

การพัฒนาระบบไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจคชัน สำหรับการหาปริมาณเหล็กในดินและไนไตรท์ในน้ำเสีย

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

อรุณรัตน์ ขางเลง, วัฒนจิระ คำไชย และสราวุฒิ สมนาม*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

จ.เชียงใหม่ 50300

Aroonrat Changleang, Watjeera Kamchai and Sarawut Somnam*

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

Chiang Mai 50300

บทคัดย่อ

ระบบไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจคชัน (HFI) แบบง่ายได้ถูกพัฒนาขึ้น โดยออกแบบให้เป็นระบบที่ประหยัดสารเคมีและใช้อุปกรณ์ที่หาง่ายและราคาถูกเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ระบบ HFI ยังสามารถประกอบเข้ากับตัวกรอง (ขนาด $0.45\ \mu\text{m}$) เพื่อใช้สำหรับกรองตัวอย่างน้ำแบบออนไลน์ได้ ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้ได้นำไปสาธิตการใช้งานโดยการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กรวมในดินและไนไตรท์ในน้ำเสียด้วยปฏิกิริยา 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 % ($n=11$) สำหรับการหาปริมาณเหล็กรวมและไนไตรท์ ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงที่ได้ พบว่าให้ผลสอดคล้องกับวิธีมาตรฐานเมื่อเปรียบเทียบกับ t-test ระดับความเชื่อมั่น 95 %

คำสำคัญ : ไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจคชัน (HFI); เหล็กรวม; ไนไตรท์

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 ($0.45\ \mu\text{m}$) 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

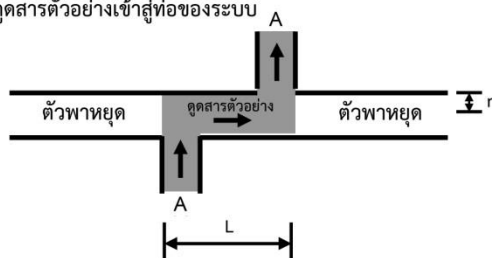
การวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเทคนิคโฟลอินเจกชันอนาลิซิส (flow injection analysis, FIA) ได้ถูกเสนอครั้งแรกในปี ค.ศ. 1975 โดย Ruzicka และ Hansen โดยอาศัยหลักการพื้นฐานคือการฉีดสารปริมาณน้อยเข้าไปทางวาล์วฉีดสาร (injection valve) ของระบบเข้าสู่กระแสตัวพาที่เป็นสารเคมี ซึ่งอาจเป็น รีเอเจนต์ (reagent) หรือตัวทำละลายที่ไหลอย่างต่อเนื่องด้วยอัตราการไหลที่เหมาะสมและคงที่ภายในท่อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กโดยปราศจากอากาศคั้น การไหลของสารตัวพาถูกควบคุมโดยการใช้ปั๊มเพอร์ริสตาลติก (peristaltic pump) หรือใช้วิธี กาลักน้ำที่อาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก สารตัวอย่างจะผสมกับกระแสตัวพาและเกิดปฏิกิริยาที่ส่วนขดท่อ (mixing coil) จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะไหลต่อไปสู่โฟลทรูเซลล์ (flow through cell) ของเครื่องตรวจวัด (detector) เพื่อวัดสัญญาณของผลิตภัณฑ์ เช่น ค่าการดูดกลืนแสง ค่าศักย์ไฟฟ้า [1] แม้ว่าวิธี FIA จะใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อยและใช้อุปกรณ์ราคาถูกลงกว่าเทคนิควิธีหรือเครื่องมือหลายชนิด แต่ในขั้นตอนการฉีดสารตัวอย่างพบว่าปั๊มเพอร์ริสตาลติกยังคงทำงานตลอดเวลา จึงทำให้กระแสตัวพายังคงไหลทิ้งอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองสารเคมีโดยเปล่าประโยชน์

เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงได้นำหลักการฉีดแบบไฮโดรไดนามิกอินเจกชัน (hydrodynamic injection, HI) มาประยุกต์ใช้กับการ

