



การทดลองและผลการทดลอง

ตัวอย่างคัมที่ใช้ในงานวิจัย

ตัวอย่างคัมที่ใช้ทั้งหมดได้จากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยได้รับความเอื้อเฟื้อจาก นายแพทย์วิรัช บรรณรักษ์จรรยาวัตร จำนวนตัวอย่างคัมทั้งหมดมี 121 ตัวอย่าง แบ่งเป็นคัมของ คนปกติจำนวน 111 ตัวอย่าง และคัมผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างเหล่านี้เป็น ตัวอย่างจากทั้ง เพศชายและเพศหญิง โดยที่มีระดับอายุตั้งแต่แรกเกิดจนกระทั่งถึงอายุ 87 ปี ตัวอย่างคัมผู้ป่วยได้จากการเก็บโดยวิธี biopsy ทั้งหมด จึงมีขนาดตัวอย่างไม่เกิน 9.0 มิลลิกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตัวอย่างคัมคนปกติจะมีน้ำหนักแห้งตั้งแต่ 4.0 มิลลิกรัม ถึง 400 มิลลิกรัม

การเตรียมตัวอย่างคัมเพื่อใช้ในการวิเคราะห์

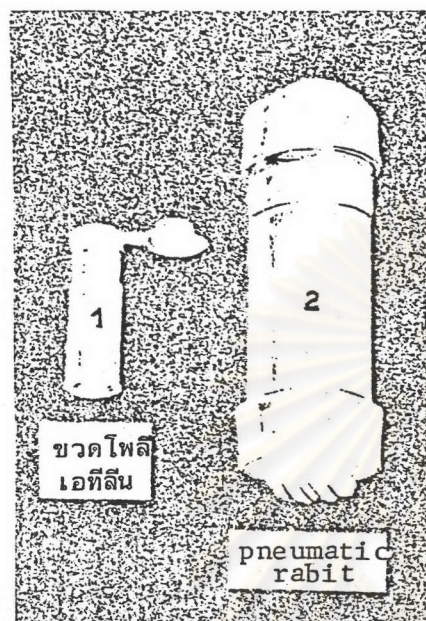
นำตัวอย่างคัมที่แช่อยู่ในสารละลายฟอร์มาลินออกมาล้างให้แห้งบนกระดาษฟิลา แล้ว คัดเป็นชั้นบาง ๆ เพื่อช่วยให้ตัวอย่างแห้งเร็วขึ้น หลังจากนั้นนำไปทำให้แห้งโดยการแช่แข็ง (freeze-dry) เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง จนสารตัวอย่างแห้งสนิท แล้วเก็บสารตัวอย่าง เหล่านี้ไว้ในโลบ (desiccator) เพื่อการวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์หาปริมาณของทองแดงและเหล็กในตัวอย่างคัม ด้วยเทคนิคทางนิวตรอนแอกติเวชัน

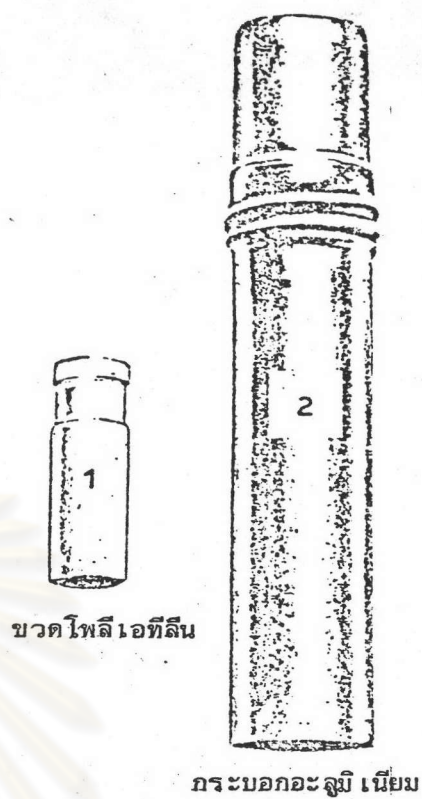
เนื่องจากสารตัวอย่างคัมมีปริมาณน้อย เทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ได้อย่างดีโดยที่สาร ตัวอย่างไม่ถูกทำลาย และเป็นเทคนิคที่ให้เซนซิวิตีสูงด้วย จึงเลือกใช้เทคนิคทางนิวตรอน- แอกติเวชันทำการวิเคราะห์

1. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- (1) สารมาตรฐาน Bovine Liver ของ IAEA (SRM 1577)
- (2) ขวดโพลีเอทิลีนขนาดเล็กสำหรับบรรจุตัวอย่าง เข้าอามริงส์ และ pneumatic rabbit สำหรับนำตัวอย่าง เข้าอามริงส์ในระบบ pneumatic tube (รูปที่ 3.1 ก)



