}^{-1}$ lead solution.
(MC 1; lead, sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate ; MC 2 ; lead, sulfuric acid, sodium dodecyl sulfate, 1,5-diphenylthiocarbazone)

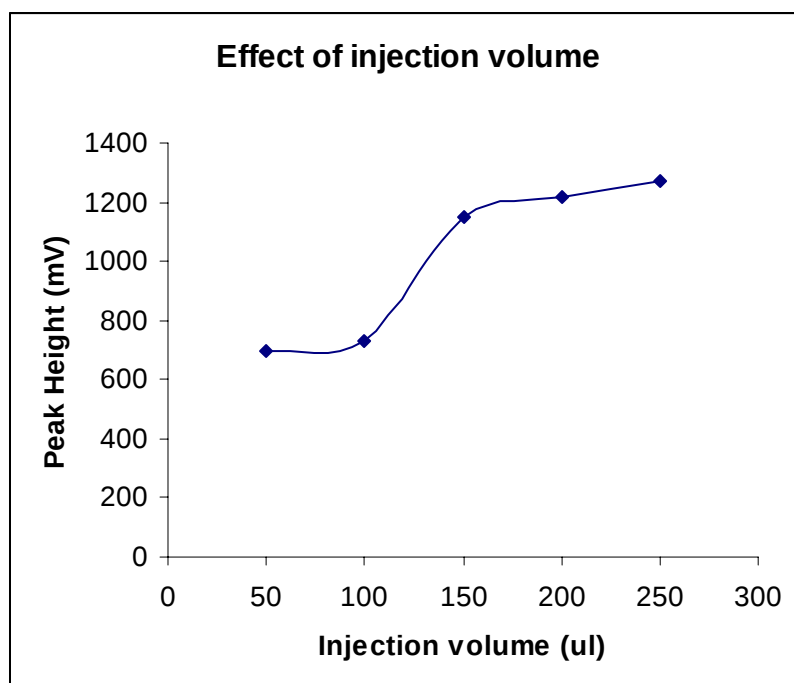


Fig. 7 Effect of injection volume on the mean of peak height (n=5) of $6 \mu\text{g ml}^{-1}$ lead standard solution.

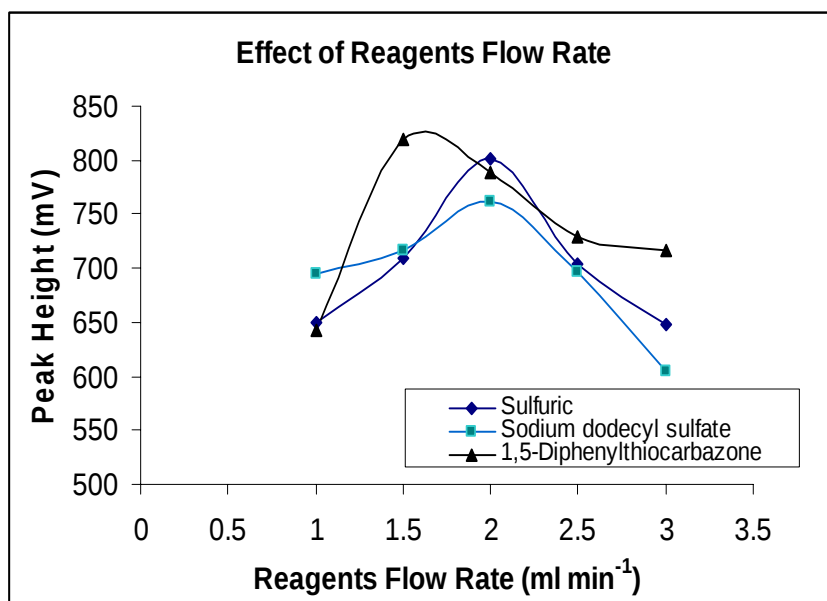


Fig. 8 Effect of reagents flow rate on the mean of peak height (n=5) of 6 µg ml⁻¹ lead standard solution.

Table 1 Variables range studies and optimum conditions for determination of lead.

Parameter Studied	Range Studied	Optimum Level
Wavelength (nm)	200-700	500
H ₂ SO ₄ concentration (mol l ⁻¹)	0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5	0.75
Sodium dodecyl sulfate concentration (mol l ⁻¹)	0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8	0.4
1,5- diphenylthiocarbazone concentration (%w/v)	0.000625, 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01	0.0025
H ₂ SO ₄ flow rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	2.0
Sodium dodecyl sulfate flow rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	2.0
1,5- diphenylthiocarbazone concentration flow rate (ml min ⁻¹)	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0	1.5
Mixing Coil [I] (cm) [Pb(II) + H ₂ SO ₄ + Sodium dodecyl sulfate]	50, 100, 150, 200, 250	100
Mixing Coil [II] (cm) [Pb(II) + H ₂ SO ₄ + Sodium dodecyl sulfate + 1,5-diphenylthiocarbazone]	50, 100, 150, 200, 250	150
Injection Volume (μl)	50, 100, 150, 200, 250	150

Table 2 Effect of some interferences on the peak height of $4.0 \mu\text{g ml}^{-1}$ lead standard solution.

Interference Ions* ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Percent relative of peak height (%) ; n=5
None excipient (Lead standard only)	100.00
Mg^{2+}	89.04
Mn^{2+}	80.82
Ca^{2+}	87.67
As^{2+}	93.15
Hg^{2+}	84.93
Zn^{2+}	90.41
Sn^{2+}	86.30
Al^{3+}	98.04
Cu^{2+}	80.80

* mole ratio of an interference ion : lead standard (10 : 1)

Table 3 Accuracy of propose FIA method compared with FAAS method for determination of lead.

Sample ^a	Concentration of lead ($\mu\text{g ml}^{-1}$)		
	FIA ^b	AAS ^c	t-test
A	3.48	3.66	-0.18
B	5.57	5.41	0.16
C	2.32	2.30	0.02
D	6.55	6.66	-0.11
E	1.32	1.26	0.06
F	6.62	6.75	-0.13
G	2.15	2.22	-0.07
H	3.82	3.67	0.15
I	2.01	1.98	0.03
J	1.15	1.32	-0.17
K	4.41	4.59	-0.18
L	3.38	3.09	0.29
			$D = -0.0108$
			$S.D. = 0.1547$
			$t = 0.24$
			$t\text{-distribution (95\%)} = 2.20$

^a Average from five determination

^b Flow injectioun analysis

^c Flame atomic absorption spectrophotometry