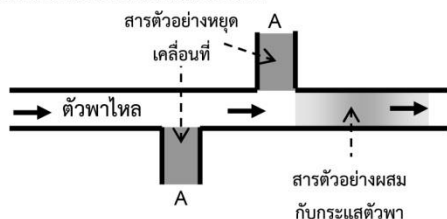
วิเคราะห์แบบ FIA และพัฒนาเป็นระบบไฮโดรไดนามิกโฟลอินเจกชัน (hydrodynamic flow injection, HFI) ขึ้น โดยหลักการฉีดสารแบบ HI ซึ่งอธิบายดังรูปที่ 1 คือ ขณะที่กระแสของตัวพาภายในท่อหยุดนิ่งลง จะเกิดความดันภายในท่อที่เรียกว่าความดันไฮโดรสแตติก (hydrostatic pressure) ขึ้น จึงทำให้สามารถฉีดสารตัวอย่างด้วยแรงดันไฮโดรไดนามิกแทรกผ่านเข้าทางท่อปลายเปิดที่แยกต่างหากอีกทาง (ดังตำแหน่ง A ในรูปที่ 1) ซึ่งการที่สารตัวอย่างสามารถไหลแทรกเข้าไปในท่อได้นี้ อาศัยความแตกต่างของความดันทั้งสองของสารละลายสองชนิดภายในท่อ การฉีดสารกระทำโดยปราศจากอุปกรณ์สำหรับฉีดสาร เช่น วาล์วฉีดสารที่ใช้ทั่วไปในระบบ FIA สารตัวอย่างที่ฉีดจะถูกขังในท่อในช่วงที่ทราบความยาวแน่นอน จึงทำให้ทราบปริมาตรที่แน่นอนของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปได้ด้วย ซึ่งคำนวณจากสูตร คือ ปริมาตร = $\pi r^2 L$ [2,3]

ธาตุเหล็กในดินจัดเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง กระบวนการหายใจ และการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของพืช โดยหากพืชขาดธาตุเหล็ก จะทำให้เกิดอาการใบด่าง [4] สำหรับไนโตรเจนหากมีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำจะส่งผลต่อคุณภาพน้ำและสิ่งมีชีวิตในน้ำ นอกจากนี้ หากมีการนำน้ำไปใช้ในการบริโภคจะส่งผลกระทบต่อมนุษย์ได้ เนื่องจากไนโตรเจนสามารถเปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรซามีน

(ก) ดูดสารตัวอย่างเข้าสู่ท่อของระบบ



(ข) ผลักสารตัวอย่างด้วยกระแสตัวพา



รูปที่ 1 หลักการฉีดสารแบบไฮโดรไดนามิก : (ก) สารตัวอย่างถูกฉีดผ่านเข้าสู่ท่อที่ทราบความยาว (L) และรัศมีภายในท่อ (r) ที่แน่นอนขณะที่กระแสตัวพาไหลด้วยแรงดันไฮโดรสแตติก และ (ข) สารตัวอย่างถูกผลักด้วยกระแสของตัวพาในขณะที่สารตัวอย่างที่ตำแหน่ง A จะหยุดนิ่งด้วยแรงดันไฮโดรสแตติก

ซึ่งจัดเป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่ง [5] ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กและไนไตรท์จึงช่วยในการประเมินคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อมได้ มีรายงานวิจัยจำนวนมากที่กล่าวถึงการวิเคราะห์ธาตุเหล็กและไนไตรท์โดยอาศัยเทคนิค FIA [5-7] ดังที่กล่าวไปก่อนหน้านี้แล้วว่า แม้ FIA เป็นวิธีที่ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ราคาไม่สูงและไม่ซับซ้อนมากนัก แต่ในขั้นตอนของการฉีดสารนั้นยังเกิดความสั่นเปลี่ยงสารเคมี นอกจากนี้แม้ว่ามีรายงานการใช้เทคนิคการไหลแบบซีควนเชียลอินเจกชันอนาลิซิส (sequential injection analysis, SIA) [8,9] ซึ่งจัดเป็นวิธีที่ประหยัดสารเคมีและอัตโนมัติกว่า FIA โดยนำวิธีนี้มาใช้วิเคราะห์เหล็กและไนไตรท์แต่อุปกรณ์ที่ใช้ก็มีราคาสูงและซับซ้อนขึ้น