ก



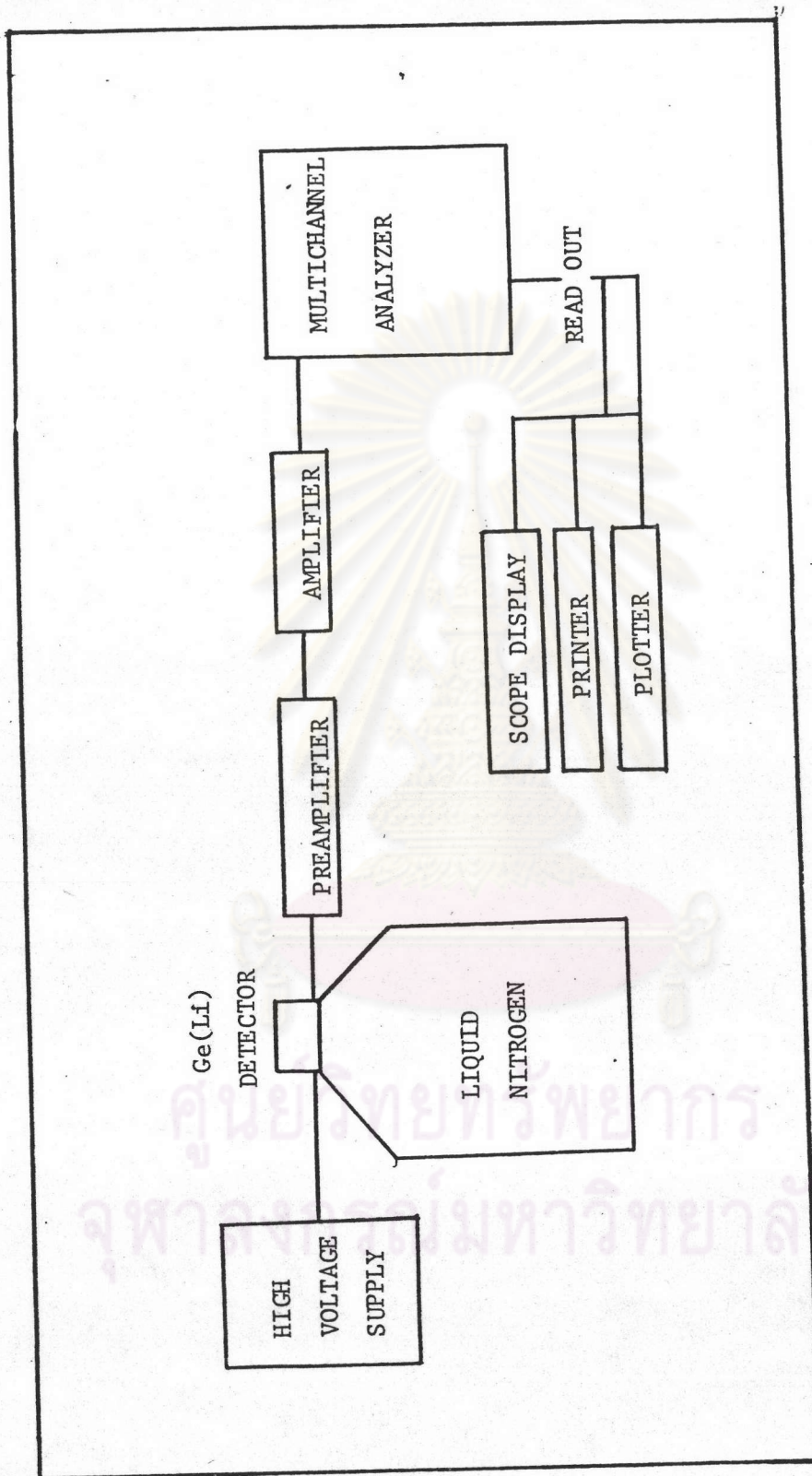
ข

รูปที่ 3.1 ภาพขณะบรรจุตัวอย่าง (1) และภาพขณะนำสารเข้าอามริงส์นิวตรอน (2)

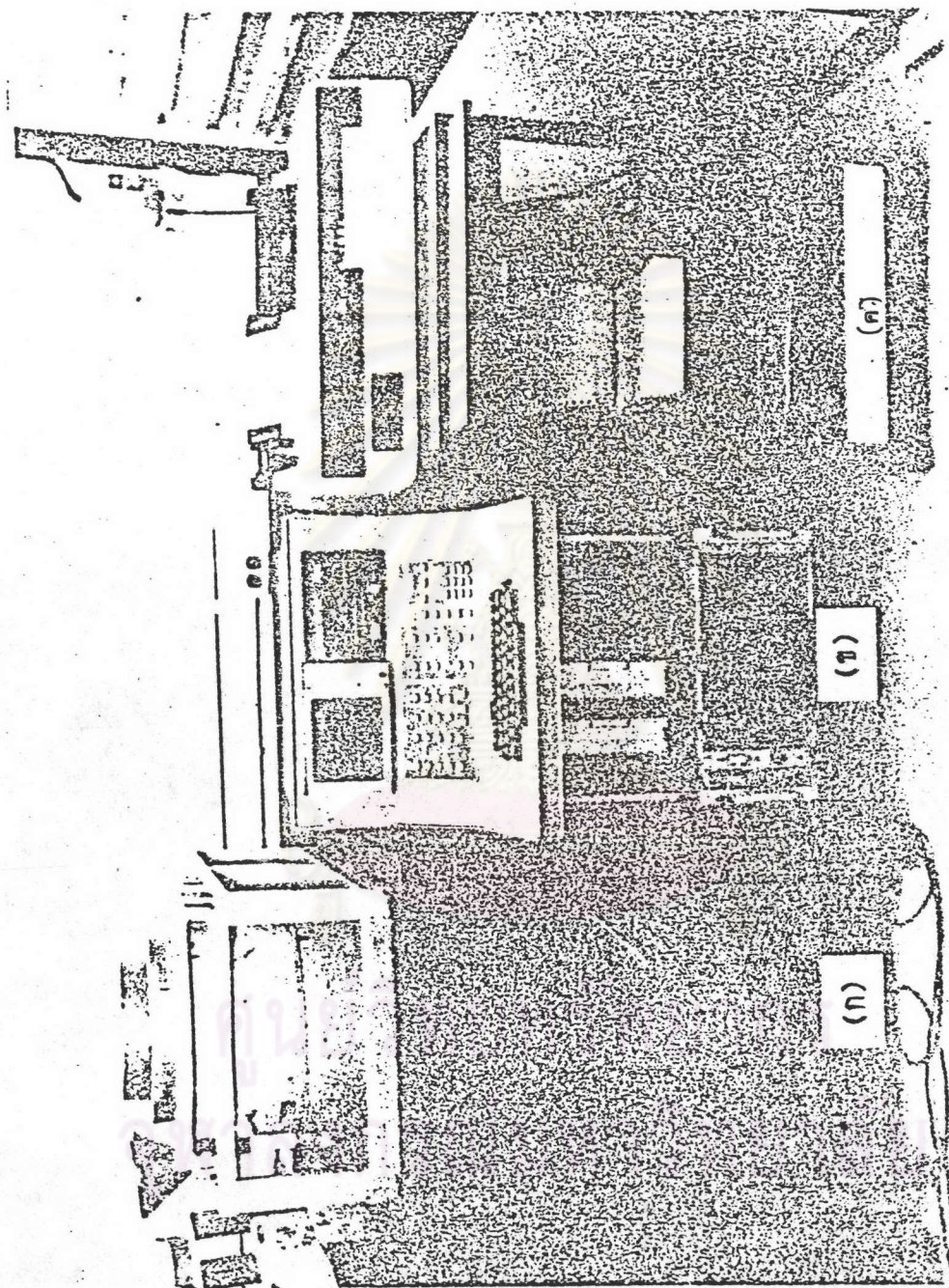
ก. ภาพขณะบรรจุและนำสารเข้าอามริงส์ในระบบ pneumatic tube

ข. ภาพขณะบรรจุและนำสารเข้าอามริงส์ในระบบ Lazy Susan

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.2 ไลอะแกรมของ เครื่องตรวจนับรังสีแกมมาใน เทคนิคนิวตรอนเอกติ เวชัน



รูปที่ 3.3 หัววัดรังสีแกมมา และ เครื่องมีอนับรังสีแกมมา

- (ก) หัววัดรังสีแกมมาแบบกึ่งตัวนำ ชนิด Ge(Li)
- (ข) เครื่องมีอนับรังสีแบบหลายช่อง ชนิด 4096 ช่อง ซึ่งใช้ร่วมกับมินิคอมพิวเตอร์
- (ค) เครื่องพิมพ์ข้อมูล

(3) ขวดโพสิเอทีลีนขนาดเล็กสำหรับบรรจุตัวอย่าง เข้าอามรังสี และกระบอกลอญีเนียมสำหรับนำตัวอย่าง เข้าอามรังสีในระบบ Lazy Susan (รูปที่ 3.1 ข)

