การวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

Analysis of the Phenolic Compounds in Natural Water by High Performance Liquid Chromatographic Technique

นินนาท์ โชติบริบูรณ์

Ninna Chotiboriboon

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีวิเคราะห์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Analytical Chemistry

Prince of Songkla University

หอสมุดกลาง QD341.P5 น63 2539 ฉ.2
Bib Key 118717
28 ก.ค. 2547

ชื่อวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

ผู้เขียน นางสาวนินนาท์ โชติบริบูรณ์

สาขาวิชา เคมีวิเคราะห์

คณะกรรมการที่ปรึกษา

..... ประธานกรรมการ
(ดร.อุดม จริงจิตร)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เพริศพิชญ์ คณาธารณา)

คณะกรรมการสอบ

..... ประธานกรรมการ
(ดร.อุดม จริงจิตร)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เพริศพิชญ์ คณาธารณา)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มานพ อรัญนารถ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์กัลยาณี คุปตานนท์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีวิเคราะห์

.....
(ดร.ไพรัตน์ สงวนไทร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง

ผู้เขียน นางสาวนินนาท์ โชติบริบูรณ์

สาขาวิชา เคมีวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2539

บทคัดย่อ

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงแม้ความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้นด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายจึงมีความจำเป็น โดยศึกษาสิ่งที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิก ได้แก่ ตัวทำละลายอินทรีย์ ความเป็นกรด อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อตัวทำละลายอินทรีย์ เวลาในการเขย่า จำนวนครั้งการสกัด และ Salting out พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกในตัวอย่างน้ำคือ สารละลายไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ที่พีเอช 2 สกัด 3 ครั้ง ใช้อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อตัวทำละลายอินทรีย์ 9:1 สกัดนาน 6 นาที และใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์เป็น Salting out และนำไปวิเคราะห์ต่อโดย Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) โดยเทคนิค Isocratic การแยกกลุ่มสารฟีนอลิก ใช้วิธี Overlapping Resolution Mapping (ORM) พบว่าการแยกกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 10 μm 15cm x 6.0mm และใช้เมทานอล : อะซีโตไนไทรล์ : น้ำ : กรดอะซิติก (31 : 26 : 43 : 0.7) เป็นตัวอีลูท และตรวจวัดโดย UV-detector จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การสกัดอยู่ในช่วง 70-100 % ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.1-1.37 % และขีดจำกัดต่ำสุดอยู่ในช่วง 0.002-0.100 มิลลิกรัม ต่อลิตร

ประสิทธิภาพการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกจะเพิ่มขึ้นถ้าแบ่งสารเป็น 3 กลุ่มคือ กรด กลาง และ เบส โดยกลุ่มกรดปรับพีเอชเป็น 1.5 และเติมโพรไพลีน ไกลคอล ก่อนขั้นตอนการระเหย กลุ่มกลางใช้อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อตัวทำละลายอินทรีย์ 5:1 โดยสารละลายไดคลอโรมีเทน และ กลุ่มเบสสกัดโดยสารละลายคลอโรฟอร์ม

จากวิธีการเพิ่มความเข้มข้น และวิเคราะห์โดยเทคนิค RP-HPLC นำมาทดสอบกับตัวอย่างน้ำในทะเลสาบสงขลาตอนนอก 5 จุด ในเดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2539 และมีนาคม พ.ศ. 2539 พบว่ามีกลุ่มสารฟีนอลิกปนเปื้อนอยู่จำนวน 8 ชนิดคือสารฟีนอล 1.25 -

14.28 4-ไนโตรฟีนอล 0.20 - 1.45 2-คลอโรฟีนอล 0.07 - 1.39 2-ไนโตรฟีนอล 0.31 2,4-ไดเมธิลฟีนอล 1.05 4-คลอโร-3-เมธิลฟีนอล 0.63 2,4-ไดคลอโรฟีนอล 3.40 และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล 1.23 ไมโครกรัมต่อลิตร

Thesis Title	Analysis of the Phenolic Compounds in Natural Water by High Performance Liquid Chromatographic Technique
Author	Miss Ninna Chotiboriboon
Major Program	Analytical Chemistry
Academic Year	1996

Abstract

Phenolic compounds are highly toxic even at a low concentration. The preconcentration step is required to increase the concentration with solvent extraction method. The various effects on the percent extraction of the phenolic compounds such as organic solvent , pH , sample-to-solvent ratio , shaking time and salting out are studied. The best condition for the solvent extraction of phenolic compounds in a water sample are dichloromethane as the organic solvent , pH of 2 , extracted three time with a sample-to-solvent ratio of 9:1 , an equilibration time of 6 min and salting out with sodium chloride. The determination is carried out by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) using isocratic elution. The seperation of the phenolic compounds is optimized by the use of overlapping resolution mapping (ORM). The seperation of the 10 phenolic compounds is accomplished by using Shim-pack CLC-ODS 10μm 15 cm x 6.0 mm with methanol : acetonitrile : water : acetic acid (31:26:43:0.7) eluent and UV-detector, The results of the studies as a percent extraction is within the range of 70-100 % with a percent RSD of 0.1-1.37 % and the detection limit is within the range of 0.002-0.100 ppm .

Efficiency of extraction of phenolic compounds will be increased if devided into three different fractions. These fractions are acidic, basic and neutral. For acidic fraction, the acidity of a sample is adjusted to pH 1.5 and propylene glycol is added before the evaperation procedure. For neutral fraction, the sample

is extracted with a sample-to-solvent ratio of 5:1 with dichloromethane. For basic fraction, the sample is extracted with chloroform.

Preconcentration method and RP-HPLC have been tested in water sample collected from 5 stations in Outer Songkla Lake during February - March, 1996. The results showed 8 phenolic compounds such as phenol 1.25-14.28 4-nitrophenol 0.20-1.45 2-chlorophenol 0.07-1.39 2-nitrophenol 0.31 2,4-dimethylphenol 1.05 4-chloro-3-methylphenol 0.63 2,4-dichlorophenol 3.40 and 2,4,6-trichlorophenol 1.23 µg/l.

กิตติกรรมประกาศ

ความสำเร็จในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ได้รับความกรุณาในการเป็นที่ปรึกษาจาก ดร.อุดม จริงจิตร อาจารย์ที่ปรึกษา และ รองศาสตราจารย์ ดร.เพริศพิชญ์ คณาธารณา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ทำวิทยานิพนธ์ขอขอบพระคุณท่านทั้งสองไว้ ณ.ที่นี้ด้วย ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้ ขอขอบคุณคณะกรรมการควบคุมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาเสนอแนะแก้ไขเพิ่มเติมทำให้วิทยานิพนธ์มีความถูกต้องและสมบูรณ์มากขึ้น

สุดท้ายนี้ผู้ทำวิทยานิพนธ์ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และขอบคุณน้องๆ ที่ให้ความสนับสนุนกำลังกาย-กำลังใจ-กำลังทรัพย์ ขอขอบคุณผู้คนรอบข้างที่ช่วยเหลือให้กำลังกาย และกำลังใจ ด้วยความห่วงใยตลอดมา

นินนาท์ โชติบริบูรณ์

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ (3)

Abstract (5)

กิตติกรรมประกาศ (7)

สารบาญ (8)

รายการตาราง (10)

รายการภาพประกอบ (13)

บทที่

1. บทนำ 1

บทนำต้นเรื่อง 1

การตรวจเอกสาร 3

วัตถุประสงค์ 6

2. วิธีการวิจัย

วัสดุ 7

เครื่องมือและอุปกรณ์ 8

วิธีดำเนินการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกลุ่มสารฟีนอลิกความเข้มข้น200 มิลลิกรัมต่อลิตร 13
2. การศึกษาสภาวะการทดลองต่างๆ 13
3. การศึกษาเฟสเคลื่อนที่ ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หากลุ่มสารฟีนอลิก 13
4. การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดทางการตรวจวัดกลุ่มสารฟีนอลิก 15
5. การศึกษาการวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกโดยทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 17

3 ผลและการอภิปรายผล 22

1. การศึกษาสภาวะการทดลองต่างๆ 22
2. การศึกษาเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิก 24
3. การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดทางการตรวจวัดกลุ่มสารฟีนอลิก 53
4. การศึกษาวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิก โดยทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 56

4 สรุปผล 86
บรรณานุกรม 90
ภาคผนวก 93
ประวัติผู้เขียน 98

รายการตาราง

ตาราง		หน้า
1	สถานที่เก็บตัวอย่างน้ำ 5 จุด บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก	9
2	ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงสุด	22
3	แสดงผลของอัตราส่วนของเมทานอลต่อค่ารีเทนชันไทม์ในการวิเคราะห์ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	25
4	แสดงเปอร์เซ็นต์ของสารละลายที่ใช้เป็นองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่	34
5	แสดงองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่	34
6	แสดงผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	45
7	แสดงค่ารีเทนชันไทม์ของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว	51
8	แสดงค่า Capacity factor ของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว	52
9	แสดงค่าการขยายสัญญาณ ค่าการตอบสนอง ของโหมดอะนาลอกเอาท์ และขีดจำกัดต่ำสุดของกลุ่มสารฟีนอลิก	55
10	แสดงผลของสารละลายที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล	57
11	แสดงผลของสารละลายที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล	57
12	แสดงผลของสารละลายที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	57
13	แสดงผลของพีเอช ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล	61
14	แสดงผลของพีเอช ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย2-ไนโตรฟีนอล	61
15	แสดงผลของพีเอช ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	61
16	แสดงผลของอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล	64
17	แสดงผลของอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล	64

18 แสดงผลของอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล 64
19 แสดงผลของเวลาที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล 67
20 แสดงผลของเวลาที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล 67
21 แสดงผลของเวลาที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล 67
22 แสดงผลของจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล 70
23 แสดงผลของจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล 70
24 แสดงผลของจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัด ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล 70
25 แสดงผลของ Salting out ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล 74
26 แสดงผลของ Salting out ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย2-ไนโตรฟีนอล 74
27 แสดงผลของ Salting out ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล 74
28 แสดงการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล 77
29 แสดงการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 77
30 แสดงการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล 77
31 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว 79
32 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกในน้ำบริสุทธิ์ และน้ำทะเลเทียมที่ความเค็ม 9 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร 80
33 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของ 4-ไนโตรฟีนอล และ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล ในน้ำบริสุทธิ์ และ น้ำทะเลเทียมที่ความเค็ม 9 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร 81

34 แสดงวิธีการสกัดของสาร 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ2,4-ไดเมทิลฟีนอล ในน้ำบริสุทธิ์ และ น้ำทะเลเทียมที่ความเค็ม 9 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร 82

35 แสดงเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การสกัดของ 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ 2,4-ไดเมธิลฟีนอล ในน้ำบริสุทธิ์ และ น้ำทะเลเทียมที่ความเข้มข้น 9และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร 83

36 ความเข้มข้นของกลุ่มสารฟีนอลิก ครั้งที่ 1 (วันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2539) วัดได้ (ไมโครกรัมต่อลิตร) ในตัวอย่างน้ำบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก5 จุดเก็บ 84

37 ความเข้มข้นของกลุ่มสารฟีนอลิก ครั้งที่ 2 (วันที่ 20 มีนาคม พ.ศ. 2539) วัดได้ (ไมโครกรัมต่อลิตร) ในตัวอย่างน้ำบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก 5 จุดเก็บ 85

38 แสดงค่า Dielectric Constants 95

39 แสดงค่า pK_a 95

40 แสดงองค์ประกอบต่างๆ ในน้ำทะเลที่มีความเค็มเท่ากับ 34.3 ส่วนในพันส่วน 96

41 แสดงความเป็น กรด-เบส อุณหภูมิ และความเค็ม ของตัวอย่างน้ำทะเลที่นำมาวิเคราะห์ 5 จุดเก็บ บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก ครั้งที่ 1 (วันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2539) 97

42 แสดงความเป็น กรด-เบส อุณหภูมิ และความเค็ม ของตัวอย่างน้ำทะเลที่นำมาวิเคราะห์ 5 จุดเก็บ บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก ครั้งที่ 2 (วันที่ 20 มีนาคม พ.ศ. 2539) 97

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบ		หน้า
1	แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก	9
2	แสดงจุดเก็บตัวอย่างน้ำที่ 1-2	10
3	แสดงจุดเก็บตัวอย่างน้ำที่ 3-4	11
4	แสดงจุดเก็บตัวอย่างน้ำที่ 5	12
5	แสดงสเปคตรัมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว	23
6	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของเมทานอล และค่ารีเทนชันไทม์	25
7	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:น้ำ (50:50) เป็นเฟสเคลื่อนที่	26
8	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:น้ำ (52:48) เป็นเฟสเคลื่อนที่	27
9	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:น้ำ (54:46) เป็นเฟสเคลื่อนที่	28
10	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:น้ำ (56:44) เป็นเฟสเคลื่อนที่	29
11	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:น้ำ (58:42) เป็นเฟสเคลื่อนที่	30
12	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:น้ำ (60:40) เป็นเฟสเคลื่อนที่	31
13	แสดง Solvent Selectivity Triangle ในการหาเฟสเคลื่อนที่โดยวิธี ORM	33
14	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ (58:00:42) เป็นเฟสเคลื่อนที่	35
15	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ (00:56:42) เป็นเฟสเคลื่อนที่	36
16	แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ (29:28:43) เป็นเฟสเคลื่อนที่	37

17 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.6) เป็นเฟสเคลื่อนที่ 39
18 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ 40
19 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.8) เป็นเฟสเคลื่อนที่ 40
20 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ 42
21 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ:กรดอะซิติก (31:28:41:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ 42
22 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ:กรดอะซิติก (33:24:43:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ 43
23 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอล 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ:กรดอะซิติก (33:28:39:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ 43
24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า HETP และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 45
25 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ตัว 47
26 แสดงโครมาโทแกรมของสารเพนตะคลอโรฟีนอล 48
27 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว 50
28 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาชนิดของสารละลายที่ใช้ในการสกัด 58
29 แสดงสารฟีนอลในตัวทำละลาย 59
30 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาพีเอช 62
31 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัด 65
32 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัด 68
33 เศษส่วนของตัวถูกละลายในน้ำเมื่อทำการสกัด n ครั้ง 69
34 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาจำนวนครั้งในการสกัด 71

35 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาผลของ Salting out 75
36 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 78
37 แสดงสูตรโครงสร้างของกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ชนิดที่ U.S.E.P.A ได้กำหนดไว้ 94

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

สารฟีนอล(phenol;C_6H_5OH) เป็นอนุพันธ์ของเบนซีน ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ต่ออยู่กับวงเบนซีน (benzene ring) และอาจมีหมู่แทนที่ในตำแหน่งอื่นๆได้อีก ในธรรมชาติสารฟีนอลมีหมู่แทนที่เกิดขึ้นทำให้มีความเป็นพิษสูงแม้จะมีความเข้มข้นต่ำก็ตาม United States Environmental Protection Agency (U.S.E.P.A.) ได้กำหนดสารอินทรีย์ 114 ชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้น้ำเสีย โดยแบ่งเป็น 5 กลุ่มคือ Pesticides (26 compounds) , Base/Neutrals (46 compounds), Acid(11 compounds), Purgeables(29 volatile organics) และ Direct aqueous injection (2 compounds) (Cooper, ed. 1981 : 208) กลุ่มสารฟีนอล 11 ตัวที่ U.S.E.P.A กำหนดคือ ฟีนอล (Phenol) 4-ไนโตรฟีนอล(4-Nitrophenol) 2-ไนโตรฟีนอล (2-Nitrophenol) 2-คลอโรฟีนอล(2-Chlorophenol) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล(2,4-Dinitrophenol) , 2,4-ไดเมทิลฟีนอล(2,4-Dimethylphenol) 2,4-ไดคลอโรฟีนอล(2,4-Dichlorophenol) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล (4-Chloro-3-methylphenol) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล (4,6-Dinitro-2-methyl phenol) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล(2,4,6-Trichlorophenol) และเพนตะคลอโรฟีนอล (Penta chlorophenol) (Buckman, et al. 1984 : 442)

กลุ่มสารฟีนอลิกที่สำคัญ 11 ตัวดังกล่าว พบได้ในน้ำทิ้งจากกระบวนการทางอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น โรงงานที่เป็นตัวกลางในการผลิตพลาสติก , ยา และสี โรงงานที่ใช้ถ่านหินและถ่านสีน้ำตาลเป็นเชื้อเพลิง, โรงงานผลิตพลาสติก, น้ำยารักษาเนื้อไม้, น้ำยาล้างรูป, ยาฆ่าเชื้อโรค, สี , สารเคมีอินทรีย์ และ โรงงานกลั่นน้ำมัน นอกจากนี้ยังได้จากการใช้สารฆ่าแมลงและปราบศัตรูพืช ตลอดจนน้ำทิ้งจากครัวเรือน

การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกสามารถทำได้หลายวิธีเช่น Colorimetric , Thin Layer Chromatography , Gas Chromatography (GC) , Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC-MS) และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นต้น แต่เนื่องจากกลุ่มสารฟีนอลิกบางตัวมีความเป็นพิษสูง แม้จะมีความเข้มข้นต่ำๆ (Buckman,

วิเคราะห์ต่ำ นอกจากนี้ยังไม่สามารถวิเคราะห์สารเชิงปริมาณได้ (Realini, 1981 : 124) Colorimetric เป็นเทคนิคที่วัดการเกิดสีจากปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับ 4–อะมิโนแอนติไพรีน (4-Aminoantipyrine;4-AAP) วิธีนี้ถือว่าเป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก แต่ไม่สามารถวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งพาราเช่น พวกอัลคิล, เอริล, ไนโตร, เบนโซอิล, ไนโตรโซ หรืออัลดีไฮด์ และปริมาณของกลุ่มสารฟีนอลิกที่วิเคราะห์เป็นปริมาณสารฟีนอลรวม (Realini, 1981 : 124) Gas Chromatography เป็นเทคนิคที่มีความไวในการวิเคราะห์ แต่ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์นานเนื่องจากต้องใช้ 2 ขั้นตอน คือ Preconcentration และ Derivatization เมื่อใช้อิเล็กตรอนแคพเจอร์ดีเทคเตอร์ (ECD) เป็นตัวตรวจวัด ต่อมามีการพัฒนาให้สามารถวิเคราะห์ได้โดยตรง ใช้ดีเทคเตอร์แบบเฟลมไอออไนเซชั่น (FID) เป็นตัวตรวจวัด ในวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกพวกคลีซอล โมโน และไดคลอโรฟีนอล ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Realini, 1981 : 124) High Performance Liquid Chromatography ที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับสารตัวอย่างที่แยกได้ยาก สามารถวิเคราะห์ในปริมาณน้อยๆ และเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ เนื่องจากสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีสภาพขั้วต่างกันมาก และมีการนำไปใช้อย่างแพร่หลาย (Roggendorf and Spatz, 1981 : 263) นอกจากนี้ยังเป็นเทคนิคที่มีความเที่ยงและความไวและสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพ และ เชิงปริมาณในการหากลุ่มสารฟีนอลิกในปริมาณน้อยๆ (Realini, 1981 : 124)

High Performance Liquid Chromatography ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการหากลุ่มสารฟีนอลิก ในการวิเคราะห์ใช้เทคนิค Isocratic Elution, Gradient Elution Temperature Programming หรือ pH-Control (Buckman, et al. 1984) การวิเคราะห์โดยใช้ Isocratic Elution เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่สะดวกแต่ต้องมีวิธีการในการหาเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม วิธีหนึ่งในการหาเฟสเคลื่อนที่สำหรับการแยกกลุ่มสารที่มีองค์ประกอบหลายชนิดเรียกว่า Overlapping Resolution Mapping (ORM)

กลุ่มสารฟีนอลิกที่ U.S.E.P.A. ได้เสนอให้มีการควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้ตามครัวเรือนให้มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด สูงไม่เกิน 1 ไมโครกรัมต่อลิตร (Goldberg and Weiner, 1980 : 373) ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของน้ำเพื่อเตือนให้ทราบว่ามีกลุ่มสารฟีนอลิกอยู่หรือไม่ และถึงระดับอันตรายแล้วหรือยัง ซึ่งจะเป็นการกระตุ้นให้มีการ พยายามหาวิธีการเพื่อที่จะหาปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิกในระดับความเข้มข้นต่ำๆ

วิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในระดับความเข้มข้นต่ำๆวิธีหนึ่งคือการทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) , การดูดซับด้วยสารดูดซับของแข็ง (Solid Extraction) , การสกัดอย่างต่อเนื่อง (Continuous Extraction) และไอออนเอกซ์เชนจ์โครมาโทกราฟี (Ion-exchange Chromatography)

การตรวจเอกสาร

การวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกในปัจจุบันมีหลายเทคนิค แต่เนื่องจากปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิกในธรรมชาติมีปริมาณน้อยและบางชนิดแม้มีปริมาณเล็กน้อยแต่มีความเป็นพิษสูง ดังนั้นควรหาเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์สารที่มีปริมาณน้อย ๆ และมีความจำเพาะสูงๆ

Realini (1981) รายงานการหาปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ตัว โดยศึกษาในระดับความเข้มข้นนาโนกรัมต่อลิตรด้วยเทคนิค Reverse-phase HPLC คอลัมน์ที่ใช้คือ Micro Pak MCH 5 μm 30 cm x 4 mm อัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาทีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ที่ 0.1 AUFS ด้วยยูวีดีเทคเตอร์ ในการวิเคราะห์ใช้วิธี Gradient Elution ดังนี้ 30% B - 80% B ในช่วงเวลา 20 นาที และคงอัตราส่วนเดิมไว้ที่ 5 นาที และกลับไปที่ 30% B ในเวลา 20 นาที โดยที่ A คือ น้ำ : 1%กรดอะซิติก B คือ อะซีโตไนไทรล์ : 1% กรดอะซิติก พบว่าสามารถแยกกลุ่มสารฟีนอลิกได้ 11 ตัวโดยใช้เวลาประมาณ 25 นาที

เนื่องจากวิธี Gradient Elution เป็นวิธีที่ใช้ในการแยกกลุ่มสารผสมที่ซับซ้อนและมีค่า Capacity factor (k') แตกต่างกันมาก ๆ (แม้น และอมร, 2534 : 745) แต่ Isocratic Elution เป็นวิธีที่ง่าย ถ้าสามารถหาเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมในการแยกสาร (Busto, Olucha and Borrull, 1991 : 566) Buckman, et al. (1984) ศึกษาการแยกกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ตัว โดยใช้เทคนิค RP-HPLC วิธี Isocratic Elution พบว่าเฟสเคลื่อนที่คือ อะซิโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (50:50:0.1) ใช้เวลา 25 นาที และเมทานอล:อะซิโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (20 : 55 : 25 : 0.1) ใช้เวลา 17 นาที คอลัมน์ที่ใช้คือ Radial Pak 5 μm 10 cm x 8 mm C_{18} อัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ 2 มิลลิลิตรต่อนาที และ ใช้ UV Detector เป็นตัวตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ที่ 0.05 AUFS แต่เนื่องจากต้องใช้เฟสเคลื่อนที่ 2 อัตราส่วนจึงทำให้ไม่

