

## บทที่ 3

### การดำเนินการทดลอง

( Experimental Procedure )

#### 3.1 เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

##### 3.1.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง มีดังนี้

##### 1. เครื่อง Ion Chromatograph ซึ่งประกอบด้วย

- pump model 510 ของบริษัท Waters
- injection port ที่มี injection loop หรือ sample loop ขนาด 20 ไมโครลิตร ของ Rheodyne

- คอลัมน์ชนิด strong anion exchange IC-PAK A ของบริษัท Waters
- คอลัมน์ชนิด strong anion exchange PRP-X100 ของบริษัท

Hamilton

- automated gradient controller model 680 ของบริษัท

Waters

- data module model 740 ของบริษัท Waters
- conductivity detector model 430 ของบริษัท Waters

##### 2. เครื่องกรองสารละลาย ของบริษัท Waters ประกอบด้วย

- เครื่องดูดสุญญากาศ ( vacuum pump )
- ขวดรูปกรวยขนาด 1 ลิตร และ กรวยแก้วขนาด 250 mL ซึ่งเป็นระบบ

quickfit

- เมมเบรนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร ขนาดรู 0.45

ไมโครเมตร

3. เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) และ/หรือ เครื่องวัดไอออน model 701A/digital Ionanalyzer ของบริษัท Orion ซึ่งใช้ร่วมกับอุปกรณ์ต่อไปนี้

- ขั้ววัดความเป็นกรด-เบส ชนิดรวมกับขั้วอ้างอิง ( combination pH electrode ) model 91-56 ของบริษัท Orion

- ขั้ววัดไอออนซิลเวอร์/ซัลไฟด์ ( silver / sulphide electrode ) model 94-16 ของบริษัท Orion

- ขั้วอ้างอิง ( double-junction reference electrode ) model 90-02 ของบริษัท Orion

4. เครื่องวัดความนำไฟฟ้า (conductometer) model CG 854 ของบริษัท Schott

5. เตาอบ ของบริษัท Yamato Scientific

6. เครื่องทำน้ำ deionized ของบริษัท Syborn / Barnstead

7. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดจานเดียว model AE 200 ของบริษัท Mettler

8. เครื่อง ultrasonic bath ของบริษัท SmithKline

9. เตาไฟฟ้า (heating mantle )

10. เครื่องคนสารละลายชนิดแม่เหล็กไฟฟ้า พร้อมด้วยแท่งคน ( magnetic stirrer and magnetic bar )

11. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ ที่สำคัญมี

- ชุดกลั่น ซึ่งประกอบด้วยขวดก้นกลมขนาด 1 ลิตร คอนเดนเซอร์ และ

ข้อต่อ ซึ่งเป็นระบบ quickfit

- บิวเรตขนาดต่าง ๆ

- ขวดรูปชมพู่

- บีกเกอร์

- ขวดวัดปริมาตรขนาดต่าง ๆ และ เครื่องแก้วอื่น ๆ ที่จำเป็นต้องใช้ในห้อง

ปฏิบัติการทั่วไป

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี (เกรด)	บริษัทผู้ผลิต
กรดซัลฟูริก (AR)	BDH
กรดบอริก (AR)	BDH
กรดไฮโดรคลอริก (GR)	MERCK
กลีเซอรอล (AR)	BDH
เกลือโซเดียมของอิตทิกแอ (puriss)	Fluka
ซิลเวอร์ไนเตรต (lab)	MERCK
เมทานอล (HPLC)	MAY&BAKER
โซเดียมคลอไรด์ (AR)	BDH
โซเดียมเททระโบเรต 10 ไฮเดรต (GR)	MERCK
โซเดียมไฮโอซิลเฟต 5 ไฮเดรต (AR)	BDH
โซเดียมไฮโอไซยานาต (AR)	BDH
โซเดียมไนเตรต (AR)	BDH
โซเดียมไนไตรต์ (AR)	BDH
โซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต	SIGMA
โซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต	SIGMA
โซเดียมฟลูออไรด์ (AR)	BDH
โซเดียมซิลเฟต แอนไฮดรัส (AR)	AJAX
โซเดียมซิลไฟด์ (puriss)	Fluka
โซเดียมซิลไฟด์ แอนไฮดรัส (puriss)	Fluka
โซเดียมไอโอไดด์ (AR)	BDH
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (AR)	BDH
โพแทสเซียมดีกลูโคเนต (puriss)	Fluka

โพแทสเซียมโบรไมด์ (AR)	BDH
โพแทสเซียมไอโอเดต (RPE)	CARLO ERBA
โพแทสเซียมไอโอไดด์ (RPE)	CARLO ERBA
โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (puriss)	Fluka
อะซีโตนไทรล์ (HPLC)	MAY&BAKER

### 3.2 การเตรียมสารละลายตัวชั่ง และสารละลายมาตรฐาน

3.2.1 การเตรียมสารละลายซิลเฟอร์ไอออนต่าง ๆ (stock solution) เพื่อนำไปใช้ทำสารละลายมาตรฐาน

1. สารละลายซิลไฟด์ไอออนเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร

นำโซเดียมซิลไฟด์ ( $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) 0.75 กรัม ละลายในน้ำกลั่นซึ่งได้ ออกซิเจนแล้ว ทำให้ได้ปริมาตร 100 mL นำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอน (standardization) โดยวิธีเคมีไฟฟ้า ตามวิธี 3.2.3.2

2. สารละลายซิลไฟด์ไอออนเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร

นำโซเดียมซิลไฟด์ ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$  มวลโมเลกุล 126.04) ไปอบที่อุณหภูมิ  $120^\circ\text{C}$  นาน 2 ชม. ทำให้เย็นในเดซิکเคเตอร์ ซึ่งประมาณ 0.63 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ได้ ออกซิเจนแล้ว ทำให้มีปริมาตร 100 mL นำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยวิธีการไทเทรต

3. สารละลายซิลเฟตไอออนเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร

นำโซเดียมซิลเฟตบริสุทธิ์ ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  มวลโมเลกุล 142.04) มาอบที่ อุณหภูมิ  $120^\circ\text{C}$  นาน 2 ชม. ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ ซึ่งให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.3794 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เติลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดวัดปริมาตร

4. สารละลายไฮโอซิลเฟตไอออน 0.1 โมล/ลิตร หรือประมาณ 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร

ซิงโครไดมไฮไดรเจนซัลไฟด์เพคตินิกซ์ (  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  มวลโมเลกุล 248.17 )  
2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาตร 100 mL หากความเข้มข้นที่แน่นอนโดยวิธีวัดปริมาตร

5. สารละลายไฮโอไซยานาเตอออน 0.1 โมล/ลิตร หรือ ประมาณ 5,000 มิลลิกรัม/ลิตร

ซิงโครไดมไฮโอไซยานาเตบรียูส (  $\text{NaSCN}$  , มวลโมเลกุล 81.07 )  
0.81 กรัม ละลายในน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาตร 100 mL หากความเข้มข้นที่แน่นอนโดยวิธีการไทเทรต

### 3.2.2 การเตรียมสารละลายต่าง ๆ ที่ต้องใช้

1. สารละลายซิลเวอร์ไนเตรดเข้มข้นประมาณ 0.6 โมล/ลิตร

ซิงซิลเวอร์ไนเตรด (มวลโมเลกุล 169.88 ) 10.2 กรัม ในน้ำกลั่นที่  
ไล่ออกซิเจนแล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 mL เก็บในขวดสีชา และต้องหากความเข้มข้นที่  
แน่นอนก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง

2. สารละลายมาตรฐานโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.0624 โมล/ลิตร

น้ำโซเดียมคลอไรด์บรียูส ( มวลโมเลกุล 58.44 ) มาอบที่อุณหภูมิ  
 $120^\circ \text{C}$  นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ซิง 0.9117 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้ว  
ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดวัดปริมาตร

3. สารละลายป้องกันการเกิดออกซิเดชันของซัลไฟด์ไอออน (sulphide antioxidant buffer , SAOB )

น้ำปีเกอร์ขนาด 1000 mL มาเติมน้ำกลั่นประมาณ 600 mL เติมน้ำ  
ละลาย 10 โมล/ลิตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 mL เติมน้ำกรดแอสคอบิก 35 กรัม เติมน้ำ  
เกลือโซเดียมของอีดีทีเอ 67 กรัม คนจนเป็นสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เทใส่ขวดปริมาตร  
ขนาด 1000 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดวัดปริมาตร

### 3.2.3 วิธีหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายที่ใช้เป็นสารละลายมาตรฐาน

3.2.3.1 การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายแอนไอออนต่าง ๆ คือ ซัลไฟด์ ไฮโอซิลเฟต และ ไฮโอไซยาเนต และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต สารละลายเหล่านี้สามารถหาความเข้มข้นที่แน่นอน โดยใช้วิธีการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานตามวิธีมาตรฐานที่ใช้กันทั่วไป

3.2.3.2 การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายซัลไฟด์ไอออน (sulphide ion  $S^{2-}$ )

1. ปิเปิดสารละลายซัลไฟด์เข้มข้นที่เตรียมไว้แล้วในข้อ 1 ของข้อ 3.2.1 25 mL ใส่ขวดปริมาตรขนาด 250 mL เติมสารละลาย SAOB 125 mL แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดวัดปริมาตร

2. ปิเปิดสารละลายซัลไฟด์ที่เตรียมได้นี้มา 50 mL ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 mL คนสารละลายโดยใช้เครื่องคนแม่เหล็กไฟฟ้า

3. จุ่มขั้วซิลเวอร์/ซิลเวอร์ซัลไฟด์และขั้วอ้างอิงลงในสารละลาย อ่านค่าศักย์ไฟฟ้าเป็นมิลลิโวลต์ (mV)

4. ใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรตเป็นไทเตรนต์โดย บรรจุในบิวเรตขนาด 10 mL แล้วไทเทรตโดยหยดสารละลายครั้งละ 0.5 ml (และลดลงเมื่อศักย์ไฟฟ้าเปลี่ยนแปลงมากจนกระทั่งอ่านค่าศักย์ไฟฟ้าได้ -150 ถึง 0 มิลลิโวลต์ จึงหยุดไทเทรต) บันทึกค่า mV ที่อ่านได้ไว้ทุกครั้งเมื่อเติมไทเตรนต์

5. เขียนกราฟของการไทเทรตระหว่างปริมาตรของไทเตรนต์ และ ค่ามิลลิโวลต์ เพื่อหาจุดยุติ คำนวณหาความเข้มข้นของซิลเวอร์ไนเตรต

3.2.4 การเตรียมสารละลายตัวชะเข้มข้น ( stock solution ) เนื่องจากสารละลายตัวชะต้องใช้อย่างมาก เพื่อความสะดวก และง่ายต่อการควบคุมความเข้มข้น จึงได้เตรียมสารละลายตัวชะเข้มข้นไว้ เมื่อต้องการใช้สารละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน จะใช้วิธีทำให้เจือจางลงเท่านั้น

3.2.4.1 สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต 400 mM

นำโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลตบริสุทธิ์ ( มวลโมเลกุล 204.03 ) มาอบที่อุณหภูมิ 120 °C นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเคชิกเคเตอร์ ชั่ง 20.423 กรัม ละลาย

ในน้ำกลั่น เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.4.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เบนโซเอต 600 mM

นำโซเดียมพาราไฮดรอกไซด์เบนโซเอตบริสุทธิ์ (มวลโมเลกุล 160.1) มาชั่ง 24.015 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.4.3 สารละลายโซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต 800 mM

นำโซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต 98 % (มวลโมเลกุล 180.2) มาชั่ง 36.7756 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.4.4 สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 100 mM

นำโพแทสเซียมคลอไรด์บริสุทธิ์ (มวลโมเลกุล 234.24) มาชั่ง 5.8561 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.4.5 สารละลายโซเดียมเททระโบเรต 100 mM

นำโซเดียมเททระโบเรตบริสุทธิ์ (มวลโมเลกุล 381.37) มาชั่ง 9.5343 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.4.6 สารละลายกรดบอริก 400 mM

นำกรดบอริก (มวลโมเลกุล 61.83) มาชั่ง 24.732 กรัม เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 mL เติมน้ำกลั่น 900 mL เขย่าจนละลายหมด เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.4.7 สารละลายเกลือโซเดียมของอดีทีเอ 2 mM

นำเกลือโซเดียมของอดีทีเอบริสุทธิ์ (มวลโมเลกุล 292.25) มาชั่ง 0.145 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.4.8 สารละลายกลีเซอรอล 5 M

ปิเปตกลีเซอรอลบริสุทธิ์ (มวลโมเลกุล 92.09 ความหนาแน่น 1.26) มา 91.36 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.2.5 การเตรียมสารละลายตัวชะให้มี ความเข้มข้น pH และ ตัวทำละลาย อินทรีย์ต่าง ๆ กัน

เตรียมโดยการปิเปตสารละลายตัวชะเข้มข้นที่เตรียมในข้อ 3.2.4 ปริมาตรตามที่ ต้องการ ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 mL เติมตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาตรตามที่ต้องการ เติมน้ำ กลั่นจนได้ปริมาตร 950 mL ปรับ pH ให้ได้ค่าตามที่ต้องการด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง แล้วเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 mL เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่า ให้สารละลายผสมกัน วัด pH ของสารละลายอีกครั้งบันทึกเป็นค่า pH ที่ใช้งาน

3.2.6 การเตรียมสารละลายตัวชะก่อนนำไปใช้

นำสารละลายที่เตรียมในข้อ 3.2.5 มากรองผ่านเมมเบรนขนาด  $0.45 \mu$  ด้วย เครื่องกรองสารละลายดังแสดงในรูปที่ 2.8 นำสารละลายที่กรองได้ไปใส่อ่างสัด้วยเครื่อง ultrasonic bath นาน 10 นาที สารละลายที่ได้ ควรนำไปใช้งานทันที มิฉะนั้นอากาศจะ ละลายกลับลงไปอีก

3.2.7 การเตรียมน้ำที่ใช้ในการทดลอง

น้ำที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำที่ปราศจากไอออน ซึ่งได้จากเครื่องทำน้ำ deionized สามารถนำไปใช้เตรียมสารละลายตัวชะได้ทันที ส่วนน้ำที่ใช้ในการล้างคอลัมน์นั้น จะต้องนำไป กรองด้วยเครื่องกรองสารละลาย และใส่อ่างสัออกด้วยวิธีเช่นเดียวกับ การเตรียมสารละลายตัว ชะในข้อ 3.2.6

3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อวิเคราะห์แอนไอออนที่มีซิลิเฟอ์เป็นองค์ประกอบ

ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมนั้น ทดลองใช้คอลัมน์ 2 ชนิด คือ

1. PRP-X100 ของบริษัท Hamilton
2. IC-PAK A ของบริษัท Waters

ซึ่งคอลัมน์ทั้งสองชนิดนี้ มีลักษณะแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3.1



