

การพัฒนาระบบไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจคชัน

สำหรับการหาปริมาณเหล็กในดินและในไทรท์ในน้ำเสีย

Development of Hydrodynamic Flow Injection System for the Determination of Iron in Soil and Nitrite in Wastewater

อรุณรัตน์ ชางเลง, วัฒน์จีระ คำไซ และสรวัตุ สมนาม*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

จ.เชียงใหม่ 50300

Aroonrat Changeang, Watjeera Kamchai and Sarawut Somnam*

Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University,
Chiang Mai 50300

บทคัดย่อ

ระบบไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจคชัน (HFI) แบบง่ายได้ถูกพัฒนาขึ้น โดยออกแบบให้เป็นระบบที่ประหยัดสารเคมีและใช้อุปกรณ์ที่หาจ่ายและราคาถูกเป็นองค์ประกอบ นอกเหนือไปจากนี้ระบบ HFI ยังสามารถประกอบเข้ากับตัวกรอง (ขนาด 0.45 μm) เพื่อใช้สำหรับกรองตัวอย่างน้ำแบบออนไลน์ได้ ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้ได้นำไปใช้ในการใช้งานโดยการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กรวมในดินและในไทรท์ในน้ำเสียด้วยปฏิกิริยา 1,10-phenanthroline และ Griess ตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างดังกล่าวได้ดำเนินการภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ระบบ HFI สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ประมาณ 12-14 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ใช้ปริมาณสารเคมีรวมไม่เกิน 8.2 mL ต่อตัวอย่าง และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) เท่ากับ 0.54 % ($n=11$) และ 0.64 % ($n=11$) สำหรับการหาปริมาณเหล็กรวมและในไทรท์ ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงที่ได้ พบว่าให้ผลสอดคล้องกับวิธีมาตรฐานเมื่อเปรียบเทียบด้วย t-test ระดับความเชื่อมั่น 95 %

คำสำคัญ : ไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจคชัน (HFI); เหล็กรวม; ในไทรท์

น้ำเสีย; ตัวกรอง; ปฏิกิริยา 1,10-phenanthroline; ปฏิกิริยา Griess

Abstract

The simple hydrodynamic flow injection (HFI) system was developed and designed to be a save chemical system and also contained the simple and low cost devices. Moreover, HFI system could be also assembled to a membrane filter (0.45 μm) for the on-line filtration of water sample. This developed system was demonstrated to the determination of total iron in soil sand nitrite in wastewater samples based on 1,10-phenanthroline and Griess reaction, respectively. The

*ผู้รับผิดชอบบทความ : sarawut_som@cmru.ac.th



analysis of these samples was carried out under the suitable condition. Sample throughput of 12-14 h⁻¹ and total consumption of chemicals not over than 8.2 mL were achieved with the HFI system. The relative standard deviation (% RSD) was 0.54 % (n=11) and 0.64 % (n=11) for the determination of total iron and nitrite, respectively. From the analysis in real samples, the results gave good agreement to the standard method by comparing with t-test at 95% of confident level.

Keywords: hydrodynamic flow injection (HFI); total iron; nitrite

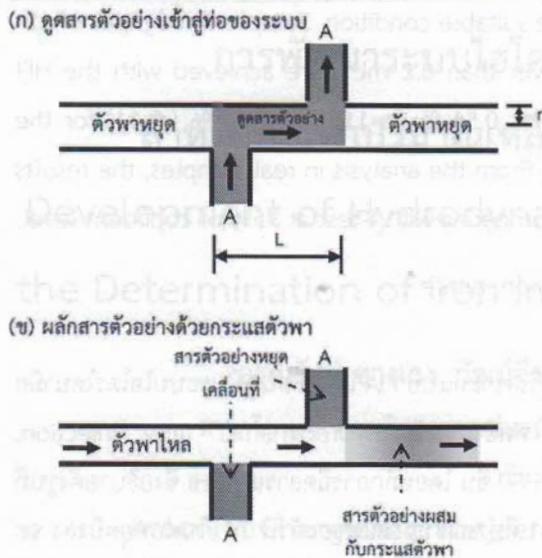
1. บทนำ

การวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเทคนิคโฟลอินเจกชัน อนาลิซิส (flow injection analysis, FIA) ได้ถูกเสนอครั้งแรกในปี ค.ศ. 1975 โดย Ruzicka และ Hansen โดยอาศัยหลักการพื้นฐานคือการฉีดสารปริมาณน้อยเข้าไปทางวาล์วฉีดสาร (injection valve) ของระบบเข้าสู่กระถางตัวพยาภัยที่เป็นสารเคมี ซึ่งอาจเป็น รีเอเจนต์ (reagent) หรือตัวทำละลายที่ให้อย่างต่อเนื่องด้วยอัตราการไหลที่เหมาะสมและคงที่ภายในห้องที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กโดยปราศจากอาการศ้น การไหลของสารตัวพยาภัยควบคุมโดยการใช้ปั๊มเพอริสตัลติก (peristaltic pump) หรือใช้วิธี กลักน้ำที่อาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก สารตัวอย่างจะผสมกับกระถางพยาและเกิดปฏิกิริยาที่ส่วนของห้อง (mixing coil) จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะไหลต่อไปสู่โฟลทรูเซลล์ (flow through cell) ของเครื่องตรวจวัด (detector) เพื่อวัดสัญญาณของผลิตภัณฑ์ เช่น ค่าการดูดกลืนแสง ค่าคายีไฟฟ้า [1] แม้ว่าวิธี FIA จะใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อยและใช้อุปกรณ์ราคาถูกกว่าเทคนิควิธีหรือเครื่องมือหลายชนิด แต่ในขั้นตอนการฉีดสารตัวอย่างพบว่าปั๊มเพอริสตัลติกบังคับทำงานตลอดเวลา จึงทำให้กระแสตัวพยาภัยคงไหลทิ้งอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองสารเคมีโดยเปล่าประโยชน์

เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงได้นำหลักการฉีดแบบไฮโดรไดนามิกอินเจกชัน (hydrodynamic injection, HI) มาประยุกต์ใช้กับการ

วิเคราะห์แบบ FIA และพัฒนาเป็นระบบไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจกชัน (hydrodynamic flow injection, HFI) ขึ้น โดยหลักการฉีดสารแบบ HI ซึ่งอธิบายดังรูปที่ 1 คือ ขณะที่กระแสของตัวพยาภัยในห้องดูดน้ำลง จะเกิดความดันภายในห้องที่เรียกว่าความดันไฮดรัสติก (hydrostatic pressure) ขึ้น จึงทำให้สามารถฉีดสารตัวอย่างด้วยแรงดันไฮโดรไดนามิกแทรกผ่านเข้าทางห้องปะยีเปิดที่แยกต่างหากอีกทาง (ดังตำแหน่ง A ในรูปที่ 1) ซึ่งการที่สารตัวอย่างสามารถไหลแทรกเข้าไปในห้องได้นี้ อาศัยความแตกต่างของความดันทั้งสองของสารละลายสองชนิดภายในห้อง การฉีดสารจะทำโดยปราศจากอุปกรณ์สำหรับฉีดสาร เช่น วาล์วฉีดสารที่ใช้ทั่วไปในระบบ FIA สารตัวอย่างที่ฉีดจะถูกขังในห้องในช่วงที่ทราบความยาวแน่นอน จึงทำให้ทราบปริมาตรที่แน่นอนของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปได้ด้วย ซึ่งคำนวณจากสูตร คือ ปริมาตร = $\pi r^2 L$ [2,3]

ธาตุเหล็กในดินจัดเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง กระบวนการหายใจ และการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของพืช โดยหากพืชขาดธาตุเหล็ก จะทำให้เกิดอาการใบดำ [4] สำหรับในไทย หากมีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำ และสิ่มชีวิตในน้ำ นอกจากนี้ หากมีการนำน้ำไปใช้ในการบริโภคจะส่งผลกระทบต่อมนุษย์ได้ เนื่องจากในไทรที่สามารถเปลี่ยนเป็นสารประกอบในโทรศัมพัน



รูปที่ 1 หลักการฉีดสารแบบไฮโดรไดนามิก : (ก)สารตัวอย่างถูกฉีดผ่านเข้าสู่ท่อที่ทราบความยาว (L) และรักษาภัยในท่อ (r) ที่แน่นอนขณะที่กระแสตัวพานหุดไหลด้วยแรงดันไฮโดรสแตติก และ (ข) สารตัวอย่างถูกผลักด้วยกระแสของตัวพานในขณะที่สารตัวอย่างที่ตำแหน่ง A จะหยุดนิ่งด้วยแรงดันไฮโดรสแตติก

ซึ่งจัดเป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่ง [5] ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ทำปริมาณเหล็กและในไทรท์จึงช่วยในการประเมินคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อมได้ มีรายงานวิจัยจำนวนมากที่กล่าวถึงการวิเคราะห์ธาตุเหล็กและในไทรท์โดยอาศัยเทคนิค FIA [5-7] ดังที่กล่าวไปก่อนหน้านี้แล้วว่า แม้ FIA เป็นวิธีที่ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ราคาไม่สูงและไม่ซับซ้อนมากนัก แต่ในขั้นตอนของการฉีดสารนับว่ายังเกิดความลื้นเบื่องสารเคมี นอกจากนี้ แม้ว่ามีรายงานการใช้เทคนิคการไฮโลแบบซีเคนเซียล อินเจกชันอนาลิซิส (sequential injection analysis, SIA) [8,9] ซึ่งจัดเป็นวิธีที่ประยุกต์สารเคมีและอัดโน้มตัวกว่า FIA โดยนำวิธีนี้มาใช้วิเคราะห์เหล็กและในไทรท์แต่อุปกรณ์ที่ใช้มักมีราคาสูงและซับซ้อนขึ้น

ระบบ HFI ที่พัฒนาขึ้นได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ทดสอบวิเคราะห์ตัวอย่างจริง โดยในการทดลองนี้ได้ทำปริมาณเหล็กรวม (total iron, ปริมาณรวมของธาตุเหล็กเลขออกซิเดชัน +2 และ +3) ในตัวอย่างตินิ ด้วยปฏิกิริยา 1,10-phenanthroline ซึ่งวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 510 nm [9] และหาปริมาณในไทรท์ไอกอน (nitrite ion, NO_2^-) ในตัวอย่างน้ำเสียด้วยปฏิกิริยา Griess ซึ่งวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 540 nm [10] สัญญาณการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะแสดงออกมาในรูปของพีค (peak) ซึ่งเป็นพีคชันกับเวลา

ด้วยเหตุผลเหล่านี้ จึงช่วยให้ระบบที่ออกแบบขึ้นสามารถลดปริมาณการใช้สารตัวพานอย่างเนื่องจากกระแสของตัวพานจะหยุดขณะฉีดสาร และลดการใช้อุปกรณ์สำหรับฉีดสารซึ่งมีราคาสูงลง นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังได้นำอุปกรณ์ที่หาจ่ายและราคาถูกได้แก่ วาล์วสามทางและเข็มฉีดยาที่ใช้ทั่วไปทางการแพทย์มาใช้ในระบบที่ออกแบบขึ้น สำหรับกรณีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสีย ผู้วิจัยได้ออกแบบระบบให้สามารถนำตัวกรองขนาด $0.45 \mu\text{m}$ ประกอบเข้าและถอดออกจากระบบได้ง่ายเพื่อใช้สำหรับกรองตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บมาและสามารถฉีดเข้าสู่ระบบได้ทันที ตัวอย่างที่ถูกกรองแล้วจะไหลเข้าสู่ระบบด้วยหลักการฉีดแบบไฮโดรไดนามิก ระบบนี้จึงสามารถลดค่าใช้จ่ายของเครื่องมือ ลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ และลดเวลาในการขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างลงได้ เนื่องจากเป็นการกรองตัวอย่างแบบออนไลน์