สะดวกในการวิเคราะห์ และใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน นอกจากนี้ Lee, Li และ Tay(1988) ศึกษาการแยกกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ตัว โดยใช้เทคนิค RP-HPLC โดยใช้วิธี Isocratic Elution พบว่าเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ เมทานอล : อะซิโตไนไทรล์ : น้ำ : กรดอะซิติก (33.3 : 33.3 : 33.3 : 0.1) โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์ 25 นาที คอลัมน์ที่ Shim-Pak CLC-ODS 5 μm, 15cm x 6 mm C_{18} อัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และ SPD-6A variable-wavelength UV Detector ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร นอกจากนี้มีการศึกษาขนาดของอนุภาคต่อการแยกสารพบว่าอนุภาคขนาด 5 μm มีผลทำให้การแยกดีที่สุด

วิธีการหาเฟสเคลื่อนที่โดยวิธี ORM ขั้นแรกของการศึกษาหา Total Solvent Strength ซึ่งมีค่าสูงพอที่จะยอมรับค่า k′ สำหรับทุกพีค โดยศึกษาจาก Binary water / methanol linear gradient ซึ่งได้จากการทดลองศึกษาอัตราส่วนของเมทานอลและน้ำ จากผลการทดลองหาองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีค่า Total Solvent Strength เท่ากันแต่ให้การแยกที่ดีขึ้น โดยใช้ Solvent Selectivity Triangle (Ong, Lee and Li, 1989 : 406) Ong, Lee และ Li (1989) ศึกษาการหาเฟสเคลื่อนที่โดยวิธี ORM เพื่อแยกกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ตัว โดยใช้เทคนิค RP-HPLC วิธี Isocratic Elution พบว่า เฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์คือ เมทานอล:อะซิโตไนไทรล์: น้ำ (32.2:25.2:42.6) คอลัมน์ Whatman Partisil-5 ODS-3 5 μm, 100 mm x 4.6 mm. อัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที และ SPD-6A Variable-wavelength UV Detector วัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร พบว่าสามารถแยกกลุ่มสารฟีนอลิกใช้เวลา 9 นาที

จากปัญหาของเทคนิคทางเครื่องมือไม่สามารถวิเคราะห์สารที่มีความเข้มข้นต่ำๆ จากตัวอย่างน้ำได้โดยตรง จึงมีการทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น Borys (1981) ได้ศึกษาการหาปริมาณ 4-ไนโตรโซ และ 4-ไนโตรฟีนอล ทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยใช้ XAD-4 และชะออกโดยใช้สารละลายไดเอทิลอีเธอร์ นำมาวิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ความเข้มข้นที่ศึกษาอยู่ในช่วง 3.48 - 33.36 ไมโครกรัมต่อ 10 มิลลิลิตร เปอร์เซ็นต์การสกัดอยู่ในช่วง 22 - 99 % Czuczwa, et al. (1987) ศึกษาการหาปริมาณฟีนอล และกลีซอลความเข้มข้นต่ำในตัวอย่างน้ำฝน โดยวิธีการสกัดอย่างต่อเนื่อง และวิเคราะห์โดย Normal-Phase HPLC โดยใช้คอลัมน์ 3-μm aminosilica สามารถสกัดสารที่มีความเข้มข้น 1.6 ไมโครกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพการสกัด 70±6 % พบว่ามีข้อดีคือไม่ต้อง Clean-up สารตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์ Hoffsommer, Glover และ Hazzard (1980)

วิเคราะห์โพลีไนโตรฟีนอลในตัวอย่างน้ำระดับความเข้มข้นไมโครกรัม-นาโนกรัม โดยใช้ Reverse Phase Ion-pair Liquid Chromato graphy ขั้นตอนการทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นระดับความเข้มข้น 1 - 15 นาโนกรัมต่อลิตร โดยใช้ Sep-Pak C_{18} Cartridge และชะออกโดยใช้เมทานอล

U.S.E.P.A. ได้กำหนดวิธีการวิเคราะห์ Acid Fraction ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ชนิด โดยการสกัดในรูปสารละลายกรด และใช้สารละลายไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ วิเคราะห์โดยเทคนิค GC/MS (Cooper, ed. 1981)

Abrahamsson และ Xie (1983) วิเคราะห์คลอโรฟีนอลในน้ำจืด, น้ำเสีย และน้ำทะเล โดยใช้ Gas Chromatography มีขั้นตอนการทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย ในการศึกษาใช้เฮกเซนเป็นสารละลายที่ใช้ในการสกัด โดยศึกษาอัตราส่วนสารละลายต่อสารตัวอย่างดังนี้คือ 5:1 และ 200:1 พบว่าที่อัตราส่วน 5:1 ประสิทธิภาพในการสกัดดี Realini (1981) ศึกษาการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ตัว โดยใช้สารละลายที่ใช้ในการสกัดคือ ไดคลอโรมีเทน เฮกเซน และอีเทอร์ แม้ว่าเฮกเซนเป็นสารละลายที่นิยมสำหรับการสกัดสารอินทรีย์ แต่เป็นสารละลายที่มีสภาพขั้วต่ำ และมีจุดเดือด 70 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้มีการสูญเสียกลุ่มสารฟีนอลไปในขณะระเหยสารละลาย ส่วนสารละลายไดคลอโรมีเทน และอีเทอร์มีประสิทธิภาพในการสกัดใกล้เคียงกันแต่สารละลายไดคลอโรมีเทนจะมีประสิทธิภาพในการสกัด 75 - 99% ซึ่งสูงกว่าถ้าสกัดที่พีเอช 2 และเติมสารเตตระบิวทิวแอมโมเนียมเป็นสาร Ion-pair และ นำมาสกัดอีกครั้งในรูปเบสที่ pH 4 Fernandez de Simon, et al. (1990)ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดสารประกอบฟีนอลิก โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ ไดเอธิล อีเทอร์ และเอธิล อะซีเตต พบว่าสารละลายไดเอทิลอีเทอร์เหมาะกับการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิก ในการทดลองครั้งนี้สารตัวอย่างมีความเข้มข้นน้อยมาก จึงมีการทำให้ปริมาณลดลงโดยใช้ Rotatory evaperator Busto, Olucha และ Borrull (1991) ศึกษาการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ตัว โดยใช้ตัวอย่างน้ำ 1 ลิตร ปรับพีเอชให้เป็นกรดโดยใช้กรดอะซิติก 10 มิลลิลิตร สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 50 มิลลิลิตร 3 ครั้ง และสกัดกลับโดยใช้น้ำ 5 มิลลิลิตร ระเหยตัวทำละลาย และละลายตัวถูกละลายโดยใช้เมทานอล 1 มิลลิลิตร Leggett, Jenking และ Miyares (1990) ศึกษาประโยชน์ของ Salting out พบว่าประสิทธิภาพของการสกัดดีขึ้นเมื่อเติมโซเดียมคลอไรด์ลงไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการแยกกลุ่มสารฟีนอลิก โดยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง โดยการเพิ่มความเข้มข้นกลุ่มสารฟีนอลิกด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย
2. เพื่อวิเคราะห์ทางคุณภาพและทางปริมาณของกลุ่มสารฟีนอลิกในตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัสดุ

สารเคมีต่างๆที่ใช้ประกอบด้วย

ฟีนอล (A.R.grade, E Merck Darmstadt, Germany)

2-ไนโตรฟีนอล (R.G.grade, Riedel-de Haen ag, D-Seeizei, Germany)

4-ไนโตรฟีนอล(A.R.grade, Fluka chemie ag, CH-9470 Buchs, Switzerland)

2,4-ไดไนโตรฟีนอล (HPLC grade, Fluka chemie ag, CH-9470 Buchs , Switzerland)

2-คลอโรฟีนอล (A.R.grade, Fluka chemie ag, CH-9470 Buchs, Switzerland)

2,4-ไดเมธิลฟีนอล (A.R.grade, Aldrich, USA)

4-คลอโร-3-เมธิลฟีนอล (A.R.grade, Aldrich, USA)

4,6-ไดไนโตร-2-เมธิลฟีนอล (A.R.grade, Aldrich, USA)

2,4-ไดคลอโรฟีนอล (HPLC grade, Fluka chemie ag, CH-9470 Buchs , Switzerland)

2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล (A.R.grade, Aldrich, USA)

เพนตะคลอโรฟีนอล (A.R.grade, Aldrich, USA)

เมทานอล (Baker Analyzed, J.T.Baker Chemicals Co., Deventer, Holland)

อะซีโตไนไทรล์ (RPE-ACS Puro Erba, Carlo Erba, Italy)

กรดอะซิติก (A.R.grade, E Merck Darmstadt, Germany)

ไดคลอโรมีเทน (A.R.grade, E Merck Darmstadt, Germany)

คลอโรฟอร์ม (A.R.grade, Riedel-de Haen ag, D-Seeizei, Germany)

เฮกเซน (Baker Analyzed, J.T.Baker Chemicals Co.,Deventer, Holland)

โซเดียมซัลเฟต (RPE-ACS Puro Erba, Carlo Erba, Italy)

โซเดียมคลอไรด์ (AnalaR, BDD Chemicals Ltd Poole, England)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณ และอุปกรณ์สำหรับเพิ่มความเข้มข้น

   HPLC Pump รุ่น LC-6A (Shimadzu, Japan)

   เครื่องตรวจวัดสัญญาณแบบอัลตราไวโอเลต รุ่น SPD-6A (Shimadzu, Japan)

   คอลัมน์ รุ่น Shim-pack CLC-ODS 10 μm15cmx6.0mm (Shimadzu,Japan)

   เครื่องบันทึกและประมวลผลข้อมูล รุ่น C-R4A Chromatopac (Shimadzu, Japan)

   เครื่องแก้วอื่นๆ ที่จำเป็นต่อการวิเคราะห์
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ

   ขวดแก้วสีชา ขนาด 1000 มิลลิลิตร

   ภาชนะสำหรับใส่ขวดตัวอย่างน้ำ และปรับอุณหภูมิเป็น 4 องศาเซลเซียส

   ถุงมือ
3. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ และทางเคมี

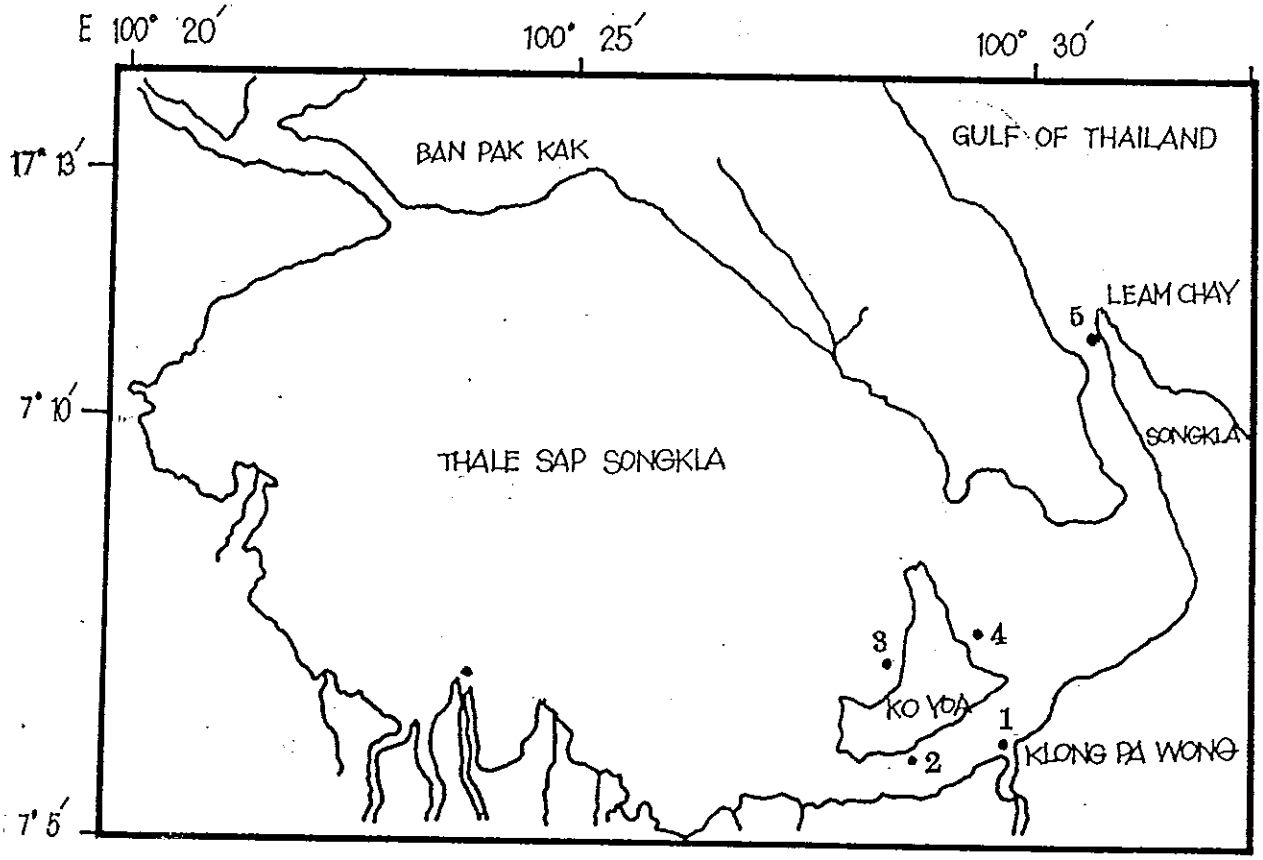
   เครื่องมือวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter)

   เทอร์โมมิเตอร์

   รีแฟรกโทมิเตอร์

ตาราง 1 สถานที่เก็บตัวอย่างน้ำ 5 จุด บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก

จุดเก็บน้ำที่	สถานที่เก็บ
1	ปากคลองพะวง
2	บ้านสวนใหม่ ต.เกาะยอ อ.เมือง จ.สงขลา
3	บ้านอ่าวม่วง ต.เกาะยอ อ.เมือง จ.สงขลา
4	บ้านนอก ต.เกาะยอ อ.เมือง จ.สงขลา
5	แหลมสนอ่อน



ภาพประกอบ 1 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก

a

b

ภาพประกอบ 2 แสดงจุดเก็บตัวอย่างน้ำที่ 1-2

a: ปากคลองพะวง

b: บ้านสวนใหม่ 9 ต.เกาะยอ อ.เมือง จ.สงขลา

a

b

ภาพประกอบ 3 แสดงจุดเก็บตัวอย่างน้ำที่ 3-4

a: บ้านอ่าวม่วง 1 ต.เกาะยอ อ.เมือง จ.สงขลา

b: บ้านนอก ต.เกาะยอ อ.เมือง จ.สงขลา

a

ภาพประกอบ 4 แสดงจุดเก็บตัวอย่างน้ำที่ 5

a: แหลมสนอ่อน

วิธีดำเนินการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกลุ่มสารฟีนอลิกความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งสารประกอบฟีนอลิก 0.200 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่งนำมาละลายในสารละลาย 50 % ของเมทานอล ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล ในขวดวัดปริมาตร

2. การศึกษาสภาวะการทดลองต่าง ๆ

2.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงสุด

นำสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก 10 ตัว คือ ฟีนอล , 4-ไนโตรฟีนอล , 2-ไนโตรฟีนอล 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดเมธิลฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล , 4-คลอโร-3-เมธิลฟีนอล , 4,6-ไดไนโตร-2-เมธิลฟีนอล , 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอลความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ทำการสแกนความยาวคลื่นตั้งแต่ 200 นาโนเมตร ถึง 350 นาโนเมตร เพื่อหาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงสุดด้วยอัตราการสแกน 3 นาโนเมตรต่อนาที

3. การศึกษาเฟสเคลื่อนที่ ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หากลุ่มสารฟีนอลิก

3.1 การศึกษาอัตราส่วนของเมทานอล

3.1.1 เตรียมสารละลาย 50%, 52%, 54%, 56%, 58% และ 60% ของเมทานอล

3.1.2 นำสารละลายที่เตรียมได้มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยใช้คอลัมน์รุ่น Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อวินาที ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

3.1.3 เลือกเฟสเคลื่อนที่ที่ให้ผลการแยกดี และเวลาในการวิเคราะห์สั้น

3.2 การศึกษาการหาเฟสเคลื่อนที่โดยวิธี Overlapping Resolution Mapping

3.2.1 อาศัยข้อมูลจากการทดลอง 3.1 หาส่วนประกอบอื่นๆ ซึ่งให้ค่า Total Solvent Strength ใกล้เคียงกัน โดยเลือกศึกษา เมทานอล, อะซีโตไนไทรล์ และน้ำเป็นส่วนประกอบในเฟสเคลื่อนที่

3.2.2 นำสารละลายที่เตรียมได้มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อวินาที ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

3.2.3 เลือกเฟสเคลื่อนที่ที่ให้ผลการแยกดี

3.3 การศึกษาการเติมกรดอะซิติก

3.3.1 นำเฟสเคลื่อนที่ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2 มาเติมกรดอะซิติก 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิลิตรในเฟสเคลื่อนที่ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.3.2 นำสารละลายที่เตรียมได้มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อวินาที ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

3.3.3 เลือกเฟสเคลื่อนที่ที่ให้ผลการแยกดี

3.4 การศึกษาการเพิ่มและลดองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่

3.4.1 นำเฟสเคลื่อนที่ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3 มาเพิ่มและลดองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่

3.4.2 นำสารละลายที่เตรียมได้มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อวินาที ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

3.4.3 เลือกเฟสเคลื่อนที่ที่ให้ผลการแยกดี

3.5 การศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

3.5.1 นำเฟสเคลื่อนที่ที่ได้จากข้อ 3.4 มาวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกโดยใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

3.5.2 ศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ 0.5 , 0.6 , 0.7 , 0.8 และ 0.9 มิลลิลิตรต่อนาที

3.5.3 หาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างค่า HETP และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เลือกอัตราการไหลที่มีค่า HETP ต่ำสุด

3.6 การศึกษาการแยกกลุ่มสารฟีนอลิก

3.6.1 นำเฟสเคลื่อนที่ที่เตรียมได้จาก เมทานอล : อะซีโตไนไทรล์: น้ำ : กรดอะซิติก (31 : 26 : 43 : 0.7) มาวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิก โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15 cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อวินาที ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

3.6.2 จากโครมาโทแกรมหาค่ารีเทนชันไทม์

3.7 การศึกษาการแยกเพนตะคลอโรฟีนอล

3.7.1 นำเฟสเคลื่อนที่ที่เตรียมได้จาก เมทานอล : อะซีโตไนไทรล์: น้ำ : กรดอะซิติก (31 : 26 : 43 : 0.7) มาวิเคราะห์สารเพนตะคลอโรฟีนอล โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อวินาที ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

3.7.2 จากโครมาโทแกรมหาค่ารีเทนชันไทม์

4. การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดทางการตรวจวัดกลุ่มสารฟีนอลิก

4.1 การศึกษาค่าการตอบสนอง (Response) ของโหมดอะนาลอกเอาท์ต่อการหาค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน

4.1.1 ตั้งสภาวะการทดลองที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ที่เตรียมได้จาก เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.7) มาวิเคราะห์กลุ่ม

สารฟีนอลิก 10 ตัว โดยใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

4.1.2 กำหนดค่าการตอบสนองของโหมดอะนาลอกเอาท์เป็น Slow, Standard และ Fast โดยค่าการขยายสัญญาณเป็น 0.005 ความเร็วของการบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที ศึกษาสารละลายฟีนอล, 4-ไนโตรฟีนอล, 2-ไนโตรฟีนอล, 2-คลอโรฟีนอล, 2,4-ไดไนโตรฟีนอล, 2,4-ไดเมธิลฟีนอล, 2,4-ไดคลอโรฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมธิลฟีนอล, 4,6-ไดไนโตร-2-เมธิลฟีนอล, 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 0.030, 0.005, 0.010, 0.004, 0.006, 0.020, 0.015, 0.002, 0.025 และ 0.100 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ เปรียบเทียบสัญญาณที่ได้

4.2 การศึกษาค่าการขยายสัญญาณ (Expansion) ของโหมดอะนาลอกเอาท์ต่อการหาค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน

4.2.1 ตั้งสภาวะการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้น และกำหนดค่าการขยายสัญญาณของโหมดอะนาลอกเอาท์เป็น 0.320 0.040 และ0.005 โดยค่าการตอบสนองของโหมดอะนาลอกเอาท์เป็น Fast ความเร็วของการบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาทีศึกษาสารละลายฟีนอล, 4-ไนโตรฟีนอล, 2-ไนโตรฟีนอล, 2-คลอโรฟีนอล, 2,4-ไดไนโตรฟีนอล, 2,4-ไดเมธิลฟีนอล, 2,4-ไดคลอโรฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมธิลฟีนอล, 4,6-ไดไนโตร-2-เมธิลฟีนอล, 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 0.030, 0.005, 0.010, 0.004, 0.006, 0.020, 0.015, 0.002, 0.025 และ 0.100 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ เปรียบเทียบสัญญาณที่ได้

4.3 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของกลุ่มสารฟีนอลิก

4.3.1 ตั้งสภาวะการทดลองที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือ เมทานอล : อะซีโตไนไทรล์: น้ำ : กรดอะซิติก (31 : 26 : 43 : 0.7) คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0mm ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อวินาที ความดัน 100-120 Kgf/cm^2 Range 0.04 AUFS และความเร็วของกระดาษบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

4.3.2 กำหนดค่าการตอบสนองของโหมดอะนาลอกเอาท์เป็น Fast ค่าการขยายสัญญาณเป็น 0.005 และความเร็วของการบันทึกผล 3 มิลลิลิเมตรต่อนาที ศึกษาสารละลายฟีนอล , 4-ไนโตรฟีนอล , 2-ไนโตรฟีนอล , 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดเมธิลฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล , 4-คลอโร-3-เมธิลฟีนอล , 4,6-ไดไนโตร-2-เมธิลฟีนอล,

2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 0.030, 0.005, 0.010, 0.004, 0.006, 0.020, 0.015, 0.002, 0.025 และ 0.100 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ จากค่าสัญญาณต่อค่าสัญญาณรบกวนของกลุ่มสารฟีนอลิก คำนวณหาความเข้มข้นของกลุ่มสารฟีนอลิกที่ให้ค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนเท่ากับ 3

5. การศึกษาการวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกโดยทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น

5.1 การศึกษาสารละลายที่ใช้ในการสกัด

5.1.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอล, 2-ไนโตรฟีนอล และ2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