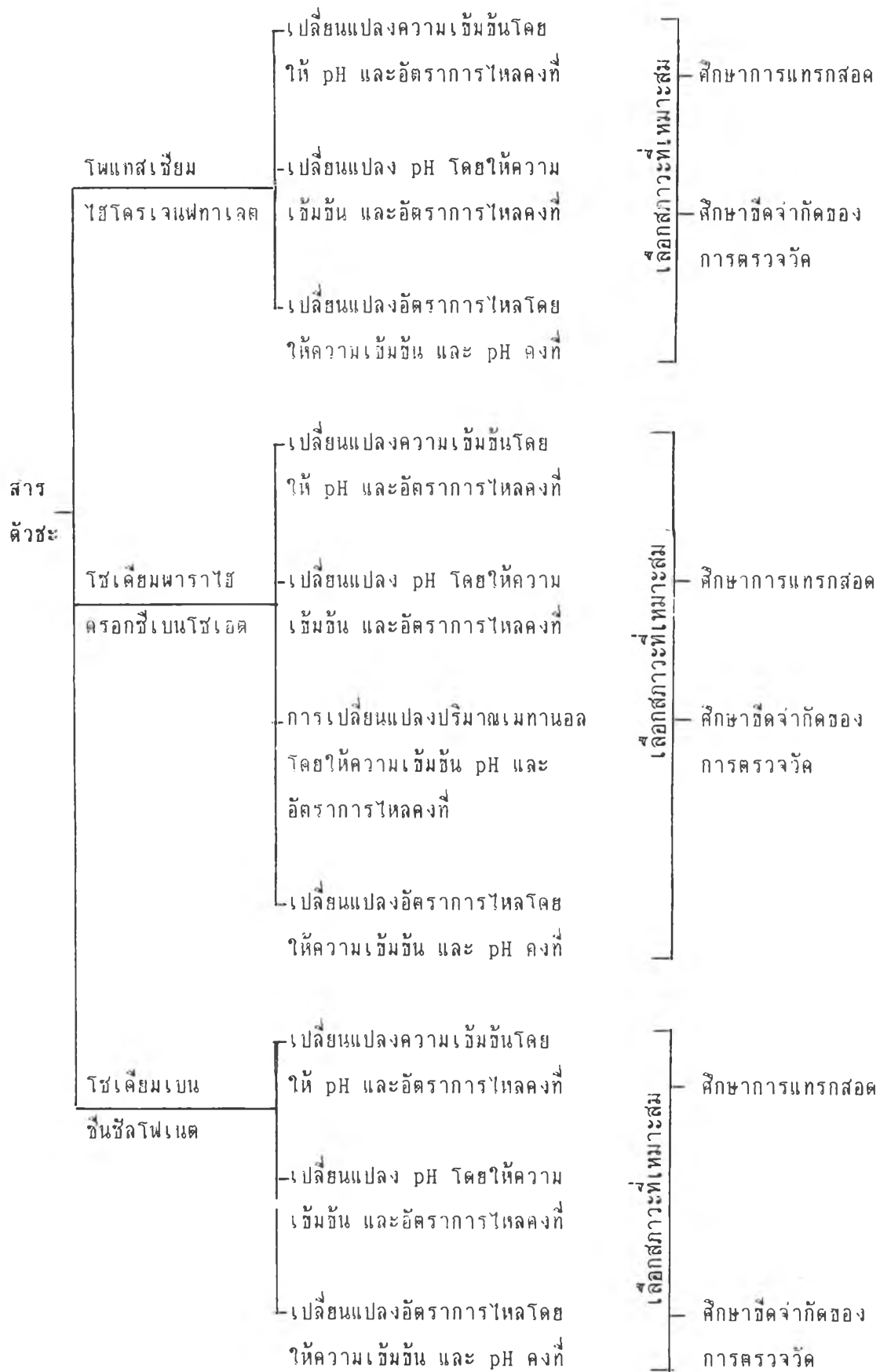
ตาราง 3.1 แสดงรายละเอียดและคุณลักษณะของแผ่นไอออนเอ็กซ์เชนจ์ที่ใช้ศึกษา

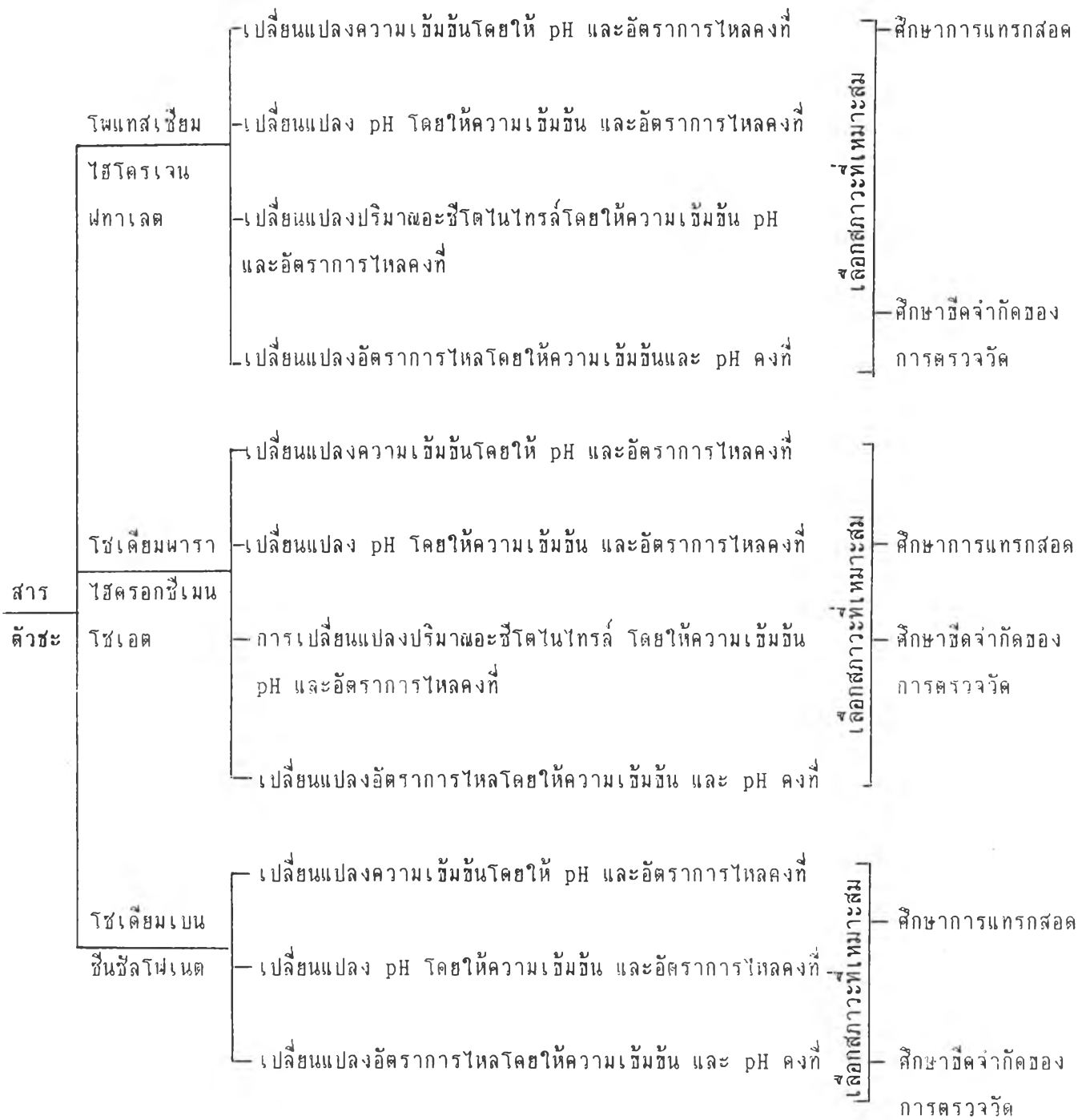
Column	Dimensions (mm)	pH range	Upper pressure limit (p.s.i.)	Maximum flow- rate (mL/min)	Maximum organic modifier (%)	Ion-exchange capacity ( $\mu$ equiv./g)	Particle size ( $\mu$ m)	Type of packing material
Hamilton PRP-X100	150 x 4.1	1-13	5000	8.0	100	200	10	Highly cross-linked poly- styrene-divinylbenzene coated with quarternary ammonium groups
Waters IC-PAK A	50 x 4.6	1-12	1000	1.2	20	30	10	Polymethacrylate gel coated with quarternary ammonium groups

