



การใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งและเทคนิคดิจิทัลอิมเมจโคริเมตรี สำหรับการวิเคราะห์โครเมียม (VI) ปริมาณน้อยในตัวอย่างน้ำ ปริญญ มาสวัสดิ์^{1*} และหนึ่งฤทัย ไชยวงศ์²

Solid Phase Extraction and Digital Image Colorimetric Determination of Trace Chromium (VI) in Water Sample Prinya Masawat^{1*} and Neongreuthai Chaiwong²

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

²สถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านปิโตรเลียม ปิโตรเคมี และวัสดุขั้นสูง มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok 65000

²Research Center for Academic Excellence in petroleum, petrochemicals and advanced materials, Naresuan University, Phitsanulok 65000

* Corresponding Author. E-mail address: prinyam@nu.ac.th

Received: 24 May 2016; Accepted: 13 September 2016

บทคัดย่อ

ในงานนี้ได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์โครเมียม (VI) ปริมาณน้อยในตัวอย่างน้ำจากแม่น้ำน่าน โดยเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งและเทคนิคดิจิทัลอิมเมจโคริเมตรีซึ่งใช้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีม่วงแดงที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างโครเมียม (VI) กับ 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ ผลการศึกษาพบว่ากราฟมาตรฐานจะมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดีซึ่งให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.99 ในช่วงความเข้มข้น 0.01–0.90 มิลลิกรัม/ลิตร มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด และ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ เท่ากับ 0.009 และ 0.030 มิลลิกรัม/ลิตร ได้เก็บน้ำตัวอย่างจากแม่น้ำน่านในจังหวัดพิษณุโลกมาทำการเพิ่มความเข้มข้นโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งซึ่งใช้ C18 เป็นตัวดูดซับ พบว่าการเพิ่มความเข้มข้น เท่ากับ 1.5 เมื่อนำน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มาผ่านแท่งคาร์ทริดจ์ C18 และเมื่อนำน้ำตัวอย่างที่มีการเจือจาง 2.5 เท่า มาทำการวิเคราะห์พบว่าได้ร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 82.5 % ปริมาณของโครเมียม (VI) ที่ตรวจพบโดยเทคนิคดิจิทัลอิมเมจโคริเมตรีได้นำมาเปรียบเทียบกับปริมาณของโครเมียม (VI) ที่ตรวจพบโดยเทคนิคออลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรีซึ่งผลที่ได้ไม่แตกต่างกัน และพบว่าน้ำจากแม่น้ำน่านมีปริมาณของโครเมียม (VI) ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้

คำสำคัญ: โครเมียม (VI) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง เทคนิคดิจิทัลอิมเมจโคริเมตรี

Abstract

In this work, solid phase extraction and digital image colorimetric determination of trace amount of chromium (VI) in water sample was studied. The magenta complex color was formed based on the reaction of chromium (VI) and 1,5-diphenylcarbazide. The results of validation illustrated good linearity with the squares of correlation coefficient (r^2) greater than 0.99 in the concentration ranges of 0.01–0.90 mg/L. The detection limit and quantitation limit were 0.009 and 0.030 mg/L. Water samples from Nan river in Phitsanulok province were collected and preconcentrated by C18 solid phase extraction. The enrichment factor was found to be 1.5 when passing 10 mL water sample through the C18 cartridges. Chromium (VI) in diluted water samples with the dilution factor of 2.5 was analyzed and percentage recovery was found to be 82.5%. The chromium concentrations obtained by the digital image colorimetry were compared with those obtained by UV-Vis spectrophotometry. No significant difference was found. The results also showed that the chromium concentration found in Nan river was not higher than the standard concentration limit.

Keywords: Chromium(VI), solid-phase extraction, digital image colorimetry



บทนำ

โครเมียมที่พบตามธรรมชาติส่วนใหญ่อยู่ในรูปโครเมียม (III) ถ้าสภาพแวดล้อมเปลี่ยนไป เช่น การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างหรือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้พบโครเมียม (VI) ได้ โดยโครเมียม (III) พบมากในอาหาร น้ำดื่ม และสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ เป็นธาตุที่จำเป็นต่อร่างกาย มีหน้าที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ โดยเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นพลังงาน ช่วยในกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน และคอเลสเตอรอล รักษาสมดุลของสารอินซูลินในเลือด และควบคุมปริมาณคอเลสเตอรอลในร่างกาย เปลี่ยนไขมันในร่างกายให้เป็นไขมันดี (HDL) มีการสังเคราะห์โครเมียม (III) และวางจำหน่ายเป็นอาหารเสริมสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมคอเลสเตอรอล หรือต้องการลดความอ้วน โดยทั่วไปคนเราต้องการโครเมียม (III) ในปริมาณ 200 ไมโครกรัมต่อวัน โครเมียมที่ร่างกายต้องการเป็นโครเมียมที่อยู่ในรูปโครเมียม (III) เท่านั้น ส่วนโครเมียม (VI) เป็นสารอันตรายที่จัดอยู่ในกลุ่มของสารก่อมะเร็งที่ส่งผลกระทบต่อยีน (genotoxic carcinogen) เมื่อได้รับสารดังกล่าวเป็นเวลานานจะมีโอกาสเป็นมะเร็งปอด โครงสร้างดีเอ็นเอถูกทำลายได้ง่ายมากขึ้น นอกจากนี้โครเมียม (VI) ยังถูกสั่งห้าม และจำกัดการใช้ให้มีปริมาณลดน้อยลง มีอุตสาหกรรมจำนวนมากยังคงใช้เป็นวัตถุเติมในหลายผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงมีโอกาสดังกล่าว โครเมียม (VI) จะเกิดการปนเปื้อนในน้ำ ซึ่งน้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์ โดยองค์การอนามัยโลกได้กำหนดค่ามาตรฐานในน้ำบริโภคไว้ว่า ควรมีโครเมียมไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร (World Health Organization, 1996) และ ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ไม่ควรเกิน 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร (Notification of Ministry of Science and Technology Vol. 3, 1996) ดังนั้นการวิเคราะห์หาโครเมียม (VI) ปริมาณน้อยในตัวอย่างน้ำจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อสุขภาพอนามัยของประชาชนโดยทั่วไป

เนื่องจากโครเมียมในน้ำมีปริมาณน้อย จึงต้องมีการเตรียมตัวอย่างเพื่อเพิ่มความเข้มข้นแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริกซึ่งถือว่าเป็นการวิเคราะห์ที่ได้รับความนิยมมากที่สุด โดยพบว่าผู้วิจัยต่างๆ นิยมเตรียมตัวอย่างโดยใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง

(solid phase extraction; SPE) เนื่องจากมีข้อดีที่เหนือกว่าการสกัดด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction, LLE) คือใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อยกว่า จึงลดการเกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและยังสามารถประยุกต์ใช้ต่อกับเครื่องมือตรวจวัดได้ง่าย เช่น เชื่อมต่อกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-Performance liquid Chromatography, HPLC) เป็นต้น ซึ่งตัวดูดซับนี้มีหลายชนิดด้วยกันตามแต่ความเหมาะสมในการใช้งาน และได้มีการศึกษาหาของแข็งที่จะบรรจุในแท่งหรือคอลัมน์ที่เหมาะสมที่ต่างกัน เช่น C18 (Grudpan, Worakijchoenchai, Tue-Ngeun, Sooksamiti, & Jakmune, 1996, 3-(2-aminoethylamino) propyltrimethoxysilane (AAPTS) ตรึงบนซิลิกาเจล (Suleiman, He, & Hu, 2008), Amberlite XAD-16-acetylacetone (Memonb, Bhanger, & Khuhawar, 2009) และ Zincon-Si-MNPs (Jiang, Yang, Wang, Lian, & Hub, 2013) เป็นต้น ซึ่งในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้ตัวดูดซับของแข็งชนิด C18 เนื่องจากได้รับความนิยมมากในการนำมาใช้เพื่อเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ทั้งระบบออนไลน์และออฟไลน์ และจะใช้เทคนิคดิจิทัลอิมเมจคอลอริเมตรี (Digital Image Colorimetry; DIC) ในการตรวจวัด โดยเทคนิค DIC ถือว่าเป็นเทคนิคที่เพิ่งได้รับความนิยมเมื่อไม่นานมานี้ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถประยุกต์ใช้อุปกรณ์ถ่ายภาพเช่น กล้องดิจิทัล (digital cameras) กล้องวิดีโอขนาดเล็ก (web-cam) หรือ สแกนเนอร์มือถือ (hand scanners) มาใช้เป็นตัวตรวจวัดได้โดยอาศัยภาพถ่ายดิจิทัลเป็นหลักในการพิจารณาค่าสีพื้นฐานคือ แดง เขียว น้ำเงิน (red, green, blue; RGB) (Barker, Pennarun-Thomas, Diamond, & Edwards, 2000 และ Lopez-Molinero, Linan, Sipiera, & Falcon, 2010) โดยในปัจจุบันพบว่ากล้องดิจิทัลบนโทรศัพท์มือถือเป็นอุปกรณ์ที่นิยมนำมาใช้ในเทคนิคนี้มากที่สุด (Choodum et al., 2014; Yetisen, Martinez-Hurtado, Garcia-Melendrez, Vasconcellos, & Lowe, 2014 และ Masawat, Harfield, & Namwong, 2015) และจากการค้นคว้าเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่า มีเพียงงานวิจัยเดียวที่ได้นำเทคนิค DIC มาใช้ในการหาปริมาณของโครเมียม (Firdaus et al., 2014) โดยงานวิจัยตามเอกสารอ้างอิง