2. อุปกรณ์และวิธีการ

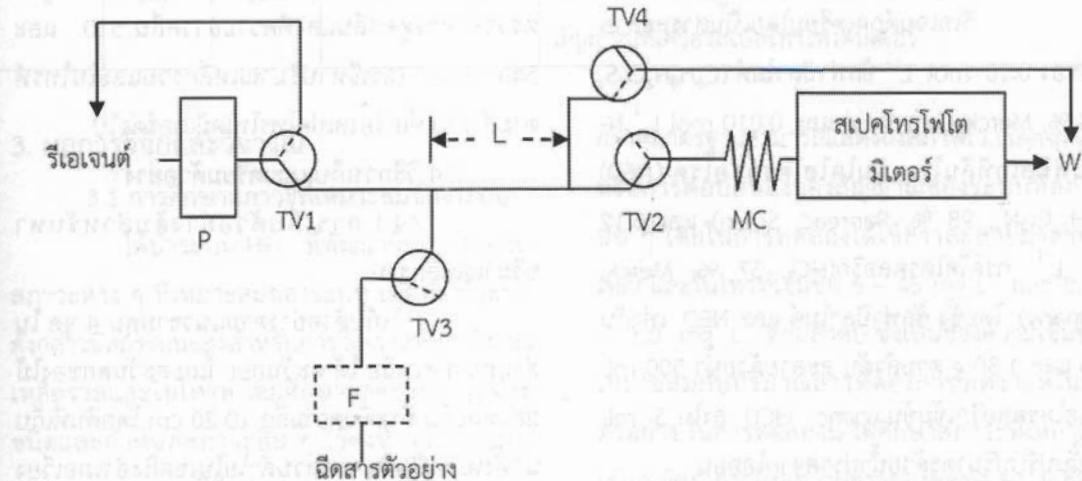
2.1 อุปกรณ์และระบบ HFI

รูปที่ 2 แสดงถึงระบบ HFI ที่ถูกพัฒนาขึ้น ซึ่งประกอบด้วยปั๊มเพอริสตัลติก (peristaltic pump, Ismatec, USA) และเครื่องยูวี-วีสิเบิล สเปค



โฟร์ฟอโตมิเตอร์ (UV-VIS spectrophotometer, Shimadzu UV1600, Japan) โดยนำหัวพลาสติก PTFE (PTFE tube, เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.03 นิ้ว) มาใช้ทั้งระบบเพื่อให้สารเคมีไหลภายใน ยกเว้นหัวที่ใช้กับปั๊มเพอร์ริสตัลติกเป็นหัวไถกอน (tygon tube) และได้ใช้วาล์วสามทาง (three-way stopcock) แบบราคากูก (วาล์วที่ใช้กับถุงน้ำเกลือใน

โรงพยาบาล) มาใช้เพื่อควบคุมทิศทางการไหลของสารเคมีภายในหัว โดยสารจะถ่ายมาตราฐานและ/หรือสารตัวอย่างถูกฉีดเข้าสู่ระบบโดยใช้เข็มฉีดยาแบบธรรมดานาด 10 mL (hypodermic needle) กรณีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจะเพิ่มตัวกรองขนาด 0.45 μm (Sartorius, Germany) เพื่อกรองตัวอย่างแบบออนไลน์



รูปที่ 2 ระบบไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจคชัน : TV1-TV4 = วาล์วสามทางหมายเลข 1-4, P = ปั๊มเพอร์ริสตัลติก, F = ตัวกรองขนาด 0.45 μm (เฉพาะกรณีวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ), MC = ขดต่อยาว 120 และ 190 cm, L = ความยาวของท่อบรรจุสารตัวอย่าง (4 cm และปริมาตรภายใน = 20 μL), W = สารละลายเหลือทิ้ง (waste)

2.2 สารเคมี

น้ำปราศจากไออกอน (Milipore, Mili-Q & Elix 10) ถูกนำมาใช้เตรียมสารละลายตลอดการทดลอง สารเคมีที่ใช้เป็นสารเคมีเกรดงานวิเคราะห์ (AR grade)

2.2.1 สารเคมีสำหรับการหาปริมาณเหล็ก

รีอเจนต์ที่ใช้เป็นสารละลายผสมของ 0.25 % w/v 1,10-ฟีแนนโพรลีน และ 0.5 % w/v กรดแอกโซร์บิก ซึ่งเตรียมโดยซึ่ง 1,10-ฟีแนนโพรลีน ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{H}_2\text{O}$, RFCL Limited, India) และกรด

แอกโซร์บิก ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, Fisher Scientific UK Limited) 1.25 และ 2.50 g ตามลำดับ ทำเป็นสารละลายโดยใช้บัฟเฟอร์แอซิเตต pH 4.2 ปรับปริมาตรเป็น 500 mL

สารละลายมาตราฐานเหล็ก (Fe^{3+}) เช่นเดียวกัน 500 mg L^{-1} เตรียมโดยซึ่งแอมโนเนียมเพอร์ริกซัลเฟต ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, Ajax Finechem, Australia) 0.432 g ทำเป็นสารละลายโดยใช้บัฟเฟอร์แอซิเตต pH 4.2 ปรับปริมาตรเป็น 100 mL

สารละลายน้ำฟเฟอร์อะซิตेट เตรียมได้จากการละลายแอมโมเนียมอะซิตेट ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$, Fisher Scientific UK Limited) 7.95 g ด้วยน้ำ 100 mL เติมกรดอะซิติก (CH_3COOH , Merck, Germany) จน pH สารละลายน้ำ 4.2 หลังจากนั้นปรับปริมาตรสารละลายน้ำเป็น 1000 mL ด้วยน้ำปราศจากไออกอน