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

ด้วยเหตุผลเหล่านี้ จึงช่วยให้ระบบที่ออกแบบขึ้นสามารถลดปริมาณการใช้สารตัวพาน้อยลงเนื่องจากกระแสของตัวพาจะหยุดขณะฉีดสาร และลดการใช้อุปกรณ์สำหรับฉีดสารซึ่งมีราคาสูงลง นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังได้นำอุปกรณ์ที่หาง่ายและราคาถูกได้แก่ วาล์วสามทางและเข็มฉีดยาที่ใช้ทั่วไปทางการแพทย์มาใช้ในระบบที่ออกแบบขึ้น สำหรับกรณีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสีย ผู้วิจัยได้ออกแบบระบบให้สามารถนำตัวกรองขนาด $0.45 \mu\text{m}$ ประกอบเข้าและถอดออกจากระบบได้ง่ายเพื่อใช้สำหรับกรองตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บมาและสามารถฉีดเข้าสู่ระบบได้ทันที ตัวอย่างที่ถูกกรองแล้วจะไหลเข้าสู่ระบบด้วยหลักการฉีดแบบไฮโดรไดนามิก ระบบนี้จึงสามารถลดค่าใช้จ่ายของเครื่องมือ ลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ และลดเวลาในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างลงได้ เนื่องจากการกรองตัวอย่างแบบออนไลน์

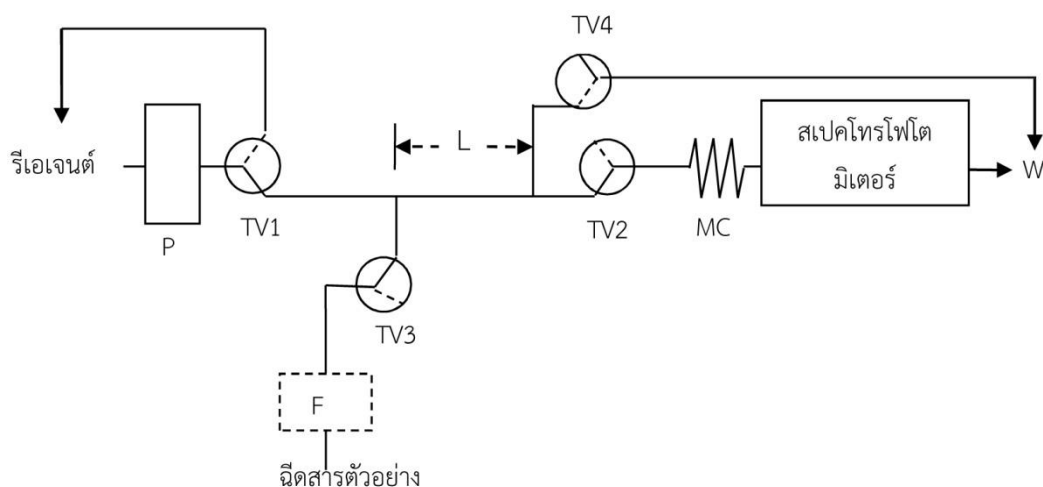
2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 อุปกรณ์และระบบ HFI

รูปที่ 2 แสดงถึงระบบ HFI ที่ถูกพัฒนาขึ้นซึ่งประกอบด้วยปั๊มเพอร์ริสตาลติก (peristaltic pump, Ismatec, USA) และเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปก

โทรมิเตอร์ (UV-VIS spectrophotometer, Shimadzu UV1600, Japan) โดยนำท่อพลาสติก PTFE (PTFE tube, เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.03 นิ้ว) มาใช้ทั้งระบบเพื่อให้สารเคมีไหลภายใน ยกเว้นท่อที่ใช้กับปั๊มเพอร์ริสตาลติกเป็นท่อไทกอน (tygon tube) และได้ใช้วาล์วสามทาง (three-way stopcock) แบบราคาถูก (วาล์วที่ใช้กับถุงน้ำเกลือใน

โรงพยาบาล) มาใช้เพื่อควบคุมทิศทางการไหลของสารเคมีภายในท่อ โดยสารละลายมาตรฐานและ/หรือ สารตัวอย่างถูกฉีดเข้าสู่ระบบโดยใช้เข็มฉีดยาแบบ ธรรมดาขนาด 10 mL (hypodermic needle) กรณี การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจะเพิ่มตัวกรองขนาด 0.45 μm (Sartorius, Germany) เพื่อกรองตัวอย่างแบบออนไลน์



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

2.2 สารเคมี

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

2.2.1 สารเคมีสำหรับการหาปริมาณเหล็ก

รีเอเจนต์ที่ใช้เป็นสารละลายผสมของ 0.25 % w/v 1,10-ฟีแนโนโทรลีน และ 0.5 % w/v กรดแอสคอร์บิก ซึ่งเตรียมโดยชั่ง 1,10-ฟีแนโนโทรลีน ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, RFCL Limited, India) และกรด