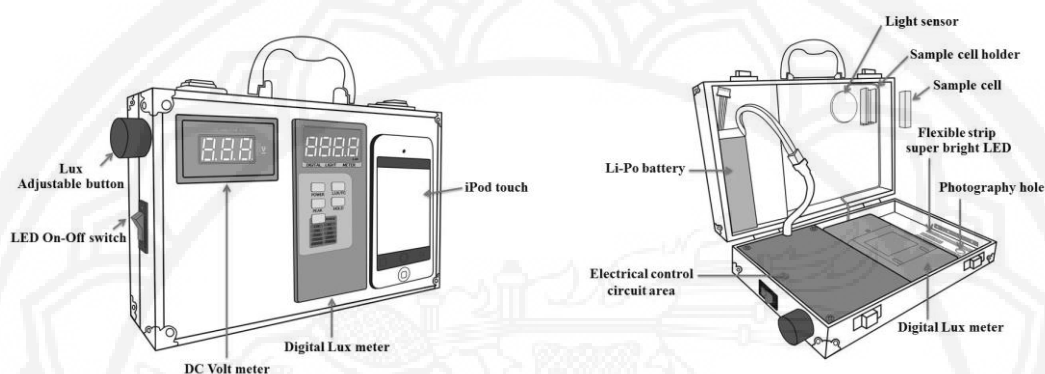
นี้ใช้กล้องดิจิทัลในการถ่ายภาพ แล้ววัดค่าสี RGB ร่วมกับการใช้โปรแกรม Matlab 7.0 ในการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณ ซึ่งความถูกต้องของวิธีนี้อ้างอิงกับเทคนิคอัลตราไวโอเล็ต-วิลเบิสเพกโตรโฟโตเมตริ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกที่จะใช้กล้องดิจิทัลบนไอพอดทัช (iPod touch) ในการถ่ายภาพสีของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม(VI) ที่ผ่านการเพิ่มความเข้มข้นด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง แล้ว

ประมวลผลค่าสีที่ได้ผ่านแอปพลิเคชันที่เขียนขึ้นเฉพาะในระบบไอโอเอส (iOS Application)

วิธีการศึกษา

1. การพัฒนาและหาสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิคดิจิทัลอิมเมจคัลเลอริเมตร

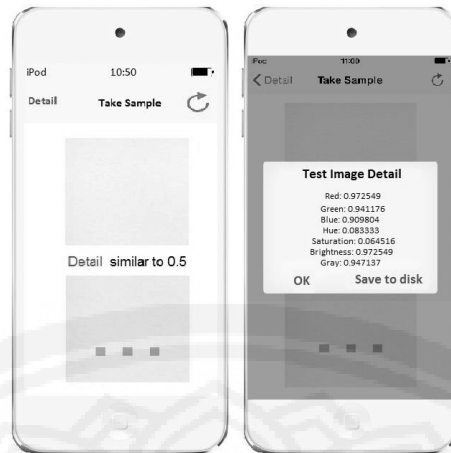
1.1 เครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอริมิเตอร์



รูปที่ 1 เครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอริมิเตอร์แบบพกพาที่อาศัยแอปพลิเคชันบนไอพอดในการประมวลผลเมื่อปิดกล่องและเปิดกล่องตามลำดับ

ตามรูปที่ 1 เป็นภาพแสดงองค์ประกอบของเครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอริมิเตอร์แบบพกพาที่อาศัยแอปพลิเคชันบนไอพอดในการประมวลผลเมื่อเปิดกล่องและเมื่อปิดกล่องตามลำดับ (อนุสิทธิบัตรเลขที่ 10386 ออกให้โดยกรมทรัพย์สินทางปัญญา ตั้งแต่ 10 กันยายน 2558 ถึง 26 ตุลาคม 2563) ซึ่งประกอบด้วย กล่องควบคุมแสง ทำจากไม้อัดขนาด 15.5 x 25.5 x 6.5 เซนติเมตร ที่ด้านนอกหุ้มด้วยแผ่นอะลูมิเนียม ส่วนด้านในบุด้วยผ้ากำมะหยี่สีดำ ทำหน้าที่ในการป้องกันแสงสว่างจากภายนอกเข้าสู่ส่วนของการตรวจวัด กล่องควบคุมแสงนี้จะครอบคลุมในส่วนของหลอดไดโอดเปล่งแสงสีขาวชนิดสว่างมากมีลักษณะการจัดเรียงเป็นแถว (flexible strip white LED) ทำหน้าที่เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่ส่องแสงสีขาวไปที่ผิวหน้าของเซลล์ใส่สารตัวอย่าง ความสว่างของแสงนี้จะควบคุมโดยวงจรควบคุมไฟซึ่งต่อเชื่อมกับสวิตช์ปิด-เปิด โดยเมื่อเปิดสวิตช์กระแสไฟฟ้าจากแบตเตอรี่ขนาด 12.6 โวลต์ จะเข้าสู่หลอดไดโอดเปล่งแสงโดยมีดิจิทัลมิเตอร์ทำหน้าที่

วัดค่าศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้กับหลอดไดโอดซึ่งจะบอกเป็นตัวเลขทศนิยมหนึ่งตำแหน่ง โดยค่าศักย์ไฟฟ้าในช่วง 12.0-12.6 โวลต์จึงจะทำให้หลอดไดโอดให้แสงสว่างคงที่ในช่วง 1200 ถึง 1300 ลักซ์ ซึ่งเหมาะสมสำหรับการถ่ายภาพเมื่อทำการวัดค่าความสว่างของแสงที่บริเวณหน้าเซลล์ใส่สารตัวอย่าง ในส่วนของเซลล์ใส่สารตัวอย่างทำมาจากพลาสติกชนิดโพลีสไตรีน ขนาด 1 x 1 x 4 เซนติเมตร ซึ่งจะถูกยึดตำแหน่งของเซลล์ให้คงที่โดยวางไว้ในที่ใส่เซลล์ใส่สารตัวอย่างที่สร้างขึ้นจากแผ่นอะคริลิคสีขาวเพื่อยึดจับเซลล์ใส่สารตัวอย่างและใช้เป็นฉากหลังของภาพที่ถ่ายโดยใช้กล้องถ่ายภาพของไอพอดทัช (iPod touch 5) โดยการควบคุมของแอปพลิเคชันที่เขียนขึ้นซึ่งจะต้องถ่ายภาพสีของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียมที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อเก็บรวบรวมค่าสีไว้ในฐานข้อมูลเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบกับสีของสารละลายตัวอย่าง หากค่าสีที่ได้ตรงกับค่าสีของโครเมียมเท่าใดในฐานข้อมูล ก็จะรายงานความเข้มข้นนั้นออกมาดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 ภาพถ่ายหน้าจอของแอปพลิเคชันบนไอพอดในการประมวลผลค่าสี

1.2 การศึกษาความสว่างของหลอด LED ที่เหมาะสม

นำสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม(VI) ความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 มิลลิกรัม/ลิตร ไปถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอดที่ความสว่างของหลอด LED ต่างกันคือที่ 300, 500, 700, 1000, 1500 และ 2000 Lux

1.3 การหาปริมาณโครเมียมโดยใช้เทคนิคดิจิทัลอิมเมจเจอร์

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานโครเมียม(VI) ให้มีความเข้มข้น 0.01 – 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร และสารละลายแบลนด์ โดยใช้ไมโครปิเปตปิเปตสารละลายมาตรฐานโครเมียม(VI) เข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 0.01 – 1.00 มิลลิลิตร และไม่เติมโครเมียม(VI) ตามลำดับลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร และเติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเมทานอล

นำสารละลายสีของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้กล้องถ่ายภาพดิจิทัลบนไอพอดซึ่งได้ลงแอปพลิเคชันที่เขียนขึ้นในระบบไอโอเอส (iOS application) ไว้แล้ว โดยแอปพลิเคชันมี 2 โหมด คือ โหมดที่ 1 ใช้สำหรับการเรียนรู้และจดจำค่าสี (Learning) ของสารละลายมาตรฐาน โดยเมื่อถ่ายภาพสีของสารละลายมาตรฐาน

แล้วจะมีการบันทึกข้อมูลค่าสีทั้ง 7 ค่าได้แก่ สีแดง (Red, R), เขียว (Green, G), น้ำเงิน (Blue, B), ค่าสีส้ม (Hue, H), ค่าความอิ่มตัวของสี (Saturation, S), ค่าความสว่าง (Brightness, V) และค่าสีเทา (Gray, Gr) ไว้ในฐานข้อมูลสี ส่วนโหมดที่ 2 ใช้สำหรับการทดสอบ (Testing) โดยจะใช้เพื่อประมวลผลค่าสีต่างๆ ของสารละลายตัวอย่างเทียบกับค่าสีของสารละลายมาตรฐานที่เก็บไว้ในฐานข้อมูลสี แล้วแปลผลค่าสีที่ได้ออกมาเป็นความเข้มข้นอีกทีหนึ่ง

1.4 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (Linear range)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับการถ่ายภาพสีของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม(VI) ที่ความเข้มข้น 0.01 – 10.0 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วนำสารละลายมาตรฐานที่ได้มาทำการถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด แล้วนำค่าความอิ่มตัวของสีในแต่ละความเข้มข้นที่ได้มาทำการสร้างกราฟเพื่อดูช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟต่อไป

1.5 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดของเครื่องมือ (Limit of Detection; LOD และ Limit of Quantitation: LOQ)

นำสารละลายมาตรฐานโครเมียมที่ความเข้มข้น 0.1 mg/L มาทำการถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด 25 ครั้ง แล้วนำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) ของค่าความอิ่มตัวของสี (Saturation) จากเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอดที่ได้มา

คำนวณค่า LOD ($3 \times SD_{\text{blank}} / \text{slope}$, $n=25$) และ LOQ ($10 \times SD_{\text{blank}} / \text{slope}$, $n=25$) (Skoog, West, Holler, & Crouch, 2004)

1.6 การศึกษาความแม่นยำของเครื่องมือ (Interday, Intraday precision)

Interday precision

ทำการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียมที่เข้มข้น 0.10 – 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร พร้อมกับการถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอดทุกวัน วันละ 1 ชุด เป็นเวลา 5 วัน แล้วนำผลที่ได้จากการประมวลค่าสี 7 ค่า มาทำการสร้างกราฟแล้วหาเส้นแนวโน้มเพื่อหาค่าความเป็นเส้นตรง (r^2) และค่าความชัน (Slope) ของค่าสีเขียวและค่าความอิ่มตัวของสีมาคำนวณหาความแม่นยำของการวิเคราะห์ (% RSD)

Intraday precision

ทำการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียมที่เข้มข้น 0.10 – 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร พร้อมกับการถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด 5 ชุดภายในวันเดียวกันแต่คนละเวลา แล้วนำผลที่ได้จากการประมวลค่าสี 7 ค่า มาทำการสร้างกราฟแล้วหาเส้นแนวโน้มเพื่อหาค่าความเป็นเส้นตรง (r^2) และค่าความชัน (Slope) ของค่าสีเขียวและค่าความอิ่มตัวของสีมาคำนวณหาความแม่นยำของการวิเคราะห์ (% RSD)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (VI) ในตัวอย่างน้ำและการเพิ่มความเข้มข้นของโครเมียม (VI)

2.1 การศึกษาการสลายตัวของสารประกอบเชิงซ้อนโครเมียม(VI)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานโครเมียม (VI) ให้มีความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร โดยไปเปิดสารละลายมาตรฐานโครเมียม(VI) เข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 0.50 และ 1.00 มิลลิลิตร ตามลำดับลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร และเติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.10 มิลลิลิตร แล้วจึงปรับปริมาตรด้วยเมทานอล

นำสารละลายมาตรฐานที่ได้ไปถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอ

พอด โดยจับเวลาหลังจากเตรียมสารละลายเสร็จและทิ้งสารไว้ที่เวลา 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 และ 240 นาที ตามลำดับ

2.2 การหาปริมาตรของน้ำตัวอย่างที่เหมาะสม

สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง มีขั้นตอนการสกัดคือ ขั้นตอน Conditioning จะใช้เมทานอล 2 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออน 2 มิลลิลิตร ตามด้วยขั้น Immobilize จะใช้ 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร แล้วตามด้วยขั้น Loading จะทำการใส่น้ำตัวอย่างที่มีโครเมียม(VI) เข้มข้น 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีการปรับเปลี่ยนปริมาตรเป็น 5, 10, 20, 30 และ 40 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.10 มิลลิลิตร และสุดท้ายขั้น Eluting จะทำการชะสารออกมาด้วยเมทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้ไปถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด

2.3 การศึกษาค่าการเพิ่มความเข้มข้น (Enrichment factor ; EF)

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ไม่ต้องผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง และชุดที่ 2 ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง โดยทำการเตรียมน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร และเติม (spiked) สารละลายมาตรฐานโครเมียมความเข้มข้น 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09 มิลลิกรัม/ลิตร โดยใช้โมโครปิเปตปิเปตสารละลายโครเมียม(VI) เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นเติมสารละลาย 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร ตามด้วยการเติมสารละลายกรดซัลฟิวริก ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร โดยสารละลายชุดที่ 1 เตรียมในขวดวัดปริมาตรปกติ ไม่ต้องผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ส่วนสารละลายชุดที่ 2 นำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ที่กล่าวไว้ข้างต้น

นำสารละลายทั้ง 2 ชุด ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร และถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด แล้วคำนวณค่า Enrichment factor ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างความชันของสมการเส้นตรงที่ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง และความชันของสมการ



เส้นตรงที่ไม่ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Fang, 1993)

2.4 การศึกษาการรบกวนเนื่องมาจากไอออนตัวอื่น

นำน้ำปราศจากไอออนมาทำการเติมสารมาตรฐานโครเมียมที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งดังสภาวะข้างต้นเพื่อใช้เป็นตัวควบคุม และนำน้ำปราศจากไอออนซึ่งเติมสารมาตรฐานโครเมียมที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร มาทำการเติมสารละลายของไอออนตัวอื่น ๆ ได้แก่ Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} และ As^{3+} ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งเช่นเดียวกัน จากนั้นนำสารละลายที่ถูกชะออกมาไปทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร และถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด

2.5 การเก็บและการเตรียมน้ำตัวอย่าง

ทำการเก็บน้ำจากแม่น้ำน่าน โดยเก็บที่บริเวณแพปลาหน้าวัดยางเอน ต.ท่าโพธิ์ อ.เมือง จ.พิษณุโลก ซึ่งน้ำตัวอย่างที่เก็บมาแล้วจะนำมาทำการวิเคราะห์ในวันเดียวกันให้เสร็จสิ้น โดยปราศจากการเติมกรดเพื่อรักษาสภาพน้ำ โดยจะนำน้ำตัวอย่างมาผ่านการกรองจำนวน 2 ครั้งด้วยกระดาษกรอง ขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วไปเติมมา 10 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วทำการเติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.10 มิลลิลิตรลงไป จากนั้นนำสารละลายไปทำการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ศึกษาไว้แล้วข้างต้น

นำสารละลายที่ถูกชะออกมาไปทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร และถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของโครเมียมในน้ำตัวอย่าง

2.6 การศึกษาร้อยละการกลับคืน (% Recovery)

ทำการศึกษาร้อยละการกลับคืน โดยการเติมสารมาตรฐานโครเมียมที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม

ต่อลิตร ลงในน้ำตัวอย่างที่เตรียมไว้ข้างต้น แล้วนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งเทียบกับน้ำตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเติมสารมาตรฐานโครเมียมแต่ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งเช่นเดียวกัน โดยทำการศึกษาควบคู่กับการหาอัตราส่วนการเจือจางที่เหมาะสม (Dilution factor) เนื่องมาจากการวิเคราะห์มีการถูกไอออนตัวอื่น ๆ รบกวน ซึ่งอัตราส่วนการเจือจางที่ทำการศึกษามี 2 อัตราส่วนด้วยกัน คือ 2.5 และ 2 เท่า