5.1.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.1.3 นำสารละลายที่เตรียมได้มาสกัดด้วย สารละลายไดคลอโรมีเทน สารละลายคลอโรฟอร์ม และสารละลายเฮกเซน 75 มิลลิลิตร และเขย่าเป็นเวลา 6 นาทีโดยใช้กรวยแยก

5.1.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.1.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40, 60 และ 70 องศาเซลเซียสตามลำดับ

5.1.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

5.2 การศึกษาพีเอช

5.2.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอล,2-ไนโตรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

5.2.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2, 3 และ 4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.2.3 นำสารละลายที่เตรียมได้มาสกัดด้วย สารละลายไดคลอโรมีเทน 75 มิลลิลิตร และเขย่าเป็นเวลา 6 นาทีโดยใช้กรวยแยก

5.2.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.2.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.2.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

5.3 การศึกษาอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัด

5.3.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอล,2-ไนโตรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

5.3.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.3.3 นำสารละลายที่เตรียมได้ 675, 375 และ 188 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน 75, 375 และ 526 มิลลิลิตร และเขย่าเป็นเวลา 6 นาทีโดยใช้กรวยแยก

5.3.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.3.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.3.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

5.4 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัด

5.4.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอล,2-ไนโตรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

5.4.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.4.3 นำสารละลายที่เตรียมได้มาสกัดด้วย สารละลายไดคลอโรมีเทน 75 มิลลิลิตร และเขย่าเป็นเวลา 3, 6 และ 9 นาทีโดยใช้กรวยแยก

5.4.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.4.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.4.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

5.5 การศึกษาจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัด

5.5.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอล,2-ไนโตรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

5.5.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.5.3 นำสารละลายที่เตรียมได้มาสกัดด้วย สารละลายไดคลอโรมีเทน 75 มิลลิลิตร สกัดจำนวน 1, 2 และ 3 ครั้งตามลำดับเขย่าครั้งละ 6 นาที โดยใช้กรวยแยก

5.5.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.5.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.5.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

5.6 การศึกษาผลของ Salting out

5.6.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอล,2-ไนโตรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

5.6.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.6.3 เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์, เกลือโซเดียมซัลเฟต และไม่เติมเกลือ 45 กรัม ใช้สารละลายไดคลอโรมีเทน 75 มิลลิลิตร สกัด 3 ครั้งๆละ 6 นาที โดยใช้กรวยแยก

5.6.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.6.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.6.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

5.7 การศึกษาผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์

5.7.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอล, 2,4-ไดเมธิลฟีนอล, และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอลความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

5.7.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.7.3 เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 15 , 30 และ 45 กรัม ใช้สารละลายไดคลอโรมีเทน 75 มิลลิลิตร สกัด 3 ครั้งๆละ 6 นาที โดยใช้กรวยแยก

5.7.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.7.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.7.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

5.8 การศึกษาการทำให้กลุ่มสารฟีนอลิกในน้ำบริสุทธิ์ มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

5.8.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก 10 ตัวคือ ฟีนอล, 4-ไนโตร ฟีนอล, 2-ไนโตรฟีนอล , 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดเมธิลฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมธิลฟีนอล, 4,6-ไดไนโตร-2-เมธิลฟีนอล, 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สารแต่ละตัวมีปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

5.8.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.8.3 เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 45 กรัม ใช้สารละลายไดคลอโรมีเทน 75 มิลลิลิตร สกัดจำนวน 3 ครั้งๆละ 6 นาที โดยใช้กรวยแยก

5.8.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.8.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.8.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

5.9 การศึกษาการทำให้กลุ่มสารฟีนอลิกในน้ำทะเลเทียม มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

5.9.1 เตรียมน้ำทะเลเทียมที่ความเค็ม 30 และ 9 ส่วนในพันส่วน ดังตาราง 40

5.9.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก 10 ตัวคือ ฟีนอล, 4-ไนโตร ฟีนอล, 2-ไนโตรฟีนอล , 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดเมธิลฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมธิลฟีนอล, 4,6-ไดไนโตร-2-เมธิลฟีนอล, 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สารแต่ละตัวมีปริมาตร 34 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรเป็น 675 มิลลิลิตรด้วยน้ำทะเลเทียม

5.9.3 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.9.4 เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 45 กรัม ใช้สารละลายไดคลอโรมีเทน 75 มิลลิลิตร สกัดจำนวน 3 ครั้งๆละ 6 นาที โดยใช้กรวยแยก

5.9.5 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.9.6 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.9.7 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50% ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

5.10 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในทะเลสาบสงขลาตอนนอก

5.10.1 เก็บน้ำตัวอย่างจากทะเลสาบสงขลาตอนนอกปริมาตร 675 มิลลิลิตร

5.10.2 ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

5.10.3 นำสารละลายที่เตรียมได้มาสกัดด้วย สารละลายไดคลอโรมีเทน 75 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้งๆละ 6 นาที โดยใช้กรวยแยก

5.10.4 ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น 20 นาที

5.10.5 นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไประเหยโดยใช้ Evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5.10.6 ละลายสารที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลาย 50 %ของเมทานอล 5 มิลลิลิตร และวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำข้อมูลที่ได้หาปริมาณโดยวิธี Standard Addition

บทที่ 3

ผลและการอภิปรายผล

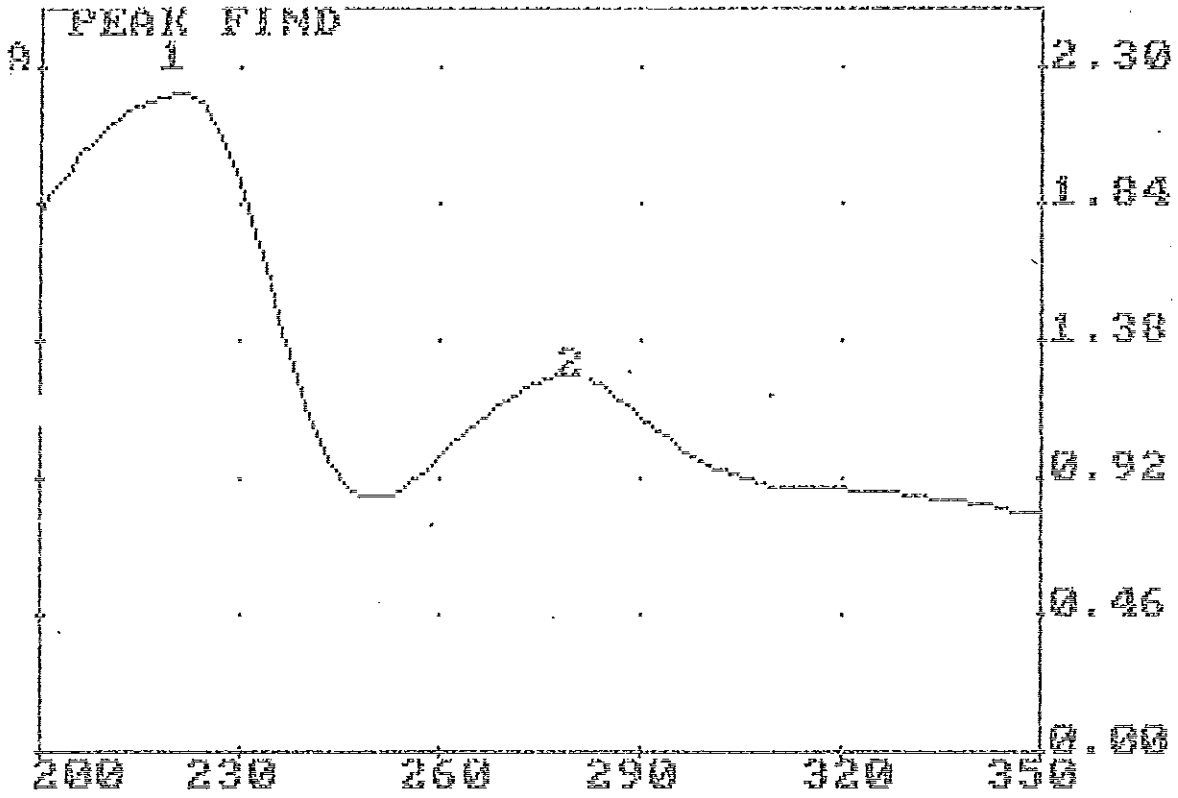
1. การศึกษาสภาวะการทดลองต่างๆ

1.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงสุด

จากการศึกษาการดูดกลืนแสง UV ของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว คือ ฟีนอล, 4-ไนโตรฟีนอล, 2-ไนโตรฟีนอล, 2-คลอโรฟีนอล, 2,4-ไดไนโตรฟีนอล, 2,4-ไดเมทิลฟีนอล, 2,4-ไดคลอโรฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล, 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล, 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล และกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวที่ความยาวคลื่นต่างๆ พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์กับความยาวคลื่น แสดงดังตาราง 2 และสเปคตรัมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว ที่ความยาวคลื่นต่างๆ แสดงดังภาพประกอบ 5

ตาราง 2 ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงสุด

สาร	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)
ฟีนอล	270.5
4-ไนโตรฟีนอล	318.0
2-คลอโรฟีนอล	275.5
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	389.5
2-ไนโตรฟีนอล	276.5
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	279.5
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	281.5
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	264.5
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	285.5
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	292.0
กลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว	280.0



ภาพประกอบ 5 แสดงสเปคตรัมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว

จากผลการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่นต่างๆ พบว่า ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดมีค่าแตกต่างกัน แต่ในการวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว คือ 280 นาโนเมตร

2. การศึกษาเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิก

การหาเฟสเคลื่อนที่โดยวิธี Overlapping Resolution Mapping (Glajch, et al. 1980) เป็นการหาเฟสเคลื่อนที่ที่มีค่าความแรงของตัวทำละลายรวม (Total solvent strength ,S_T) มีค่าสูงพอที่จะยอมรับค่า k' สำหรับทุกพีกจากการทดลองโดยใช้สารละลายเมทานอลเปอร์เซ็นต์ต่างๆกัน หาเฟสเคลื่อนที่ที่มีค่า S_T เท่ากันโดยอาศัย Solvent Selectivity Triangle

ค่าความแรงของตัวทำละลายรวมหาได้จากสมการดังนี้คือ

$$S_T = S_A\Psi_A + S_B\Psi_B + \ldots$$

โดย S_T = ความแรงของตัวทำละลายรวม

S_A , S_B = ความแรงของตัวทำละลาย A , B

Ψ_A , Ψ_B = Volume Fraction ของสารละลาย A , B (Ong, Lee and Li, 1989)

โดยที่

Ψ_{H_2O} = 0.0

Ψ_{CH_3OH} = 3.0

Ψ_{CH_3CN} = 3.1

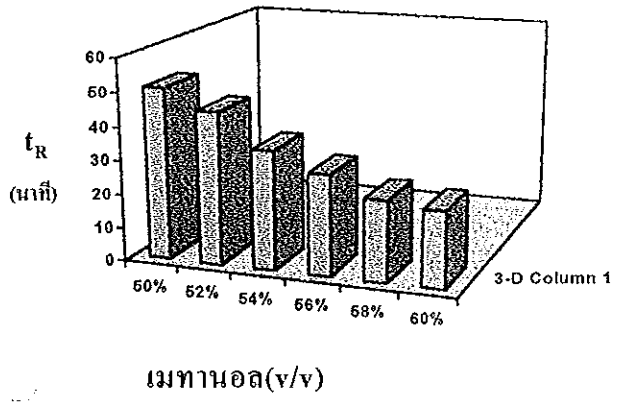
Ψ_{THF} = 4.4 (Snyder, Dolan and Gant, 1979)

2.1 ศึกษาอัตราส่วนของเมทานอล

จากการศึกษาอัตราส่วนของเมทานอลที่ 50:50 , 52:48 , 54:46 , 56:44 , 58:42 และ 60:40 พบว่าอัตราส่วนของสารละลายเมทานอลสัมพันธ์กับค่ารีเทนชั่นไทม์ แสดงดังตาราง 3 และภาพประกอบ 6

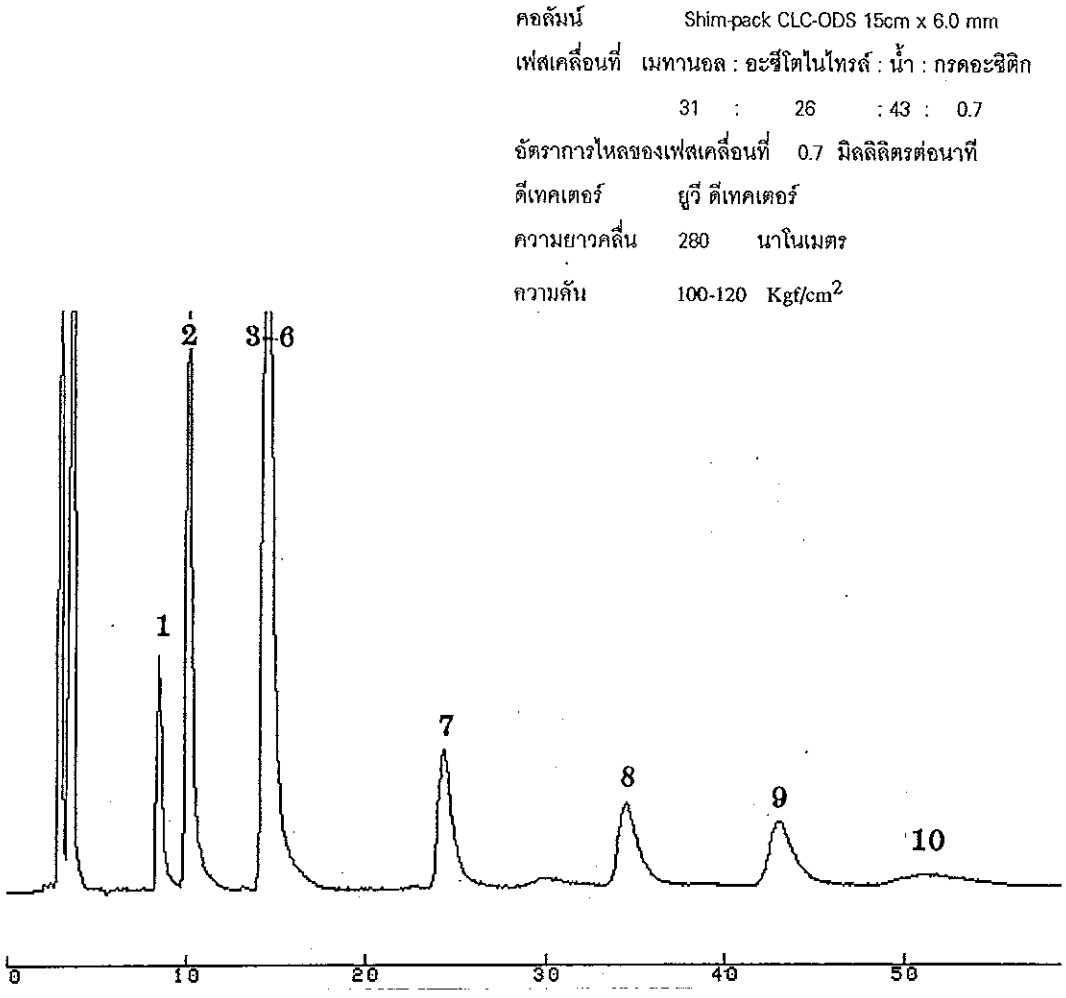
ตาราง 3 แสดงผลของอัตราส่วนของเมทานอลต่อค่ารีเทนชั่นไทม์ ในการวิเคราะห์ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

$CH_3OH : H_2O$	ค่ารีเทนชั่นไทม์ (นาที)
50 : 50	51.02
52 : 48	45.13
54 : 46	35.36
56 : 44	29.86
58 : 42	29.65
60 : 40	22.52

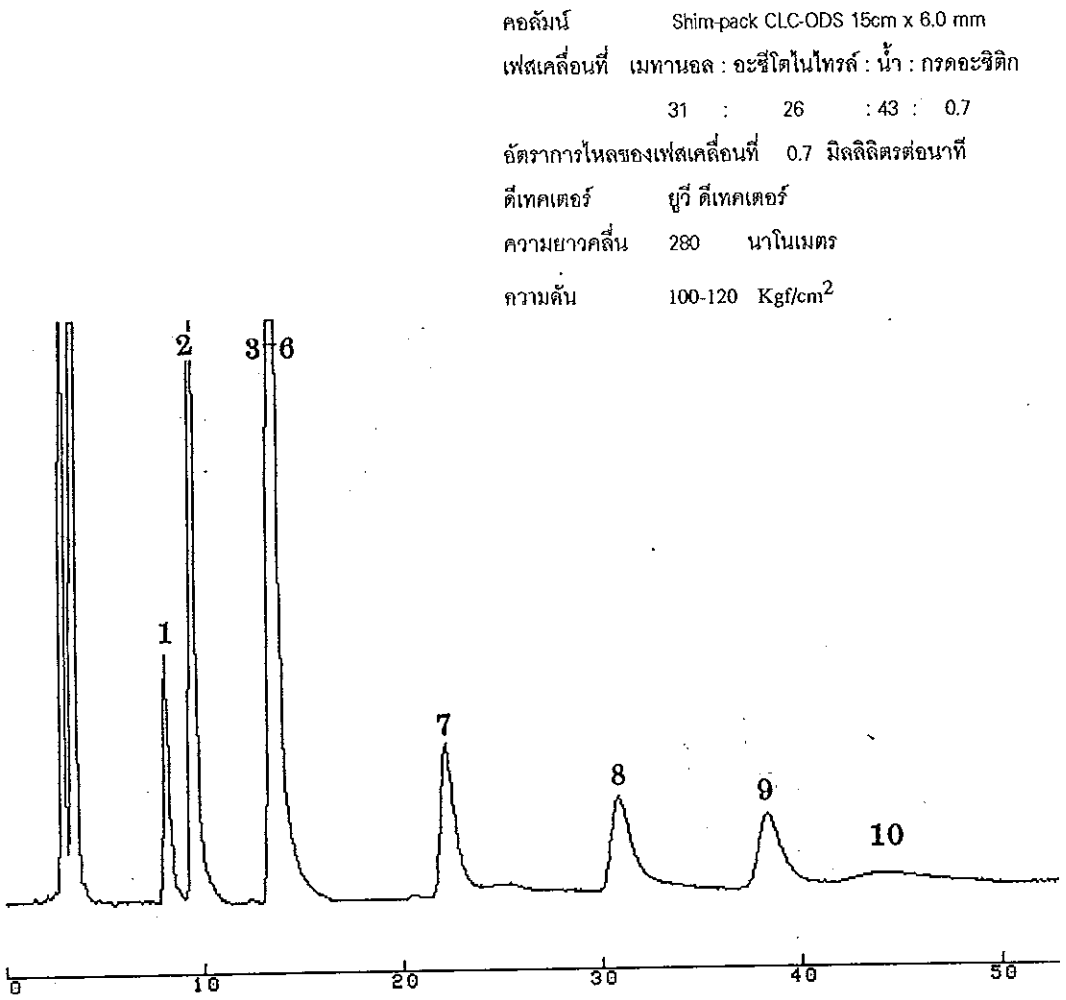


ภาพประกอบ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของเมทานอล และค่ารีเทนชั่นไทม์

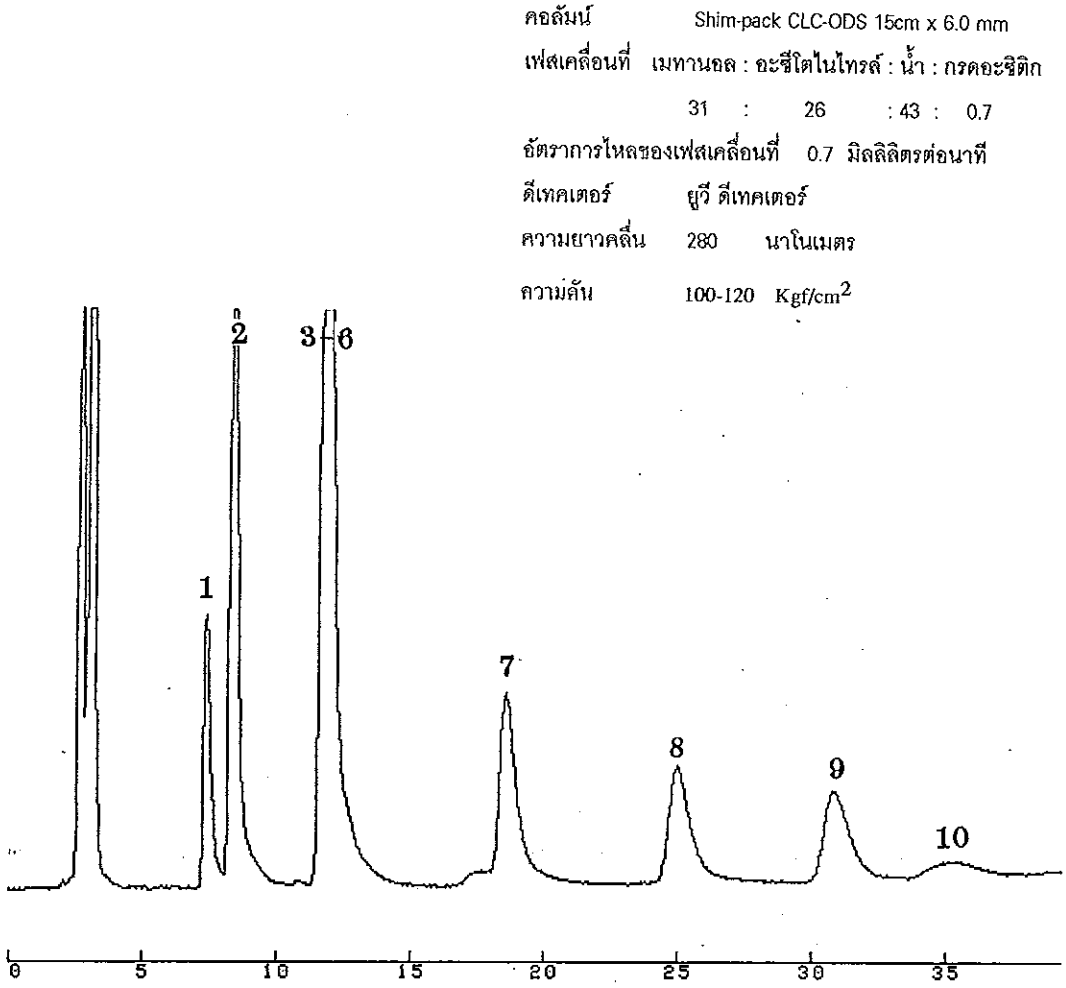
จากอัตราส่วนของเมทานอล นำมาวิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC ได้โครมาโทแกรมดังภาพประกอบ 7, 8, 9, 10, 11 และ 12