2.2.2 สารเคมีสำหรับการหาปริมาณในไทรท์

รีอเจนต์ถูกเตรียมโดยเป็นสารละลายน้ำของ 0.10 mol L⁻¹ ชัลฟานิลามีด ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$, 99.7 %, Merck, Germany) และ 0.010 mol L⁻¹ N-1-แนพทิลเอทิลีนไดเอเมินไดไฮโดรคลอโรริด (NED) ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$, 98 %, Panreac, Spain) และ 0.12 mol L⁻¹ กรดไฮโดรคลอริก(HCl, 37 %, Merck, Germany) โดยชั้ง ชัลฟานิลามีด และ NED เท่ากับ 8.65 และ 1.30 g ตามลำดับ ละลายด้วยน้ำ 500 mL เติมไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ลงไป 5 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไออกอน

สารละลายน้ำมาตรฐานในไทรท์เข้มข้น 100 mg L⁻¹ ซึ่งเตรียมโดยชั้งโดยใช้เดย์มในไทรท์ (NaNO_2 , 99 %, Merck, Germany) 0.015 g ทำเป็นสารละลายน้ำโดยปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไออกอน เป็น 100 mL

2.3 วิธีการปฏิบัติงานของระบบ HFI

จากระบบที่พัฒนาขึ้นดังรูปที่ 2 ขั้นตอนการปฏิบัติงานได้ถูกสรุปไว้ในตารางที่ 1 ซึ่งสามารถอธิบายคร่าวๆ ดังนี้ ปั๊มเพอร์วิสตัลลิติกจะผลักสารรีอเจนต์เข้าสู่ระบบโดยผ่านทางวาล์วสามทางหมายเลข 1 (TV1) (ເແນ້ນທີບໃນຮູບປາລົວ หมายถึง เปิดและเส้นประ หมายถึง ปิด) เมื่อต้องการฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ วาล์ว TV1 และ TV2 จะถูกปิด และเปิดวาล์ว TV3 และ TV4 รีอเจนต์จะไหลวนทำให้ประยัดสารเคมี ขณะเดียวกันสารตัวอย่างจะถูกฉีดโดยเข้มฉีด

ยาเข้าสู่ระบบด้วยแรงดันไฮโดรไดนามิก (กรณีวิเคราะห์น้ำจะฉีดผ่านตัวกรอง) ทำให้ได้ปริมาตรของสารตัวอย่างที่แน่นอน (20 μL) ที่ถูกซั่งในท่อขนาดเล็กที่มีความยาว 4 cm (L) จากนั้นเปิดวาล์ว TV1 กับ TV2 และปิดวาล์ว TV3 กับ TV4 รีอเจนต์จะไหลไปชาร์ตัวอย่างเพื่อเกิดปฏิกิริยาในส่วนของท่อที่มีความยาว 120 และ 190 cm (กรณีหาปริมาณเหล็กและไนไทรท์ตามลำดับ) สารผลิตภัณฑ์ที่มีสีที่เกิดขึ้นจะถูกตรวจสอบค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 และ 540 nm (กรณีหาปริมาณเหล็กรวมและไนไทรท์ตามลำดับ) ที่เครื่องสเปกโตรโฟโตเมตรีเทอร์ต่อไป

2.4 วิธีการเก็บและเตรียมตัวอย่าง

2.4.1 การเก็บตัวอย่างดินสำหรับหาปริมาณเหล็กรวม

เก็บตัวอย่างตามแนวชายฝั่ง 4 จุด ในตำแหน่งทิศเหนือ ใต้ ตะวันออก และตะวันตกของแม่น้ำแต่ละต้น ที่ระดับความลึก 10-20 cm โดยดินที่เก็บมาทั้งหมดเป็นดินจากส่วนล้ำไนเขตกิ่งอำเภอเวียงหนองล่อง จังหวัดลำพูน หลังจากนั้นนำดินที่ได้มาหากลายให้แห้ง แล้วนำไปบด เพื่อสำหรับการเตรียมตัวอย่างโดยชั้งดิน 20 g เติมสารละลายน้ำฟเฟอร์อะซิตะ pH 3 ปริมาตร 100 mL เข้าไปเป็นเวลา 30 นาทีกรองโดยใช้กระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 5) ล้างด้วยบัฟเฟอร์อะซิตะ pH 3 จำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 50 mL สารละลายน้ำที่ได้จากการกรองจะถูกระบายน้ำให้เหลือปริมาณ 10 mL และเติมกรดกัดทอง (aqua regia) 8 mL เพื่อไลสารอินทรีย์ต่าง ๆ ระเหยต่อจนเกือบแห้ง เติม 1 mol L⁻¹ HCl 0.8 mL ลงในตะกอนที่ได้ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไออกอนให้ครบ 100 mL [11]

2.4.2 การเก็บตัวอย่างน้ำเสียสำหรับหาปริมาณในไทรท์

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำเสีย จากแหล่งชุมชนในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บ



รักษาในขวดพลาสติก เติมกรด conc. HNO₃ ให้มี pH น้อยกว่า 2 และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างภายใน 24

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการปฏิบัติงานของระบบ HFI

ขั้นที่	วาร์ล์				คำอธิบาย
	TV1	TV2	TV3	TV4	
1	ปิด	ปิด	เปิด	เปิด	ฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ
2	เปิด	เปิด	ปิด	ปิด	สารตัวอย่างทำปฏิกิริยา กับรีเอเจนต์ใน ขดห่อ แล้วตรวจวัด สัญญาณที่เครื่องสเปค troflo™ metter

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ

ได้นำระบบ HFI ที่พัฒนาขึ้นมาศึกษาหา สภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมของระบบ เพื่อทำให้ระบบ ดังกล่าวมีสมรรถนะสูงสำหรับการวิเคราะห์หน้าเบริมาน เหล็กรวมและในไทรท์ โดยศึกษาผลของสภาวะที่จะ ชนิดและกำหนดสภาวะอื่น ๆ ไว้คงที่ (univariated variable) สภาวะที่ศึกษาประกอบด้วยอัตราการไหล (flow rate) ความยาวของขดห่อ และความเข้มข้นของ รีเอเจนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์เหล็กรวมและในไทรท์ ตามลำดับ