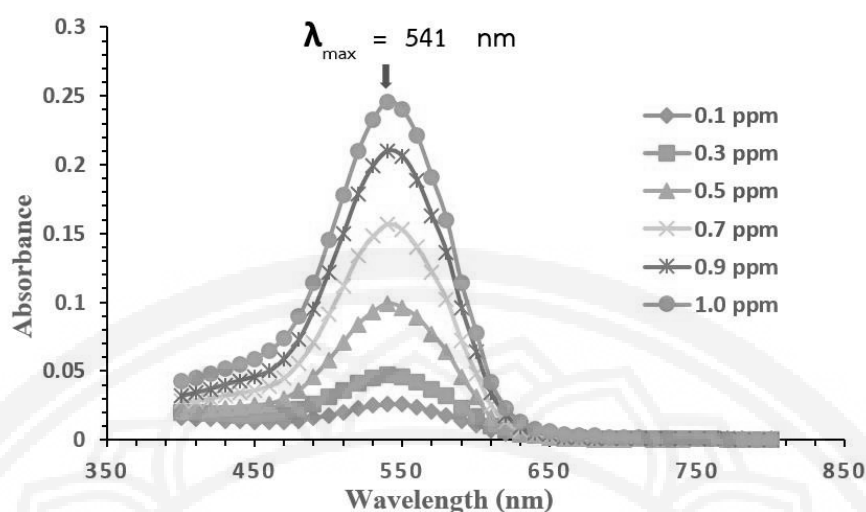
3. เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครเมียม (VI) ด้วยเทคนิคดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์และสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ทำการศึกษาค่าร้อยละการกลับคืน โดยการเติมสารมาตรฐานโครเมียม (VI) ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในน้ำตัวอย่างที่เก็บจากแม่น้ำน่านที่เตรียมไว้ข้างต้น แล้วนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งเทียบกับน้ำตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเติมสารมาตรฐานโครเมียม (VI) แต่ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งเช่นเดียวกัน โดยใช้อัตราส่วนการเจือจางเท่ากับ 2.5 จากนั้นนำสารละลายที่ถูกชะออกมาไปทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร และถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของโครเมียมในน้ำตัวอย่างและคำนวณหาการกลับคืน ซึ่งผลที่ได้จะทำการเปรียบเทียบกันโดยใช้สถิติ paired t-test

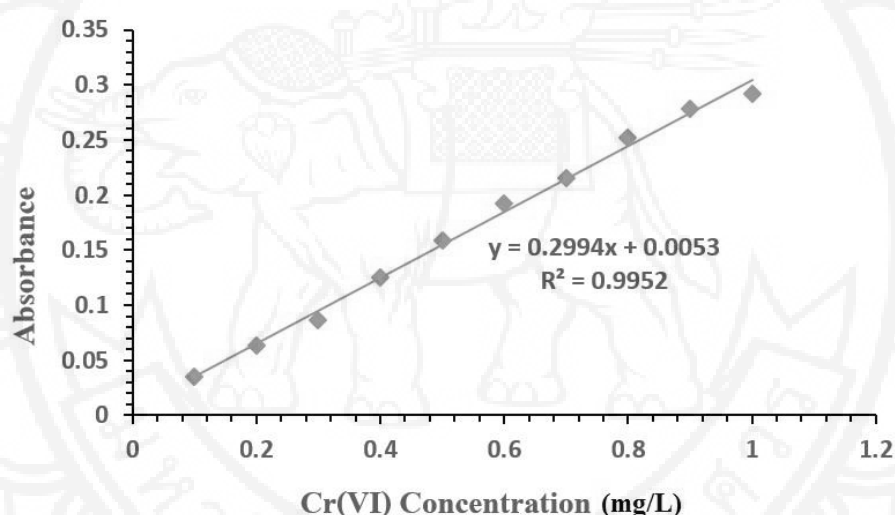
ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา

ผลการศึกษาด้วยเครื่องอัลตราไวเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เมื่อทำการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม (VI) ที่มีความเข้มข้น 0.10 - 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร และสารละลายแบลนด์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อหาความยาวคลื่นสูงสุดได้ผลดังรูปที่ 3 ซึ่งพบว่าการประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม (VI) มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร และจะใช้ค่านี้ในการหาปริมาณต่อไปซึ่งนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานได้ผลดังรูปที่ 4



รูปที่ 3 สเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม(VI) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

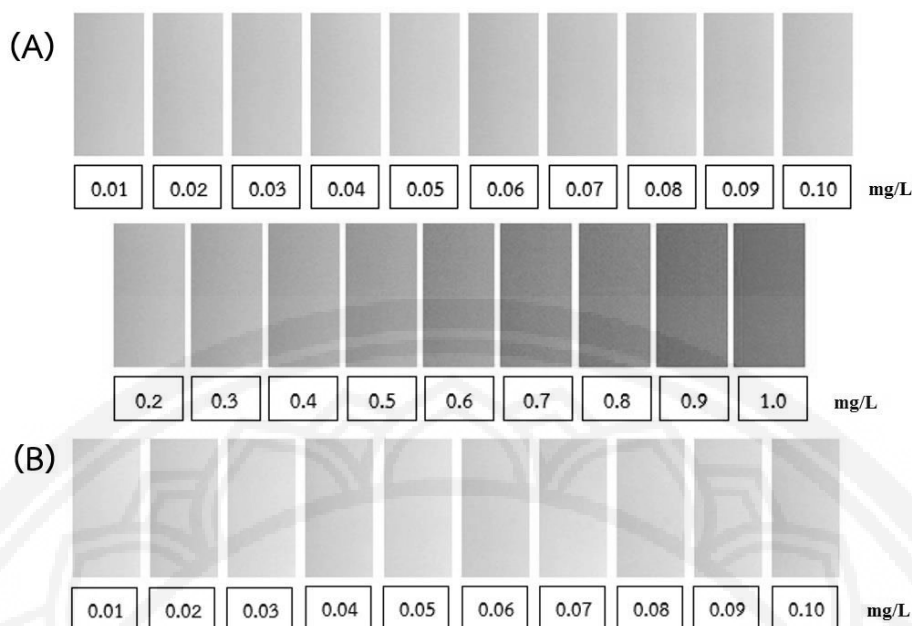


รูปที่ 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโครเมียม(VI) กับค่าการดูดกลืนแสง

ผลการศึกษาด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเซลล์เลอริ มิเตอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด

เทคนิคดิจิทัลอิมเมจเซลล์เลอริเมตรี จะใช้การถ่ายภาพ สีของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียมด้วยกล้องของไอ พอดทัช ซึ่งมีแอปพลิเคชันสำหรับการถ่ายภาพและ ประมวลผลภาพถ่ายที่ได้ โดยอาศัยการวัดค่าสีแดง เขียว น้ำเงิน ค่าสีส้ม ค่าความอิ่มตัวของสี ค่าความสว่าง และ ค่าสีเทา เพื่อแปลผลการวิเคราะห์ที่ได้ออกมาเป็นความ เข้มข้นของโครเมียมในตัวอย่างดังที่ได้อธิบายข้างต้น ซึ่ง วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ จะแปลผลได้เฉพาะสารละลายที่มีสี

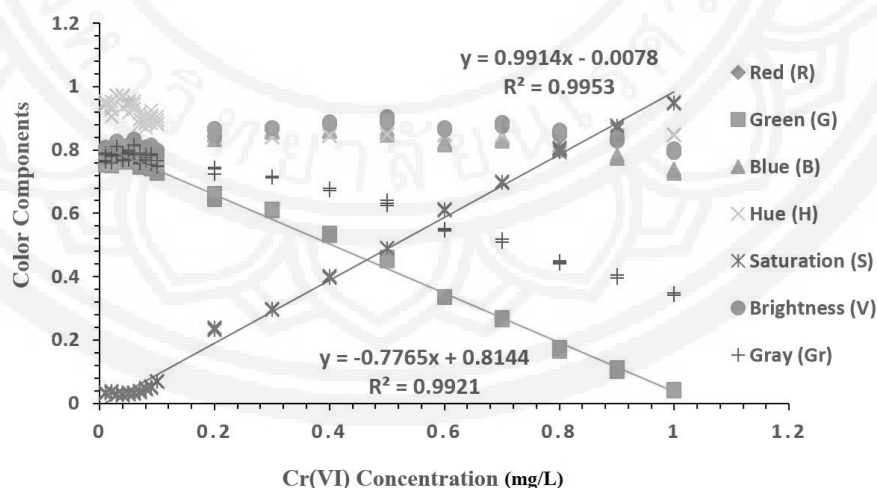
เท่านั้น จากรูปที่ 5 เป็นภาพถ่ายดิจิทัลสีของ สารประกอบเชิงซ้อนโครเมียม (VI) กับ 1,5-ไดฟีนิล คาร์บาไซด์ ในการทดลองการหาปริมาณโครเมียมที่ความ เข้มข้น 0.01 ถึง 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร แต่สารละลายที่ ความเข้มข้น 0.01-0.10 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ได้มีลักษณะ สีไม่มีสีจึงไม่สามารถแปลผลได้ดังรูปที่ 5(A) จึงนำไป ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งก่อนได้ผลดังรูปที่ 5(B) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าเทคนิคดิจิทัลอิมเมจ เซลล์เลอริเมตรี สามารถวิเคราะห์ผลได้อย่างถูกต้องตั้งแต่ ความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นต้นไป