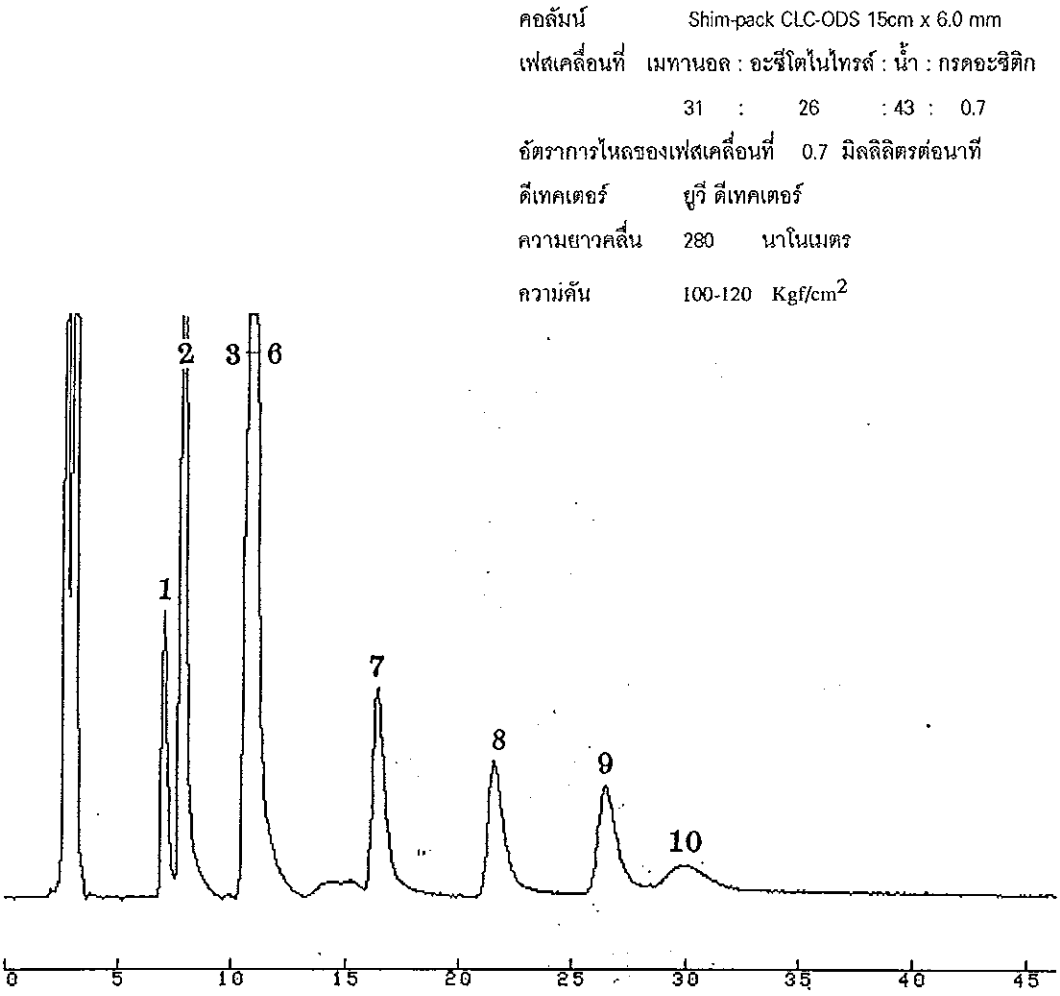
ภาพประกอบ 7 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล : น้ำ (50:50) เป็นเฟสเคลื่อนที่: (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล ; (5) 2-ไนโตรฟีนอล ; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล ; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล;(9)2,4-ไดคลอโรฟีนอล (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล



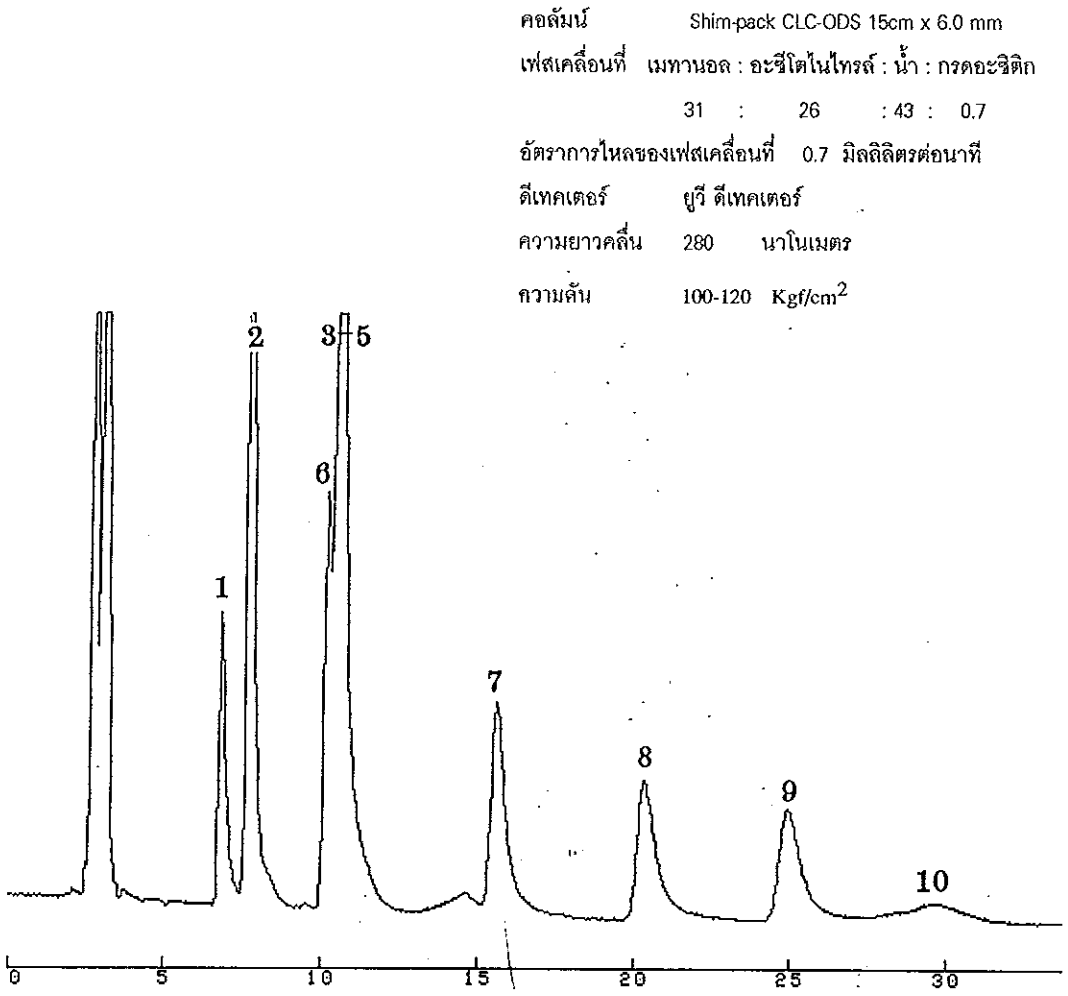
ภาพประกอบ 8 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวโดยใช้ เมทานอล : น้ำ (52:48) เป็นเฟสเคลื่อนที่ : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล ; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9)2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล



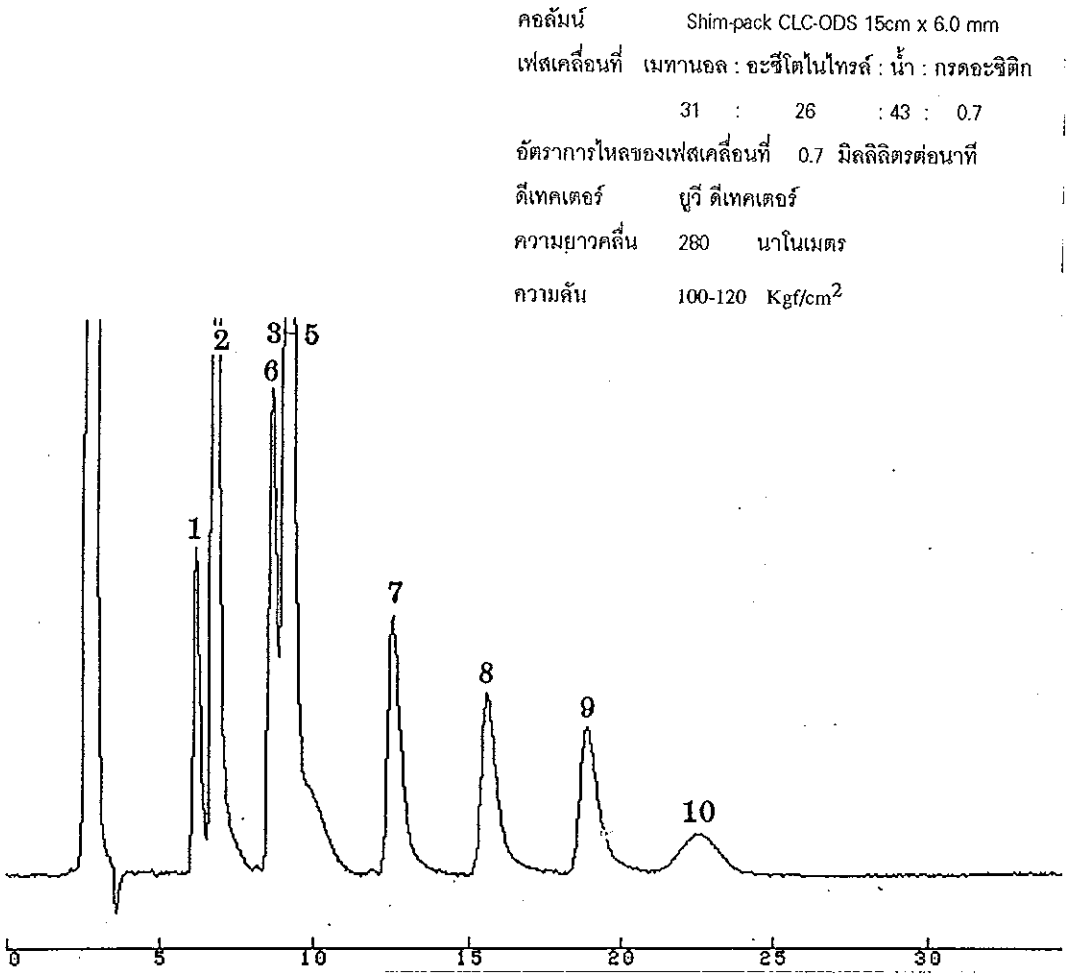
ภาพประกอบ 9 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวโดยใช้ เมทานอล : น้ำ (54:46) เป็นเฟสเคลื่อนที่ : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9)2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล



ภาพประกอบ 10 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวโดยใช้ เมทานอล : น้ำ (56:44) เป็นเฟสเคลื่อนที่ : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9)2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล



ภาพประกอบ 11 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวโดยใช้ เมทานอล : น้ำ (58:42) เป็นเฟสเคลื่อนที่ : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9)2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล



ภาพประกอบ 12 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวโดยใช้ เมทานอล : น้ำ (60:40) เป็นเฟสเคลื่อนที่ : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9)2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

ในการศึกษาครั้งนี้ประมาณเวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที และผลการแยกเป็นเกณฑ์ในการวิเคราะห์ จากโครมาโทแกรมเลือกอัตราส่วนเมทานอล:น้ำ คือ 58:42 เพราะสาร 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอลมีค่ารีเทนชั่นไทม์ประมาณ 30 นาที และให้ผลการแยกดี ความแรงของตัวทำละลายรวมมีค่าดังนี้

$$S_T = S_{CH_3OH}\Psi_{CH_3OH} + S_{H_2O}\Psi_{H_2O}$$

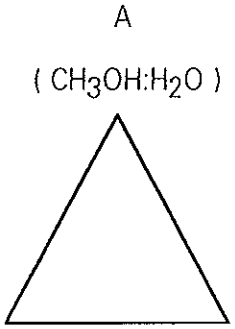
$$= (0.58 \times 3.0) + (0.42 \times 0.0)$$

$$= 1.74$$

จากสมการพบว่าเมื่อใช้อัตราส่วนเมทานอล:น้ำ คือ 58:42 ความแรงของตัวทำละลายรวมมีค่าเท่ากับ 1.74

2.2 ศึกษาการหาเฟสเคลื่อนที่ โดย Solvent Selectivity Triangle

อาศัยพื้นฐานที่ได้จากการศึกษาอัตราส่วนของเมทานอล หาส่วนประกอบอื่นๆ ซึ่งให้ค่า S_T ใกล้เคียง 1.74 โดยอาศัย Solvent Selectivity Triangle ดังภาพประกอบ 13



ภาพประกอบ 13 แสดง Solvent Selectivity Triangle ในการหาเฟสเคลื่อนที่โดยวิธี ORM

จากสมการ

$$S_T = S_A\Psi_A + S_B\Psi_B + \ldots$$

สามารถหาค่า S_T ที่ตำแหน่ง A, B และC

ตำแหน่ง A S_T = (0.58 x 3.0) + (0.42 x 0.0) = 1.74

อัตราส่วน CH_3OH : H_2O ที่ใช้คือ 58 : 42

ตำแหน่ง B S_T = (0.56 x 3.1) + (0.44 x 0.0) = 1.74

อัตราส่วน CH_3CN : H_2O ที่ใช้คือ 56 : 44

ตำแหน่ง C S_T = (0.39 x 4.4) + (0.61 x 0.0) = 1.72

อัตราส่วน THF : H_2O ที่ใช้คือ 39 : 61

จากค่า S_T สามารถหาเปอร์เซ็นต์ของสารละลาย และองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ ดังตาราง 4 และ 5

ตาราง 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ของสารละลายที่ใช้เป็นองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่

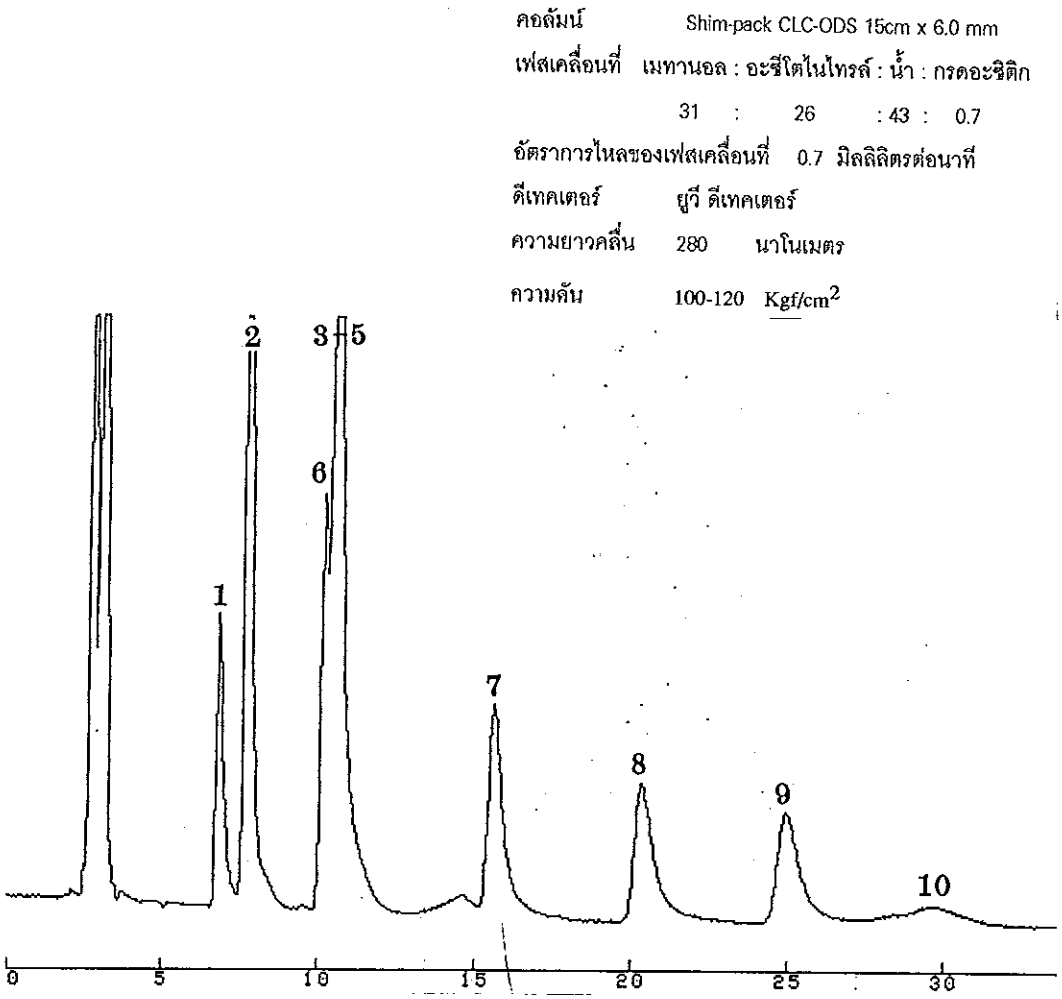
	A $CH_3OH:H_2O$	B $CH_3CN:H_2O$	C $THF:H_2O$
1	100.0	0.0	0.0
2	0.0	100.0	0.0
3	0.0	0.0	100.0
4	50.0	50.0	0.0
5	0.0	50.0	50.0
6	50.0	0.0	50.0
7	33.3	33.3	33.3

จากตาราง 4 สามารถหาองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ได้ดังนี้

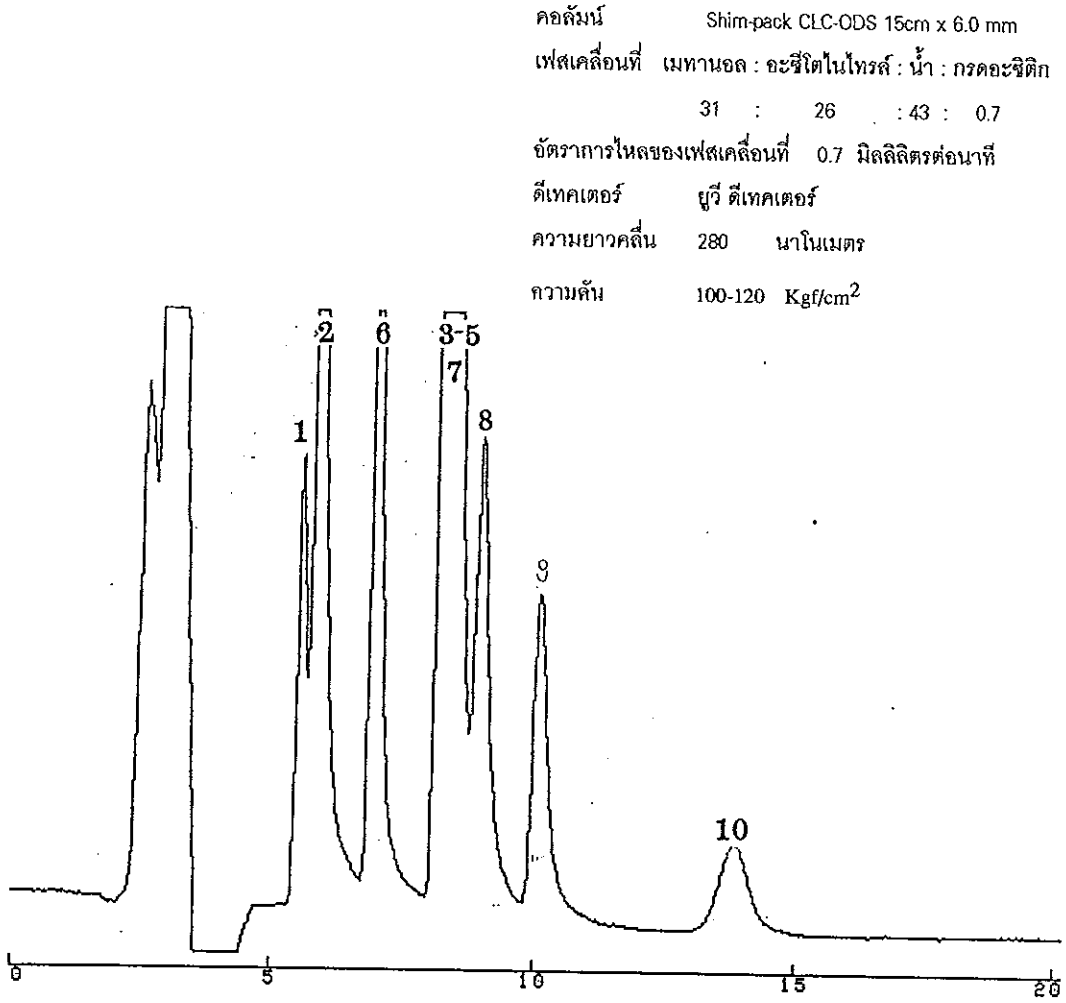
ตาราง 5 แสดงองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่

	CH_3OH	CH_3CN	THF	H_2O
1	58.0	0.0	0.0	42.0
2	0.0	56.0	0.0	44.0
3	0.0	0.0	39.0	61.0
4	29.0	28.0	0.0	43.0
5	0.0	28.0	19.5	52.5
6	29.0	0.0	19.5	51.5
7	19.0	19.0	13.0	49.0