ตัวอย่างวิธีการศึกษา เช่น ในขั้นตอนการ หาอัตราการไหลที่เหมาะสม ได้เริ่มจากการกำหนดว่า ต้องการศึกษาอัตราการไหลที่ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL min⁻¹ และกำหนดสภาวะอื่น ๆ ไว้คงที่ที่แต่ละค่าของ อัตราการไหลที่ต้องการศึกษา ให้อีดสามารถฐานทุก ความเข้มข้นที่เตรียมไว้เข้าสู่ระบบ HFI หลังจากนั้น สร้างกราฟมาตรฐานซึ่งพล็อตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำมารฐาน (แกน x) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) ที่แต่ละค่าของอัตราการไหลดังที่กล่าวไปก่อน หน้านี้ เพื่อว่าที่อัตราการไหลเท่าใดจะให้ค่าความชัน ของกราฟมาตรฐานสูงที่สุด (ดูจากสมการเส้นตรงของ กราฟมาตรฐาน, $y = mx + c$) เนื่องจากความชันของ

กราฟมาตรฐานสามารถแสดงถึงส่วนไฟ (sensitivity) หรือการตอบสนองของสัญญาณของระบบที่สภาวะ นั้น ๆ โดยในการทดลองได้ใช้สารละลายน้ำมารฐาน เหล็กและในไทรท์เข้มข้น 5 – 45 mg L⁻¹ และ 0.050 – 1.0 mg L⁻¹ ตามลำดับ ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่ เหมาะสมกับปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ในสาร ตัวอย่าง ในการทดลองนี้ ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม “ได้แก่ อัตราการไหลความยาวของขดห่อ ความเข้มข้น ของรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์เหล็กรวม และความ เข้มข้นของรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ในไทรท์ จากผล การทดลองที่สภาวะต่าง ๆ ได้ค่าดังแสดงในตารางที่ 2

จากการศึกษาอัตราการไหลซึ่งมีผลต่อการ ผสมกันระหว่างรีเอเจนต์และสารตัวอย่างเพื่อ เกิดปฏิกิริยาและความถี่ในการวิเคราะห์ พบร่วมกับความ ชันของกราฟมาตรฐานจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหล สูงขึ้น แต่หากอัตราการไหลสูงมากไปจะทำให้เกิด สัญญาณรบกวน (noise signal) ขณะวัดค่าการ ดูดกลืนแสงได้ จึงเลือกใช้ที่ 1.0 และ 1.5 mL min⁻¹ สำหรับการวิเคราะห์เหล็กรวมและในไทรท์ ตามลำดับ

สภาวะต่อมาคือการศึกษาความยาวของขดห่อ โดยความยาวของขดห่อที่แตกต่างกันมีผลต่อการ เกิดปฏิกิริยากันของรีเอเจนต์กับสารตัวอย่าง กล่าวคือ หากมีความยาวนานอย่างเกินไป การเกิดปฏิกิริยาอาจไม่ดี

เท่าที่ควร แต่หากใช้ความพยายามมากเกินไปจะส่งผลให้สิ้นเปลืองสารเคมีและเวลาในการวิเคราะห์มากขึ้น ใน การศึกษาพื้นที่พบว่าความยาวขดท่อที่เหมาะสมเท่ากับ

120 และ 190 cm สำหรับการวิเคราะห์เหล็กรวมและในไทรท์ ตามลำดับ

ตารางที่ 2 สภาวะที่เหมาะสมของระบบ HFI

สภาวะที่ศึกษา	ช่วงค่าสภาวะที่ศึกษา		สภาวะที่เหมาะสม	
	วิเคราะห์เหล็กรวม	วิเคราะห์ไนไทรท์	วิเคราะห์เหล็กรวม	วิเคราะห์ไนไทรท์
อัตราการไหล	0.5-3.0 mL min ⁻¹	0.5-2.0 mL min ⁻¹	1.0 mL min ⁻¹	1.5 mL min ⁻¹
ความยาวของขดท่อ	50-230 cm	50-230 cm	120 cm	190 cm
ความเข้มข้นของรีเอเจนต์				
สำหรับวิเคราะห์เหล็ก				
- 1,10-ฟีแนนไทรลีน	0.05-1.5 % w/v	-	0.25 % w/v	-
- กรดแอกซ์โคร์บิก	0.1-2.0 % w/v	-	0.5 % w/v	-
ความเข้มข้นของรีเอเจนต์				
สำหรับวิเคราะห์ไนไทรท์				
- ชัลฟานิลามีด์	-	0.010-0.25 mol L ⁻¹	-	0.10 mol L ⁻¹
- NED	-	0.0010-0.10 mol L ⁻¹	-	0.010 mol L ⁻¹
- HCl	-	0.0050-0.20 mol L ⁻¹	-	0.050 mol L ⁻¹