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

สารละลายมาตรฐานเหล็ก (Fe^{3+}) เข้มข้น 500 mg L^{-1} เตรียมโดยชั่งแอมโมเนียมเฟอร์ริก ซัลเฟต ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2\cdot 12\text{H}_2\text{O}$, Ajax Finechem, Australia) 0.432 g ทำเป็นสารละลายโดยใช้บัฟเฟอร์แอซิเตด pH 4.2 ปริมาตรเป็น 100 mL

สารละลายบัฟเฟอร์แอซิเตด เตรียมได้จากการละลายแอมโมเนียมแอซิเตด ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$, Fisher Scientific UK Limited) 7.95 g ด้วยน้ำ 100 mL เติมกรดแอซติก (CH_3COOH , Merck, Germany) จน pH สารละลายถึง 4.2 หลังจากนั้นปรับปริมาตรสารละลายเป็น 1000 mL ด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.2.2 สารเคมีสำหรับการหาปริมาณไนโตรท์

รีเอเจนต์ถูกเตรียมโดยเป็นสารละลายผสมของ 0.10 mol L^{-1} ซัลฟานิลาไมด์ ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$, 99.7 %, Merck, Germany) และ 0.010 mol L^{-1} N-1-แนฟทิลเอทีลินไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์ (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) โดยซัง ซัลฟานิลาไมด์ และ NED เท่ากับ 8.65 และ 1.30 g ตามลำดับ ละลายด้วยน้ำ 500 mL เติมไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ลงไป 5 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

สารละลายมาตรฐานไนโตรท์เข้มข้น 100 mg L^{-1} ซึ่งเตรียมโดยซังโซเดียมไนไตรต์ (NaNO_2 , 99 %, Merck, Germany) 0.015 g ทำเป็นสารละลายโดยปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เป็น 100 mL

2.3 วิธีการปฏิบัติงานของระบบ HFI

จากระบบที่พัฒนาขึ้นดังรูปที่ 2 ขั้นตอนการปฏิบัติงานได้ถูกสรุปไว้ในตารางที่ 1 ซึ่งสามารถอธิบายคร่าว ๆ ดังนี้ ปัมเปอร์ริสตาลติกจะผลักดันสารรีเอเจนต์เข้าสู่ระบบโดยผ่านทางวาล์วสามทางหมายเลข 1 (TV1) (เส้นทึบในรูปวาล์ว หมายถึง เปิด และเส้นประ หมายถึง ปิด) เมื่อต้องการฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ วาล์ว TV1 และ TV2 จะถูกปิด และเปิดวาล์ว TV3 และ TV4 รีเอเจนต์จะไหลวนทำให้ประหยัดสารเคมี ขณะเดียวกันสารตัวอย่างจะถูกฉีดโดยเข็มฉีด

ยาเข้าสู่ระบบด้วยแรงดันไฮโดรไดนามิก (กรณีวิเคราะห์น้ำจะฉีดผ่านตัวกรอง) ทำให้ได้ปริมาตรของสารตัวอย่างที่แน่นอน ($20 \mu\text{L}$) ที่ถูกซังในท่อขนาดเล็กที่มีความยาว 4 cm (L) จากนั้นเปิดวาล์ว TV1 กับ TV2 และปิดวาล์ว TV3 กับ TV4 รีเอเจนต์จะไหลไปชะสารตัวอย่างเพื่อเกิดปฏิกิริยาในส่วนขดท่อที่มีความยาว 120 และ 190 cm (กรณีหาปริมาณเหล็กและไนโตรท์ตามลำดับ) สารผลิตภัณฑ์ที่มีสีที่เกิดขึ้นจะถูกตรวจค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 และ 540 nm (กรณีหาปริมาณเหล็กรวมและไนโตรท์ตามลำดับ) ที่เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ต่อไป