และเลือกใช้สารละลายตัวชะ 4 ชนิด คือ

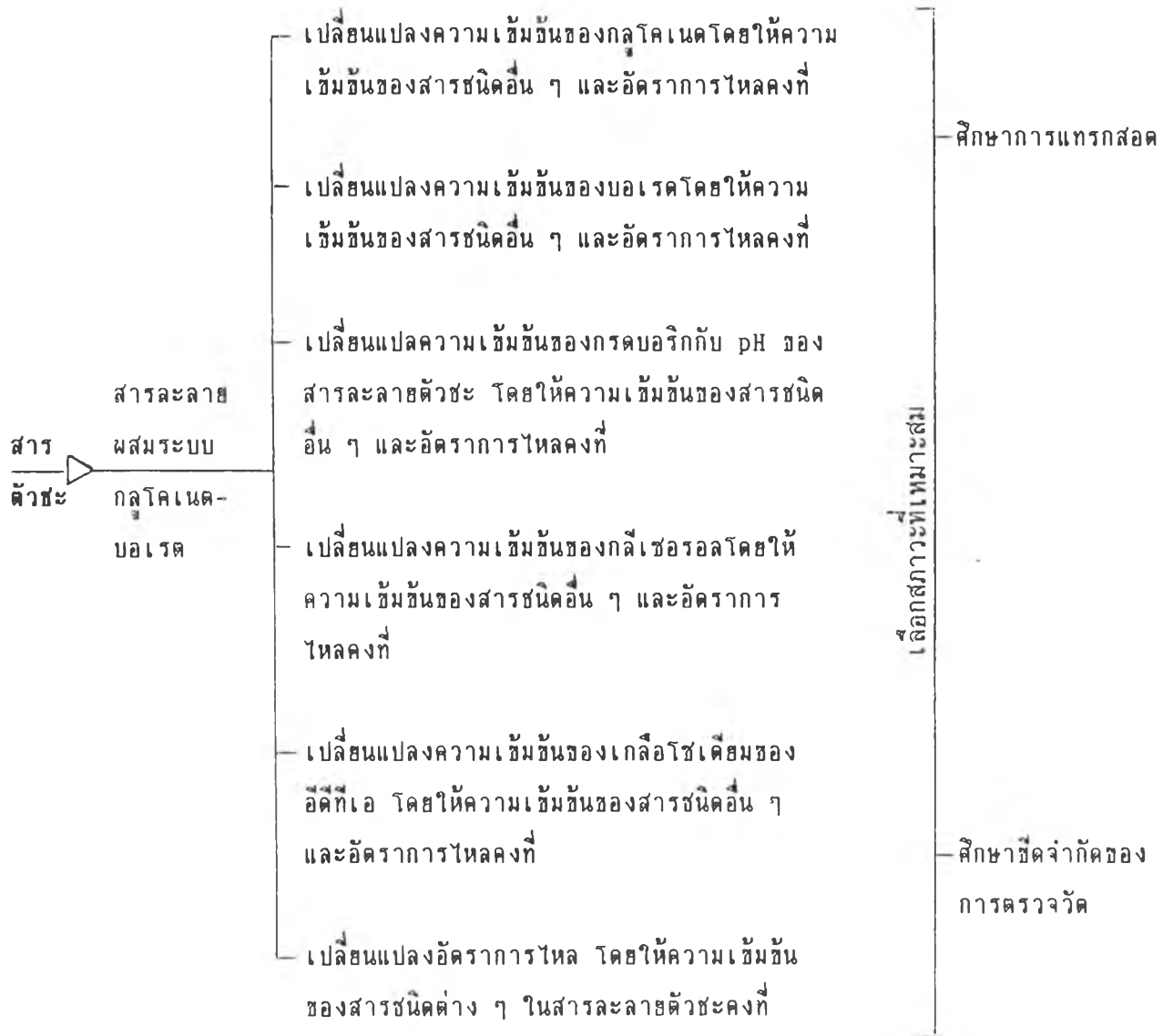
1. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium hydrogen phthalate , KHP)
2. สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต (Sodium-p-hydroxy benzoate, p-HBA)
3. สารละลายโซเดียมเบนซีสัลโฟเนต (Sodium benzenesulphonate, BSA)
4. สารละลายผสมระบบกลูโคเนต-บอเรต (Gluconate-Borate system, Glu-Bo)

ในการศึกษาจะได้ทำการทดลองนำคอลลิมน์ และสารละลายตัวชะแต่ละชนิด มาศึกษาหาสภาวะการแยกที่เหมาะสม โดยทำการเปลี่ยนแปลง ความเข้มข้น pH ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ (ในกรณีที่ต้องใช้) และสารอื่น ๆ ของสารละลายตัวชะ แล้วจึงเลือกสภาวะที่แยกสารได้ดีไปศึกษาถึงการแทรกสอดจากแอนไอออนชนิดอื่น ซึ่งมักพบเสมอในแหล่งน้ำเกือบทุกประเภท เช่น คลอไรด์ ฟลูออไรด์ โบรไมด์ ไอโอดีน ไนเตรต และไนไตรต์ และหาขีดจำกัดของการตรวจวัด จากนั้นจึงเลือกสภาวะที่ดีที่สุด ที่สามารถวิเคราะห์แอนไอออนที่มีซิลิเฟอ์เป็นองค์ประกอบได้ทั้ง 5 ชนิด นำไปประเมินผลของเทคนิคนี้ในเรื่องของ ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟเส้นตรง ความเที่ยง ความแม่นยำ และการนำไปประยุกต์ใช้งาน โดยทดลองวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่าง ๆ ขั้นตอนการทดลองสรุปได้ดังแสดงในรูปที่ 3.1 และ รูปที่ 3.2

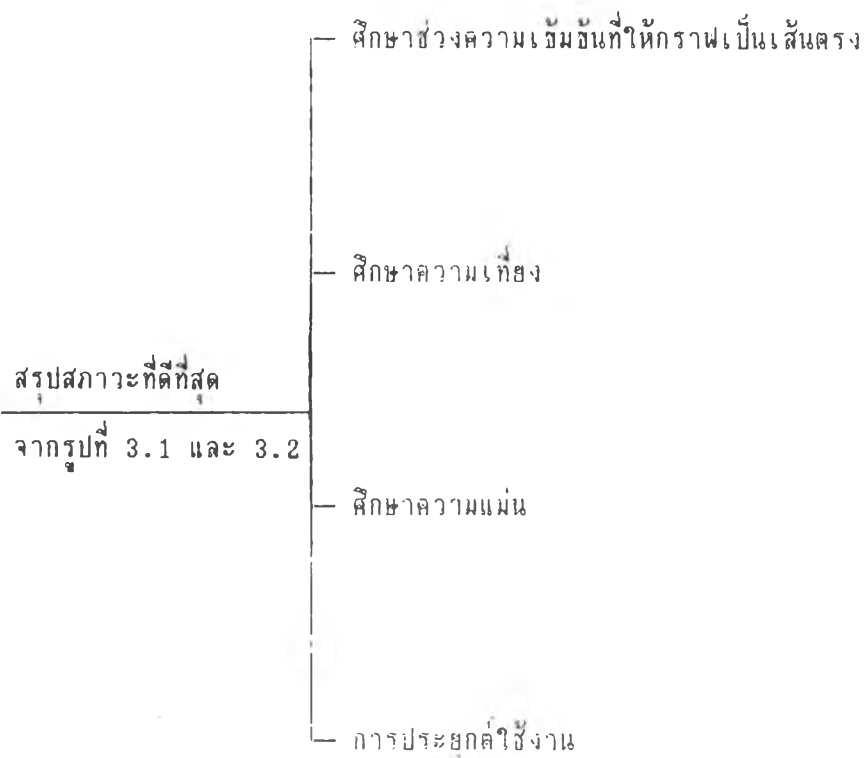




รูปที่ 3.2 (ต่อ)