รูปที่ 5 ภาพถ่ายดิจิทัลสีของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม (VI) ที่ไม่ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (A) ความเข้มข้น 0.01–1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และ ที่ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (B) ความเข้มข้น 0.01–0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์แบบพกพาที่ใช้ไฟฟอด

จากรูป 5(A) พบว่าที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นต้นไป สีของสารประกอบเชิงซ้อนโครเมียม (VI) มีสีม่วงแดงชัดเจนจึงไม่จำเป็นต้องนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง และเมื่อนำค่าสีทั้ง 7 ค่าที่ประมวลผลได้จากแอปพลิเคชันไปสร้างกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโครเมียม(VI) ได้ผล

ดังรูปที่ 6 ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าค่าสีเขียว แปรผกผันกับความเข้มข้นของโครเมียม(VI) ในขณะที่ค่าความอิ่มตัวของสีจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของโครเมียม(VI) แต่อย่างไรก็ตามแอปพลิเคชันจะใช้ค่าสีทุกค่าในการประมวลผลความเข้มข้นของโครเมียม(VI) ในสารละลายตัวอย่าง



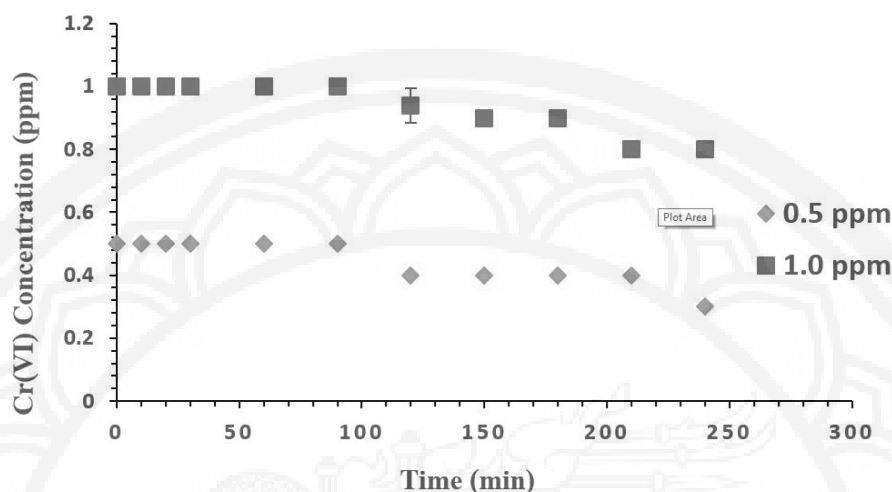
รูปที่ 6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโครเมียม (VI) กับค่าสีทั้ง 7 ค่า

ผลการศึกษาการสลายตัวของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม (VI)

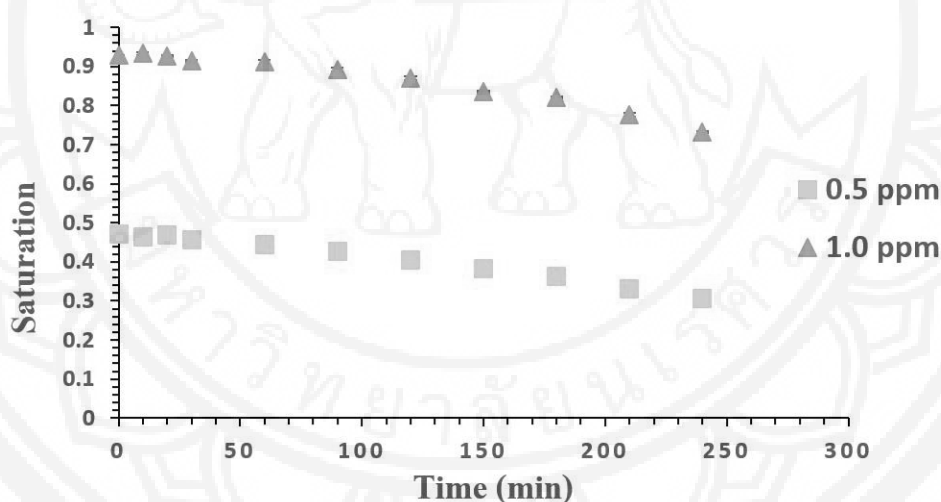
ในการศึกษาการสลายตัวของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม (VI) เมื่อนำสารละลายมาตรฐานที่ได้เตรียมไว้ข้างต้นไปถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจเจอร์

เลอริมิเตอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด ซึ่งได้จับเวลา หลังจากเตรียมสารละลายเสร็จ แล้วทิ้งสารไว้ที่เวลา 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 และ 240 นาที จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้จากแอปพลิเคชันมา

พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับความเข้มข้นของโครเมียม(VI) และเวลากับค่าความอิ่มตัวของสี ได้ผลดังรูปที่ 7 และ 8 ตามลำดับ



รูปที่ 7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับความเข้มข้นของโครเมียม (VI) ที่ตรวจสอบโดยแอปพลิเคชันบนไอพอด



รูปที่ 8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับค่าความอิ่มตัวของสีที่ตรวจสอบโดยแอปพลิเคชันบนไอพอด

เนื่องจากในเทคนิคดิจิทัลลิเมตริเลอริมิเตอร์ในงานวิจัยนี้ใช้แอปพลิเคชันในการตรวจสอบค่าสีทั้ง 7 ค่าจากรูปที่ 7 จะเห็นว่าสัญญาณคงที่และเริ่มลดลงที่เวลา 90 นาที ในขณะที่รูปที่ 8 สัญญาณเริ่มลดลงเร็วกว่าแต่แอปพลิเคชันก็ยังคงตรวจสอบว่าเป็นเจดสีของความเข้มข้นที่ศึกษา โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นนั้นจะสังเกตเห็นว่าลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเวลาผ่านไป 90 นาที

ดังนั้นจึงควรเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม(VI) แล้วนำไปวิเคราะห์ให้เสร็จภายในเวลา 90 นาที เพราะถ้าทิ้งเวลาให้มากกว่านั้นสารประกอบเชิงซ้อนมีการสลายตัวซึ่งอาจทำให้การผลการทดลองที่ได้ไม่ถูกต้อง และการสลายตัวของสารประกอบเชิงซ้อนไม่สามารถศึกษาได้ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เนื่องจากเจดสีของสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้ออกมา