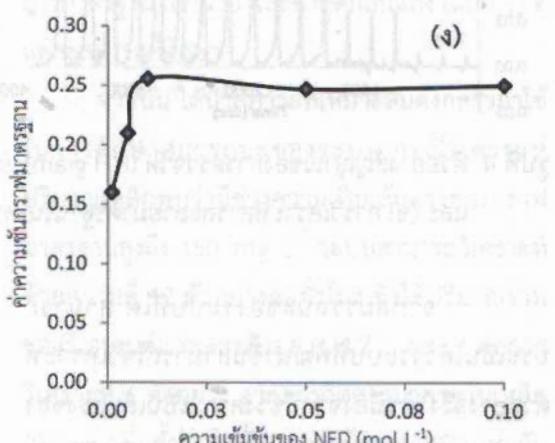
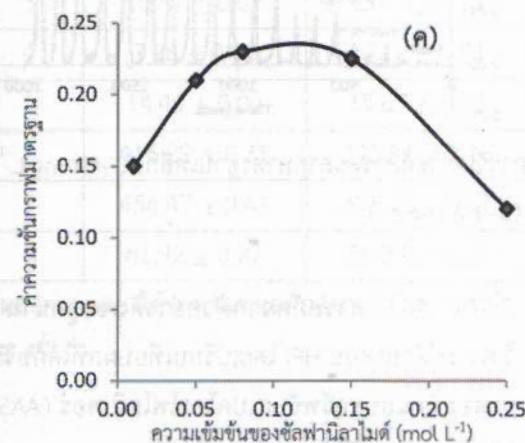
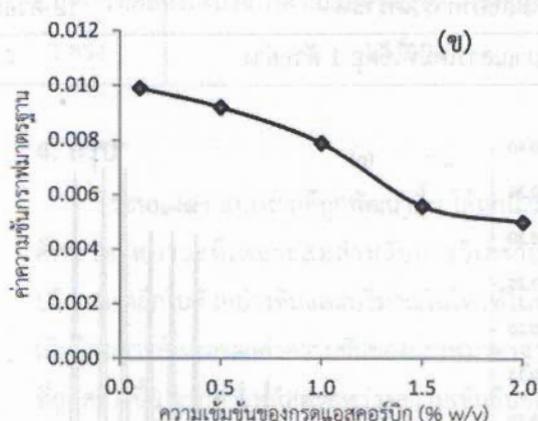
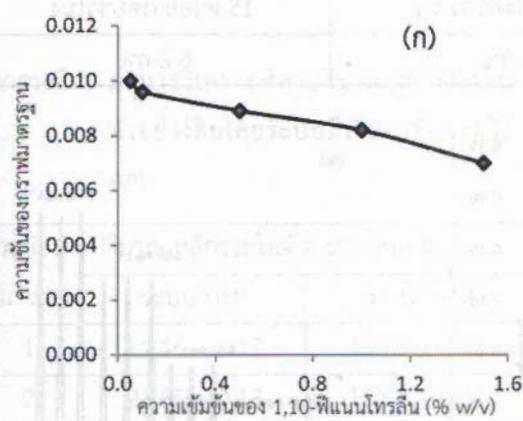
สภาวะสุดท้ายที่ศึกษาคือความเข้มข้นของรีเอเจนต์ โดยในการหาปริมาณเหล็กได้ใช้รีเอเจนต์คือ 1,10-ฟีแนนไทรลีน เป็นรีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดสี (chromogenic reagent) ซึ่งพบร่วมกับความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.25 % w/v โดยหากใช้ความเข้มข้นสูงกว่านี้ จะส่งผลต่อการเกิดสัญญาณรบกวนและสิ้นเปลืองสารเคมี และความเข้มข้นของกราฟมาตรฐานมีแนวโน้มลดลงดังรูป 3g นอกจากนี้ ได้ศึกษาความเข้มข้นของตัวเรติวช์ โดยได้เลือกใช้กรดแอกซ์โคร์บิก สำหรับเป็นตัวเรติวช์ธาตุเหล็กจากเลขออกซิเดชัน +3 เป็น +2 เนื่องจากมีราคาถูกและปลอดภัยมากกว่าการใช้ SnCl_2 [12] และ hydroxylamine [13] สาเหตุที่ต้องใช้ตัวเรติวช์ เพราะในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง

1,10-ฟีแนนไทรลีนกับธาตุเหล็กนั้น จะเกิดได้เฉพาะกับธาตุเหล็กที่มีเลขออกซิเดชัน +2 (ferrous ion, Fe^{2+}) แต่ในขณะที่สารมาตรฐานที่เตรียมขึ้นได้ใช้ ferric ion (Fe^{3+}) เนื่องจากมีความเสถียรมากกว่า และเป็นเลขออกซิเดชันที่มากพบมากในตัวอย่างต้น โดยในขั้นแรก ได้ศึกษาประสิทธิภาพการเรติวช์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} พบร่วมกับกรดแอกซ์โคร์บิกเข้มข้นมากกว่า 0.1 % w/v ขึ้นไป จะมีประสิทธิภาพการเรติวช์ Fe^{3+} ในช่วงความเข้มข้นที่เตรียมได้ประมาณ 100 % จึงได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของกรดแอกซ์โคร์บิกที่เหมาะสมในช่วง 0.1-2.0 % w/v จากการทดลอง ดังรูป 3h แม้ว่าความเข้มข้น 0.1 % w/v จะให้ความเข้มข้นของกราฟมาตรฐานสูงที่สุด แต่เพื่อให้แน่ใจว่าได้

ประสิทธิภาพการรีดิวช์ 100 % จึงได้เลือกใช้ความเข้มข้นที่ 0.50 % w/v ซึ่งให้ค่าความชันของกราฟมาตรฐานไม่นี่แตกต่างจาก 0.1 % w/v มากนัก

สำหรับกรณีหาระบวนในไทรท์ ได้ใช้รีเจนต์ที่ทำให้เกิดสีคือชัลฟานีลามีด และ NED ซึ่งพบว่าให้ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.10 mol L^{-1} และ 0.010 mol L^{-1} ตามลำดับ ดังแสดงในรูป 3c และ 3g ซึ่งให้ความชันของกราฟมาตรฐานสูงที่สุด และ

เนื่องจากปฏิกิริยา Griess เกิดในสภาพที่เป็นกรด จึงศึกษาความเข้มข้นของกรดที่เหมาะสม โดยจากการทดลองพบว่าหากใช้ความเข้มข้นของ HCl ต่ำกว่า 0.010 mol L^{-1} จะเกิดตะกอนของเรอเจนต์ขึ้น และความชันของกราฟมาตรฐานจะสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ HCl เพิ่มขึ้น และเริ่มคงที่ตั้งแต่ 0.10 mol L^{-1} ขึ้นไป จึงเลือกใช้กรด HCl เข้มข้น 0.12 mol L^{-1} สำหรับการทดลอง