รูป 3.1 และ 3.2 (ต่อ)



## วิธีการทดลอง

การทดลองนี้ใช้เครื่องไอออนโครมาโทกราฟทำการวิเคราะห์ไอออน ซึ่งทำได้โดยการฉีดสารตัวอย่างเข้าเครื่องทาง injection port สารละลายตัวชะจะพาตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ และเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนในคอลัมน์ ทำให้ไอออนซึ่งผสมกันอยู่ในสารตัวอย่างแยกออกเป็นชนิดๆ แล้วผ่านเข้าสู่ดีเทกเตอร์ในเวลาแตกต่างกัน บันทึกโครมาโทแกรม อ่านค่ารีเทนชันไทม์ จากโครมาโทแกรมและคำนวณค่าการแยกจากข้อมูลที่ได้อีกครั้งหนึ่ง ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างวิธีทำโดยละเอียดมีดังนี้

1. สูบสารละลายที่ใช้เก็บคอลัมน์ให้ผ่านระบบโดยไม่ต่อกับคอลัมน์ จนกระทั่งสารละลายไหล่อากาศออกจนหมด แล้วจึงนำคอลัมน์ไปต่อโดยให้ปลายอีกข้างหนึ่งเปิดไว้ การต่อคอลัมน์ให้สังเกตลูกศรแสดงทิศทางการไหลเข้าและออกของสารละลายตัวชะ สูบให้สารละลายไหลผ่านคอลัมน์ จนไม่มีฟองอากาศออกมาจากปลายคอลัมน์อีก ปิดเครื่องสูบ แล้วต่อปลายอีกข้างหนึ่งเข้าท่อที่ต่อไปยังดีเทกเตอร์
2. ล้างคอลัมน์ด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน และไล่อากาศออกแล้ว
3. ใช้ไซริงค์ขนาด 50 mL คูดูกทางท่อออก (draw off valve) เพื่อให้น้ำเข้าไปแทนที่สารละลายเดิม และอากาศในท่อออก
4. ใช้ไซริงค์อันเดิมบรรจุน้ำปราศจากไอออน 10 mL แล้วฉีดเข้าทางท่อคูดูดอก โดยเปิดเครื่องสูบให้มีอัตราการไหล 9.9 mL/min และให้น้ำไหลผ่านออกทางท่อทิ้ง (ไม่ผ่านคอลัมน์) จนน้ำในไซริงค์หมด แล้วลดอัตราการไหลเป็นศูนย์
5. เปิดสวิตช์ให้สารละลายผ่านเข้าสู่คอลัมน์ พร้อมกับเพิ่มอัตราการไหลของน้ำครั้งละ 0.1 mL/min จนถึงค่าที่ต้องการ ให้น้ำผ่านคอลัมน์ประมาณ 15 นาที หรือจนกระทั่งตัวทำละลายอินทรีย์ในคอลัมน์หมด
6. เปลี่ยนสารละลายจากน้ำเป็นสารละลายตัวชะที่เตรียมไว้แล้ว ตามวิธีในข้อ 3.2.6 โดยให้สารละลายตัวชะผ่านคอลัมน์จนเกิดสภาวะสมดุล สังเกตจากค่าแบคกราวนด์ที่
7. ฉีดสารละลายที่ทำการวิเคราะห์ผ่าน sample loop ขนาด 20  $\mu$ L
8. บันทึกผลโครมาโทแกรมที่ได้ โดยใช้เครื่องอินทิเกรเตอร์ ค่ารีเทนชันไทม์ และพื้นที่พีคสามารถอ่านได้จากเครื่องอินทิเกรเตอร์ที่พิมพ์ออกมา

9. เมื่อใช้ตัวชะชนิดเดิม แต่มีการเปลี่ยนแปลง ความเข้มข้น หรือ pH หรือตัวทำละลายอินทรีย์ที่เติม แตกต่างกัน สามารถเปลี่ยนได้โดยตรง โดยไม่ต้องล้างคอลัมน์ แต่ถ้าเปลี่ยนสารละลายตัวชะเป็นชนิดอื่น ต้องทำการล้างคอลัมน์ด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนก่อน จนค่าแบริวเป็นศูนย์ แล้วจึงจะผ่านสารละลายชนิดใหม่ได้

10. เมื่อต้องการเลิกใช้เครื่อง ให้ล้างคอลัมน์ด้วยน้ำจนหมดไอออนจากสารตัวชะหรือจน base line คงที่ หรือค่าแบริวเป็นศูนย์ จากนั้นจึงทำการผ่านตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อทำการรักษาคอลัมน์ โดยใช้เมทานอลสำหรับคอลัมน์ PRP-X100 และ น้ำผสมเมทานอลด้วยอัตราส่วน 10 ต่อ 1 สำหรับคอลัมน์ IC-PAK A

11. ในการเปลี่ยนสารละลายตัวชะ หรือเปลี่ยนสารละลายเพื่อล้างคอลัมน์หรือเก็บคอลัมน์ทุกครั้งจะต้องปฏิบัติตามวิธีในข้อ 3-5

สำหรับการทดลองครั้งนี้ ได้มีการเปลี่ยนแปลง คอลัมน์ สารละลายตัวชะ และ สารละลายตัวอย่างที่ทดลอง โดยมีรายละเอียดแตกต่างกัน ทั้งขึ้นอยู่กับการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมตามหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

3.3.1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม เพื่อ ใช้แยกแอนไอออนที่มีซิลเฟอ์เป็นองค์ประกอบ ที่มีความเข้มข้นคงที่ค่าหนึ่งซึ่งผสมกันอยู่ให้ได้ดีที่สุด โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายตัวชะ และให้ pH กับปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์คงที่ อัตราการไหลคงที่ 2.0 mL/min ใช้คอลัมน์ PRP-X100

1. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 1.0 2.0 3.0 และ 4.0 mM pH 5.0 เป็นตัวชะ สารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วย ซิลไฟด์ 100 ppm. ซิลเฟด โซโอซิลเฟด โซโอโซซานเนต ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. (ยกเว้นซิลไฟด์ เพราะใช้สารละลายตัวชะเป็นกรด) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1

2. ใช้สารละลายโซเดียมพาราโซโครซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 2.0 4.0 5.0 6.0 และ 7.0 mM pH 8.5 เป็นตัวชะ สารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วย ซิลไฟด์ 50 ppm. ซิลไฟด์ 100 ppm. ซิลเฟด โซโอซิลเฟด โซโอโซซานเนต ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2



3. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต ความเข้มข้น 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 และ 7.0 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ สารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วย ซัลไฟด์ 20 ppm. ซัลไฟด์ 100 ppm. ซัลเฟต ไธโอซัลเฟต ไธโอไซยาเนต ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.3

3.3.2 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้แยกแอนไอออนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ที่ความเข้มข้นคงที่ค่าหนึ่งซึ่งผสมกันอยู่ให้ได้ดีที่สุด โดยการเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายตัวชะ และ ให้ความเข้มข้น กับปริมาณสารละลายอินทรีย์คงที่ อัตราการไหลคงที่ 2.0 mL/min ใช้คอลัมน์ PRP-X100

1. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 2.0 mM pH 4.0 4.5 5.0 5.5 6.1 และ 7.2 เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.1 ข้อ 1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.4

2. ใช้สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 4.0 mM pH 7.5 8.0 8.5 และ 9.0 เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.1 ข้อ 2 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.5

3. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต ความเข้มข้น 2.0 mM pH 5.30 6.10 7.12 8.02 และ 9.02 เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.1 ข้อ 3 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.6