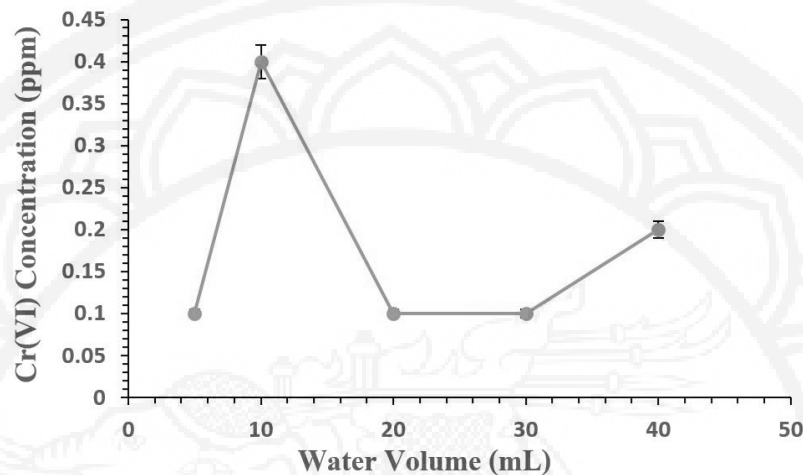


แตกต่างกันมาก อาจทำให้การวิเคราะห์เกิดความผิดพลาดได้

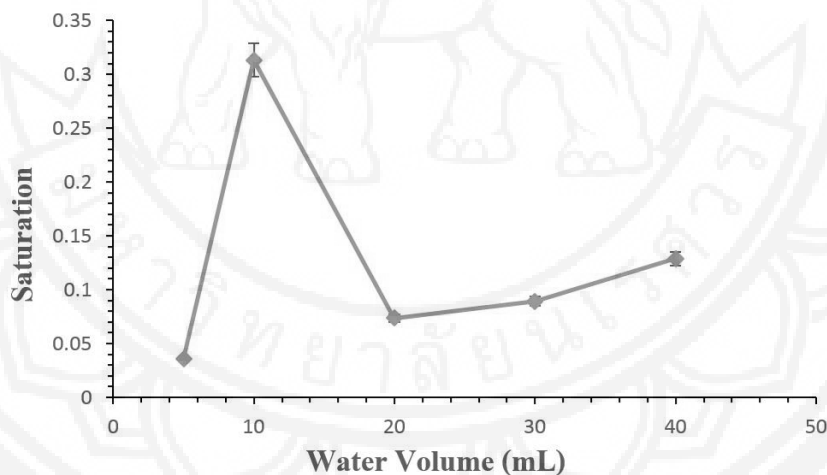
ผลการศึกษาการหาปริมาณของน้ำตัวอย่างที่เหมาะสม

ได้เตรียมน้ำตัวอย่างที่มีโครเมียม (VI) เข้มข้น 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงปริมาตรเป็น 5, 10, 20, 30 และ 40 มิลลิลิตร แล้วนำไปผ่านการสกัดด้วย

ตัวดูดซับของแข็งดังสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้ไปถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอริมิเตอร์แบบพกพา นำผลการทดลองที่ได้จากแอปพลิเคชันมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของน้ำตัวอย่างกับความเข้มข้นของโครเมียม (VI) และปริมาตรของน้ำตัวอย่างกับค่าความอิ่มตัวของสี ได้ผลดังรูปที่ 9 และ 10 ตามลำดับ



รูปที่ 9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของน้ำตัวอย่างกับความเข้มข้นของโครเมียม (VI) ที่ตรวจสอบโดยแอปพลิเคชันบนไอพอด



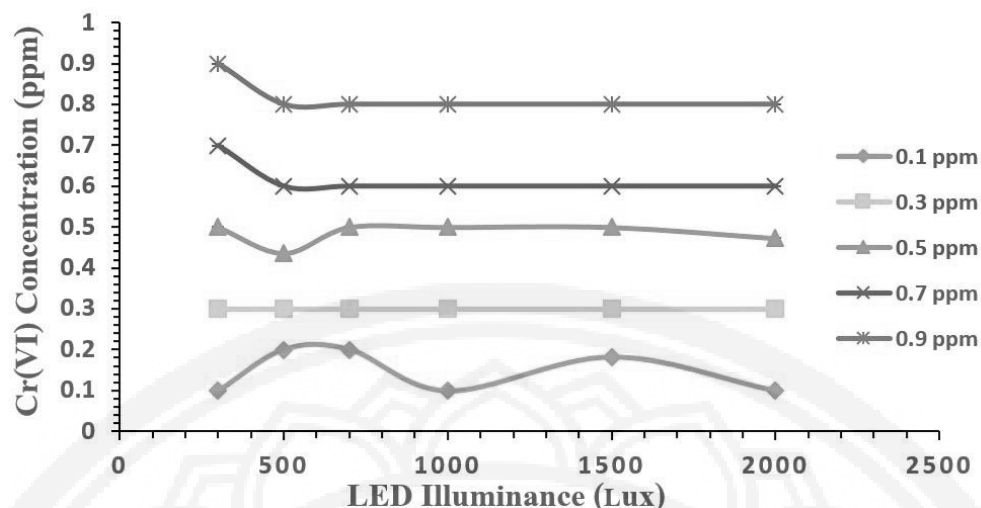
รูปที่ 10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของน้ำตัวอย่างกับค่าความอิ่มตัวของสีที่ตรวจสอบโดยแอปพลิเคชันบนไอพอด

จากรูปที่ 9 และ 10 จะเห็นได้ว่า เมื่อใช้น้ำตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมให้มีโครเมียม(VI) เข้มข้น 0.04 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถเพิ่มความเข้มข้นของโครเมียม (VI) ได้ถึง 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ 10 เท่า ส่วนค่าความอิ่มตัวของสีเริ่มต้นเท่ากับ 0.03 สามารถทำให้ค่าความอิ่มตัวของสีเพิ่มขึ้นได้ถึง 0.31 จะเห็นได้ว่าน้ำตัวอย่างปริมาตรอื่นๆ ที่สูงขึ้นสามารถเพิ่ม

ความเข้มข้นของโครเมียม (VI) ได้น้อยกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในการเตรียมตัวอย่างน้ำจากแม่น้ำน่านต่อไป

ผลการศึกษาความสว่างของแสงไฟที่เหมาะสม

ในการศึกษาความสว่างของแสงไฟดังการทดลองที่ได้อธิบายข้างต้น ได้ผลดังรูปที่ 11

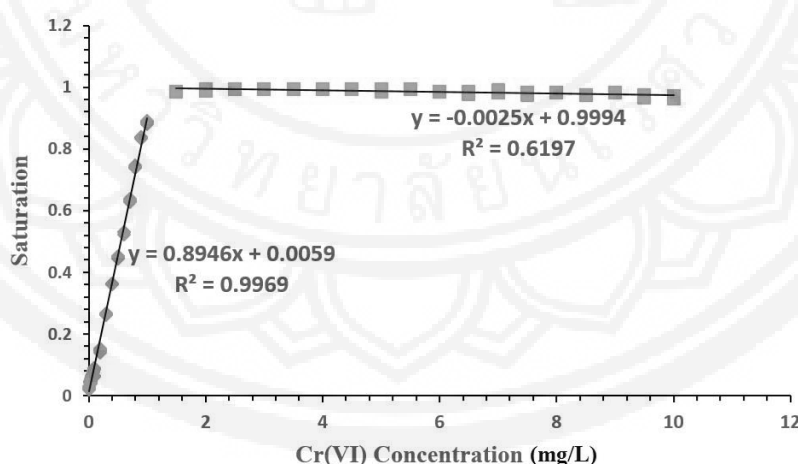


รูปที่ 11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโครเมียม (VI) กับค่าความสว่างของแสงไฟที่ Lux ต่างกันที่ตรวจสอบโดยแอปพลิเคชันบนไอพอด

จากรูปที่ 11 จะเห็นได้ว่าที่ 300, 700 และ 1000 Lux เมื่อถ่ายภาพสารละลายมาตรฐานโครเมียมที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ผลที่ได้มีความถูกต้องและมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ต่ำ ต่างจากความสว่างของไฟที่ 500, 1500 และ 2000 Lux ที่ได้ผลไม่ถูกต้องและมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสูง ดังนั้นจึงเลือกใช้ความสว่างของแสงไฟที่ 300 Lux เนื่องจากผลที่ได้มีความถูกต้องและยังยืดอายุการใช้งานของแบตเตอรี่เมื่อเทียบกับ 700 และ 1000 Lux

ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

เมื่อเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม (VI) ที่ความเข้มข้น 0.01 – 10.0 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วนำไปถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจจัลเลอริมิเตอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด จากนั้นนำค่าความอ้อมตัวของสีของแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟเพื่อดูช่วงความเป็นเส้นตรงได้ผลดังรูปที่ 12



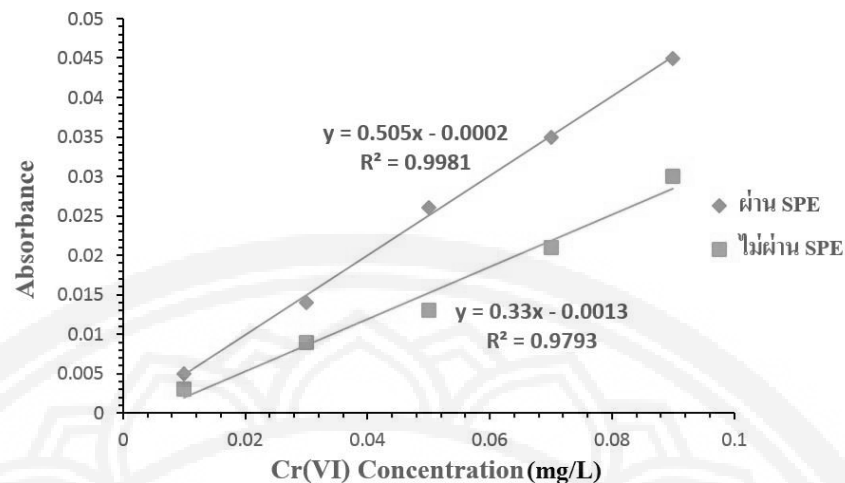
รูปที่ 12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโครเมียม (VI) กับค่าความอ้อมตัวของสีที่ตรวจสอบโดยแอปพลิเคชันบนไอพอด