2.4 วิธีการเก็บและเตรียมตัวอย่าง

2.4.1 การเก็บตัวอย่างดินสำหรับหาปริมาณเหล็กรวม

เก็บตัวอย่างตามแนวชายพุ่ม 4 จุด ในตำแหน่งทิศเหนือ ใต้ ตะวันออก และตะวันตกของไม้ผลแต่ละต้น ที่ระดับความลึก 10-20 cm โดยดินที่เก็บมาทั้งหมดเป็นดินจากสวนลำไยในเขตกิ่งอำเภอเวียงหนองล่อง จังหวัดลำพูน หลังจากนั้นนำดินที่ได้มาตากลมให้แห้ง แล้วนำไปบด เพื่อสำหรับการเตรียมตัวอย่าง โดยซังดิน 20 g เติมสารละลายบัฟเฟอร์แอซิเตด pH 3 ปริมาตร 100 mL เขย่าเป็นเวลา 30 นาทีที่กรองโดยใช้กระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 5) ล้างด้วยบัฟเฟอร์แอซิเตด pH 3 จำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 50 mL สารละลายที่ได้จากการกรองจะถูกระเหยให้เหลือประมาณ 10 mL และเติมกรดกัดทอง (aqua regia) 8 mL เพื่อไล่สารอินทรีย์ต่าง ๆ ระเหยต่อจนเกือบแห้ง เติม 1 mol L^{-1} HCl 0.8 mL ลงในตะกอนที่ได้ ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 100 mL [11]

2.4.2 การเก็บตัวอย่างน้ำเสียสำหรับหาปริมาณไนโตรท์

ได้สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำเสีย จากแหล่งชุมชนในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บ

รักษาในขวดพลาสติก เติมกรด conc. HNO₃ ให้มี pH ชั่วโมง
น้อยกว่า 2 และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างภายใน 24

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการปฏิบัติงานของระบบ HFI

ขั้นที่	วาล์ว				คำอธิบาย
	TV1	TV2	TV3	TV4	
1	ปิด	ปิด	เปิด	เปิด	ฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ
2	เปิด	เปิด	ปิด	ปิด	สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ใน ขดท่อ แล้วตรวจวัดสัญญาณที่เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ

ได้นำระบบ HFI ที่พัฒนาขึ้นมาศึกษาหาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมของระบบ เพื่อให้ระบบดังกล่าวมีสมรรถนะสูงสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กกรรมและไนไตรท์ โดยศึกษาผลของสภาวะที่ละชนิดและกำหนดสภาวะอื่น ๆ ไว้คงที่ (univariate variable) สภาวะที่ศึกษาประกอบด้วยอัตราการไหล (flow rate) ความยาวของขดท่อ และความเข้มข้นของรีเอเจนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์เหล็กกรรมและไนไตรท์ตามลำดับ

ตัวอย่างวิธีการศึกษา เช่น ในขั้นตอนการหาอัตราการไหลที่เหมาะสม ได้เริ่มจากการกำหนดว่าต้องการศึกษาอัตราการไหลที่ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL min⁻¹ และกำหนดสภาวะอื่น ๆ ไว้คงที่ที่แต่ละค่าของอัตราการไหลที่ต้องการศึกษา ให้ฉีดสารมาตรฐานทุกความเข้มข้นที่เตรียมไว้เข้าสู่ระบบ HFI หลังจากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานซึ่งพล็อตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน x) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) ที่แต่ละค่าของอัตราการไหลดังที่กล่าวไปก่อนหน้านี้ เพื่อหาที่อัตราการไหลเท่าใดจะให้ค่าความชันของกราฟมาตรฐานสูงที่สุด (ดูจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน, $y = mx + c$) เนื่องจากความชันของ

กราฟมาตรฐานสามารถแสดงถึงสภาพไว (sensitivity) หรือการตอบสนองของสัญญาณของระบบที่สภาวะนั้น ๆ โดยในการทดลองได้ใช้สารละลายมาตรฐานเหล็กและไนไตรท์เข้มข้น 5 – 45 mg L⁻¹ และ 0.050 – 1.0 mg L⁻¹ ตามลำดับ ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมกับปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ในสารตัวอย่าง ในการทดลองนี้ ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อัตราการไหลความยาวของขดท่อ ความเข้มข้นของรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์เหล็กกรรม และความเข้มข้นของรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์ จากผลการทดลองที่สภาวะต่าง ๆ ได้ค่าดังแสดงในตารางที่ 2

จากการศึกษาอัตราการไหลซึ่งมีผลต่อการผสมกันระหว่างรีเอเจนต์และสารตัวอย่างเพื่อเกิดปฏิกิริยาและความถี่ในการวิเคราะห์ พบว่าความชันของกราฟมาตรฐานจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลสูงขึ้น แต่หากอัตราการไหลสูงเกินไปจะทำให้เกิดสัญญาณรบกวน (noise signal) ขณะวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ จึงเลือกใช้ที่ 1.0 และ 1.5 mL min⁻¹ สำหรับการวิเคราะห์เหล็กกรรมและไนไตรท์ ตามลำดับ

สภาวะต่อมาคือการศึกษาความยาวของขดท่อ โดยความยาวของขดท่อที่แตกต่างกันมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยากันของรีเอเจนต์กับสารตัวอย่าง กล่าวคือหากมีความยาวน้อยเกินไป การเกิดปฏิกิริยาอาจไม่ดี