(4) หัววัดรังสีแกมมาแบบกึ่งตัวนำชนิด Ge(Li) และแกมมาสเปกโตรมิเตอร์ (Gamma Spectrometer) แบบ 4096 ช่อง ของบริษัท Ortec (รูปที่ 3.2 และ 3.3)

2. วิธีทำการทดลอง

2.1 การตรวจสอบเบื้องต้นของสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน

(1) นำตัวอย่างดิบและสารมาตรฐาน Bovine Liver บรรจุในขวดโพสิเอทีลีน และใส่ลงใน pneumatic rabbit

(2) นำไปอามรังสีระบบ pneumatic tube โดยทดลองใช้เวลาอามรังสี 3 นาที 5 นาที และ 10 นาที แล้วนำออกมาทิ้งไว้ 2 นาที และ 3 นาที จึงนำไปตรวจนับรังสีแกมมาของ Cu^{66} ซึ่งมีครึ่งชีวิต ประมาณ 5 นาที และมีพลังงานรังสีแกมมาเป็น 1039 keV เป็นเวลานาน 2 นาที และ 3 นาที ซึ่งพบว่าสภาวะที่ดีที่สุดที่จะให้แกมมาสเปกตรัมชัดเจน ดังในรูปที่ 3.4 และ 3.5 และตรวจนับรังสีของ Cu^{66} ได้ดีที่สุด คือใช้เวลาอามรังสีนาน 5 นาที ทิ้งไว้ 2 นาที และตรวจนับรังสีนาน 2 นาที

(3) นำตัวอย่างดิบและสารมาตรฐาน Bovine Liver อีกชุดหนึ่งบรรจุในขวดโพสิเอทีลีน และใส่ลงในกระบอกลอญีเนียม

(4) นำไปอามรังสีระบบ Lazy Susan นาน 1 สัปดาห์ และนำออกมาทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ 2 สัปดาห์ และ 3 สัปดาห์ จึงนำไปตรวจนับรังสีแกมมาของ Fe^{59} ซึ่งมีครึ่งชีวิต ประมาณ 45 วัน และมีพลังงานรังสีแกมมาเป็น 1299 keV เป็นเวลานาน 1000 วินาที และ 3000 วินาที ซึ่งพบว่าสภาวะที่ดีที่สุดที่จะให้แกมมาสเปกตรัมชัดเจนดังในรูปที่ 3.6 และ 3.7 และตรวจนับรังสีได้ที่ดีที่สุดคือ ใช้เวลาอามรังสีนาน 1 สัปดาห์ ทิ้งไว้ 2 สัปดาห์ แล้วตรวจนับรังสีนาน 1000 วินาที

2.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณทองแดงในตัวอย่างดิบ

(1) นำตัวอย่างดิบที่แห้งและสารมาตรฐานไปซึ่งน้ำหนักให้รู้น้ำหนักที่แน่นอน

(2) นำตัวอย่างดิบคนปกติ 59 ตัวอย่าง คับผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย 10 ตัวอย่าง และสารมาตรฐาน 10 ตัวอย่าง เข้าอามรังสีระบบ pneumatic tube ตามวิธี

ในหัวข้อ 2.1 ข้อ(2)

(3) คำนวณหาปริมาณทองแดงในตัวอย่างดิบโดยวิธี เปรียบเทียบรังสี
ที่วัดได้กับสารมาตรฐาน Bovine Liver

2.3 วิธีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างดิบ

(1) นำตัวอย่างดิบและสารมาตรฐานชุดเดิมที่วิเคราะห์หาปริมาณทองแดง
แล้วมาทิ้งไว้ให้มีการสลายตัวของไอโซโทปกัมมันตรังสีต่าง ๆ จนหมด นานประมาณ 2 สัปดาห์

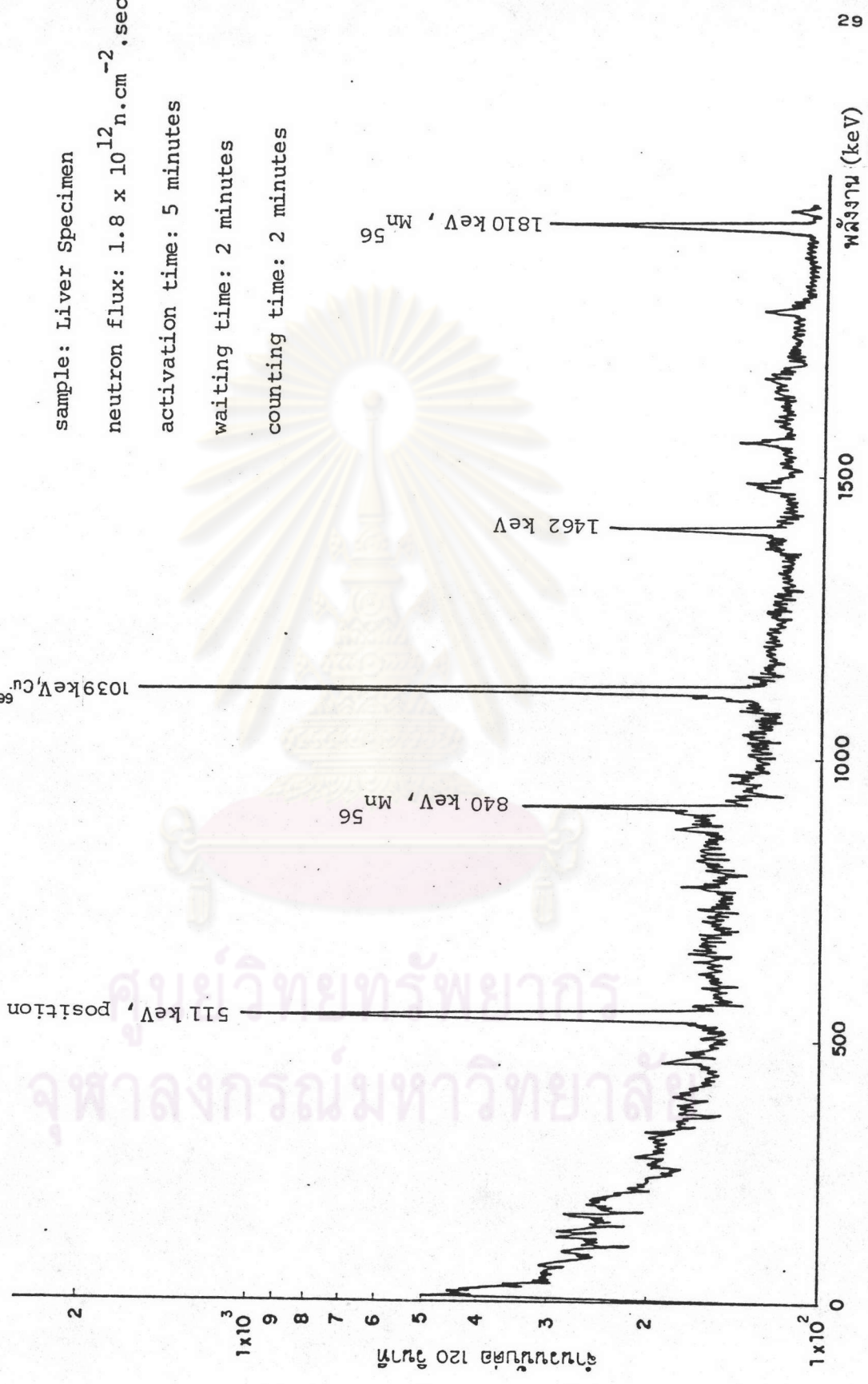
(2) นำตัวอย่างดิบและสารมาตรฐานเข้าอบรังสีระบบ Lazy Susan
ตามวิธีในหัวข้อ 2.1 ข้อ(4)