จากรูปที่ 12 จะเห็นได้ว่ากราฟมาตรฐานมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.01-0.9 mg/L

มีค่า $R^2 = 0.999$ จึงเลือกใช้ช่วงความเข้มข้นนี้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณต่อไป



ผลการศึกษาค่าการเพิ่มความเข้มข้น



รูปที่ 13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโครเมียม (VI) กับค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนโครเมียม (VI) เมื่อผ่านและไม่ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งเมื่อตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

นำค่าความชันที่ได้จากรูปที่ 13 ไปคำนวณหาค่า EF
 ดังสมการ ; $EF = \frac{a_2}{a_1}$ (Fang, 1993)

a_1 = ความชันของสมการเส้นตรงที่ไม่ผ่านการสกัด
 ด้วยตัวดูดซับของแข็ง

a_2 = ความชันของสมการเส้นตรงที่ผ่านการสกัด
 ด้วยตัวดูดซับของแข็ง

พบว่าค่า EF มีค่าเท่ากับ 1.53 แสดงว่าเมื่อผ่าน
 ขั้นตอนการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งจะสามารถช่วย
 เพิ่มความเข้มข้นของโครเมียม(VI) ได้ถึง 1.5 เท่า เมื่อ
 เทียบกับไม่ผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง

**ผลการศึกษาชี้ดจำกัดที่สุดของการตรวจวัดของ
 เครื่องมือ**

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานโครเมียมที่มีความเข้มข้น
 0.1 mg/L มาทำการถ่ายภาพด้วยเครื่องดิจิทัลลิมเมจ
 คัลเลอริมิเตอร์แบบพกพาที่ใช้โฟตอน 25 ครั้ง พบว่ามี
 ค่า SD ของค่าความเข้มตัวของสีเท่ากับ 0.0028 และมี
 ค่าความชันของสมการเส้นตรงเท่ากับ 0.8946 จึงนำมา
 คำนวณหาค่า LOD และ LOQ ได้เท่ากับ 0.0093 mg/L
 และ 0.0313 mg/L ตามลำดับ

ผลการศึกษาความแม่นยำของเครื่องมือ

จากรูปที่ 6 พบว่าค่าสีเขียวและค่าความเข้มตัวของสี
 จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้นของโครเมียม
 (VI) ดังนั้นจึงนำค่าความชัน (slope) และค่าความเป็น
 เส้นตรง (r^2) มาใช้ในการพิจารณา ในส่วนของ interday
 precision ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าความเป็นเส้นตรง (r^2) และค่าความชัน (Slope) ของค่าสีเขียว และค่าความเข้มตัวของสี เมื่อทำการตรวจวัดโดยเครื่อง
 ดิจิทัลลิมเมจคัลเลอริมิเตอร์แบบพกพาที่ใช้โฟตอน เป็นเวลา 5 วัน

Day	Green		Saturation	
	r^2	Slope	r^2	Slope
1	0.9861	0.8312	0.9909	1.0099
2	0.9947	0.8547	0.9939	0.9933
3	0.9930	0.8466	0.9924	0.9862
4	0.9928	0.8403	0.9907	0.9806
5	0.9946	0.8293	0.9944	0.9820
$\bar{X}$	0.9922	0.8484	0.9925	0.9904
SD	0.0032	0.0095	0.0015	0.0107
%RSD	0.3225	1.1198	0.1511	1.0837

จากตารางที่ 1 เมื่อพิจารณาค่าสี่เหลี่ยม และค่าความ
อ้อมตัวของสี่ พบว่ามีค่า SD ต่ำกว่า 0.5 และ ค่า %RSD
ต่ำกว่า 5 เพราะฉะนั้นจะเห็นได้ว่าเครื่องที่พัฒนาขึ้นมี

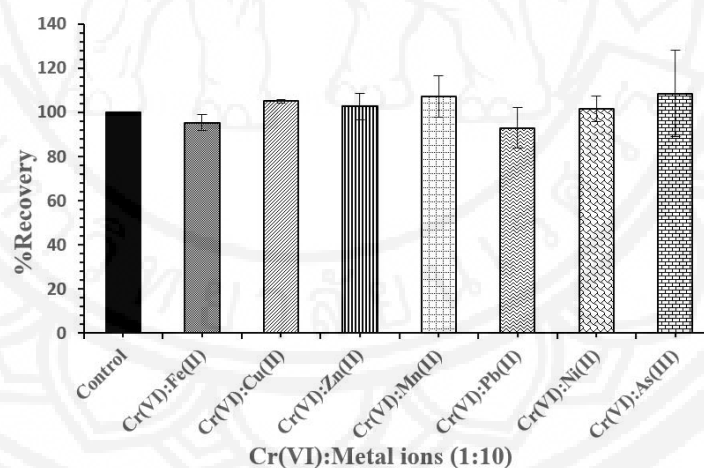
ความแม่นยำในการวิเคราะห์ดีมาก และในส่วนของ
intraday precision ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นเส้นตรง (r^2) และค่าความชัน (Slope) ของค่าสี่เหลี่ยม และค่าความอ้อมตัวของสี่ เมื่อทำการตรวจวัดโดยเครื่อง
ดิจิทัลอิมเมจคัลเลอริเตอร์แบบพกพาที่ใช้โฟตอนจำนวน 5 ครั้งในวันเดียวกัน

Time	Green		Saturation	
	r^2	Slope	r^2	Slope
9.00	0.9810	0.8197	0.9896	0.9813
10.30	0.9928	0.7475	0.9954	0.9093
12.00	0.9935	0.7822	0.9932	0.9337
13.30	0.9963	0.7418	0.9952	0.9394
15.00	0.9837	0.7719	0.9847	0.9678
$\bar{X}$	0.9895	0.7726	0.9916	0.9463
SD	0.0059	0.0279	0.0040	0.0255
%RSD	0.5963	3.6112	0.4034	2.6947

จากตารางที่ 2 เมื่อพิจารณาค่าสี่เหลี่ยม และค่าความ
อ้อมตัวของสี่ พบว่ามีค่า SD ต่ำกว่า 0.5 และ %RSD ต่ำ
กว่า 5 เพราะฉะนั้นจะเห็นได้ว่าเครื่องที่พัฒนาขึ้นมีความ
แม่นยำในการวิเคราะห์ดีมาก

ผลการศึกษาการรบกวนเนื่องมาจากไอออนตัวอื่น
จากการทดลองการรบกวนเนื่องมาจากไอออนตัวอื่น
โดยเลือกทำการเติมชนิดของไอออนที่คาดว่าจะมีการ
ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ได้ผลดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 กราฟแท่งแสดงค่าร้อยละการกลับคืนเมื่อเติมไอออนที่ต่างชนิดกัน

จากรูปที่ 14 จะเห็นได้ว่าเมื่อเติมไอออนที่ต่างชนิด
กันจะส่งผลให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่ได้ต่างกันด้วย โดย
เมื่อเติมไอออน Fe^{2+} และ Pb^{2+} ส่งผลให้ค่าร้อยละการ
กลับคืนที่ได้ต่ำกว่า 100% แต่ก็ไม่ได้ต่ำกว่า 80% และเมื่อ
เติมไอออน Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} และ As^{3+} ส่งผลให้
ค่าร้อยละการกลับคืนที่ได้มากกว่า 100 % แต่ก็ไม่ได้เกิน

120% เมื่อเทียบกับตัว Control ซึ่งไม่มีการเติมไอออน
ลงไป และจากการทดลองพบว่าการเติม As^{3+} ลงไปทำให้
SD ของการวิเคราะห์สูงกว่าการเติมไอออนชนิดอื่น ๆ
อาจเนื่องมาจากลิแกนด์สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อน
กับ As^{3+} ได้ดีกว่าจึงมีการแข่งขันแย่งจับกับโครเมียม
(VI) ส่งผลให้ความแม่นยำของการวิเคราะห์เบี่ยงเบนไป



ได้มาก แต่ก็สังเกตได้ว่าค่าร้อยละการกลับคืนที่ได้จากการรบกวนเนื่องมาจากไอออนตัวอื่นนั้นยังอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ คือ 80–120% ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า 1,5-ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ มีความจำเพาะเจาะจงกับโครเมียม (VI) จึงทำให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงน้อย