เท่าที่ควร แต่หากใช้ความยาวมากเกินไปจะส่งผลให้
สิ้นเปลืองสารเคมีและเวลาในการวิเคราะห์มากขึ้น ใน
การศึกษานี้พบว่าความยาวขดท่อที่เหมาะสมเท่ากับ

120 และ 190 cm สำหรับการวิเคราะห์เหล็กกรรมและ
ไนไตรท์ ตามลำดับ

ตารางที่ 2 สภาวะที่เหมาะสมของระบบ HFI

สภาวะที่ศึกษา	ช่วงค่าสภาวะที่ศึกษา		สภาวะที่เหมาะสม	
	วิเคราะห์เหล็กกรรม	วิเคราะห์ไนไตรท์	วิเคราะห์เหล็กกรรม	วิเคราะห์ไนไตรท์
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-ฟีแนนโทรลีน	0.05-1.5 % w/v	-	0.25 % w/v	-
- กรดแอสคอร์บิก	0.1-2.0 % w/v	-	0.5 % w/v	-
ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ สำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์ - ซัลฟานิลไมด์	-	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

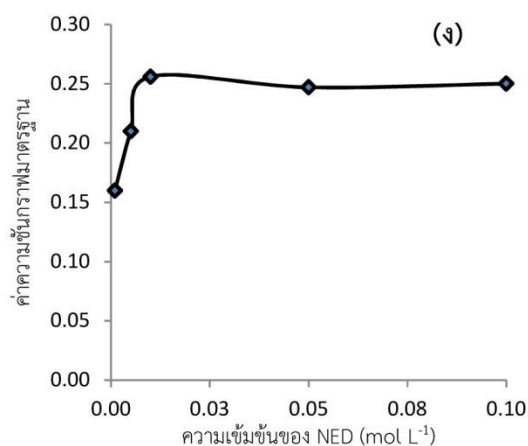
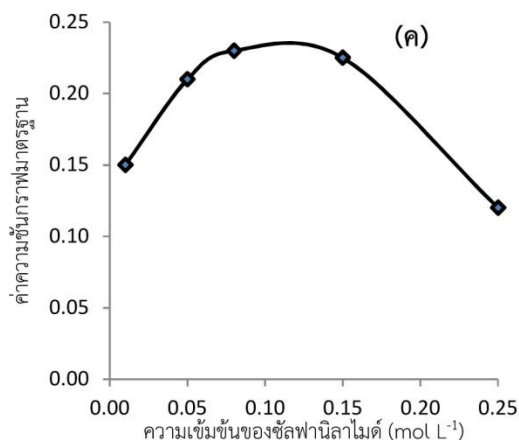
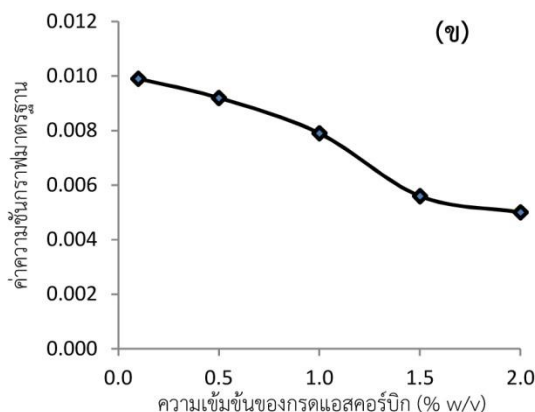
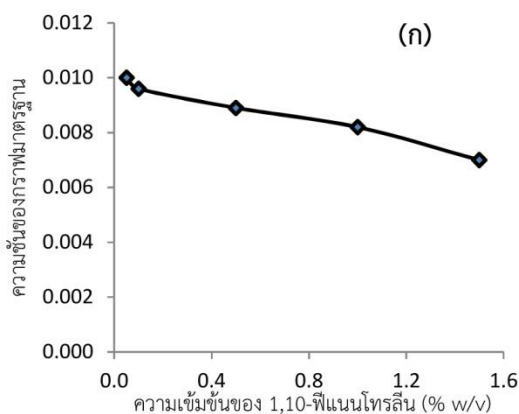
สภาวะสุดท้ายที่ศึกษาคือความเข้มข้นของรีเอเจนต์ โดยในการหาปริมาณเหล็กได้ใช้รีเอเจนต์คือ 1,10-ฟีแนนโทรลีน เป็นรีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดสี (chromogenic reagent) ซึ่งพบว่าให้ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.25 % w/v โดยหากใช้ความเข้มข้นสูงกว่านี้ จะส่งผลต่อการเกิดสัญญาณรบกวนและสิ้นเปลืองสารเคมี และความชันของกราฟมาตรฐานมีแนวโน้มลดลงดังรูป 3ก นอกจากนี้ ได้ศึกษาความเข้มข้นของตัวรีดิวซ์ โดยได้เลือกใช้กรดแอสคอร์บิกสำหรับเป็นตัวรีดิวซ์ธาตุเหล็กจากเลขออกซิเดชัน +3 เป็น +2 เนื่องจากมีราคาถูกและปลอดภัยมากกว่าการใช้ SnCl₂ [12] และ hydroxylamine [13] สาเหตุที่ต้องใช้ตัวรีดิวซ์เพราะในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง

1,10-ฟีแนนโทรลีนกับธาตุเหล็กนั้น จะเกิดได้เฉพาะกับธาตุเหล็กที่มีเลขออกซิเดชัน +2 (ferrous ion, Fe²⁺) แต่ในขณะที่สารมาตรฐานที่เตรียมขึ้นได้ใช้ ferric ion (Fe³⁺) เนื่องจากมีความเสถียรมากกว่า และเป็นเลขออกซิเดชันที่มักพบมากในตัวอย่างดิน โดยในขั้นแรก ได้ศึกษาประสิทธิภาพการรีดิวซ์ Fe³⁺ เป็น Fe²⁺ พบว่าเมื่อใช้กรดแอสคอร์บิกเข้มข้นมากกว่า 0.1 % w/v ขึ้นไป จะมีประสิทธิภาพการรีดิวซ์ Fe³⁺ ในช่วงความเข้มข้นที่เตรียมได้ประมาณ 100 % จึงได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่เหมาะสมในช่วง 0.1-2.0 % w/v จากการทดลอง ดังรูป 3ข แม้ว่าที่ความเข้มข้น 0.1 % w/v จะให้ความชันของกราฟมาตรฐานสูงที่สุด แต่เพื่อให้แน่ใจว่าได้

ประสิทธิภาพการรีดิวซ์ 100 % จึงได้เลือกใช้ความเข้มข้นที่ 0.50 % w/v ซึ่งให้ความเข้มข้นของกราฟมาตรฐานไม่แตกต่างจาก 0.1 % w/v มากนัก

สำหรับกรณีหาปริมาณไนโตรที่ ได้ใช้รีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดสีคือซัลฟานิลไมด์ และ NED ซึ่งพบว่าให้ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.10 mol L^{-1} และ 0.010 mol L^{-1} ตามลำดับ ดังแสดงในรูป 3ค และ 3ง ซึ่งให้ความชันของกราฟมาตรฐานสูงที่สุด และ

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



รูปที่ 3 ผลของความเข้มข้นรีเอเจนต์ที่มีต่อความชันของกราฟมาตรฐาน : (ก) 1,10-ฟีแนนโทรลีน (ข) กรดแอสคอร์บิก (ค) ซัลฟานิลไมด์ และ (ง) NED

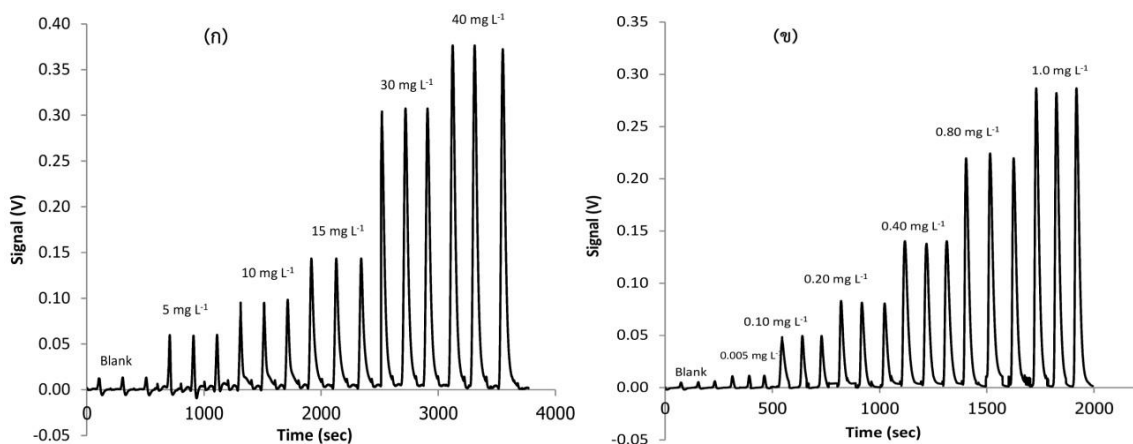
3.2 การศึกษาสมรรถนะของระบบ

นอกจากการหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบที่พัฒนาขึ้นแล้ว ได้ทำการศึกษาสมรรถนะของ