(3) คำนวณหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างดิบโดยวิธี เปรียบเทียบรังสีที่วัดได้
กับสารมาตรฐาน Bovine Liver

3. ผลการทดลอง

ปริมาณทองแดงและเหล็กที่คำนวณได้ในตัวอย่างดิบ แสดงอยู่ในตารางที่ 3.1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.4 แสดงแกมมาสเปกตรัมของตัวอย่างตับภายหลังการอบรังสีนิวตรอนใน pneumatic tube

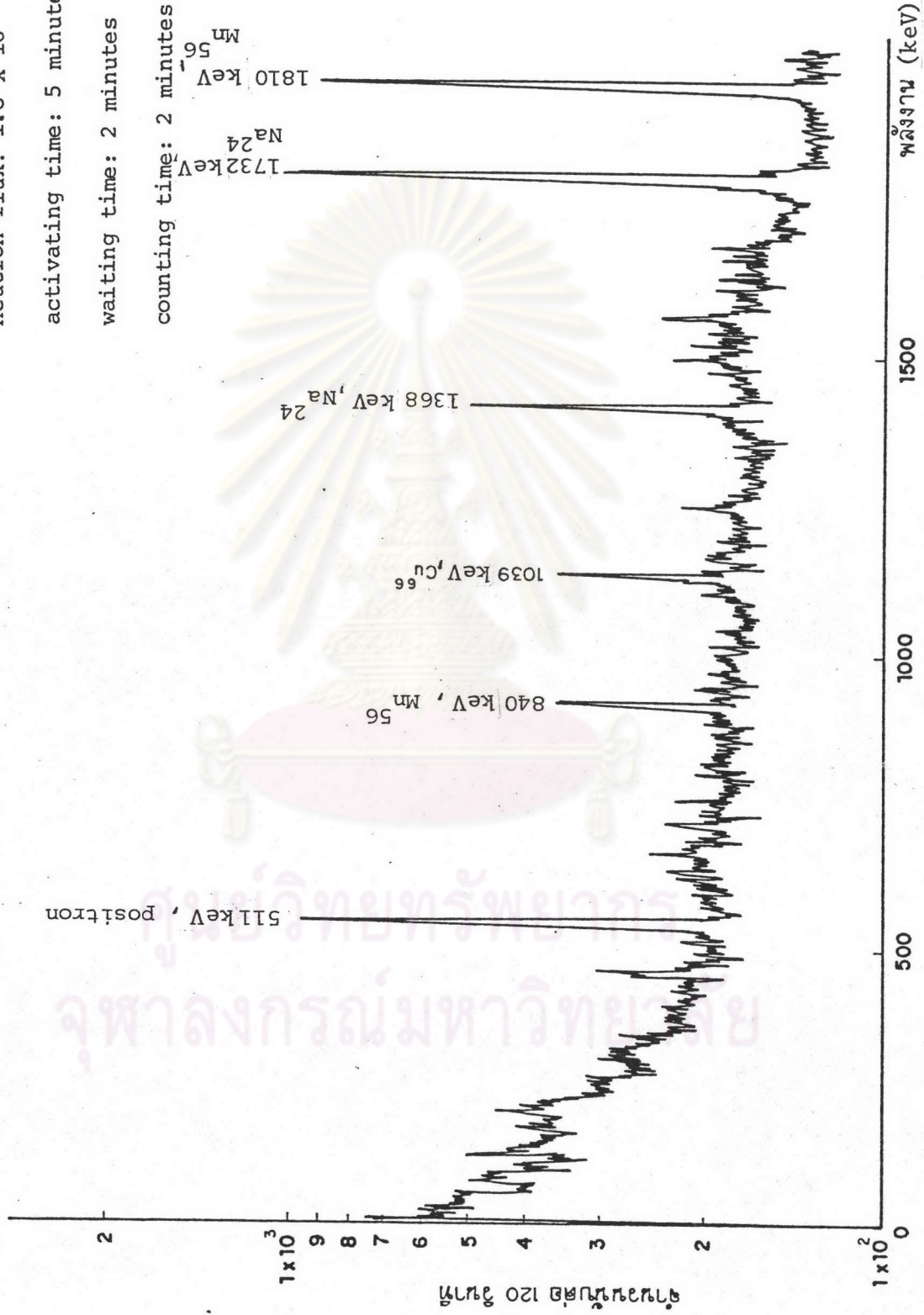
sample: Bovine Liver (SRM 1577)

neutron flux: $1.8 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2}.\text{sec}^{-1}$

activating time: 5 minutes

waiting time: 2 minutes

counting time: 2 minutes



รูปที่ 3.5 แสดงแกมมาสเปกตรัมของสารมาตรฐาน Bovine Liver (SRM 1577) ภายหลังจากการรังสีนิวตรอนใน pneumatic tube