ผลของการศึกษาร้อยละการกลับคืน

จากการทดลองหาค่าร้อยละการกลับคืนในน้ำที่เก็บจากแม่น้ำน่าน พบว่าเมื่อนำน้ำตัวอย่างมาทำการเจือจาง

ในอัตราส่วนที่ต่างกันและทำการเติมสารละลายมาตรฐานโครเมียม (VI) ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/L แล้วนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง เมื่อนำสารละลายไปถ่ายภาพเครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์แบบพกพาที่ใช้ไอพอด อาจเกิดความผิดพลาดได้ เนื่องจากสารละลายไม่มีสี แต่เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ สามารถตรวจวัดได้ โดยพบว่าค่าร้อยละการกลับคืนในน้ำจากแม่น้ำน่าน ได้ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าร้อยละการกลับคืนเมื่อเติมโครเมียม (VI) เข้มข้น 0.1 mg/L ก่อนนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งของน้ำจากแม่น้ำน่านที่ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

อัตราส่วนการเจือจางที่ศึกษา (Dilution factor)	ความเข้มข้นของโครเมียม(VI) (mg/L)		ค่าร้อยละการกลับคืน (% recovery)
	Blank sample	Found	
2.5	0.02	0.13	82.5
2	0.05	0.17	72

จากตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาค่าร้อยละการกลับคืนพบว่าอัตราส่วนการเจือจางที่เหมาะสมของน้ำจากแม่น้ำน่าน คือ อัตราส่วนที่ 1 และค่าร้อยละการกลับคืนที่ได้มีค่าสูงสุดเท่ากับ 82.5 อาจเนื่องมาจากการรบกวนของไอออนตัวอื่นที่ได้ศึกษามาข้างต้น แม้จะนำน้ำตัวอย่างมาผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งแล้วก็ตาม แต่ก็แสดงให้เห็นว่าเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียมในน้ำตัวอย่างได้ในระดับดี

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (VI) ด้วยเทคนิคดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์และสเปกโตรโฟโตเมตรี

ได้ทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณโครเมียม (VI) ในน้ำตัวอย่างจากแม่น้ำน่านโดยอาศัยการศึกษาค่าร้อยละการกลับคืนเพื่อตรวจสอบความถูกต้องและแม่นยำของเทคนิคดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์กับเทคนิคมาตรฐานคือเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี ได้ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ของการหาปริมาณโครเมียม (VI) ในน้ำตัวอย่างจากแม่น้ำน่านหลังจากเติมสารมาตรฐานโครเมียม (VI) ก่อนนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งแล้วตรวจวัดด้วยเครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์และเครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (dilution factor = 2.5)

Added (mg/L)	เครื่องดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์ (n=5)		เครื่องอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (n=3)	
	Found (mg/L)	%Recovery	Found (mg/L)	%Recovery
0	0.03±0.01	–	0.02±0.01	–
0.1	0.15±0.01	90.0	0.16±0.03	105
0.2	0.30±0.01	101	0.33±0.04	116

จากตารางที่ 4 เมื่อวิเคราะห์ผลที่ได้จากการใช้เครื่องมือที่พัฒนาขึ้นกับเครื่องมือมาตรฐานโดยใช้สถิติ paired t-test พบว่าผลที่ได้จากเครื่องมือทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สรุปและวิจารณ์

การวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (VI) ในน้ำจากแม่น้ำน่านด้วยเทคนิคดิจิทัลอิมเมจคัลเลอรีมิเตอร์ร่วมกับการใช้แอปพลิเคชันบนไอพอด พบว่าสามารถหาปริมาณ

ของโครเมียม (VI) ได้โดยอาศัยการถ่ายภาพสีของสารประกอบเชิงซ้อนของโครเมียม (VI) แล้วแปลงกลับเป็นความเข้มข้นหรือใช้สมการเส้นตรงของค่าสีที่ดีที่สุดซึ่งในที่นี้สามารถใช้สมการของค่าสีเชิงเส้นและความเข้มข้นของสีมาคำนวณหาความเข้มข้นได้ จากการทดลองพบว่าโครเมียมที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร สารละลายที่ได้ออกมามีลักษณะใส ไม่มีสี จึงต้องนำไปผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งก่อนการวิเคราะห์ และพบว่าที่ความเข้มข้น 0.030 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของโครเมียม (VI) โดยเทคนิคนี้ เนื่องจากเมื่อผ่านขั้นตอนการสกัดแล้วสังเกตสีได้ชัดเจน ถ่ายภาพได้ และประมวลผลผ่านแอปพลิเคชันได้อย่างถูกต้อง เมื่อนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับเทคนิคมาตรฐานคือเทคนิคอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรีแล้วให้ผลไม่แตกต่างกัน แม้ว่าเทคนิคมาตรฐานจะให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ที่ต่ำกว่าเทคนิคที่ได้นำเสนอ แต่เวลาในการวิเคราะห์ผ่านแอปพลิเคชันจะรวดเร็วอย่างมาก และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์น้อยกว่าด้วย ดังนั้นเทคนิคดิจิทัลอิมเมจคัลเลอริเมตรีจึงถือได้ว่าเป็นเทคนิคทางเลือกหนึ่งในการวิเคราะห์หาปริมาณโครเมียม (VI)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์ทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์รวมทั้งเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้จากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยนเรศวร ปี 2558

เอกสารอ้างอิง

Byrne, L., Barker, J., Pennarun-Thomas, G., Diamond, D., & Edwards, S. (2000). Digital imaging as a detector for generic analytical measurements. *Trends Anal. Chem.*, 19(8), 517-522.

Choodum, A., Parabun, K., Klawach, N., Daeid, N.N., Kanatharana, P., & Wongniramaikul, W. (2014). Real time quantitative colourimetric test for

methampheta mine detection using digital and mobile phone technology. *Forensic Sci. Inter.*, 235, 8-13.

Fang, Z. (1993). *Flow injection separation and preconcentration*. New York: VCH Publishers.

Firdaus, M. L., Alwib, W., Trinoveldib, F., Rahayuc, I., Rahmidard, L., & Warsitoa, K. (2014). Determination of Chromium and Iron Using Digital Image-based Colorimetry. *Procedia Environ. Sci.*, 20, 298-304.

Grudpan, K., Worakijchoenchai, N., Tue-Ngeun, O., Sooksamiti, P., & Jakmunee, J. (1996). Flow injection spectrophotometry for speciation of Cr(VI) and Cr(III) using diphenylcarbazide and solid phase extraction with C 18 in-valve mini-column. *Sci. Asia*, 25, 99-106.

Jiang, H., Yang, T., Wang, Y., Lian, H., & Hub, X. (2013). Magnetic solid-phase extraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for speciation of Cr(III) and Cr(VI) in environmental waters. *Talanta*, 116, 361-367.

Lopez-Molinero, A., Linan, D., Sipiera, D., & Falcon, R. (2010). Chemometric interpretation of digital image colorimetry: Application for titanium determination in plastics. *Microchem. J.*, 96, 380-385.

Masawat, P., Harfield, A., & Namwong, A. (2015). An iPhone-based digital image colorimeter for detecting tetracycline in milk. *Food Chem.*, 184, 23-29.

Memona, J., Memonb, S.Q., Bhangera, M.I., & Khuhawar, M.Y. (2009). Use of modified sorbent for the separation and preconcentration of chromium



species from industrial waste water. *J. Hazard. Mater.*, **136**, 511–516.

Notification of Ministry of Science and Technology Vol. 3. (1996). *The standard control sewerage origin of industrial estates*. Retrieved from http://infofile.pcd.go.th/law/3_4_water.pdf?CFID=3145801&CFTOKEN=51323051

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2004). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (8th ed.). Belmont, CA: Thomson Learning Inc.

Yetisen, A. K., Martinez-Hurtado, J. L., Garcia-Melendrez, A., Vasconcellos, F. C., & Lowe, C. R.

(2014). A smartphone algorithm with inter-phone repeatability for the analysis of colorimetric tests. *Sens. Actuators B: Chem.*, **196**, 156–160.

World Health Organization. (1996). *Standard for Drinking Water*. Retrieved from <http://plan.dgr.go.th/school/5.pdf>

Zhang, N., Suleiman, J. S., He, M., & Hu, B. (2008). Chromium (III)-imprinted silica gel for speciation analysis of chromium in environmental water samples with ICP-MS detection. *Talanta*, **75**(2), 536–543.