3.3.3 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้แยกแอนไอออนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ที่มีความเข้มข้นคงที่ค่าหนึ่งซึ่งผสมกันอยู่ให้ได้ดีที่สุด โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ที่เติมในสารละลายตัวชะ และให้ความเข้มข้นกับ pH ของสารละลาย คงที่ อัตราการไหลคงที่ 2.0 mL/min ใช้คอลัมน์ PRP-X100

ใช้สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 4.0 mM pH 8.5 เติมเมทานอลปริมาณ 0 % 5% และ 10% เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.1 ข้อ 2 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.7

3.3.4 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้แยกแอนไอออนที่มีซิลเฟอ์เป็นองค์ประกอบที่มีความเข้มข้นค่าหนึ่งซึ่งผสมกันอยู่ให้ได้ดีที่สุด โดยการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล และให้ความเข้มข้นกับ pH ของสารละลายตัวชะคงที่ ใช้คอลัมน์ PRP-X100

1. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 2.0 mM pH 5.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 1.6 2.0 2.2 และ 2.5 mL/min สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.1 ข้อ 1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.8

2. ใช้สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 6.0 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 1.0 1.2 1.5 1.8 และ 2.0 mL/min สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.1 ข้อ 2 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.9

3. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซิลโฟเนต ความเข้มข้น 6.0 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 1.5 2.0 2.5 และ 3.0 mL/min สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.1 ข้อ 3 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.10

3.3.5 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม เพื่อใช้แยกแอนไอออนที่มีซิลเฟอ์เป็นองค์ประกอบที่มีความเข้มข้นค่าหนึ่งซึ่งผสมกันอยู่ให้ได้ดีที่สุด โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายตัวชะ และให้ pH กับปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์คงที่ อัตราการไหลคงที่ 1.2 mL/min ใช้คอลัมน์ IC-PAK A

1. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 2.0 3.0 4.0 5.0 และ 6.0 mM pH 4.0 เป็นตัวชะ สารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วย ซิลไฟด์ 100 ppm. ซิลเฟด ไฮโอซิลเฟด ไฮโอโซยานเนต ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. (ยกเว้นซิลไฟด์ เพราะใช้สารละลายตัวชะเป็นกรด) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.11

2. ใช้สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 2.0 3.0 และ 4.0 mM pH 8.5 เป็นตัวชะ ซิลไฟด์ 30 ppm. ซิลเฟด ไฮโอซิลเฟด ไฮโอโซยานเนต ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.12

3. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซิลโฟเนต ความเข้มข้น 4.2 4.4 5.0

6.0 6.5 7.0 7.5 และ 8.0 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ ซัลไฟด์ 50 ppm. ซัลไฟด์ 100 ppm. ซัลเฟต ไฮโอซัลเฟต ไฮโอโซยานเนต ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.13

4. ใช้สารละลายตัวชะระบบกลูโคเนต-บอเรต ประกอบด้วย บอเรต 1.3 mM กรดบอริก 40.0 mM กลีเซอรอล 54.0 mM เกลือโซเดียมของอัสทีเอ 0.02 mM อะซีโตนไทรล์ 12 % pH 8.0 กลูโคเนต ความเข้มข้น 0.7 0.8 0.9 1.0 1.2 1.4 และ 1.6 mM ซัลไฟด์ 20 ppm. ซัลไฟด์ 100 ppm. ซัลเฟต ไฮโอซัลเฟต ไฮโอโซยานเนต ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.14

5. ใช้สารละลายตัวชะระบบกลูโคเนต-บอเรต ประกอบด้วยกลูโคเนต 0.8 mM กรดบอริก 40.0 mM กลีเซอรอล 54.0 mM เกลือโซเดียมของอัสทีเอ 0.02 mM อะซีโตนไทรล์ 12 % บอเรตความเข้มข้น 1.1 1.2 และ 1.5 mM pH 8.0 สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 4 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.15

6. ใช้สารละลายตัวชะระบบกลูโคเนต-บอเรต ประกอบด้วยกลูโคเนต 0.8 mM บอเรต 1.2 mM กลีเซอรอล 54.0 mM เกลือโซเดียมของอัสทีเอ 0.02 mM อะซีโตนไทรล์ 12 % เติมกรดบอริกปริมาณต่าง ๆ คือ 120 100 80 60 40 และ 20 mM pH ของสารละลายจะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณของกรดบอริกที่เติม ทำการวิเคราะห์ที่ pH นั้น ๆ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 4 ฉีดสารครั้งละ 20  $\mu$ L ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.16

7. ใช้สารละลายตัวชะระบบกลูโคเนต-บอเรต ประกอบด้วยกลูโคเนต 0.8 mM บอเรต 1.2 mM กรดบอริก 40.0 mM กลีเซอรอล 54.0 mM อะซีโตนไทรล์ 12 % pH 8.0 เกลือโซเดียมของอัสทีเอ ความเข้มข้น 0 0.005 0.010 0.015 0.020 และ 0.040 mM สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 4 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.17

3.3.6 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้แยกแอนไอออนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบที่มีความเข้มข้นคงที่ค่าหนึ่งซึ่งผสมกันอยู่ให้ได้ดีที่สุด โดยการเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายตัวชะ และให้ความเข้มข้นกับปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์คงที่ อัตราการไหลคงที่ 1.2 mL/min ใช้คอลัมน์ IC-PAK A

1. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 2.0 mM pH 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 และ 7.0 เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.18

2. ใช้สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 2.0 mM pH 7.0 8.0 และ 8.5 เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 2 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.19

3. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต ความเข้มข้น 7.5 mM pH 6.25 7.40 8.15 และ 8.50 เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 3 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.20

3.3.7 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้แยกแอนไอออนที่มีซิลเฟอร์เป็นองค์ประกอบที่มีความเข้มข้นคงที่ค่าหนึ่งซึ่งผสมกันอยู่ให้ได้ดีที่สุด โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ที่เติมในสารละลายตัวชะ และให้ความเข้มข้น กับ pH ของสารละลายคงที่ อัตราการไหลคงที่ 1.2 mL/min ใช้คอลัมน์ IC-PAK A

1. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 2.0 mM pH 5.0 เติมอะซีโตนไทรล์ให้มีปริมาณ 0 % 2.0 % 4.0 % 6.0 % 8.0 % 10.0 % และ 12.0 % เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.21

2. ใช้สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 3.0 mM pH 8.0 เติมอะซีโตนไทรล์ให้มีปริมาณ 0.0 % 5.0 % 10.0 % และ 15.0 % เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 2 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.22

3. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต ความเข้มข้น 7.5 mM pH 8.0 เติมอะซีโตนไทรล์ให้มีปริมาณ 0.0 % 5.0 % 10.0 % และ 15.0 % เป็นตัวชะ สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 3 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.23

4. ใช้สารละลายตัวชะระบบกลูโคเนต-บอเรต ประกอบด้วยกลูโคเนต 0.8 mM บอเรต 1.2 mM กรดบอริก 40.0 mM กลีเซอรอล 54.0 mM เกลือโซเดียมของอีดีทีเอ 0.02 mM pH 8.0 และอะซีโตนไทรล์ให้มีปริมาณต่าง ๆ คือ 0.0 % 5.0 % 10.0 %

12.0 % 14.0 % 16.0 % และ 18.0 % สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 4 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.24

3.3.8 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้แยกแอนไอออนที่มีซิลเฟอ์เป็นองค์ประกอบที่มีความเข้มข้นคงที่ค่าหนึ่งซึ่งผสมกันอยู่ให้ได้ดีที่สุด โดยการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล และให้ความเข้มข้น pH และปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ของสารละลายตัวชะคงที่ ใช้คอลัมน์ IC-PAK A

1. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 5.0 mM pH 4.15 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 0.6 0.8 1.0 และ 1.2 mL/min สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 1 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.25

2. ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เบนโซเอต ความเข้มข้น 3.0 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 0.6 0.8 1.0 และ 1.2 mL/min สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 2 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.26

3. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต ความเข้มข้น 7.5 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 0.6 0.8 1.0 และ 1.2 mL/min สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 3 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.27

4. ใช้สารละลายตัวชะระบบกลูโคเนต-บอเรต ประกอบด้วยกลูโคเนต 10 mM บอเรต 1.1 mM กรดบอริก 90.0 mM กลีเซอรอล 54.0 mM เกลือโซเดียมของอิตีที่เอ 0.02 mM อะซีโตนไนโตรล 16 % pH 7.35 อัตราการไหล 0.6 0.8 0.9 1.0 และ 1.2 mL/min สารละลายที่ใช้ทดลองเหมือนกับข้อ 3.3.5 ข้อ 4 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.28

3.3.9 ศึกษาการแทรกสอดจากไอออนที่มีประจุเดียว ที่พบเสมอในตัวอย่าง ได้แก่ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ โบรไมด์ ไนเตรต ไนไตรต์ และ ไอโอไดด์ โดยเตรียมสารละลายแอนไอออนมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 10 - 50 ไมโครกรัม/กรัม วิเคราะห์โดยเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในข้อ 3.3.1-3.3.8 เพื่อเปรียบเทียบค่ารีเทนชันไทม์ของไอออนที่เป็นตัวแทรกสอดกับแอนไอออนที่มีซิลเฟอ์เป็นองค์ประกอบ สารละลายตัวชะ และ สารละลายที่ใช้ทดลอง มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 2.0 mM pH 5.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 2.0 mL/min สารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วยแอนไอออนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ คลอไรด์ ไนไตรต์ โบรไมด์ ไนเตรต ชนิดละ 30 ppm. ไอโอไดด์ ซัลเฟต ไฮโอซัลเฟต ชนิดละ 50 ppm. ไฮโอไซยาเนต 100 ppm. และใช้คอลัมน์ PRP-X100 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.29 และ แสดงโครมาโทแกรม ดังรูปที่ 4.8

2. ใช้สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 6.0 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 2.0 mL/min และสารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วยแอนไอออนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไตรต์ โบรไมด์ ไนเตรต ชนิดละ 30 ppm. ไอโอไดด์ ซัลเฟต ไฮโอซัลเฟต ซัลไฟด์ ชนิดละ 50 ppm. ซัลไฟด์ 100 ppm. ใช้คอลัมน์ PRP-X100 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.29 และแสดงโครมาโทแกรมดังรูปที่ 4.9

3. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซัลโฟเนต ความเข้มข้น 6.0 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 2.0 mL/min และสารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วยแอนไอออนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไตรต์ โบรไมด์ ไนเตรต ชนิดละ 30 ppm. ไอโอไดด์ ซัลเฟต ชนิดละ 50 ppm. ไฮโอซัลเฟต ไฮโอไซยาเนต ชนิดละ 100 ppm. ใช้คอลัมน์ PRP-X100 ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.29 และแสดงโครมาโทแกรม ดังรูปที่ 4.10

4. ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต ความเข้มข้น 5.0 mM pH 4.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 1.2 mL/min และสารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วยแอนไอออนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไตรต์ โบรไมด์ ไนเตรต ชนิดละ 30 ppm. ไอโอไดด์ ซัลเฟต ไฮโอซัลเฟต ชนิดละ 50 ppm. ไฮโอไซยาเนต ซัลไฟด์ ชนิดละ 100 ppm. ใช้คอลัมน์ IC-PAK A ผลการทดลองแสดงในตาราง 4.29 และ แสดงโครมาโทแกรม ดังรูปที่ 4.11

5. ใช้สารละลายโซเดียมพาราไฮดรอกซีเบนโซเอต ความเข้มข้น 3.0 mM pH 8.0 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 1.2 mL/min และสารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วยแอนไอออนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไตรต์ โบรไมด์ ไนเตรต ชนิดละ 30 ppm. ไอโอไดด์ ซัลเฟต ไฮโอซัลเฟต ชนิดละ 50 ppm. ไฮโอไซยาเนต 100 ppm. ใช้คอลัมน์ IC-PAK A ผลการทดลองแสดงในตาราง 4.29 และแสดงโครมาโทแกรม ดังรูปที่

## 4.12

6. ใช้สารละลายโซเดียมเบนซีนซิลโฟเนต ความเข้มข้น 7.5 mM pH 7.7 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 1.2 mL/min และสารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วยแอนไอออนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไตรต์ โบรไมด์ ไนเตรต ซัลเฟต ไอโอไดด์ ชนิดละ 30 ppm. โซโอสัลเฟต โซโอโซยานเนต ชนิดละ 50 ppm. ซัลไฟด์ 100 ppm. ใช้คอลัมน์ IC-PAK A ผลการทดลองแสดงในตาราง 4.29 และ แสดงโครมาโทแกรมดัง ดังรูปที่ 4.13

7. สารละลายผสมของกลูโคเนต 1.0 mM บอเรต 1.1 mM กรดบอริก 90.0 mM กลีเซอรอล 54.0 mM เกลือโซเดียมของอิตีทีเอ 0.02 mM และ อะซีโตนไตรล์ 16.0% pH 7.35 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 1.2 mL/min และสารละลายผสมที่ใช้ทดลองประกอบด้วยแอนไอออนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไตรต์ โบรไมด์ ไนเตรต ซัลไฟด์ ซัลไฟด์ ไอโอไดด์ ชนิดละ 30 ppm. ซัลเฟต โซโอสัลเฟต โซโอโซยานเนต ชนิดละ 50 ppm. ใช้คอลัมน์ IC-PAK A ผลการทดลองแสดงในตาราง 4.29 และ แสดงโครมาโทแกรม ดังรูปที่ 4.14

3.3.10 ศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด (detection limited) ป็นการศึกษาเพื่อหาปริมาณต่ำสุดของไอออนที่สามารถตรวจพบ โดยมีค่าความสูงของสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนเป็น 2 (signal to noise ratio = 2) การวัดสัญญาณรบกวนจะใช้ค่าเฉลี่ยในเวลา 10 นาที การศึกษาทำโดยใช้สารละลายตัวชะเหมือนกับข้อ 3.3.9 ข้อ 1 - 7 ส่วนสารละลายที่ใช้ทดลอง เตรียมเป็นสารละลายมาตรฐานที่มีไอออนเพียงชนิดเดียวให้มีความเข้มข้น 5 ppm. แล้ววัดความสูงของพีคเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของสัญญาณรบกวน ถ้าความสูงของพีคของไอออนที่ได้ไม่เป็น 2 เท่าของสัญญาณรบกวน นำสารละลายไปเจือจาง หรือเพิ่มความเข้มข้น จนกระทั่งอ่านได้ใกล้เคียงกับค่าที่ต้องการ

3.3.11 ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ คือช่วงของความเข้มข้นที่ให้ความสัมพันธ์ของปริมาณสาร กับสัญญาณ เป็นเส้นตรง โดยเตรียมสารละลายแอนไอออนที่มีซิลเฟอ์เป็นองค์ประกอบ ความเข้มข้น 0 - 1,000 ไมโครกรัม/กรัม วิเคราะห์โดยใช้สภาวะที่ดีที่สุดที่สามารถวิเคราะห์แอนไอออนที่มีซิลเฟอ์เป็นองค์ประกอบได้ทั้ง 5 ชนิดพร้อม