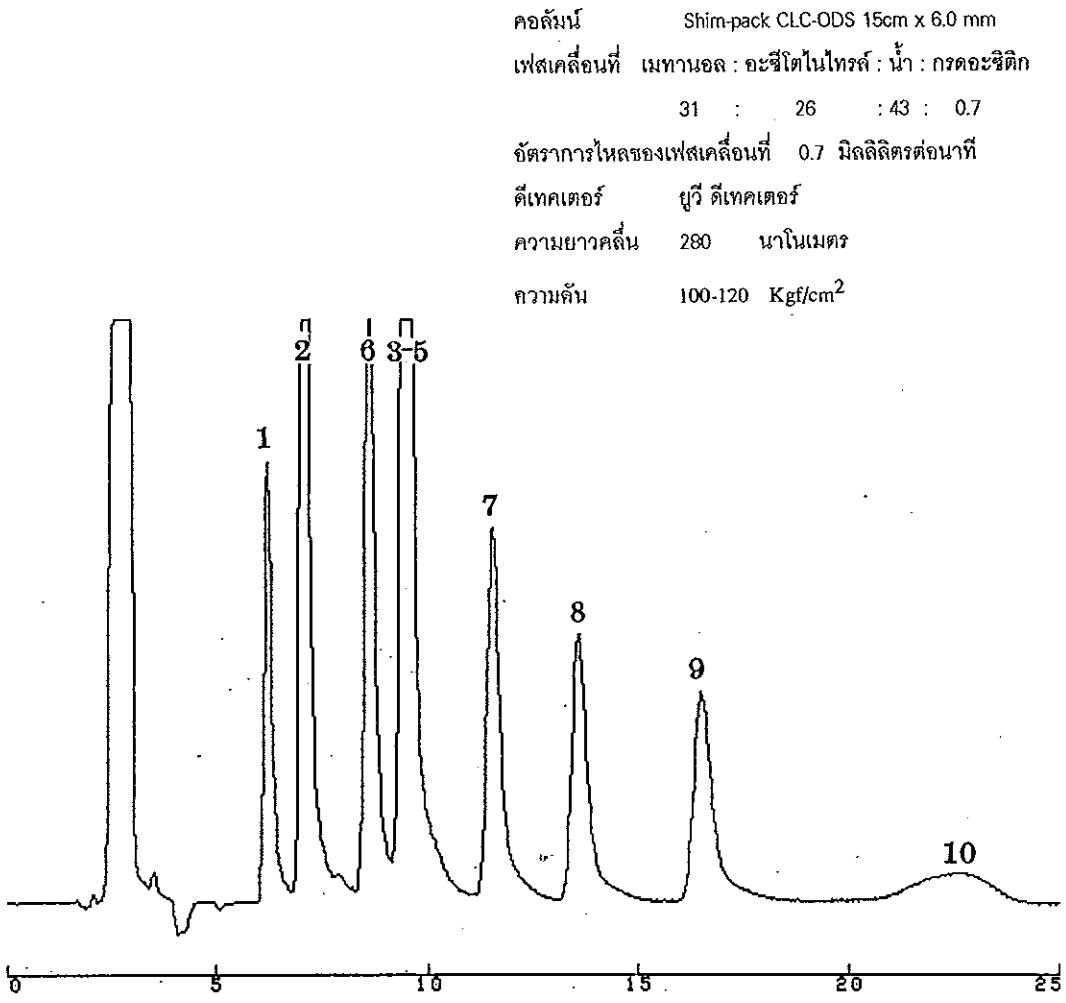
จากการศึกษาการหาเฟสเคลื่อนที่โดยใช้ Solvent Selectivity Triangle สามารถหาองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ได้ 7 องค์ประกอบ เนื่องจากสารละลายที่ใช้ในการศึกษาดังนี้คือ เมทานอล , อะซีโตไนไทรล์ และน้ำ จึงเลือกศึกษาเฟสเคลื่อนที่ดังต่อไปนี้ คือ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์:น้ำ (58:00:42) ,เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์: น้ำ (00:56:44) และ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์:น้ำ (29:28:43) จากการศึกษาได้โครมาโทแกรมดังภาพประกอบ 14, 15 และ 16



ภาพประกอบ 14 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ (58 : 00 : 42) เป็นเฟสเคลื่อนที่ : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8)4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9) 2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล



ภาพประกอบ 15 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ (00:56:42) เป็นเฟสเคลื่อนที่ : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9) 2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล



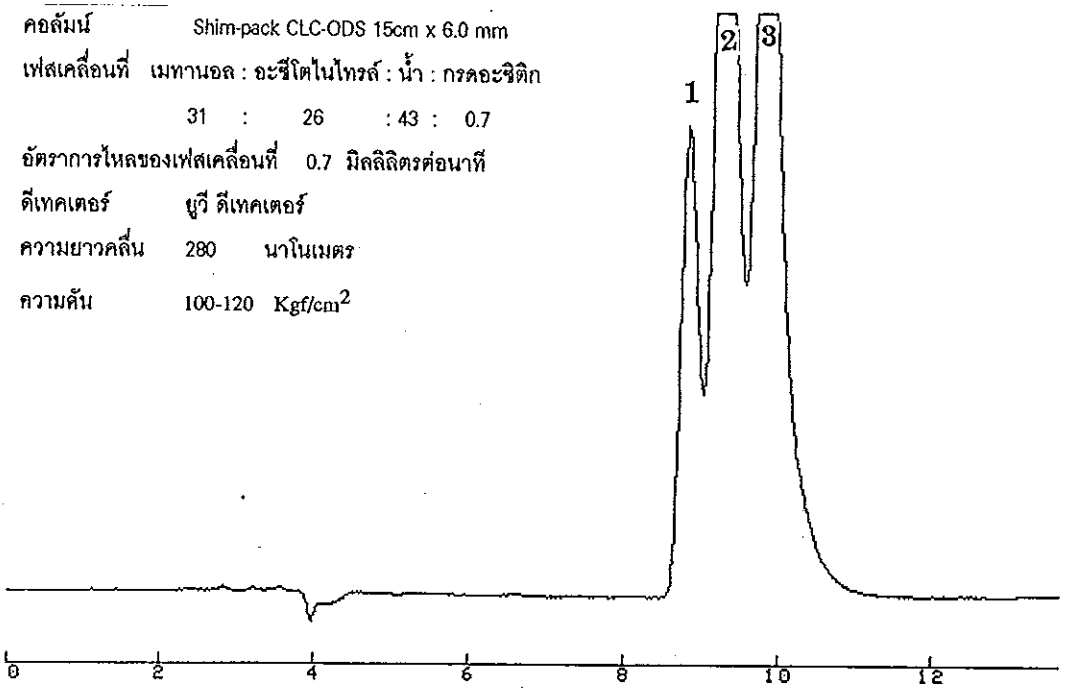
ภาพประกอบ 16 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ (29:28:43) เป็นเฟสเคลื่อนที่ : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9) 2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

จากผลการวิเคราะห์การหาเฟสเคลื่อนที่โดยใช้ Solvent Selectivity Triangle เฟสเคลื่อนที่ทุกองค์ประกอบจะให้ค่า Solvent Strength เท่ากัน แต่ค่ารีเทนชันไทม์ , ลำดับการอีลูทชัน และความเฉพาะต่อการตรวจหามีค่าเปลี่ยนแปลง (Busto, Olucha, and Borrull. 1991 : 567) จากการทดลองพบว่าเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมสำหรับการแยกกลุ่มสารฟีนอล คือ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์:น้ำ (29:28:43)

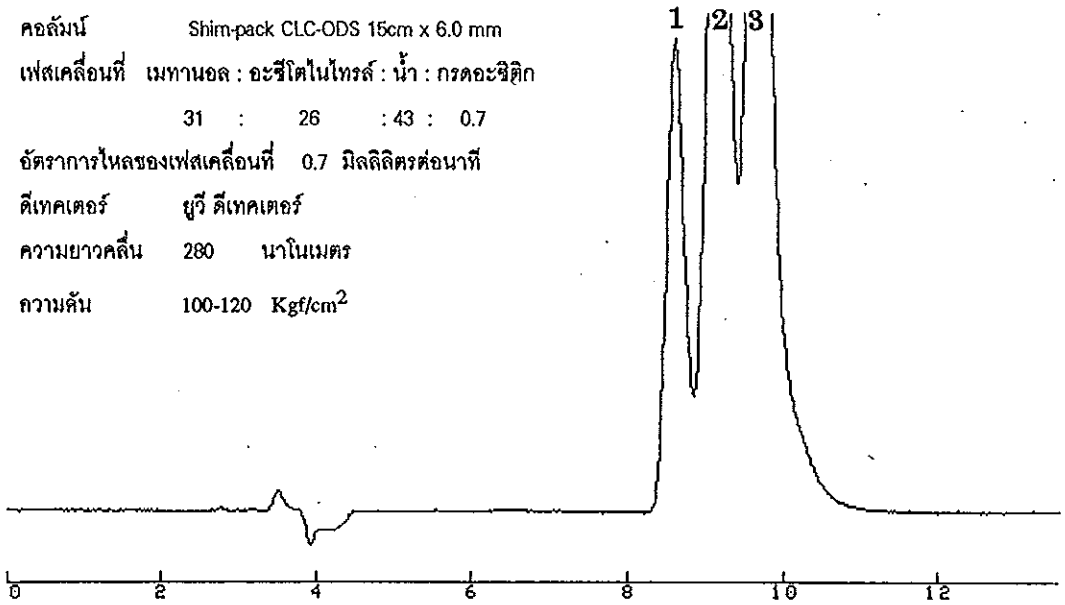
การวิเคราะห์โดยใช้อัตราส่วน เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์:น้ำ (29:28:43) เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าโครมาโทแกรมที่ได้ผลการแยกของสารฟีนอลิกบางชนิดยังไม่ดี จึงต้องมีการปรับปรุงคุณภาพของพีก ซึ่งสามารถทำได้โดยหลายวิธีเช่น การเติมกรดอะซิติก หรือการเพิ่มลดองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่

2.3 ศึกษาการเติมกรดอะซิติก

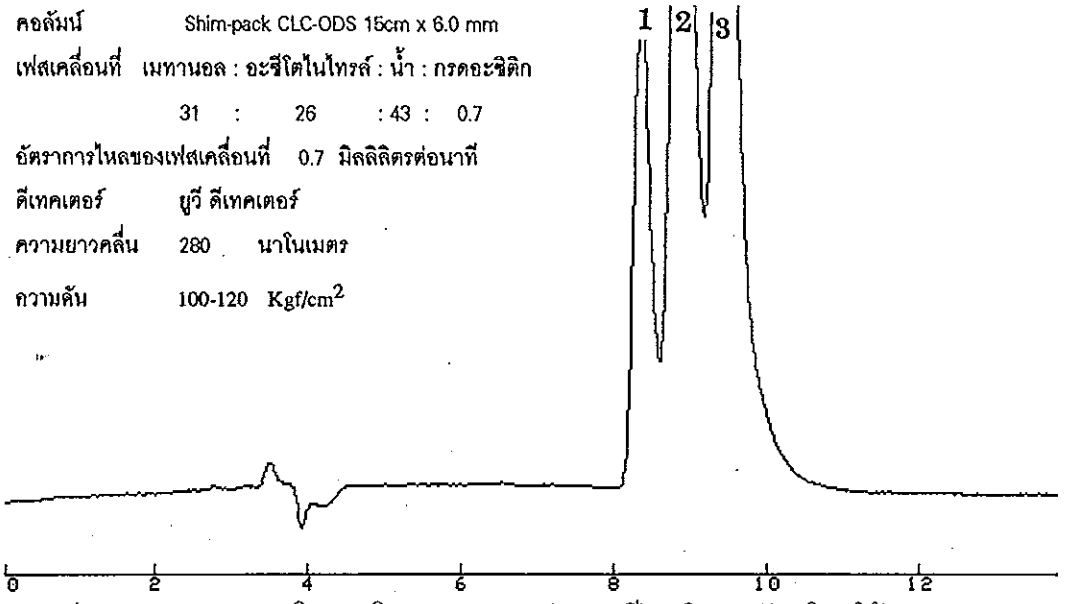
การเติมกรดอะซิติกในเฟสเคลื่อนที่จะป้องกันการเกิด Peak tailing ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้สารฟีนอลเกิดการไอออไนเซชั่น (Realini, 1981 : 125) จากการศึกษาการเพิ่มกรดอะซิติก พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มกรดอะซิติกในเฟสเคลื่อนที่มีผลต่อการแยก เมื่อเพิ่มกรดอะซิติกมีผลทำให้การแยกดีขึ้น แต่ปริมาณกรดอะซิติกจะมีผลต่อ Silanol group ทำให้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ลดลง จากการศึกษาการเติมกรดอะซิติกพบว่าการเติมกรดอะซิติกในเฟสเคลื่อนที่มีผลต่อการแยก ดังภาพประกอบ 17, 18 และ 19



ภาพประกอบ 17 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.6) เป็นเฟสเคลื่อนที่ :(1) 2-คลอโรฟีนอล; (2) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (3) 2-ไนโตรฟีนอล



ภาพประกอบ 18 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ :(1) 2-คลอโรฟีนอล; (2) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (3) 2-ไนโตรฟีนอล

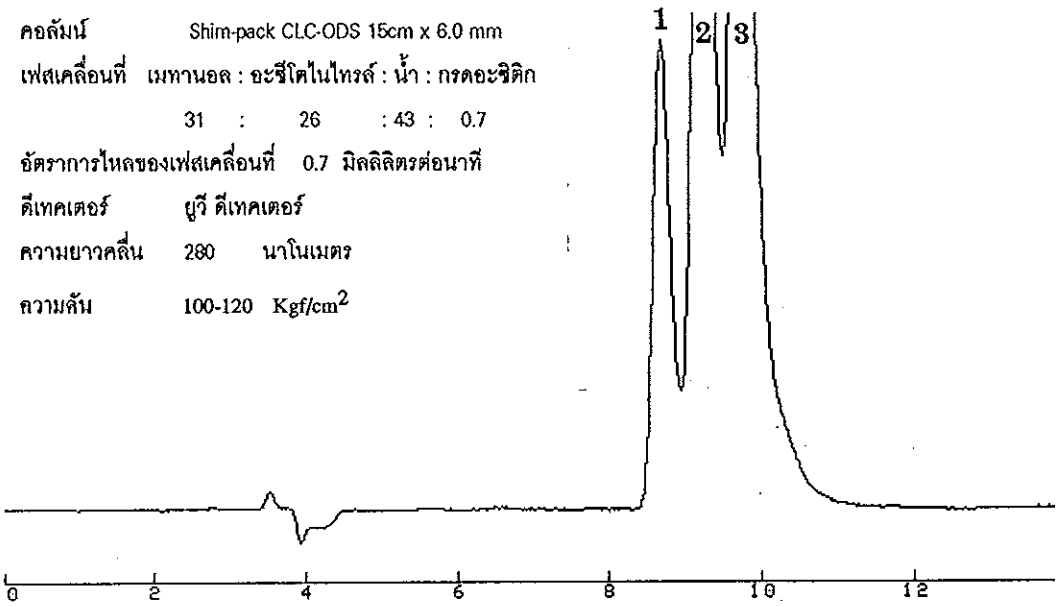


ภาพประกอบ 19 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.8) เป็นเฟสเคลื่อนที่ :(1) 2-คลอโรฟีนอล; (2) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล ;(3) 2-ไนโตรฟีนอล

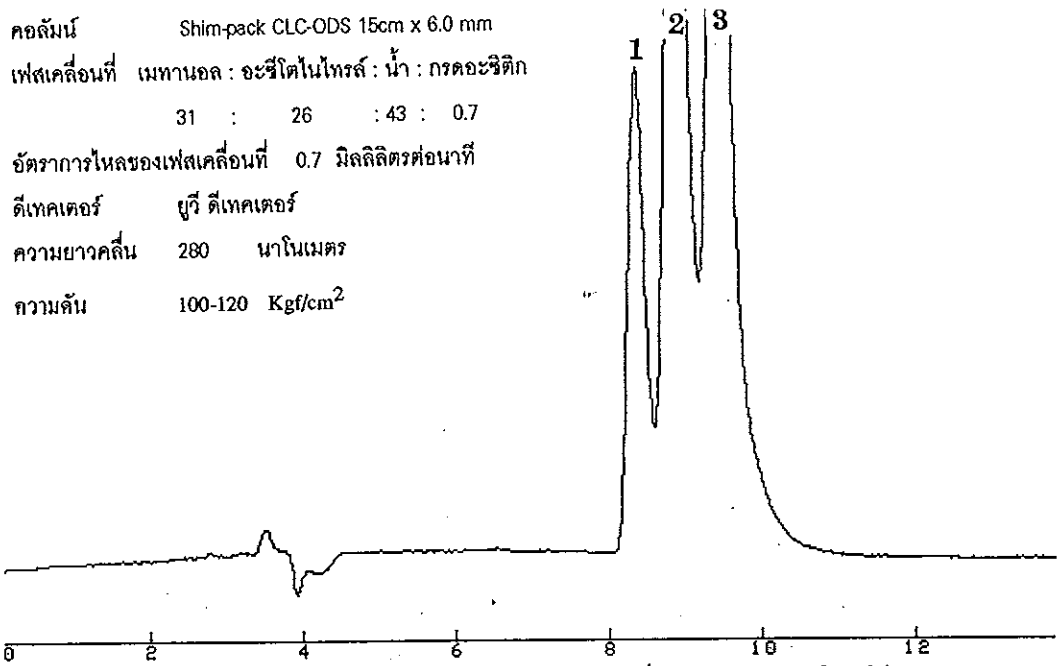
จากผลการวิเคราะห์การเพิ่มกรดอะซิติก พบว่าปริมาณกรดอะซิติกที่เหมาะสม คือ 0.7 มิลลิลิตร

2.4 ศึกษาการเพิ่มและลดองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่

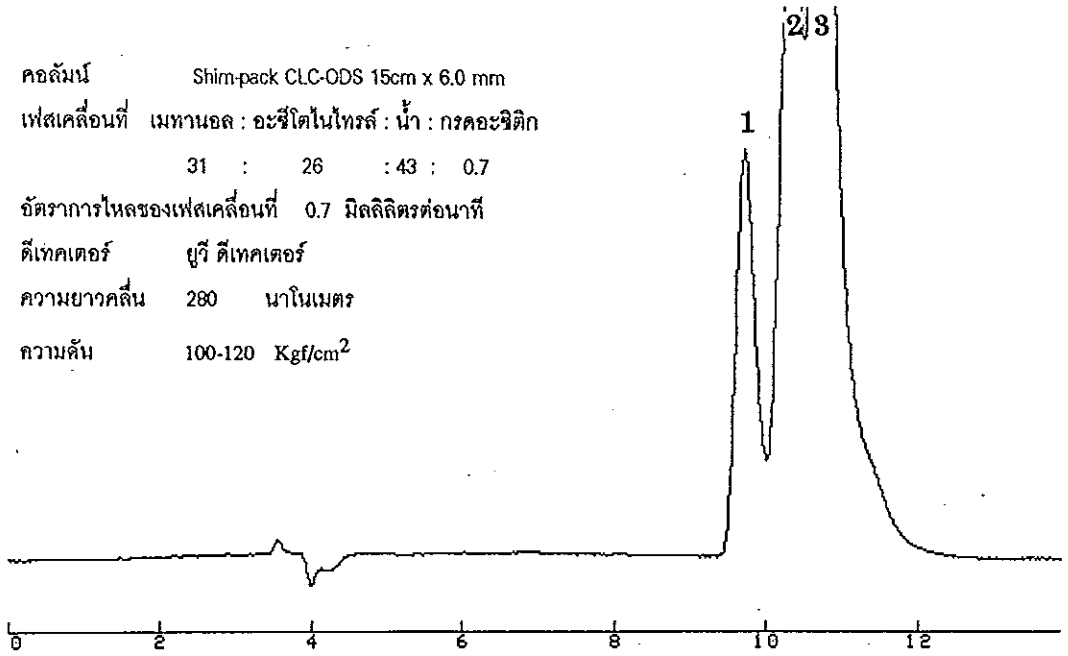
ในการศึกษาหาส่วนประกอบที่เหมาะสมสำหรับการแยกกลุ่มสารฟีนอลิก พบว่าเมื่อสัดส่วนของน้ำในเฟสเคลื่อนที่สูงขึ้น ผลการแยกของกลุ่มสารฟีนอลิกจะดีขึ้น แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน (Lee, Li and Tay, 1988 : 430) แต่ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนที่เหมาะสมของเมทานอล, อะซีโตไนไทรล์ และกรดอะซิติก การใช้อะซีโตไนไทรล์ปริมาณมากจะทำให้พีกออกมาเร็ว และทำให้การแยกดีขึ้น (พิงพันธ์ และสุกัญญา, 2534 : 31) จากการศึกษาการเพิ่มและลดองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่ พบว่าการเพิ่มและลดองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่มีผลต่อการแยก ดังภาพประกอบ 20, 21, 22 และ 23



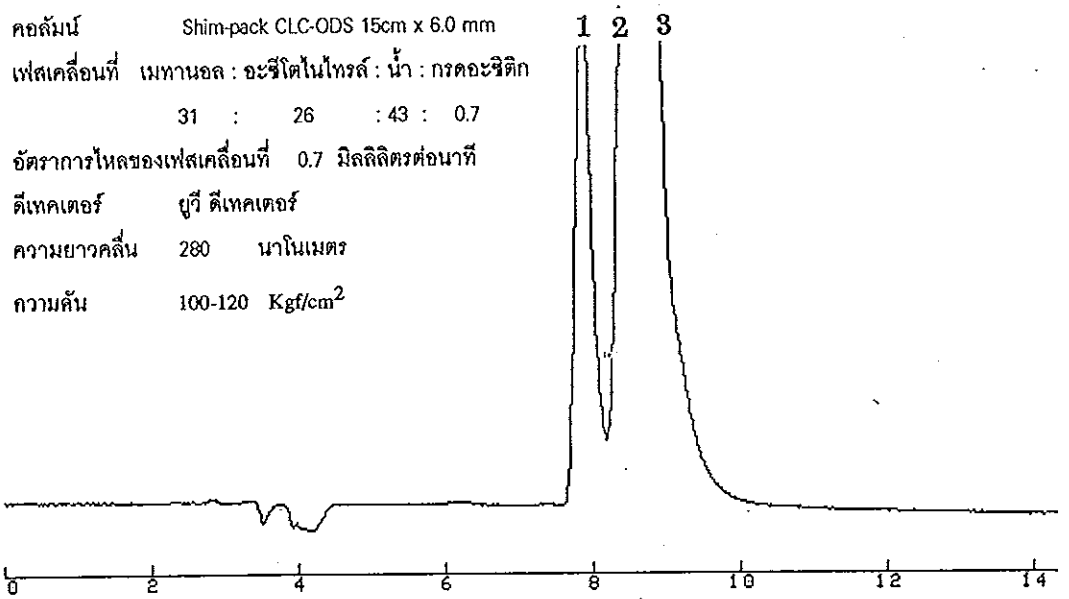
ภาพประกอบ 20 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ :(1) 2-คลอโรฟีนอล; (2) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล ;(3) 2-ไนโตรฟีนอล



ภาพประกอบ 21 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (31:28:41:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ :(1) 2-คลอโรฟีนอล; (2) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล ;(3) 2-ไนโตรฟีนอล



ภาพประกอบ 22 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (33:24:43:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ :(1) 2-คลอโรฟีนอล; (2) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล ;(3) 2-ไนโตรฟีนอล



ภาพประกอบ 23 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 3 ตัว โดยใช้ เมทานอล: อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (33:28:39:0.7) เป็นเฟสเคลื่อนที่ :(1) 2-คลอโรฟีนอล; (2) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล ;(3) 2-ไนโตรฟีนอล

จากผลการวิเคราะห์การเพิ่มและลดองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่พบว่าเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมคือ เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.7)

2.5 ศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

ประสิทธิภาพของคอลัมน์ ขึ้นกับการเลือกใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งคอลัมน์แต่ละชนิดมีค่าอัตราการไหลที่เหมาะสมต่างกัน และสามารถหาได้จากการทำ Van Deemter plot ซึ่งเป็นการเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่า Height Equivalent of a Theoretical Plate (HETP) และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ โดยค่าอัตราการไหลที่เหมาะสมคือค่าอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่มีค่า HETP ต่ำสุด (แม้น และอมร, 2534)