ระบบดังกล่าว โดยได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3 และตัวอย่างสัญญาณของการตรวจวัด (HFI gram) ดังรูปที่ 4

ตารางที่ 3 สมรรถนะของระบบ HFI

สมรรถนะของระบบ HFI	ค่าที่ได้	
	วิเคราะห์หึ่งกรัม	วิเคราะห์ไนโตร
ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน	0-150 mg L ⁻¹	0.005-1.0 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) การวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเหล็ก (0–40 mg L⁻¹) และ (ข) การวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนโตร (0–1.0 mg L⁻¹)

จากสมรรถนะของระบบที่ได้ สามารถประเมินได้ว่าระบบที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจริงได้ เนื่องจากมีช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ค่อนข้างกว้าง มีความเที่ยงตรงสูง และมีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดที่ค่อนข้างต่ำเพียงพอต่อการนำไปใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจริง

3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

3.3.1 การหาปริมาณเหล็กกรัมในตัวอย่างดิน

สารสกัดจากตัวอย่างดินจะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยระบบ HFI โดยเปรียบเทียบกับผลที่ได้กับวิธีอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (AAS) ผลการวิเคราะห์ที่ได้แสดงดังตารางที่ 4

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

ดังนั้นระบบ HFI ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างดินได้

3.3.2 การหาปริมาณไนโตรเจนในน้ำเสีย

ผลการวิเคราะห์น้ำเสียด้วยระบบ HFI ได้ถูกเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานซึ่งเป็นการวิเคราะห์ด้วยปฏิกิริยาเดียวกัน แต่เป็นวิธีการวิเคราะห์แบบแบทช์ (batch method) [15] โดยวัดความยาวคลื่นแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 543 nm ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กกรรมในตัวอย่างดินโดยระบบที่พัฒนาขึ้นและวิธี AAS

ตัวอย่าง หมายเลข	ปริมาณเหล็กกรรมในตัวอย่าง (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

*ผลการทดลองได้มาจากค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

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

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียโดยระบบ HFI เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่าง หมายเลข	ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง (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

*ผลการทดลองได้มาจากค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

4. สรุป

ระบบ HFI แบบง่ายที่ถูกพัฒนาขึ้น ได้ถูกนำมาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างดินและปริมาณไนโตรเจนในน้ำเสีย โดยการสังเกตจากค่าความชันของกราฟมาตรฐานที่ถูกสร้างขึ้น จากการพล็อตระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน x) และค่าดูดกลืนแสง (แกน y) ที่แต่ละสภาวะที่ศึกษา

จากนั้น ได้นำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาสมรรถนะของระบบ กรณีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กพบว่ามีความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานสูงถึง 150 mg L^{-1} ระบบสามารถวิเคราะห์ด้วยความถี่ 12 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ซึ่งใช้ปริมาณรวมของรีเอเจนต์และสารตัวอย่าง 4.7 mL ต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่าง จากการฉีดสารมาตรฐานเหล็ก 25 mg L^{-1} ซ้ำ 11 ครั้ง พบว่าค่า % RSD เท่ากับ 0.54 ระบบดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างดิน โดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธี AAS พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

นอกจากนี้ได้ใช้ระบบ HFI วิเคราะห์ไนโตรเจนในน้ำเสีย โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมมาใช้ในการศึกษา

สมรรถนะของระบบ พบว่าสามารถวิเคราะห์ด้วยความถี่ 14 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ซึ่งใช้ปริมาณรีเอเจนต์และสารตัวอย่าง 8.2 mL ต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่างจากการฉีดสารมาตรฐานไนไตรท์ 0.050 mg L⁻¹ ซ้ำ 11 ครั้ง ได้ค่า % RSD เท่ากับ 0.64 % ระบบดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียโดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธีมาตรฐาน พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือจาก ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 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., Bartoli, 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

- p>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] สราวุฒิ สมนาม, 2554, เคมีวิเคราะห์, 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.