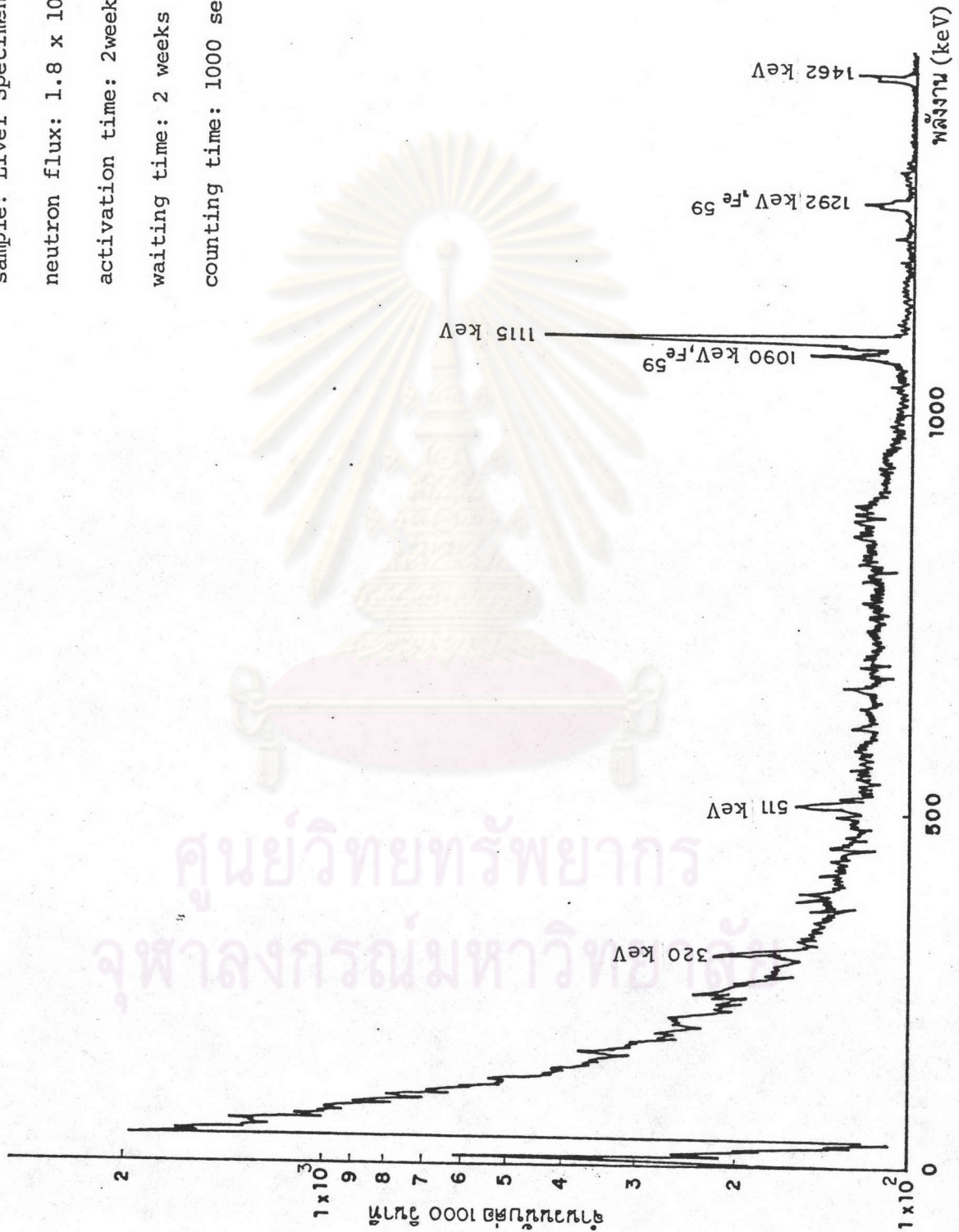
sample: Liver Specimen

neutron flux: $1.8 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$

activation time: 2 weeks

waiting time: 2 weeks

counting time: 1000 seconds



รูปที่ 3.6 แสดงแกมมาสเปกตรัมของตัวอย่างตับเพื่อหาปริมาณเหล็ก ภายหลังการอานรังสีนิวตรอนใน Lazy Susan System

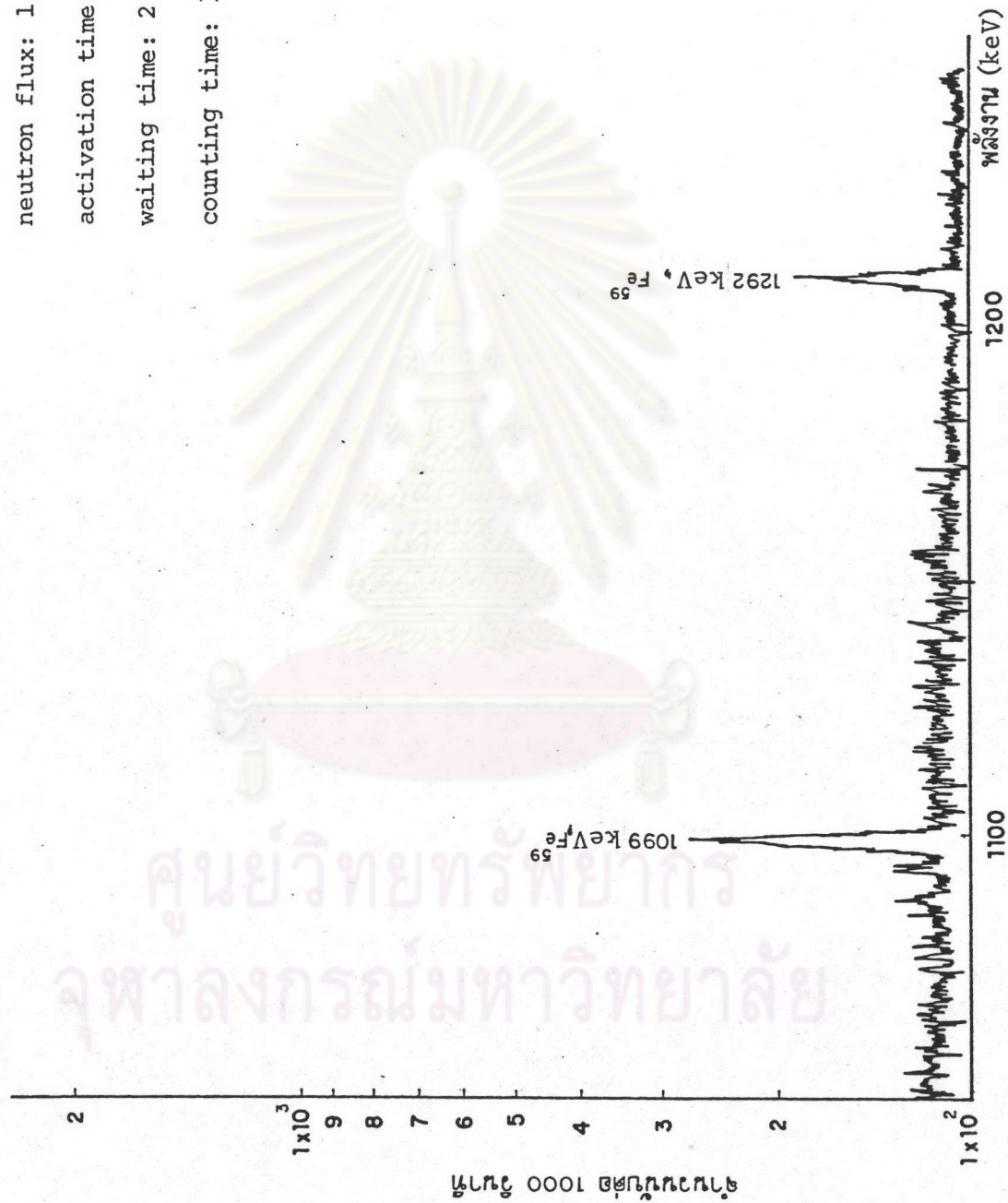
sample: Bovine Liver (SRM 1577)

neutron flux: $1.8 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$

activation time: 2 weeks

waiting time: 2 weeks

counting time: 1000 seconds



รูปที่ 3.7 แสดงแกมมาสเปกตรัมของ Bovine Liver (SRM 1577). โดยขยายสเกลแสดงเฉพาะ ^{59}Fe