ค่า HETP สามารถคำนวณได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$N = 5.54\left[\frac{t_R}{w_{\frac{1}{2}}}\right]^2$$

$$HETP = \frac{L}{N}$$

โดยที่ t_R = รีเทนชันไทม์

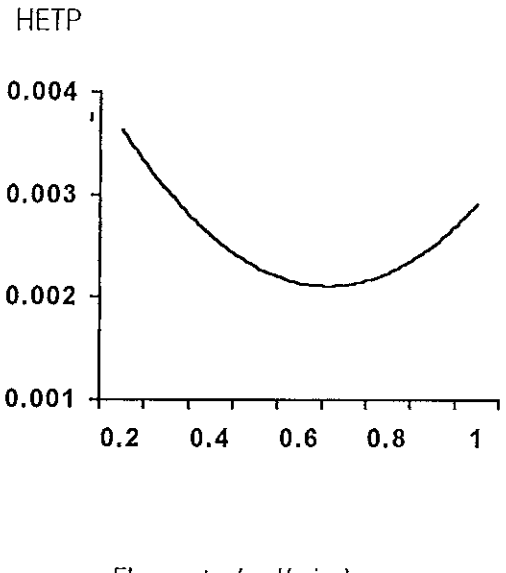
$w_{1/2}$ = ความกว้างของพีกที่ครึ่งหนึ่งของความสูง

L = ความยาวคอลัมน์

จากการศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ของ 4-ไนโตรฟีนอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่า HETP แสดงดังตาราง 6 และภาพประกอบ 24

ตาราง 6 แสดงผลของอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

Flow rate (ml/min)	N (Plate)	L (cm)	HETP (cm/Plate)
0.5	6671	15	2.25×10^{-3}
0.6	6507	15	2.30×10^{-3}
0.7	7676	15	1.95×10^{-3}
0.8	6480	15	2.31×10^{-3}
0.9	5960	15	2.50×10^{-3}



ภาพประกอบ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า HETP และ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

จากผลการวิเคราะห์อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ พบว่าอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่คือ 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที

2.6 การหาเฟสเคลื่อนที่สำหรับการแยกกลุ่มสารฟีนอลิก

จากการทดลอง เฟสเคลื่อนที่สามารถแยกกลุ่มสารฟีนอลิกคือ

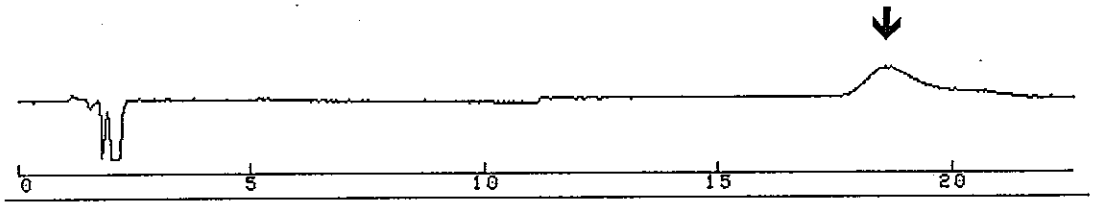
เมทานอล	: อะซีโตไนไทรล์	: น้ำ	: กรดอะซิติก
31	: 26	: 43	: 0.7

สภาวะที่ใช้ในการทดลองคือ

คอลัมน์	Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0 mm	
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	0.7	มิลลิลิตรต่อนาที
ความเร็วของกระดาษบันทึกผล	3	มิลลิเมตรต่อนาที
Range	0.04	AUFS
ความยาวคลื่น	280	นาโนเมตร
ความดัน	100-120	Kgf/cm^2

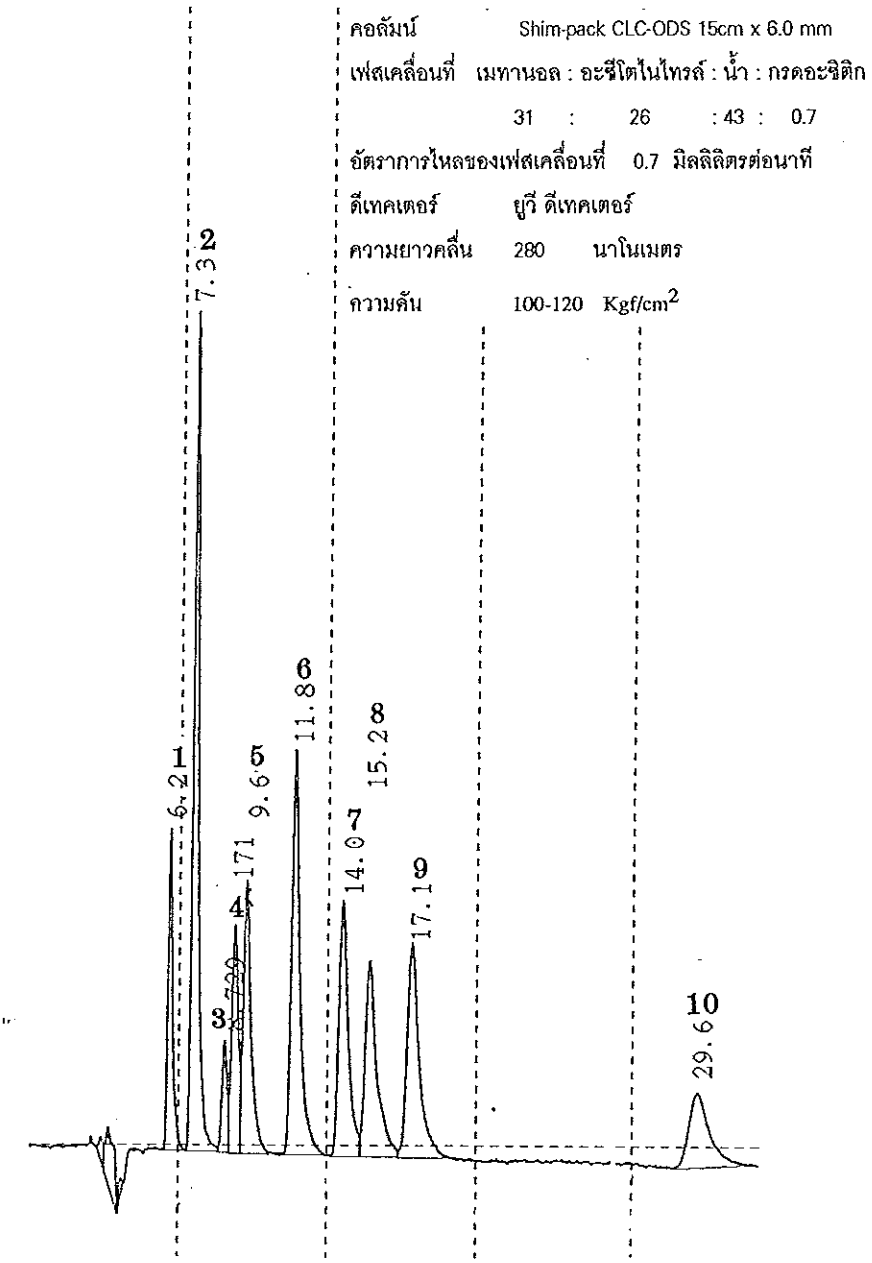
โครมาโทแกรมที่ได้จากการใช้เฟสเคลื่อนที่ที่เตรียมจาก เมทานอล:อะซีโตไนไทรล์ :น้ำ:กรดอะซิติก (31:26:43:0.7) ดังภาพประกอบ 25 สามารถวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิก 11 ตัว ในเวลา 72 นาที โดยกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวแรกคือ ฟีนอล, 4-ไนโตรฟีนอล, 2-คลอโรฟีนอล, 2,4-ไดไนโตรฟีนอล, 2-ไนโตรฟีนอล, 2,4-ไดเมทิลฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล,4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล, 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอลฟีนอล ใช้เวลาประมาณ 30 นาทีในการวิเคราะห์ แต่ค่ารีเทนชันไทม์ของสารเพนตะคลอโรฟีนอล 72 นาที ดังนั้นในการวิเคราะห์สารเพนตะคลอโรฟีนอลจึงต้องเปลี่ยนสภาวะการทดลองจากข้างต้นเป็นดังนี้คือ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร (Borra, et al. 1986) ได้ค่ารีเทนชันไทม์ของสารเพนตะคลอโรฟีนอล 18 นาที ได้ผลดังภาพประกอบ 26

คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 15cm x 6.0 mm
เฟสเคลื่อนที่ เมทานอล : อะซีโตไนไทรล์ : น้ำ : กรดอะซิติก
31 : 26 : 43 : 0.7
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
ดีเทคเตอร์ ยูวี ดีเทคเตอร์
ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
ความดัน 100-120 Kgf/cm^2



ภาพประกอบ 26 แสดงโครมาโทแกรมของสารเพนตะคลอโรฟีนอล

ในการทดลองเมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่ที่เตรียมจาก เมทานอล : อะซีโตไนไทรล์ : น้ำ : กรดอะซิติก (31 : 26 : 43 : 0.7) ในการวิเคราะห์สารเพนตะคลอโรฟีนอลจะต้องเปลี่ยนสภาวะที่ใช้ในการทดลอง จึงเลือกศึกษาเพียง 10 ตัวคือ ฟีนอล , 4-ไนโตรฟีนอล , 2-ไนโตรฟีนอล, 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดเมทิลฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล , 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล, 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ได้โครมาโทแกรมดังภาพประกอบ 27 และค่ารีเทนชันไทม์แสดงดังตาราง 7



ภาพประกอบ 27 แสดงโครมาโทแกรมของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว : (1) ฟีนอล; (2) 4-ไนโตรฟีนอล; (3) 2-คลอโรฟีนอล; (4) 2,4-ไดไนโตรฟีนอล; (5) 2-ไนโตรฟีนอล; (6) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล; (7) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล; (8) 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล; (9) 2,4-ไดคลอโรฟีนอล; (10) 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

ตาราง 7 แสดงค่ารีเทนชันไทม์ของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว

สาร	รีเทนชันไทม์ (นาที)
ฟีนอล	6.2
4-ไนโตรฟีนอล	7.3
2-คลอโรฟีนอล	8.7
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	9.2
2-ไนโตรฟีนอล	9.7
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	11.8
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	14.0
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	15.3
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	17.1
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	29.6

รีเทนชันไทม์คือเวลาที่ใช้ในการทำให้ตัวถูกละลายเคลื่อนที่ได้เท่ากับ 1 คอลัมน์ ในทางปฏิบัติค่า Capacity factor จะเป็นค่าที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้มากกว่า และสามารถหาได้โดยตรงจากโครมาโทแกรม ซึ่งสมการของค่า Capacity factor หาได้จากสมการดังนี้

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

โดย t_R = รีเทนชันไทม์

t_0 = เวลาที่โมเลกุลของตัวถูกละลายถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์

ค่า t_0 ได้จากการฉีดเมทานอล (Lee, Li and Tay, 1988 : 429) พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.5 นาที ค่า Capacity factor แสดงในตาราง 8

ตาราง 8 แสดงค่า Capacity factor ของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว

สาร	Capacity Factor
ฟีนอล	0.8
4-ไนโตรฟีนอล	1.1
2-คลอโรฟีนอล	1.5
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	1.6
2-ไนโตรฟีนอล	1.8
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	2.4
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	3.0
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	3.4
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	3.9
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	7.5

3. การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดทางการตรวจวัดกลุ่มสารฟีนอลิก

ในการตรวจหาสารโดยใช้ดีเทคเตอร์ควรมีสภาพไวสูงคือการตอบสนองต่อปริมาณสารควรจะมาก เพื่อที่จะสามารถตรวจหาสารปริมาณน้อยๆได้ หรือมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดทางการตรวจวัดต่ำ

ค่าขีดจำกัดต่ำสุดทางการตรวจวัดคือ ความเข้มข้นต่ำสุดของตัวถูกละลายที่ควรจะตรวจวัดได้ โดยทั่วไปทางโครมาโทกราฟีนิยมใช้ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจสอบได้ (Minimum Detectable Quantity,MDQ) ในทางปฏิบัติหมายถึงปริมาณของสารที่สามารถทำให้เกิด ความสูงของพีกเป็น 2 หรือ 3 เท่า จากสัญญาณรบกวน(Signal /Noise = 2 หรือ 3) (แม้น และอมร, 2534)

3.1 การศึกษาค่าการตอบสนอง (Response) ของโหมดอะนาลอกเอาท์ต่อการหาค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน

จากการศึกษาค่าการตอบสนอง พบว่าค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนของสารฟีนอล , 4-ไนโตรฟีนอล , 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2-ไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดเมทิลฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล , 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล , 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ที่ความเข้มข้น 0.03 , 0.005 , 0.01 , 0.004 0.006 , 0.02 , 0.015 0.002, 0.025 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ค่าการตอบสนองเป็น Fast

3.2 การศึกษาค่าการขยายสัญญาณ (Expansion) ของโหมดอะนาลอกเอาท์ต่อการหาค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน

จากการศึกษาค่าการขยายสัญญาณ พบว่าค่าการขยายสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนของ ฟีนอล , 4-ไนโตรฟีนอล , 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2-ไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดเมทิลฟีนอล, 2,4-ไดคลอโรฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล , 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ที่ความเข้มข้น 0.03 , 0.005 , 0.01 , 0.004 , 0.006 , 0.02 , 0.015 , 0.002, 0.025 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ค่าการขยายสัญญาณเท่ากับ 0.005

3.3 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของกลุ่มสารฟีนอลิก

จากการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดพบว่าค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนของ ฟีนอล 4-ไนโตรฟีนอล , 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2-ไนโตรฟีนอล 2,4-ไดเมทิลฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล, 4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล, 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ที่ความเข้มข้น 0.03 , 0.005 , 0.01 , 0.004 , 0.006 , 0.02 , 0.015 , 0.002, 0.025 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับมีค่าประมาณ 3 เมื่อค่าการตอบสนองเป็น Fast ค่าการขยายสัญญาณเท่ากับ 0.005 และความเร็วของการบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อวินาที

ค่าการตอบสนอง ค่าการขยายสัญญาณ และขีดจำกัดต่ำสุดของการวัด แสดงดังตาราง 9

ตาราง 9 แสดงค่าการขยายสัญญาณ ค่าการตอบสนอง ของโหมดอะนาลอกเอาท์ และขีดจำกัดต่ำสุดของกลุ่มสารฟีนอลิก

สาร	ค่าการตอบสนอง	ค่าการขยายสัญญาณ	ขีดจำกัดต่ำสุดของการวัด (ppm)
ฟีนอล	Fast	0.005	0.030
4-ไนโตรฟีนอล	Fast	0.005	0.005
2-คลอโรฟีนอล	Fast	0.005	0.010
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	Fast	0.005	0.004
2-ไนโตรฟีนอล	Fast	0.005	0.006
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	Fast	0.005	0.020
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	Fast	0.005	0.015
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	Fast	0.005	0.002
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	Fast	0.005	0.025
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	Fast	0.005	0.100

4. การศึกษาวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิก โดยทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น

4.1 ศึกษาสารละลายที่ใช้ในการสกัด

การสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถทำได้โดยใช้ตัวทำละลายสกัดตัวถูกละลายออกจากสารตัวอย่าง การสกัดจะให้ผลดีหรือไม่จะขึ้นอยู่กับสภาพขั้วของตัวถูกละลาย และตัวทำละลาย ดังนั้นประสิทธิภาพการสกัดจึงขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลาย ในการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกจากตัวอย่างน้ำ เลือกศึกษาตัวทำละลายดังนี้คือ ไดคลอโรมีเทน คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน เนื่องจากเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดสารอินทรีย์ที่มีปริมาณน้อย สารละลายเฮกเซนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้ในการสกัดสารตัวอย่างที่เป็นน้ำ แต่สารละลายเฮกเซนมีสภาพขั้วต่ำ ดังนั้นประสิทธิภาพในการสกัดสารที่มีสภาพขั้วสูงจะมีค่าต่ำทำให้มีขีดจำกัดในการสกัดสารตัวอย่างที่มีสภาพขั้วกว้าง นอกจากนี้สารละลายเฮกเซนมีจุดเดือดสูง (70 องศาเซลเซียส) อาจทำให้เกิดการระเหยของกลุ่มสารฟีนอลิกในขั้นตอนการทำให้แห้ง ตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วที่เหมาะสมสำหรับการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวคือ สารละลายไดคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม แต่เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งสองชนิดพบว่าสารละลายไดคลอโรมีเทนนิยมใช้มากกว่าและเป็นสารละลายอินทรีย์ที่มีจุดเดือดต่ำ (40 องศาเซลเซียส) จึงลดการระเหยของกลุ่มสารฟีนอลิกในขั้นตอนการทำให้แห้ง (Realini, 1981 : 127)

จากการศึกษาสารละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างสารละลายที่ใช้ในการสกัด กับประสิทธิภาพการสกัด ดังตาราง 10 , 11 และ 12 และภาพประกอบ 28

ตาราง 10 แสดงผลของสารละลายที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัด ของสารละลายฟีนอล

สารละลาย	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
ไดคลอโรมีเทน	29025	9021	31	0.78
คลอโรฟอร์ม	29025	6182	21	2.02
เฮกเซน	29025	-	-	-

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 11 แสดงผลของสารละลายที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัด ของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล

สารละลาย	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
ไดคลอโรมีเทน	97846	90028	92	0.19
คลอโรฟอร์ม	97846	91339	93	0.22
เฮกเซน	97846	36200	37	0.56

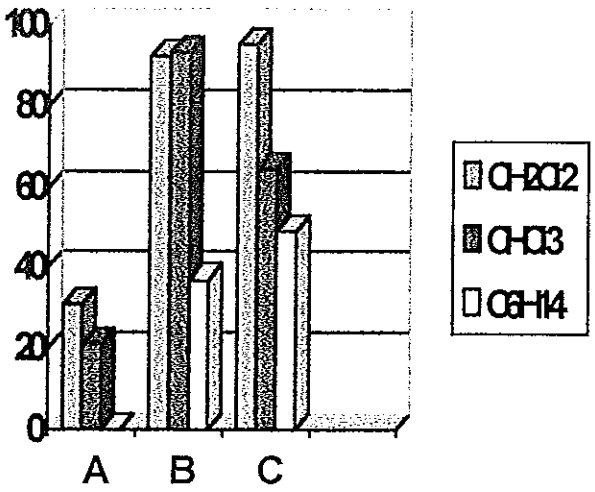
*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 12 แสดงผลของสารละลายที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัด ของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

สารละลาย	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
ไดคลอโรมีเทน	18644	17799	95	1.00
คลอโรฟอร์ม	18644	11864	64	1.74
เฮกเซน	18644	9095	49	1.22

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

เปอร์เซ็นต์การสกัด



ชนิดของสารประกอบ

A = ฟีนอล

B = 2-ไนโตรฟีนอล

C = 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

ภาพประกอบ 28 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาชนิดของสารละลายที่ใช้ในการสกัด

ผลการวิเคราะห์สารละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าสารละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารละลายฟีนอล คือสารละลายไดคลอโรมีเทน , สารละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล คือสารละลายคลอโรฟอร์ม และสารละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล คือสารละลายไดคลอโรมีเทน ดังนั้นสารละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกคือสารละลายไดคลอโรมีเทน

4.2 ศึกษาพีเอช

ฟีนอลเมื่อละลายในน้ำจะแตกตัวเป็นแอนไอออนดังสมการ

$$C_6H_5OH_{(aq)} \dashrightarrow C_6H_5O^-_{(aq)} + H^+_{(aq)}$$

เนื่องจากสารไอออนิกไม่สามารถสกัดจากน้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากมีการสูญเสีย Electrostatic Solvation Energy การจะทำให้สกัดได้ต้องทำลายประจุ โดยนำมารวมตัวกับสารที่มีประจุตรงกันข้าม จึงต้องปรับพีเอชให้เป็นกรดเพื่อให้กลายเป็น Neutral Phenol ตามหลักของ Le Chatilier ดังภาพประกอบ 29

ชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ C_6H_5OH

ชั้นของน้ำ $C_6H_5OH \rightleftharpoons C_6H_5O^- + H^+$

ภาพประกอบ 29 แสดงสารฟีนอลในตัวทำละลาย

ในชั้นของน้ำสารฟีนอลจะแตกตัวดังนี้

$$C_6H_5OH_{(aq)} + H_2O \rightleftharpoons C_6H_5O^-_{(aq)} + H_3O^+_{(aq)}$$

ที่สมดุล $$K_a = \frac{[C_6H_5O^-]_{(aq)}[H_3O^+]_{(aq)}}{C_6H_5OH_{(aq)}}$$

Neutral Phenol จะมีการแบ่งส่วนระหว่างเฟส 2 เฟส สามารถหาสัมประสิทธิ์การกระจาย (Distribution Coeffient , K_d) และอัตราส่วนของการกระจาย (Distribution Ratio , D) จากสมการ

$$K_d = \frac{[C_6H_5OH]_{(org)}}{[C_6H_5OH]_{(aq)}}$$

$$D = \frac{[C_6H_5OH]_{(org)}}{[C_6H_5OH]_{(aq)} + [C_6H_5O^-]_{(aq)}}$$

$$= \frac{K_d}{1 + \frac{K_a}{[H_3O^+]_{(aq)}}}$$

จากสมการเนื่องจากค่า K_d และ K_a เป็นค่าคงที่ ดังนั้นอัตราส่วนของการกระจาย จะขึ้นอยู่กับค่า $[H_3O^+]$ หรือ ค่าพีเอชของสารละลาย เมื่อสารละลายเป็นกรดมาก ค่าอัตราส่วนของการกระจายจะมีค่าสูงจึงพบสารฟีนอลในตัวทำละลายอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ (ธวัชชัย, 2534 : 440) ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การสกัดจะมีค่าสูง

จากการศึกษาพีเอช พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างพีเอช กับ ประสิทธิภาพการสกัด ดังตาราง 13 , 14 และ 15 และภาพประกอบ 30

ตาราง 13 แสดงผลของพีเอช ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล

พีเอช	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
2	28111	8946	32	0.57
3	28111	10465	37	0.63
4	28111	7364	26	0.59

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 14 แสดงผลของพีเอช ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล

พีเอช	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
2	97689	90434	93	0.12
3	97689	102646	105	0.15
4	97689	–	--	--

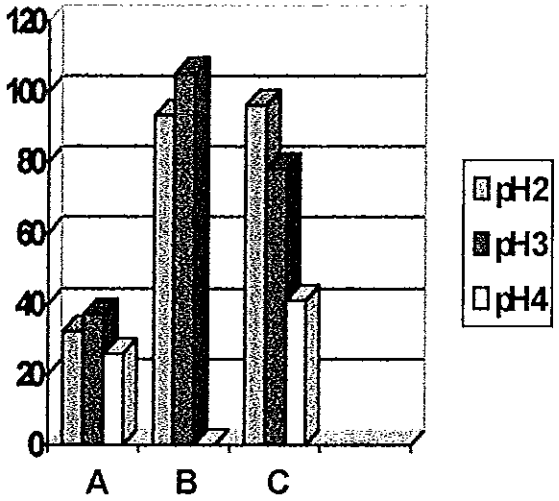
*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 15 แสดงผลของพีเอชต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