กัน และไม่มีการแทรกสอดจากแอนไอออนชนิดอื่น ซึ่งหาได้จากการทดลองในข้อ 3.3.1 ถึง 3.3.9 คือใช้สารละลายผสมของกลูโคเนต 1.0 mM บอเรต 1.1 mM กรดบอริก 90.0 mM กลีเซอรอล 54.0 mM เกลือโซเดียมของอัสทิกที่เอ 0.02 mM และ อะซีโตนไนไตรล์ 16.0 % pH 7.35 เป็นตัวชะ อัตราการไหล 1.2 mL/min และใช้คอลัมน์ IC-PAK A ผลการทดลอง แสดงเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยของพื้นที่พีค ( $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ ) ที่ได้จากการวัดซ้ำ 3 ครั้ง กับความเข้มข้น เลือกช่วงความเข้มข้นที่ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงมาใช้ในการวิเคราะห์หา ปริมาณต่อไป

3.3.12 ศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ โดยเตรียมสารละลายแอนไอออนที่มี ซัลเฟตเป็นองค์ประกอบ ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. สกเวนซิลไฟด์ 400 ppm. โดย พิจารณาจากกราฟที่ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ในข้อ 3.3.11 ทำการวิเคราะห์โดยใช้สภาวะ เช่นเดียวกับข้อ 3.3.11 วิเคราะห์ซ้ำ 11 ครั้ง อ่านค่าพื้นที่พีคจากโครมาโทแกรม ซึ่งเครื่อง อินทิเกรเตอร์คำนวณไว้แล้ว นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมขึ้น เพื่อหาความเข้มข้นของ แอนไอออนในสารละลาย แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( % RSD ) ผล การทดลองแสดงในตารางที่ 4.31

3.3.13 ศึกษาความแม่นยำของการวิเคราะห์ เป็นการหาปริมาณวิเคราะห์โดยใช้สาร ละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นเอง ใช้สารละลายตัวชะ และ สภาวะการทดลองเช่นเดียวกับ ข้อ 3.3.11 มีวิธีการทดลองดังนี้

3.3.13.1 เตรียมกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของแอนไอออนแต่ ละชนิดให้ความเข้มข้นในช่วง 10-100 ไมโครกรัม/กรัม สกเวนซิลไฟด์ เตรียมในช่วง 200- 500 ไมโครกรัม/กรัม วิเคราะห์ซ้ำจุดละ 3 ครั้งเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ของพื้นที่ พีค กับความเข้มข้น ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.20 - 4.24

3.3.13.2 หาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นเอง โดยเตรียม ให้ความเข้มข้นต่างๆ กันคือ 15 50 85 ไมโครกรัม/กรัม สกเวนซิลไฟด์ วิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง หาปริมาณโดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน แล้วหาค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น ผลการวิเคราะห์ แสดงในตารางที่ 4.32



3.4 การวิเคราะห์ตัวอย่างจริง จากสภาวะต่าง ๆ ที่ได้ศึกษามาแล้วนั้น ได้นำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอนไอออนที่มีซิลิเฟอ์เป็นองค์ประกอบจากตัวอย่างจริง โดยเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่าง ๆ ดังนี้

- 1 น้ำประปาจากตึกเคมี 3
- 2 น้ำจากสระน้ำหน้าจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 3 น้ำจากบ่อเสี่ยหน้าตึกเคมี 3
- 4 น้ำจากคลองผดุงกรุงเกษม

ขั้นตอนการวิเคราะห์น้ำตัวอย่างมีดังต่อไปนี้

3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง เก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่าง ๆ โดยใช้ขวดพลาสติกขนาด 500 mL บรรจุจนล้นแล้วปิดฝาให้สนิท เพื่อป้องกันการถูกออกซิไดซ์จากอากาศ และวิเคราะห์ทันทีเมื่อถึงห้องปฏิบัติการ กรองน้ำโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อแยกตะกอนหยาบออก แล้วกรองโดยใช้ชุดกรองตัวอย่าง ผ่านเมมเบรนขนาด  $0.45 \mu$  เก็บตัวอย่างใส่ขวดแก้วขนาดเล็ก ปิดฝาสสนิท

3.4.2 การทำคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative analysis) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- 1 ใช้สภาวะที่เลือกตามข้อ 3.3.11 วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่เตรียมตามข้อ 3.4.1 โดยฉีดสารตัวอย่าง  $20 \mu\text{L}$  ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูปที่ 4.25 - 4.28
- 2 ใช้สภาวะเช่นเดียวกับ ข้อ 1 วิเคราะห์สารละลายมาตรฐานของแอนไอออนที่มีซิลิเฟอ์เป็นองค์ประกอบซึ่งผสมกัน 5 ชนิด ความเข้มข้นชนิดละ 50 ppm. บันทึกโครมาโทแกรม
- 3 เปรียบเทียบค่ารีเทนชันไทม์ระหว่างโครมาโทแกรมจากข้อ 1 กับ 2 บันทึกค่าที่เท่ากัน และค่าที่ใกล้เคียงกันมาก
- 4 เติมสารละลายแอนไอออนมาตรฐาน เฉพาะชนิดที่สงสัยลงในน้ำตัวอย่าง (spike) ถ้ามีพีกซ้อนกันพอดี ซึ่งดูจากความสูงและพื้นที่ของพีกเดิมที่เพิ่มขึ้น ก็ตั้งสมมติฐานว่า อาจจะเป็นสารชนิดเดียวกัน

5 ทำการทดลองซ้ำ ตั้งแต่ข้อ 1 - 2 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นขององค์ประกอบของสารละลายตัวชะ ถ้าฟังก์ชันคงซ้อนกันพอดี ก็แสดงว่าเป็นสารชนิดเดียวกัน

3.4.3 การทำปริมาณวิเคราะห์ ( Quantitative analysis ) วิเคราะห์หาปริมาณแอนไอออนในตัวอย่างไม่ โดยใช้น้ำที่เตรียมจากข้อ 3.4.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานตามชนิดของแอนไอออนที่ตรวจพบในข้อ 3.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณจะทำ 2 วิธี คือ วิธีเทียบกับกราฟมาตรฐาน ( External standard ) และวิธีเติมสารละลายมาตรฐานลงในตัวอย่าง ( standard addition )

1 การวิเคราะห์หาปริมาณโดยการเตรียมกราฟมาตรฐาน เตรียมสารละลายมาตรฐานของแอนไอออนที่มีซิลิเฟอ์เป็นองค์ประกอบ เพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิด ขึ้นอยู่กับผลการทดลองในข้อ 3.4.2 ว่ามีไอออนชนิดใดบ้าง เตรียมให้มีความเข้มข้นในช่วง 10-100 ppm. วิเคราะห์ซ้ำจุดละ 3 ครั้ง เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่พีค ใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณแอนไอออนในตัวอย่างต่อไป ซึ่งตัวอย่างจะต้องวิเคราะห์โดยใช้สภาวะเดียวกับแอนไอออนมาตรฐาน

2 การวิเคราะห์หาปริมาณโดยการเติมสารละลายมาตรฐาน วิธีนี้จะทำเฉพาะกับตัวอย่างที่มีไอออนที่สนใจปริมาณต่ำมาก ๆ โดยพิจารณาจากโครมาโทแกรมในข้อ 3.4.2 มีวิธีทำดังนี้ คือ

ปิเปิดตัวอย่างน้ำจากข้อ 3.4.1 ปริมาตร 1 mL ใส่ขวดแก้วขนาดเล็ก ( vial ) จำนวน 4 ใบ เติมสารละลายมาตรฐานแอนไอออนลงใน vial แต่ละใบเพื่อทำให้สารละลายมีแอนไอออนมาตรฐาน 40 60 80 และ 100 ppm. โดยใช้ไมโครไซริงค์ดูดสารละลายจากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 10,000 ppm. ปริมาตร 4 6 8 และ 10  $\mu$ L ตามลำดับ บันทึกและอ่านค่าจากโครมาโทแกรม เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของแอนไอออนมาตรฐานกับพื้นที่พีค หาปริมาณแอนไอออน โดยวัดความยาวจากจุดโคออดิเนตไปยังจุดตัดบนแกน x เทียบเป็นความเข้มข้น