ตารางที่ 3.1 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กและทองแดงในตัวอย่างดิบ ด้วยเทคนิคทาง
นิวตรอนแอคติเวชัน

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักของ ตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)	
		เหล็ก	ทองแดง
0 00 01 N	0.0539	532	185
0 00 02 N	0.0538	563	273
0 00 03 N	0.0521	568	221
0 00 04 N	0.0967	579	297
0 00 05 N	0.0977	1083	133
0 00 06 N	0.0718	829	311
0 00 07 N	0.0603	1002	335
0 00 08 N	0.0389	1009	167
0 00 09 N	0.0586	1071	160
0 00 10 N	0.0471	611	213
0 03 01 N	0.0902	533	21
0 08 01 N	0.0699	154	19
0 14 01 N	0.0566	415	39
0 14 02 N	0.0839	381	26
0 14 03 N	0.0950	369	43
0 29 01 N	0.1009	361	20
0 29 02 N	0.0551	460	21
0 29 03 N	0.0529	240	26

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

0 | 00 | 01 | N

↳ สภาวะของตัวอย่างดิบ : N=คนปกติ, A=ผู้ป่วย

↳ เลขกำกับตัวอย่าง

↳ อายุ : 00 = เด็กเกิดใหม่ (อายุต่ำกว่า 1 ปี)

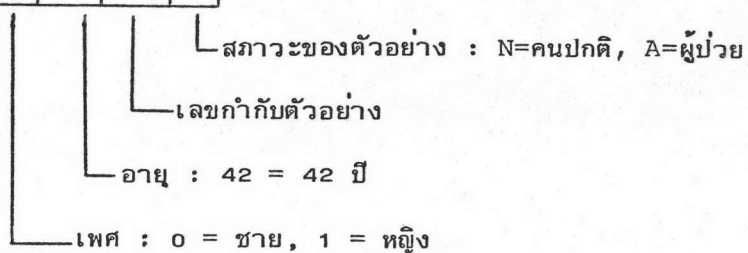
↳ เพศ : 0 = ชาย, 1 = หญิง

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักของ ตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)	
		เหล็ก	ทองแดง
0 42 01 N	0.1194	178	27
0 47 01 N	0.0939	263	22
0 49 01 N	0.1149	495	17
0 56 01 N	0.0605	431	14
0 67 01 N	0.1513	651	22
0 75 01 N	0.0734	660	25
1 00 01 N	0.0819	1070	314
1 00 02 N	0.0787	1054	138
1 00 03 N	0.0419	856	153
1 00 04 N	0.0576	639	234
1 00 05 N	0.0657	989	224
1 01 01 N	0.0687	605	96
1 01 02 N	0.0403	554	36
1 01 03 N	0.0782	530	36
1 03 01 N	0.0646	940	20
1 03 02 N	0.0539	1032	21
1 12 01 N	0.0799	275	34
1 12 02 N	0.0467	275	38
1 16 01 N	0.0692	680	58

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

0 42 01 N



ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักของ ตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)	
		เหล็ก	ทองแดง
1 16 02 N	0.0927	552	46
1 16 03 N	0.0769	724	37
1 18 01 N	0.1056	132	22
1 22 01 N	0.0208	479	78
1 27 01 N	0.1124	1030	23
1 27 02 N	0.0463	505	27
1 27 03 N	0.0813	448	26
1 36 01 N	0.0977	447	27
1 36 02 N	0.1483	371	19
1 46 01 N	0.0715	255	24
1 46 02 N	0.0634	217	24
1 53 01 N	0.0567	572	31
1 53 02 N	0.1091	551	26
1 55 01 N	0.0513	342	27
1 55 02 N	0.0851	272	20
1 56 01 N	0.1114	632	26
1 60 01 N	0.0779	490	22
1 60 02 N	0.0854	402	27

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

1	16	02	N
---	----	----	---

สภาวะของตัวอย่าง : N=คนปกติ, A=ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ : 16 = 16 ปี

เพศ : 0 = ชาย, 1 = หญิง

I16599652

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักของตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)	
		เหล็ก	ทองแดง
1 61 01 N	0.0591	500	47
1 75 01 N	0.0707	330	36
1 75 02 N	0.0640	336	27
1 75 03 N	0.0390	269	16
1 18 01 A	0.0086	9567	1848
1 21 01 A	0.0018	12752	1197
1 32 01 A	0.0038	10019	1400

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

1	61	01	N
---	----	----	---

สถานะของตัวอย่าง : N=คนปกติ, A=ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ : 61 = 61 ปี

เพศ : 0 = ชาย, 1 = หญิง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก ทองแดง และสังกะสีในตัวอย่างด้วยเทคนิคทางอะตอมมิก-
แอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมตรี

เทคนิคนี้เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่ยอมรับใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของธาตุที่มีอยู่น้อย ๆ เพราะเป็นเทคนิคที่ให้เซนต์วิตีสูง เช่นเดียวกับเทคนิคทางนิวตรอนแอคติเวชัน แต่เทคนิคนี้สารตัวอย่างจะต้องถูกทำลาย โดยทำให้เป็นสารละลายเสียก่อน ในบางครั้งสารตัวอย่างมีธาตุที่จะทำการวิเคราะห์ที่น้อยกว่าความสามารถของเครื่องมือที่จะวิเคราะห์ได้ จึงจำเป็นต้องหาทางเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเสียก่อน ซึ่งก็มีหลายวิธีด้วยกัน แล้วแต่ชนิดของตัวอย่างและธาตุที่จะวิเคราะห์ ในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาหาวิธีที่จะเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโดยทำ micro extraction โดยการใช้อุปกรณ์ "MIXOR"

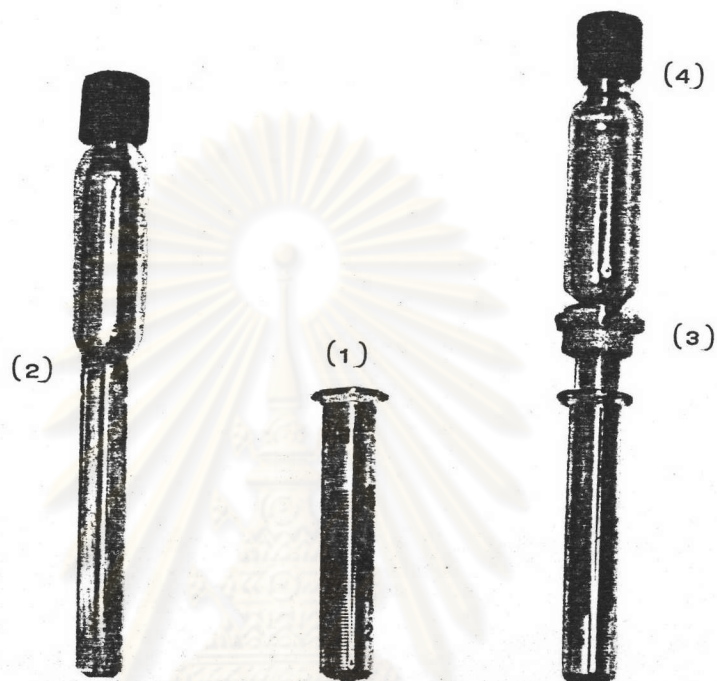
1. การพัฒนาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก ทองแดง และสังกะสีด้วยการสกัด