พีเอช	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
2	17919	17287	96	1.41
3	17919	13939	78	0.73
4	17919	7315	41	1.78

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

เปอร์เซ็นต์การสกัด



ชนิดของสารประกอบ

A = ฟีนอล

B = 2-ไนโตรฟีนอล

C = 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

ภาพประกอบ 30 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาพีเอช

ผลการวิเคราะห์พีเอชที่ใช้ในการสกัด พบว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารละลายฟีนอล คือ 3 , พีเอชที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล คือ 2 และพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล คือ 2 ดังนั้นพีเอชที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกคือ 2

4.3 ศึกษาอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารสารละลายที่ใช้ในการสกัด

ในการวิเคราะห์การแยกโดยวิธีการสกัดจะสนใจประสิทธิภาพของการสกัด โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ของการสกัด (%E) ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$\%E = \frac{100\ D}{V_{(aq)} / V_{(org)} + D}$$

โดยที่ D = อัตราส่วนการกระจาย

$V_{(aq)}$ = ปริมาณของตัวทำละลายน้ำ

$V_{(org)}$ = ปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์

เนื่องจากค่า D เป็นค่าคงที่ ดังนั้นเปอร์เซ็นต์การสกัดขึ้นอยู่กับอัตราส่วนปริมาณของตัวทำละลายน้ำต่อปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ ($V_{(aq)} / V_{(org)}$)

จากการศึกษาอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารสารละลายที่ใช้ในการสกัดกับประสิทธิภาพการสกัด แสดงดังตารางที่ 16 , 17 และ 18 และภาพประกอบ 31

ตาราง 16 แสดงผลของอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล

อัตราส่วนสารละลายตัวอย่างต่อสารที่ใช้ในการสกัด	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
9 : 1	28111	7789	27	1.54
1 : 1	20991	23433	111	1.22
1 : 3	15979	9050	57	0.06

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 17 แสดงผลของอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล

อัตราส่วนสารละลายตัวอย่างต่อสารที่ใช้ในการสกัด	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
9 : 1	111887	110427	99	0.05
1 : 1	103247	83869	81	1.59
1 : 3	99297	52769	53	0.47

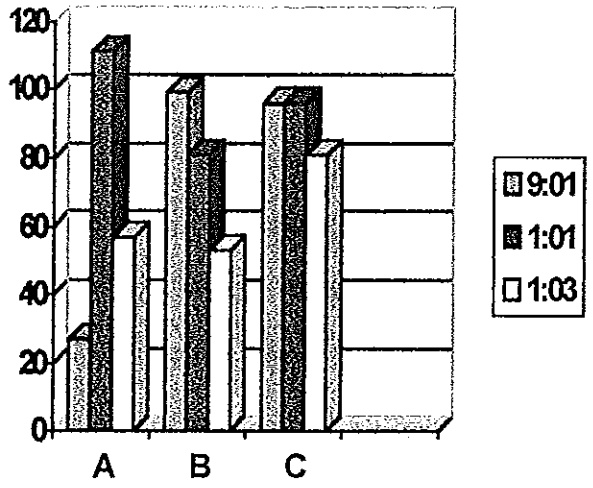
*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 18 แสดงผลของอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

อัตราส่วนสารละลายตัวอย่างต่อสารที่ใช้ในการสกัด	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
9 : 1	20158	19267	96	1.34
1 : 1	16854	16206	96	0.85
1 : 3	11478	9300	81	1.42

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

เปอร์เซ็นต์การสกัด



ชนิดของสารประกอบ

A = ฟีนอล

B = 2-ไนโตรฟีนอล

C = 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

ภาพประกอบ 31 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารสารละลายที่ใช้ในการสกัด

ผลการวิเคราะห์อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัดสารละลายฟีนอลคือ 1:1 อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัดสารละลาย2-ไนโตรฟีนอล คือ 9:1 และอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัดสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล คือ 9:1 หรือ 1:1 ดังนั้นอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารละลายที่ใช้ในการสกัดที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกคือ 9:1

4.4 ศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัด

ในการศึกษาประสิทธิภาพการสกัด เวลาที่ใช้ในการเขย่ากรวยแยกจะต้องเหมาะสม จึงจะมีประสิทธิภาพการสกัดสูง

จากการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัด พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดกับประสิทธิภาพการสกัด ดังตาราง 19 , 20 และ 21 และภาพประกอบ 32

ตาราง 19 แสดงผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล

เวลา (นาที)	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
3	29139	8893	30	0.42
6	29139	9329	32	0.85
9	29139	--	--	--

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 20 แสดงผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล

เวลา (นาที)	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
3	97689	94458	97	0.31
6	97689	91039	93	0.09
9	97689	--	--	--

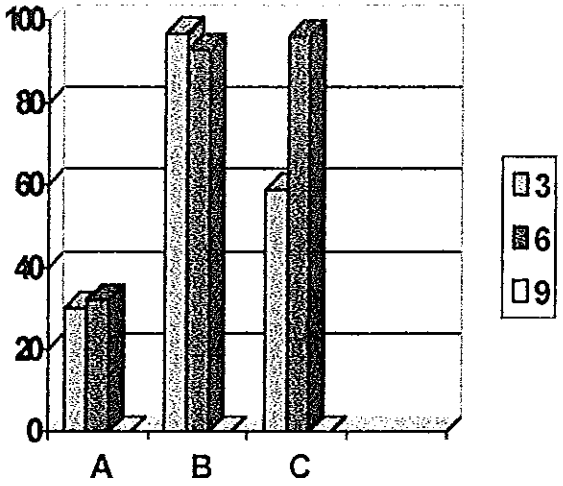
*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 21 แสดงผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

เวลา (นาที)	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
3	17919	10646	59	0.98
6	17919	17224	96	0.11
9	17919	--	--	--

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

เปอร์เซ็นตส์การสกัด



ชนิดของสารประกอบ

A = ฟีนอล

B = 2-ไนโตรฟีนอล

C = 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

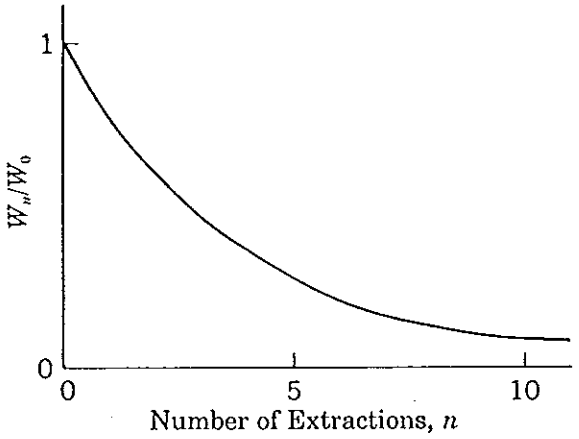
ภาพประกอบ 32 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิก จากการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัด

ผลการวิเคราะห์เวลา พบว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดสารละลายฟีนอล คือ 6 นาที เวลาที่ใช้ในการสกัดสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล คือ 3 นาที และ เวลาที่ใช้ในการสกัดสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล คือ 6 นาที ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกคือ 6 นาที

4.5 ศึกษาจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัด

การสกัดสามารถทำได้ครั้งเดียวถ้าค่าอัตราส่วนของการกระจายของตัวถูกละลายมีค่ามากๆ (>1000) แต่ถ้าอัตราส่วนการกระจายมีค่าไม่สูงมาก การสกัดด้วยกรวยแยกเพียงครั้งเดียวอาจทำให้การแยกไม่สมบูรณ์ จึงต้องทำการสกัดหลายครั้งจึงจะทำให้การแยกสมบูรณ์

การเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัด (n) จะมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด (E) ดังนี้ (Pecsok, et al. 1976 : 33)



ภาพประกอบ 33 เศษส่วนของตัวถูกละลายในน้ำเมื่อทำการสกัด n ครั้ง

และจากสมการ $E = 1 - \frac{W_n}{W_o}$

โดยที่ E = ประสิทธิภาพการสกัด

W_o = ปริมาณตัวถูกละลายที่มีอยู่ในสารตัวอย่างก่อนสกัด (กรัม)

W_n = ปริมาณตัวถูกละลายที่เหลือในชั้นน้ำเมื่อสกัดครั้งที่ n (กรัม)

จากภาพประกอบ 33 เมื่อจำนวนครั้งในการสกัดเพิ่มขึ้น ค่า W_n / W_o มีค่าลดลง และจากสมการเมื่อค่า W_n / W_o มีค่าลดลง ทำให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงขึ้น

จากการศึกษาจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัด พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัด กับประสิทธิภาพการสกัด ดังตาราง 22 , 23 และ 24 และภาพประกอบ 34

ตาราง 22 แสดงผลของจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล

จำนวนครั้งในการสกัด	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
1	24330	8624	35	0.53
2	24330	8831	36	0.52
3	24330	10122	42	1.27

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 23 แสดงผลของจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล

จำนวนครั้งในการสกัด	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
1	84710	68561	81	0.59
2	84710	69185	82	0.65
3	84710	90112	106	0.62

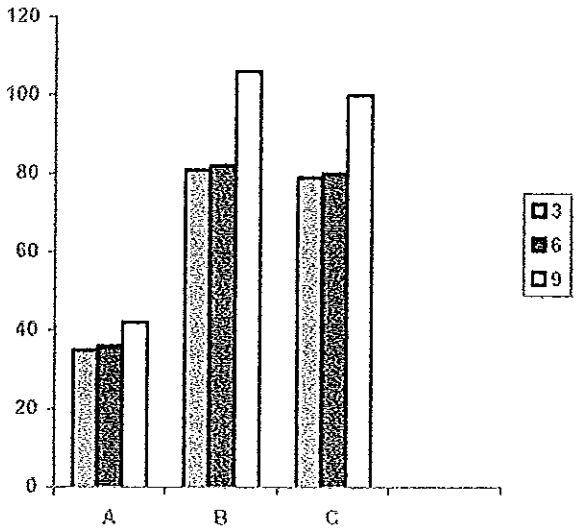
*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 24 แสดงผลของจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

จำนวนครั้งในการสกัด	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
1	27019	21910	79	0.56
2	27019	22129	80	0.37
3	27019	27073	100	0.81

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

เปอร์เซ็นต์การสกัด



ชนิดของสารประกอบ

A = ฟีนอล

B = 2-ไนโตรฟีนอล

C = 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

ภาพประกอบ 34 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิก จากการศึกษาจำนวนครั้งในการสกัด

ผลการวิเคราะห์จำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัด พบว่าจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัดสารละลายฟีนอล คือ 3 ครั้ง , จำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัดสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล คือ 2 ครั้ง และจำนวนครั้งที่ใช้ในการสกัดสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล คือ 3 ครั้ง ดังนั้น จำนวนครั้งที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิก คือ 3 ครั้ง

4.6 ศึกษาผลของ Salting out

การสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกจากน้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ไม่สามารถทำการสกัดได้เพราะจะเกิดอิมัลชันระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์และน้ำ แม้จะทิ้งไว้เป็นเวลานานก็ไม่สามารถแยกชั้นทั้งสองออกจากกันได้ จึงต้องมีการเติมเกลือเพื่อทำหน้าที่เป็น Salting out (กฤษณล, 2528)

โดยทั่วไปการเติมเกลือที่ละลายได้ในสารละลาย

$$\log S = \log S_0 - kM$$

โดยที่ S = การละลายของสารประกอบอินทรีย์ในน้ำ

S_0 = การละลายของสารประกอบอินทรีย์ในสารละลายที่เติมเกลือ

M = ความเข้มข้นของเกลือ (โมลาร์)

k = ค่าคงที่ของ Salting out

โดยที่ค่า k จะขึ้นกับสารประกอบอินทรีย์และเกลือที่ใช้เป็น Salting out ซึ่งอธิบายโดยใช้สมการ

$$\log f = kM$$

โดยที่ f = Activity Coefficient ของสารประกอบอินทรีย์

เมื่อพิจารณาระบบที่ประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์จำนวนเล็กน้อย โดยศึกษาความเข้มข้นของเกลือ ถ้าความเข้มข้นของเกลือคงที่ Activity Coefficient ของสารประกอบอินทรีย์จะคงที่ ภายใต้เงื่อนไขนี้สามารถอธิบายสมการ

$$D = fD_0$$

โดยที่ D = Distribution Ratio ในสารละลายที่มีเกลือ Salting out

D_0 = Distribution Ratio ในสารละลายที่ไม่มีเกลือ Salting out

จากสมการ

$$D = fD_0$$

$$\log D = \log f + \log D_0$$

ดังนั้น

$$\log D = kM + \log D_0$$

การเติมเกลือมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารประกอบอินทรีย์ เนื่องจากมีผลต่อค่า Distribution Ratio และจะเพิ่มค่า Ionic Strength ของชั้นน้ำ ดังนั้นเทคนิค Salting out จึงเป็นเทคนิคที่มีการเติมเกลือ เช่น โซเดียมคลอไรด์ หรือโซเดียมซัลเฟต ในน้ำก่อนการสกัด เกลือจะละลายอย่างรวดเร็วและย้าย (Shift) สารประกอบอินทรีย์ไปยังตัวทำละลายอินทรีย์

จากการศึกษาผลของ Salting out พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างผลของ Salting out กับประสิทธิภาพการสกัด ดังตาราง 25, 26 และ 27 และภาพประกอบ 35

ตาราง 25 แสดงผลของ Salting out ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลายฟีนอล

เกลือ	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
โซเดียมคลอไรด์	20772	10570	51	1.29
โซเดียมซัลเฟต	20772	8389	40	1.37
—	20772	7253	35	0.35

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 26 แสดงผลของ Salting out ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล

เกลือ	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
โซเดียมคลอไรด์	76629	60216	79	0.63
โซเดียมซัลเฟต	76629	62530	82	1.01
—	76629	42478	55	0.82

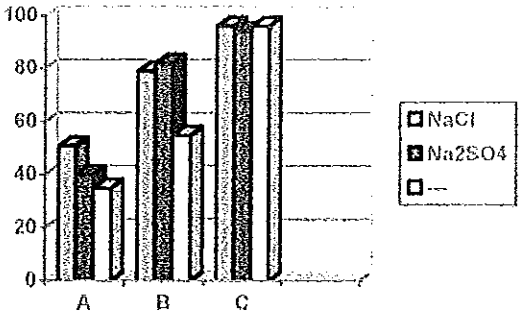
*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 27 แสดงผลของ Salting out ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

เกลือ	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
โซเดียมคลอไรด์	26206	25256	96	0.52
โซเดียมซัลเฟต	26206	24684	94	1.07
—	26206	25970	96	0.32

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

เปอร์เซ็นต์การสกัด



ชนิดของสารประกอบ

A = ฟีนอล

B = 2-ไนโตรฟีนอล

C = 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

ภาพประกอบ 35 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาผลของ Salting out

ผลการวิเคราะห์ผลของ Salting out พบว่า สำหรับการสกัดสารละลายฟีนอล คือ เกลือโซเดียมคลอไรด์ สำหรับการสกัดสารละลาย 2-ไนโตรฟีนอล คือเกลือโซเดียมซัลเฟต และสำหรับการสกัดสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล คือเกลือโซเดียมคลอไรด์ และไม่เติมเกลือ ดังนั้นในการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกควรเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์เป็น Salting out

การเติมเกลือมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสกัด เนื่องจากจะเพิ่มค่า Ionic strength ของชั้นน้ำ แต่เนื่องจากในน้ำทะเลเกลือต่างชนิดกันเช่น Na^{+} K^{+} Mg^{2+} Ca^{2+} Cl^{-} และ SO_4^{2-} มีค่า Ionic strength เท่ากันคือ 0.7 แต่ HCO_3^{-} และ CO_3^{2-} มีค่า Ionic strength 0.5 (Burton, 1976) เนื่องจากการทดลองครั้งนี้เลือกศึกษาเกลือโซเดียมซัลเฟต และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ค่า Ionic strength จึงไม่แตกต่างกัน การเลือกชนิดของเกลือจึงขึ้นกับอนุพันธ์ของฟีนอล ซึ่งอาจมีการศึกษากันต่อไป และสาร 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล มีสภาพขั้วต่ำดังนั้นการเติมเกลือจึงไม่มีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสกัด

จากการศึกษาผลของ Salting out นอกจากชนิดของเกลือ ความเข้มข้นของเกลือมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดสาร จากการศึกษาการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ พบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเกลือกับเปอร์เซ็นต์การสกัด ดังตาราง 28 , 29 และ 30 และภาพประกอบ 37

ตาราง 28 แสดงการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสาร-ละลายฟีนอล

เกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม)	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
15	20772	7471	52	0.97
30	20772	8689	61	0.52
45	20772	10126	71	0.39

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 29 แสดงการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสาร ละลาย 2,4-ไดเมทิลฟีนอล

เกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม)	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
15	76629	24874	68	0.31
30	76629	25410	70	0.98
45	76629	34531	95	0.20

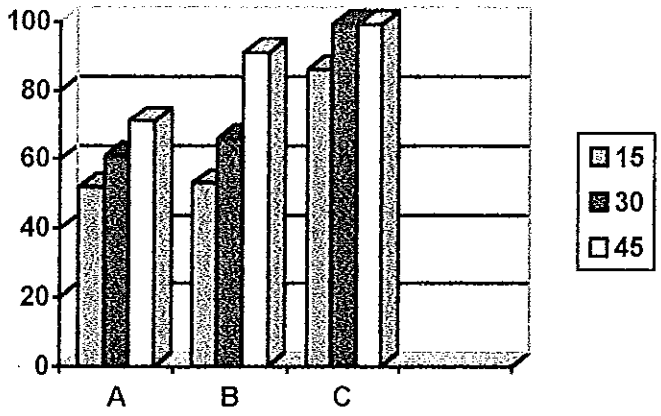
*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 30 แสดงการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อเปอร์เซ็นต์การสกัดของสาร ละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

เกลือโซเดียมคลอไรด์ (กรัม)	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
15	26240	14885	96	1.33
30	26240	14682	95	1.88
45	26240	15312	99	0.29

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

เปอร์เซ็นต์การสกัด



ชนิดของสารประกอบ

A = ฟีนอล

B = 2,4-ไดเมทิลฟีนอล

C = 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล

ภาพประกอบ 36 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกจากการศึกษาผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์

ผลการวิเคราะห์ผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ลงในสารตัวอย่าง 675 มิลลิลิตร พบว่าสำหรับการสกัดสารละลายฟีนอล คือเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 45 กรัม, สำหรับการสกัดสารละลาย 2,4-ไดเมทิลฟีนอล คือเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 45 กรัม และสำหรับการสกัดสารละลาย 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล คือเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 45 กรัม ดังนั้นในการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิกควรเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 45 กรัม

4.7 การศึกษาการทำให้กลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นโดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์ของการสกัด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัด คือ สกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน ที่ pH 2 ด้วยอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อตัวทำละลายอินทรีย์ 9:1 สกัดโดยสกัด 3 ครั้งๆละ 6 นาที และใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ 45 กรัมในสารตัวอย่าง 675 มิลลิลิตร เป็น salting out พบว่าเปอร์เซ็นต์การสกัดกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว แสดงผลดังตาราง 31

ตาราง 31 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว

สาร	พื้นที่สารมาตรฐาน	พื้นที่เฉลี่ย*	เปอร์เซ็นต์การสกัด	%RSD
ฟีนอล	14318	10126	71	0.39
4-ไนโตรฟีนอล	106662	81342	76	0.10
2-คลอโรฟีนอล	21723	15134	70	0.71
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	118882	118737	100	1.37
2-ไนโตรฟีนอล	76749	74701	97	1.13
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	38111	34531	91	0.20
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	35713	31944	89	0.45
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	128224	119962	94	0.73
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	28915	28594	99	0.19
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	15500	15312	99	0.29

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

4.8 การศึกษาการทำให้กลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวในน้ำทะเลเทียม มีความเข้มข้นขึ้นโดยการสกัดโดยตัวทำละลาย

เนื่องจากตัวอย่างน้ำที่นำมาศึกษาเก็บจากน้ำทะเลสาบสงขลาตอนนอก จึงต้องเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกในน้ำบริสุทธิ์ และน้ำทะเลเทียมที่ความเค็ม 9 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร สาเหตุที่เลือกศึกษาน้ำทะเลเทียมที่ความเค็ม 9 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นความเค็มที่มีค่าต่ำสุด และสูงสุดที่ได้จากการวัดจากการเก็บตัวอย่างน้ำทะเล ผลการทดลองดังตาราง 32

ตาราง 32 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การสกัดของกลุ่มสารฟีนอลิกในน้ำบริสุทธิ์ และน้ำทะเลเทียมที่ความเค็ม 9 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร

สาร	เปอร์เซ็นต์การสกัด*		
	น้ำบริสุทธิ์	น้ำทะเลเทียม (9 ppm)	น้ำทะเลเทียม (30 ppm)
ฟีนอล	71	74	72
4-ไนโตรฟีนอล	76	65	73
2-คลอโรฟีนอล	70	96	94
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	100	83	86
2-ไนโตรฟีนอล	97	96	98
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	91	91	71
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	89	97	97
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	94	86	89
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	99	86	95
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	99	98	95

*เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง RSD< 1.71 %

จากการศึกษาน้ำทะเลเทียมซึ่งประกอบด้วยเกลืออัลคาไล และอัลคาไลเอิร์ทที่มีอยู่ในน้ำทะเล ดังตาราง 40 ในภาคผนวก มาเป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์ และใส่(Spiked) ด้วยสารละลายมาตรฐานฟีนอลิก โดยอาศัยการทดสอบแบบเอฟ (F-Test) พบว่าเปอร์เซ็นต์การสกัดที่ได้ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้น 2,4-ไดคลอโรฟีนอล มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การสกัดเนื่องจากกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว เป็นสารที่มีสภาพขั้วกว้าง เมื่อใช้สารอินทรีย์สกัดเพียงชนิดเดียวทำให้สารฟีนอลิกบางชนิดมีเปอร์เซ็นต์การสกัดไม่สูงเท่าที่ควรเช่น 4-ไนโตรฟีนอล และ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล ดังนั้นการเลือกสารอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดจึงควรเลือกให้มีสภาพขั้วใกล้เคียงกับสารที่ต้องการสกัด โดยอาศัยคุณสมบัติของสภาพขั้วซึ่งวัดจากค่า Dielectric Constants สารละลายที่มีค่า Dielectric Constants 2-3 เป็นสาร Nonpolar สารละลายที่มีค่า Dielectric Constants มากกว่า 10 เป็นสาร Polar สารละลายที่มีค่า Dielectric Constants 3-10 เป็นสาร Intermediate Polar ค่า Dielectric Constants แสดงในตาราง 38 ผลการทดลองดังตาราง 33