รูปที่ 3 ผลของการเข้มข้นรีเจนต์ที่มีต่อความชันของกราฟมาตรฐาน : (ก) 1,10-ฟีแนนโทเรลีน (ข) กรดแอกซ์โซร์บิก (ค) ชัลฟานีลามีด และ (ง) NED

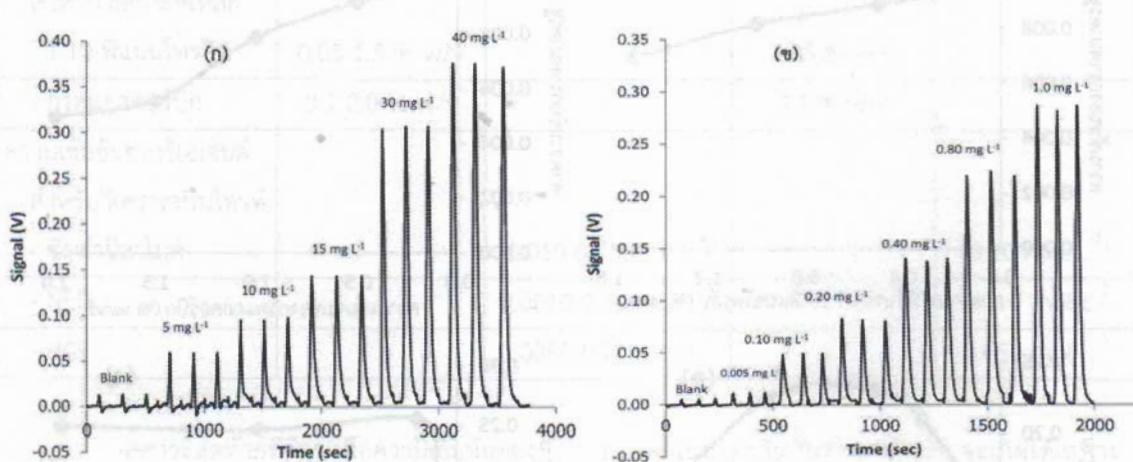
3.2 การศึกษาสมรรถนะของระบบ

นอกจากการหาสภาพที่เหมาะสมของระบบที่พัฒนาขึ้นแล้ว ได้ทำการศึกษาสมรรถนะของ

ระบบดังกล่าว โดยได้ทำการทดลองดังตารางที่ 3 และตัวอย่างสัญญาณของการตรวจวัด (HFI gram) ดังรูปที่ 4

ตารางที่ 3 สมรรถนะของระบบ HFI

สมรรถนะของระบบ HFI	ค่าที่ได้	
	วิเคราะห์เหล็กรวม	วิเคราะห์ในไทรท์
ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน	$0-150 \text{ mg L}^{-1}$	$0.005-1.0 \text{ mg L}^{-1}$
สมการเส้นตรงและ R^2	$y = 0.0094x + 0.0096$, $R^2 = 0.9954$	$y = 0.2656x + 0.0162$, $R^2 = 0.9924$
ความเที่ยงตรง (precision), % RSD	0.54 % ($n = 11$)	0.64 % ($n = 11$)
ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD)	0.07 mg L^{-1}	0.002 mg L^{-1}
ความถี่ของการวิเคราะห์	12 ตัวอย่างต่อชั่วโมง	15 ตัวอย่างต่อชั่วโมง
ปริมาณสารเคมีที่ใช้ต่อ 1 ตัวอย่าง	4.7 mL	8.2 mL



รูปที่ 4 ตัวอย่างสัญญาณของการตรวจวัด (HFI gram): (ก) การวิเคราะห์สารละลายน้ำตราชูนเหล็ก ($0-40 \text{ mg L}^{-1}$) และ (ข) การวิเคราะห์สารละลายน้ำตราชูนในไทรท์ ($0-1.0 \text{ mg L}^{-1}$)

จากสมรรถนะของระบบที่ได้ สามารถประเมินได้ว่าระบบที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจริงได้ เนื่องจากมีช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ค่อนข้างกว้าง มีความเที่ยงตรงสูง และมีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดที่ค่อนข้างต่ำ เพียงพอต่อการนำไปใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจริง

3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

3.3.1 การหาปริมาณเหล็กรวมในตัวอย่างดิน

สารสกัดจากตัวอย่างดินจะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยระบบ HFI โดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธีอะตอมนิคแอบซอร์พชันスペกโตรโฟโตเมตร (AAS) ผลการวิเคราะห์ที่ได้แสดงดังตารางที่ 4

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินในตาราง 4 เมื่อนำมาตรวจสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์โดย t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ [14] ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระบบที่พัฒนาขึ้นให้ผลสอดคล้องกับวิธี AAS



ดังนั้นระบบ HFI ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้ดี

3.3.2 การหาปริมาณในไทรที่ในน้ำเสีย ผลการวิเคราะห์น้ำเสียด้วยระบบ HFI ได้ถูกเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานซึ่งเป็นการวิเคราะห์ด้วยปฏิกิริยาเดียวกัน แต่เป็นวิธีการวิเคราะห์แบบแบบทช (batch method) [15] โดยวัดความยาวคลื่นแสงด้วยเครื่องสเปคโทรฟอโตมิเตอร์ที่ 543 nm ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กรวมในตัวอย่างดินโดยระบบที่พัฒนาขึ้นและวิธี AAS

ตัวอย่าง หมายเลข	ปริมาณเหล็กรวมในตัวอย่าง (mg Kg^{-1})	
	ระบบ HFI*	ระบบ AAS*
1	14.46 ± 0.12	15.79 ± 0.05
2	21.63 ± 0.13	15.67 ± 0.04
3	10.87 ± 0.02	13.74 ± 0.01
4	7.28 ± 0.01	10.12 ± 0.01
5	14.46 ± 0.09	15.67 ± 0.03
6	416.29 ± 0.31	345.91 ± 0.10
7	456.47 ± 0.41	375.15 ± 0.07
8	61.92 ± 0.27	80.34 ± 0.04