1.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้

- (1) สารละลายมาตรฐานสำหรับอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรสโคปีของธาตุเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ซึ่งมีความเข้มข้น 1.00 mg/cm^3 ของบริษัท MERCK,
- (2) APDC ชนิด Spectro Grade ของบริษัท BDH
- (3) MIBK ชนิด Analar Grade ของบริษัท BDH
- (4) กรดไฮโดรคลอริก ชนิด Analar Grade ของบริษัท BDH
- (5) โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (NaHCO_3 , anhydrous) ของบริษัท Mallinckrodt
- (6) pH-meter model 83, Autocal ของบริษัท Radio-meter
- (7) กรวยแยก ขนาด 250 cm^3
- (8) เครื่องมือ MIXOR ขนาด 10 cm^3 ของบริษัท LIDEX (รูปที่ 3.8)
- (9) เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ model AA-650 พร้อมกับ Graphite Furnace Atomization unit mode GFA-3 ของบริษัท Shimadzu

1.2 วิธีทำการทดลองและผลการทดลอง

- (1) การสร้างกราฟมาตรฐานของแต่ละธาตุ เพื่อใช้สำหรับหาความเข้มข้นจากการทดลอง เมื่อใช้วิธีการสกัดสารตัวอย่าง



รูปที่ 3.8 "MIXOR" ที่นำมาประยุกต์ใช้ในเทคนิค microextraction

- (1) กระจกบรรจุสารละลายตัวอย่าง
- (2) กระจก้านยาวทำหน้าที่เป็นลูกสูบ
- (3) วงแหวนพลาสติกบังคับก้านลูกสูบ
- (4) ฝาเกลียว

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก. เตรียมสารละลายเหล็ก ทองแดง และสังกะสี จากสารละลายมาตรฐาน เข้มข้น 1.00 mg/cm^3 ให้มีความเข้มข้นดังนี้

สารละลายเหล็ก เข้มข้น $0.01-0.40 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$

สารละลายทองแดง เข้มข้น $0.05-1.00 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$

สารละลายสังกะสี เข้มข้น $0.02-0.10 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$

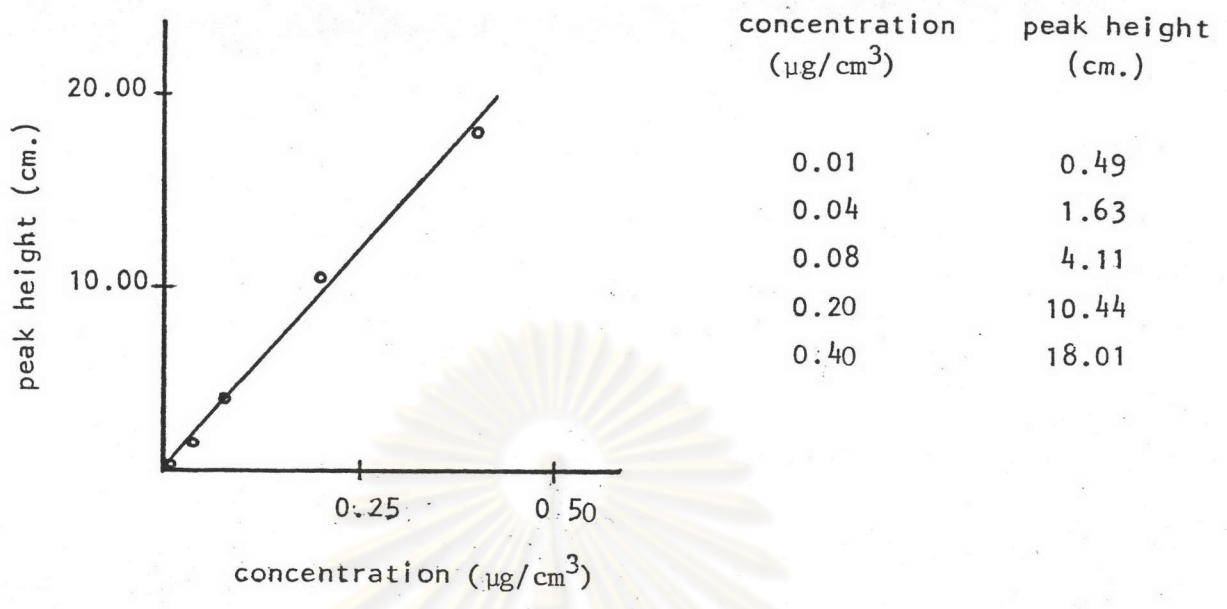
แล้วเก็บสารละลายที่เตรียมได้นี้ไว้ในขวดโพลีเอทิลีนเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ข. นำชุดสารละลายของแต่ละธาตุที่เตรียมในข้อ ก. ไปวิเคราะห์ด้วย GFA โดยใช้สภาวะของเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ดังแสดงในตารางข้างล่างนี้

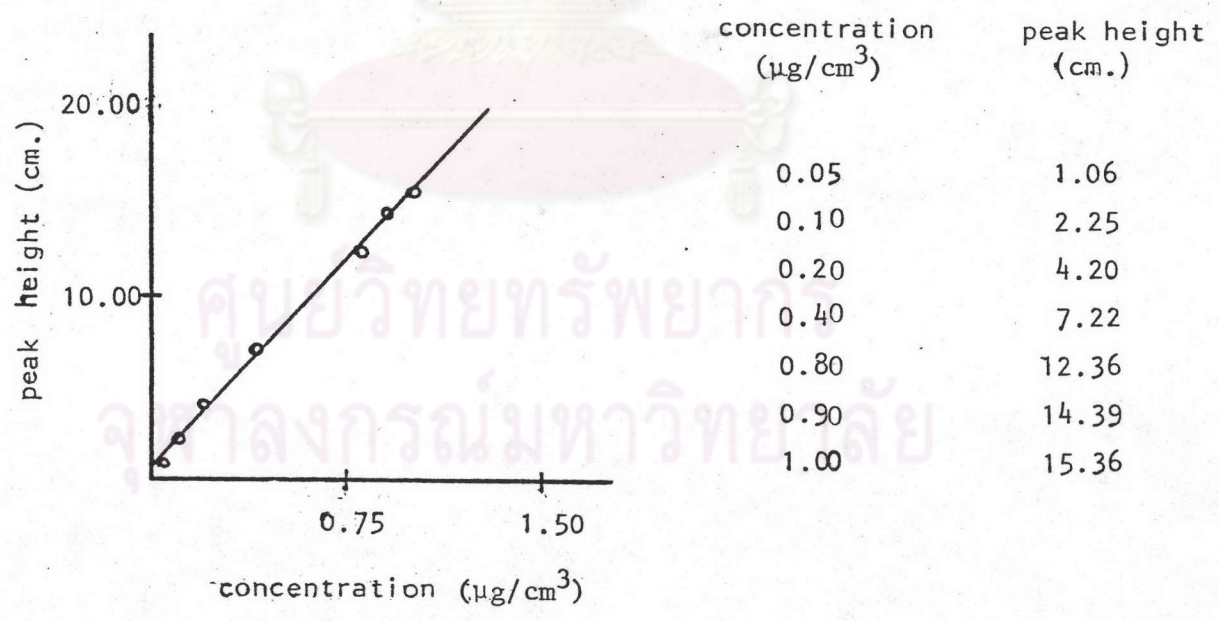
ตารางที่ 3.2 แสดงค่าต่าง ๆ ของสภาวะของเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์แบบแกรไฟต์ ที่ใช้วิเคราะห์