ตาราง 33 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดของ 4-ไนโตรฟีนอล และ 2,4-ไดเมทิลฟีนอลในน้ำบริสุทธิ์และน้ำทะเลที่ความเค็ม 9 และ 30มิลลิกรัมต่อลิตร

สาร	เปอร์เซ็นต์การสกัด		
	น้ำบริสุทธิ์	น้ำทะเล (9 ppm)	น้ำทะเล (30 ppm)
4-ไนโตรฟีนอล	79	84	87
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	92	95	97

จากการศึกษาพบว่าเปอร์เซ็นต์การสกัดจะมีค่าสูงขึ้น เมื่อใช้สารละลายเอธิลอะซิเตตเป็นสารอินทรีย์ที่ใช้สกัด 4-ไนโตรฟีนอล และ สารละลายคลอโรฟอร์มเป็นสารอินทรีย์ที่ใช้สกัด 2,4-ไดเมทิลฟีนอล

การเลือกสารอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดนอกจากสภาพขั้ว ซึ่งวัดจากค่า Dielectric Constants แล้ว อาจอาศัยข้อมูล pK_a จากตาราง 39 ในภาคผนวก แบ่งสารเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มกรด, กลาง และ เบส กลุ่มกรดค่า pK_a น้อยกว่า 6 กลุ่มกลางค่า pK_a มีค่าระหว่าง 6 -

8 และ กลุ่มเบสค่า pK_a มากกว่า 8 โดยกลุ่มกรดเลือกศึกษา 2,4-ไดไนโตรฟีนอล กลุ่มกลางเลือกศึกษา 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และกลุ่มเบสเลือกศึกษา 2,4-ไดเมทิลฟีนอล

จากการศึกษากลุ่มกรดของ Schultz (1983) พบว่า 2,4-ไดไนโตรฟีนอลในระดับความเข้มข้น 500 นาโนกรัมต่อลิตร ค่าเปอร์เซ็นต์ 97±1 % โดยการนำน้ำตัวอย่าง 500 มิลลิลิตร ปรับให้ pH เป็น 1.5 ด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น และสกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน 25 มิลลิลิตร 4 ครั้ง นำส่วนสารละลายไดคลอโรมีเทนมาเติมสารโพรไพลีนไกลคอล 50 ไมโครลิตร เพื่อลดการสูญเสียกลุ่มไนโตรฟีนอลไปในขณะการระเหยสารละลายไดคลอโรมีเทน วิธีการทดลองแสดงดังตาราง 34 ผลการทดลองแสดงดังตาราง 35

จากการศึกษากลุ่มกลางของ Abrahamsson และ Xie (1993) พบว่า 2,4-ไดคลอโรฟีนอลในระดับความเข้มข้นมากกว่าไมโครกรัมต่อลิตร ค่าเปอร์เซ็นต์การสกัด 100 % โดยอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารอินทรีย์ 5:1 เมื่อใช้สารละลายเฮกเซนเป็นสารอินทรีย์พบว่าเมื่ออัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นประสิทธิ์ภาพในการสกัดลดลง แต่ถ้าใช้สารละลายไดคลอโรมีเทนเป็นสารอินทรีย์สามารถเพิ่มประสิทธิ์ภาพในการสกัด วิธีการทดลองแสดงดังตาราง 34 ผลการทดลองแสดงดังตาราง 35

จากการศึกษากลุ่มเบสของ Fountaine, Joshipura และ Keliher (1974) พบว่า 2,4-ไดเมทิลฟีนอล เลือกสารละลายคลอโรฟอร์มเป็นสารอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด วิธีการทดลองแสดงดังตาราง 34 และผลการทดลองแสดงดังตาราง 35

ตาราง 34 แสดงวิธีการสกัดของสาร 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ 2,4-ไดเมทิลฟีนอลในน้ำบริสุทธิ์ และน้ำทะเลที่ความเค็ม 9 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร

	สาร	สารอินทรีย์	pH	หมายเหตุ
กรด	2,4-ไดไนโตรฟีนอล	CH_2Cl_2	1.5	เติมโพรไพลีน ไกลคอล
กลาง	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	CH_2Cl_2	2	อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อสารอินทรีย์ 5:1
เบส	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	$CHCl_3$	2	-

ตาราง 35 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การสกัดของ 2,4-ไดไนโตรฟีนอล , 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ 2,4-ไดเมทิลฟีนอลในน้ำบริสุทธิ์ และน้ำทะเลที่ความเค็ม 9 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร

สาร	เปอร์เซ็นต์การสกัด		
	น้ำบริสุทธิ์	น้ำทะเลเทียม (9 ppm)	น้ำทะเลเทียม (30 ppm)
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	94	97	99
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	95	97	98
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	94	95	97

4.9 การหาปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิก ในทะเลสาบสงขลาตอนนอก

จากการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว จำนวน 2 ครั้งจากตัวอย่างน้ำในทะเลสาบสงขลาตอนนอก ความเข้มข้นของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว ที่วัดได้ในตัวอย่างน้ำบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก 5 จุดเก็บ ดังแสดงในตาราง 36 และ ตาราง 37

ตาราง 36 ความเข้มข้นของกลุ่มสารฟีนอลิก ครั้งที่ 1 (วันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2539) วัดได้ (ไมโครกรัมต่อลิตร) ในตัวอย่างน้ำบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก 5 จุดเก็บ

สาร	จุดเก็บตัวอย่าง				
	1	2	3	4	5
ฟีนอล	-	-	-	-	-
4-ไนโตรฟีนอล	0.24	0.20	1.45	-	0.95
2-คลอโรฟีนอล	-	-	-	0.07	1.15
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	-	-	-	-	-
2-ไนโตรฟีนอล	-	-	-	-	0.31
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	-	-	-	-	-
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	-	-	-	-	-
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	-	-	-	-	-
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	-	-	-	-	-
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	-	-	-	-	-

เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง RSD< 5.60 %

ตาราง 37 ความเข้มข้นของกลุ่มสารฟีนอลิก ครั้งที่ 2 (วันที่ 20 มีนาคม พ.ศ.2539) วัดได้ (ไมโครกรัมต่อลิตร)ในตัวอย่างน้ำบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก 5 จุดเก็บ

สาร	จุดเก็บตัวอย่าง				
	1	2	3	4	5
ฟีนอล	-	-	1.25	7.70	14.28
4-ไนโตรฟีนอล	-	-	-	-	-
2-คลอโรฟีนอล	-	-	1.39	-	-
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	-	-	-	-	-
2-ไนโตรฟีนอล	-	-	-	-	-
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	-	1.05	-	-	-
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	-	0.63	-	-	-
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	-	-	-	-	-
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	-	3.40	-	-	-
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	-	1.23	-	-	-

เป็นค่าเฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ 3 ครั้ง RSD< 5.41 %

บทที่ 4

สรุปผล

การวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวคือ ฟีนอล, 4-ไนโตรฟีนอล, 2-คลอโรฟีนอล , 2,4-ไดไนโตรฟีนอล, 2-ไนโตรฟีนอล, 2,4-ไดเมทิลฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล, 4,6-ไดไนโตร -2-เมทิลฟีนอล, 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล โดยใช้ Overlapping Resolution Mapping เป็นวิธีในการหาเฟสเคลื่อนที่ โดยเลือก เมทานอล, อะซีโตไนไทรล์ และน้ำเป็นองค์ประกอบในเฟสเคลื่อนที่ ใช้เวลาวิเคราะห์ประมาณ 30 นาที อัตราส่วนเมทานอลและน้ำคือ 58:42 เมื่อใช้ Solvent Selectivity Triangle พบว่าการแยกดีขึ้นเมื่อใช้อัตราส่วนของเมทานอล, อะซีโตไนไทรล์ และน้ำคือ 29 : 28 : 43 จากการปรับปรุงพีกโดยการลด และเพิ่มองค์ประกอบของสารละลายอินทรีย์ และการเติมกรดอะซิติก พบว่าเฟสเคลื่อนที่ที่สามารถแยกกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวคือ เมทานอล, อะซีโตไนไทรล์, น้ำ และ กรดอะซิติก 31:26:43:0.7 โดยมีสภาวะในการทดลองคืออัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อนาทีใช้คอลัมน์ Shim-pack CLC-ODS 10 μm 15 cm x 6.0 nmm และตรวจวัดโดยใช้ UV-detector ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร สำหรับสารเพนตะคลอโรฟีนอลซึ่งเป็นอนุพันธ์ของฟีนอลที่มีสภาพขั้วต่ำมากมีการเปลี่ยนสภาวะในการทดลองคือ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดโดยใช้ UV-detector ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตรใช้เวลาวิเคราะห์ประมาณ 8 นาที

การวิเคราะห์ทางปริมาณของกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัว สามารถวัดได้ต่ำในระดับ 0.002-0.100 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าการตอบสนองเป็น Fast ค่าการขยายสัญญาณเป็น 0.005 และความเร็วของการบันทึกผล 3 มิลลิเมตรต่อนาที

การวิเคราะห์กลุ่มสารฟีนอลิกโดยให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย ศึกษาปัจจัยต่างๆคือสารอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด, พีเอช, อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อตัวทำละลายอินทรีย์, จำนวนครั้งในการสกัด, เวลา และ ปรากฏการณ์ Salting out พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกลุ่มสารฟีนอลิก 10 ตัวพร้อมกันคือ สกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน ที่พีเอช 2 อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อตัวทำละลายอินทรีย์ 9:1 โดยสกัด 3 ครั้งๆละ 6 นาที และใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ 45 กรัมในสารตัวอย่าง 675 มิลลิลิตรเป็น Salting out พบว่าประสิทธิภาพการสกัดอยู่ในช่วง 70-100 % และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สัมพัทธ์ 0.1-1.37 % เมื่อเปรียบเทียบกับที่ Abrahamsson และ Xie (1983) ศึกษาปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิกในน้ำทะเล โดยเปลี่ยนกลุ่มสารฟีนอลิกให้อยู่ในรูปอนุพันธ์โดยใช้ acidic anhydride และสกัดโดยใช้สารละลายเฮกเซน นำมาวิเคราะห์โดย Glass Capillary Column Gas Chromatography และตรวจวัดโดยใช้อิเล็กตรอนแคพเจอร์ดีเทคเตอร์ เปอร์เซ็นต์การสกัดสูงกว่า 90 % ซึ่งในการทดลองครั้งนี้สารฟีนอลิกบางตัวมีเปอร์เซ็นต์การสกัดต่ำกว่า

จากการที่สารฟีนอลิกบางชนิดมีประสิทธิภาพการสกัดต่ำ สามารถแก้ไขโดยแบ่งกลุ่มสารฟีนอลิกเป็น 3 กลุ่มคือกลุ่ม กรด, กลาง และ เบส โดยกลุ่มที่เป็นกรดใช้สารละลายไดคลอโรมีเทนสกัด ปรับพีเอชเป็น 1.5 และเติมโพรไพลีน ไกลคอล ก่อนนำระเหยสารละลายไดคลอโรมีเทน เนื่องจากป้องกันการระเหยของกลุ่มสารฟีนอลิกในระหว่างการระเหย (Schultz, 1983) กลุ่มที่เป็นกลางใช้สารละลายไดคลอโรมีเทนสกัดมีอัตราส่วนสารตัวอย่างต่อตัวทำละลายอินทรีย์ 5 : 1 (Abrahamsson and Xie, 1993) และกลุ่มที่เป็นเบสใช้สารละลายคลอโรฟอร์มเป็นสารอินทรีย์ในการสกัด (Fountaine, Joshipura and Keliher, 1974)

จากการวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิก ในน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก 5 จุด เก็บตัวอย่างน้ำ 2 ครั้ง ความเข้มข้นของกลุ่มสารฟีนอลิกที่วัดได้ครั้งที่ 1 (วันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2539) จุดเก็บที่ 1, 2, 3 พบ 4-ไนโตรฟีนอล 0.24 ,0.20, 1.45 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ จุดเก็บที่ 4 พบ 2-คลอโรฟีนอล 0.07 ไมโครกรัมต่อลิตร และจุดเก็บที่ 5 พบ 4-ไนโตรฟีนอล, 2-คลอโรฟีนอล และ 2-ไนโตรฟีนอล 0.95, 1.15 และ 0.31 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ ครั้งที่ 2 (วันที่ 20 มีนาคม พ.ศ. 2539) จุดเก็บที่ 1 ไม่พบ จุดเก็บที่ 2 พบ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล, 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล, 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล 1.05, 0.63, 3.40 และ1.23 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ จุดเก็บที่ 3 พบ ฟีนอลและ 2-คลอโรฟีนอล 1.25 และ 1.39 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ และจุดเก็บที่ 4 และ 5 พบ ฟีนอล 7.70 และ 14.28 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ

เพริศพิชญ์ คณาธารณา (2536) ศึกษาสารฟีนอลิกในน้ำทะเลสาบสงขลาตอนนอก ระหว่างเดือนกันยายน 2534 - พฤศจิกายน 2535 โดยเทคนิคสเปกโทรมิตรีด้วยวิธี 4-แอมมิโนแอนติไพริน พบว่าความเข้มข้นเฉลี่ยของสารฟีนอลิกอยู่ในช่วง 0-231 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยปริมาณของสารฟีนอลิกขึ้นอยู่กับกิจกรรมที่มี และเกิดขึ้นรอบๆบริเวณทะเลสาบ ส่วนในการศึกษาในครั้งนี้ ปริมาณกลุ่มสารฟีนอลิกที่พบในทะเลสาบสงขลาตอนนอกไม่เกินมาตรฐานของน้ำดิบที่ปลาและสัตว์น้ำยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้ คือไม่สูงกว่า 0.02 มิลลิกรัม

ต่อลิตร แต่ในบางจุดเช่น จุดที่ 5 มีกลุ่มสารฟีนอลมากอาจเนื่องมาจากเป็นบริเวณที่มีการจอดเรือขนส่ง และในจุดที่ 3 เป็นน้ำที่ไหลผ่านบริเวณชุมชน

บรรณานุกรม

กฤษณล กีรติวิทยายุต, 2528, "การหาปริมาณฟีนอลในแหล่งน้ำโดยใช้เทคนิคสเปคโตรโฟโตเมตรี" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. (ลำเนา).

แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2534. เทคนิควิเคราะห์ทางเครื่องมือ. กรุงเทพ : ชวนพิมพ์.

ธวัชชัย ศรีวิบูรณ์. 2534. เคมีวิเคราะห์ 2. กรุงเทพ : มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

พิงพันธ์ พิณโท และ สุกัญญา แซ่ลี่. 2534. " Determination of Phenolic Compounds by HPLC " โครงงานทางเคมี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. (ลำเนา)

เพริศพิชญ์ คณาธารณา, ธิติมา ธรรเมศรานนท์ และ บัญชา โสอินทร์. 2536. Phenolic Compounds in Outer Songkla Lake " รายงานการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 19 วันที่ 27 - 29 ตุลาคม พ.ศ 2536 ณ. โรงแรมดุสิต เจ.บี. อ.หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. หน้า 780 - 781.

Abrahamsson, K. and Xie,T.M. 1983. J.Chromatogr. 279, 199-208.

Bigley, F.P. and Grob, R.L. 1985. J.Chromatogr. 350, 407-416.

Borra, C., et al. 1986. Anal.Chem. 58, 2048-2052.

Borys, A. 1981. J.Chromatogr. 216, 361-366.

Buckman, et al. 1984. J.Chromatogr. 284, 441-446.

Burton, J.D. 1976. in Estuarine Chemistry. Academic Press Inc.

Busto, O., Olucha, J.C. and Borrull, F. 1991. Chromatographia. 32, 566-572.

Cooper, W.J, ed. 1981. Chemistry in Water Reuse Volumn 1. Ann Arbor Science.

Czuczwa, J., et al. 1987. J.Chromatogr. 403, 233-241.

Dean, J.A., ed. 1973. Lange's Handbook of Chemistry. 11ed. New York : Mc Graw Hill.

Fernandez de Simon, B., et al. 1990. Chromatographia. 30, 35-37.

Fountaine, J.E, et al. 1974. Anal.Chem. 46, 62-66.

Glajch, et al. 1980. J.Chromatogr. 199, 57-79

Goldberg, M.C. and Weiner, E.R. 1980. Anal Chim Acta. 115, 373-378.

Grob, K., et al. 1975. J.Chromatogr. 106, 299-315.

Hoffsommer, J.C., Glover, D.J. and Hazzard, C.Y. 1980. J.Chromatogr. 195, 435-440.

Lee, H.K., Li, S.F.Y. and Tay, Y.H. 1988. J.Chromatogr. 438, 429-432.

Leggett, D.C., Jenkins,T.F. and Miyares, P.H. 1990. Anal.Chem. 62, 1355-1356.

Lyman, J. and Fleming, R.H. 1940. J.Mar.Res. 3, 134-146.

Ong, C.P., Lee, H.K. and Li, S.F.Y. 1989. J.Chromatogr. 464, 405-410.

Pecsok, R.L., et al. 1976. Modern Methods of Chemical Analysis, 2ed. John Wiley & Sons, Inc

Realini, P.A. 1981. J.Chromatogr.Sci. 19, 124-129.

Roberts, R.M., Gilbert,J.C. and Martin, S.F. 1994. Experimental Organic Chemistry. Fort Worth : Saunders College.

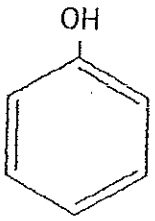
Roggendorf, E. and Spatz, R. 1981. J.Chromatogr. 204, 263- 268.

Schultz, B. 1983. J.Chromatogr. 269, 208-212.

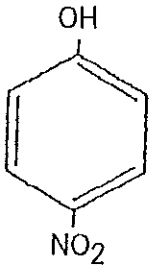
Snyder, L.R., Dolan, J.W. and Gant, J.R. 1979. J.Chromatogr. 165.

ภาคผนวก

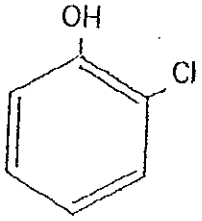
ภาพประกอบ 37 แสดงสูตรโครงสร้างของกลุ่มสารฟีนอลิก 11 ชนิดที่ U.S. E.P.A. ได้กำหนดไว้



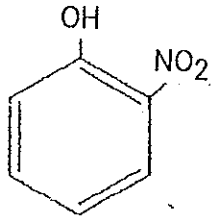
ฟีนอล



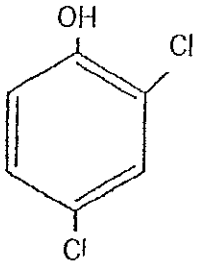
4-ไนโตรฟีนอล



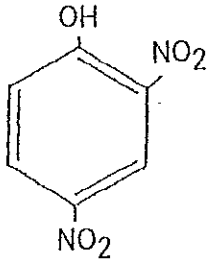
2-คลอโรฟีนอล



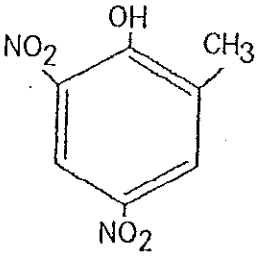
2-ไนโตรฟีนอล



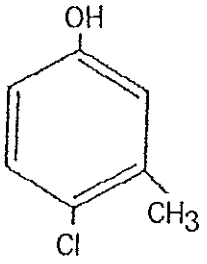
2,4-ไดคลอโรฟีนอล



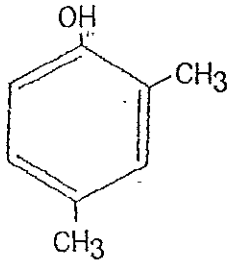
2,4-ไดไนโตรฟีนอล



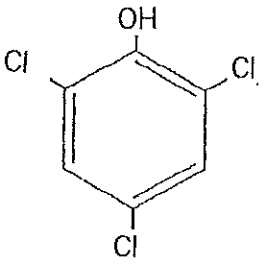
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล



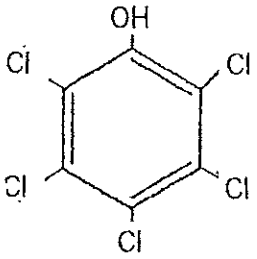
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล



2,4-ไดเมทิลฟีนอล



2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล



เพนตะคลอโรฟีนอล

ตาราง 38 แสดงค่า Dielectric Constants (Dean, ed, 1973)

Liquid	Dielectric Constants
Phenol	9.780
Dichloromethane	9.080
Ethyl acetate	6.020
Chloroform	4.806
Hexane	1.890

ตาราง 39 แสดงค่า pK_a (Dean, ed, 1973)

สาร	pK_a
ฟีนอล	9.99
4-ไนโตรฟีนอล	7.15
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	4.09
2-คลอโรฟีนอล	8.48
2-ไนโตรฟีนอล	7.23
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	10.58
4,6-ไดไนโตร-2-เมทิลฟีนอล	4.35
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	5.90
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	7.85
2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล	6.00
เพนตะคลอโรฟีนอล	9.80

ตาราง 40 แสดงองค์ประกอบต่างๆในน้ำทะเลที่มีความเค็มเท่ากับ34.3 ส่วนในพันส่วน (Lyman and Fleming, 1940)

ชนิดของเกลือ	ปริมาณในน้ำทะเล (กรัมต่อกิโลกรัม)
NaCl	23.476
$MgCl_2$	4.981
Na_2SO_4	3.917
$CaCl_2$	1.102
KCl	0.664
$NaHCO_3$	0.192
KBr	0.096
H_3BO_3	0.026
$SrCl_2$	0.024
NaF	0.003

ตาราง 41 แสดงความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ และความเค็ม ของตัวอย่างน้ำทะเลที่นำมาวิเคราะห์ 5 จุดเก็บ บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก (วันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2539)

จุดเก็บที่	(pH)	อุณหภูมิ	ความเค็ม
1	6.5	25	30
2	6.3	24	30
3	6.5	23	28
4	6.5	25	30
5	6.3	25	29

ตาราง 42 แสดงความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ และความเค็ม ของตัวอย่างน้ำทะเลที่นำมาวิเคราะห์ 5 จุดเก็บ บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก (วันที่ 20 มีนาคม พ.ศ. 2539)

จุดเก็บที่	(pH)	อุณหภูมิ	ความเค็ม
1	7.4	30	9
2	7.4	30	11
3	7.8	29	10
4	7.9	30	11
5	8.4	30	30

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวนินนาท์ โชติบริบูรณ์

วัน เดือน ปี 21 ตุลาคม พ.ศ. 2512

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ศึกษาศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 2	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี	2535