*ผลการทดลองได้มาจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากสองวิธีโดย t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % [14] พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระบบที่พัฒนาขึ้นให้ผลสอดคล้องกับวิธีวิธีมาตรฐานดังนั้นระบบ HFI ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียได้

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียโดยระบบ HFI เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่าง หมายเลข	ปริมาณในไทรที่ในตัวอย่าง (mg L^{-1})	
	ระบบ HFI *	วิธีมาตรฐาน*
1	0.50 ± 0.03	0.67 ± 0.01
2	0.010 ± 0.001	0.030 ± 0.000
3	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.01
4	0.87 ± 0.02	0.91 ± 0.03

*ผลการทดลองได้มาจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

4. สรุป

ระบบ HFI แบบง่ายที่ถูกพัฒนาขึ้น ได้ถูกนำมาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างดินและปริมาณในไทรที่ในน้ำเสีย โดยการสังเกตจากค่าความชันของกราฟมาตรฐานที่ถูกสร้างขึ้น จากการพล็อตระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน x) และค่าตุดกลืนแสง (แกน y) ที่แต่ละสภาวะที่ศึกษา

จากนั้น ได้นำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาสมรรถนะของระบบ กรณีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กพบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานสูงถึง 150 mg L^{-1} ระบบสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างถี่ 12 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ซึ่งใช้ปริมาณรวมของเรอเจนต์และสารตัวอย่าง 4.7 mL ต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่าง จากการฉีดสารมาตรฐานเหล็ก 25 mg L^{-1} ซ้ำ 11 ครั้ง พบร่วงได้ค่า % RSD เท่ากับ 0.54 ระบบดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างดิน โดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธี AAS พบร่วงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

นอกจากนี้ได้ใช้ระบบ HFI วิเคราะห์ในไทรที่ในน้ำเสีย โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมมาใช้ในการศึกษา

สมรรถนะของระบบ พบว่าสามารถวิเคราะห์ด้วยความถี่ 14 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ซึ่งใช้ปริมาณรีเอเจนต์ และสารตัวอย่าง 8.2 mL ต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่าง จากการฉีดสารมาตรฐานในทรรศ์ 0.050 mg L^{-1} ข้ำ 11 ครั้ง ได้ค่า % RSD เท่ากับ 0.64 % ระบบดังกล่าว ได้ถูกนำมาใช้สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียโดย เปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธีมาตรฐาน พบว่าไม่มีความ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนอุปกรณ์และ เครื่องมือจาก ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] Ruzicka, J. and Hansen, E.H., 1988, Flow Injection Analysis, 2nd Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.
- [2] Ruzicka, J. and Hansen, E.H., 1983, Recent developments in flow injection analysis: Gradient technique and hydrodynamic Injection, *Anal. Chim. Acta.* 145: 1-15.
- [3] Somnam, S., Grudpan, K. and Jakmunee, J., 2008, Hydrodynamic sequential injection spectrophotometric system for determination of manganese in soil, *Spectrosc. Lett.* 41: 211-227.
- [4] Achterberg, E.P., Holland, T.W., Bowie, A.R., Mantoura, R.C. and Worsfold, P.J., 2001, Determination of iron in seawater, *Anal. Chim. Acta.* 20: 1-14.
- [5] Monser, L., Sadok, S., Greenway, G.M., Shah, I. and Uglow, R.F., 2002, A simple simultaneous flow injection method based on phosphomolybdenum chemistry for nitrite and nitrate determinations in water and fish samples, *Talanta* 57: 511-518.
- [6] Feres, M.A. and Reis, B.F., 2005, A downsized flow set up based on multicommutation for the sequential photometric detection of iron(II)/iron(III) and nitrite/nitrate in surface water, *Talanta* 68: 422-428.
- [7] Gomes, D.M.C., Segundo, M.A., Lima, J.L.F.C. and Rangel, A.O.S.S., 2005, Spectrophotometric determination of iron and boron in soil extracts using a multi-syringe flow injection system, *Talanta* 66: 703-711.
- [8] Baeza, M., Bartroli, J. and Alonso, J., 2005, Autoadaptive sequential injection system for nitrite determination in wastewaters, *Talanta* 68: 245-252.
- [9] Tesfaldet, Z.O., van Staden J.F. and Stefan R.I., 2004, Sequential injection spectrophotometric determination of iron as Fe(II) in multi-vitamin preparations using 1,10-phenanthroline as complexing agent, *Talanta* 64: 1189-1195.
- [10] Somnam, S., Jakmunee, J., Grudpan, K., Lenghor, N. and Motomizu, S., 2008, Determination of nitrite and nitrate in water samples by an automated

- hydrodynamic sequential injection method, Anal. Sci. 24: 1599-1603.

[11] Hesse, P.R., 1971, A textbook of soil chemical analysis, John Murray, U.K., 332 p.

[12] Poe, D.P., Appen, A.D. and Wheolery, S.P., 1980, Spectrophotometric determination of iron in highly alkaline solution with 4-hydroxy-1,10-phenanthroline, Talanta 27: 368-370.

[13] Amin, A.S. and Gouda, A.A., 2008, Utility of solid-phase spectrophotometry for determination of dissolved iron(II) and iron(III) using 2,3-dichloro-6-(3-carboxy-2-hydroxy-1-naphthylazo) quinoxaline, Talanta 76: 1241-1245.

[14] สราฐิ สมนาม, 2554, เคมีเเคราะห์, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่, เชียงใหม่, 49 น.

[15] Clesceri, L.S., Greenberg, A.E. and Trussell, R.R., 1989, Standard methods for the determination of water and wastewater, 17th Ed., American Public Health Association, Washington, 4/129 p.