สภาวะของเครื่องที่ใช้	เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
lamp current (mA)	6.0	3.5	5.0
wave length ($^{\circ}\text{A}$)	2483	3247	2139
spectral bandwidth ($^{\circ}\text{A}$)	1.9	1.9	1.9
sample size (μl)	10	10	10
background correction	ใช่	ใช่	ใช่
temperature program			
drying stage	150°C , 25 sec.	150°C , 25 sec.	150°C , 20 sec.
ashing stage	500°C , 25 sec.	500°C , 25 sec.	850°C , 20 sec.
atomizing stage	2300°C , 4 sec.	2300°C , 25 sec.	1460°C , 4 sec.

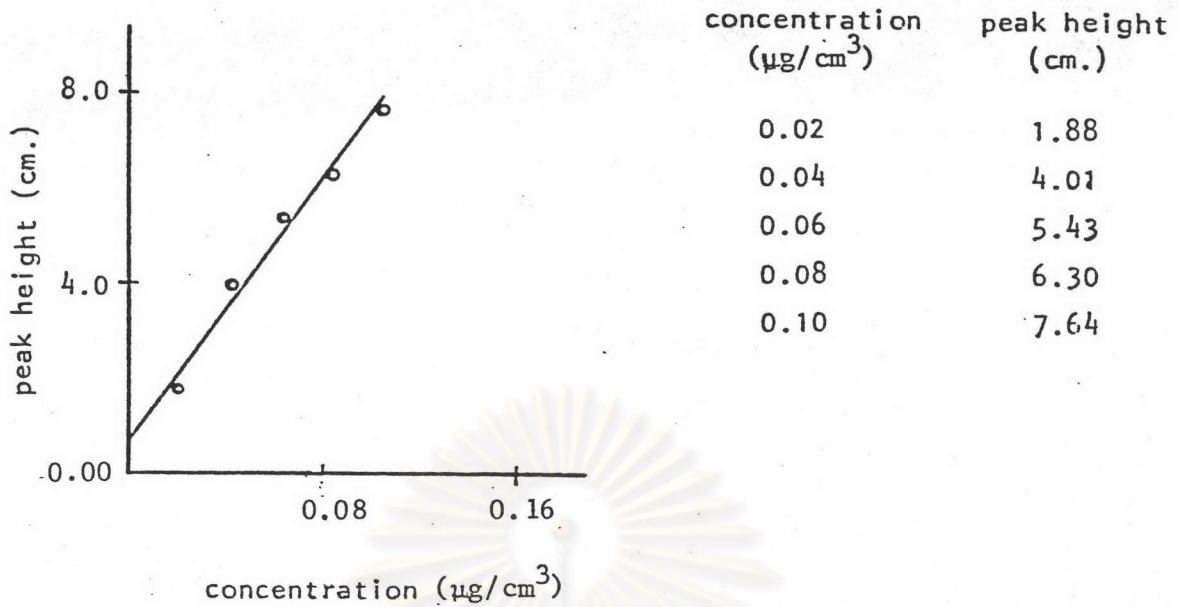
ค. นำผลการวิเคราะห์ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ระหว่างความสูงของพีค (peak height) กับความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียมในข้อ ก. โดยใช้ Least Square Method และได้กราฟดังรูปที่ 3.9 3.10 และ 3.11



รูปที่ 3.9 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานธาตุเหล็ก



รูปที่ 3.10 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานธาตุทองแดง



รูปที่ 3.11 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานธาตุสังกะสี

(2) สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายที่ได้จากการสกัด เพื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์สารละลายที่ไม่ได้สกัด

ก. ศึกษาการสกัดโดยใช้กรวยแยกธรรมดา (เทคนิค macroextraction)

1. นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมในข้อ(1) ก. ของแต่ละธาตุจำนวน 100.00 cm^3 ไปปรับ pH ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร ให้ได้ pH ประมาณ 3 แล้วเทลงในกรวยแยก
2. เติมสารละลาย 1% APDC (weight by volume) จำนวน 5.00 cm^3 แล้วเขย่านาน 30 วินาที (ยกเว้นในการวิเคราะห์ปริมาณสังกะสี ไม่ต้องเขย่า)
3. เติมตัวทำละลาย MIBK จำนวน 10.00 cm^3 เขย่าอย่างแรงนาน 2 นาที
4. ตั้งทิ้งไว้ 20 นาทีเพื่อให้เกิดการแยกชั้น
5. เก็บสารละลายชั้นบนไว้ในขวดโพลีเอทิลีน เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

ข. ศึกษาการสกัดโดยใช้ MIXOR (เทคนิค microextraction)

1. นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมในข้อ (1) ก. จำนวน 10.00 cm^3 ไปปรับ pH ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมล/ลิตร ให้ได้ pH ประมาณ 3 แล้วเทลงใน MIXOR
2. เติมสารละลาย 1% APDC จำนวน 0.50 cm^3 สักคานาน 30 วินาที (ยกเว้นในการวิเคราะห์ปริมาณสังกะสี ไม่ต้องเขย่า)
3. เติมตัวทำละลาย MIBK จำนวน 1.00 cm^3 สักคานาน 2 นาที
4. ค้างทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้นนานประมาณ 20 นาที
5. เก็บสารละลายชั้นบนไว้ในขวดโพลีเอทิลีนขนาดเล็กเพื่อการวิเคราะห์ต่อไป

ค. นำสารละลายที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GFA โดยใช้สภาวะของเครื่องดังแสดงในตารางที่ 3.2 แล้วนำผลการวิเคราะห์ไปสร้างกราฟระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายที่คาดว่าจะสกัดได้ ซึ่งจะเพิ่มขึ้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียมในข้อ (1) ก. โดยใช้ Least Square method กราฟที่ได้แสดงในรูปที่ 3.12-3.17

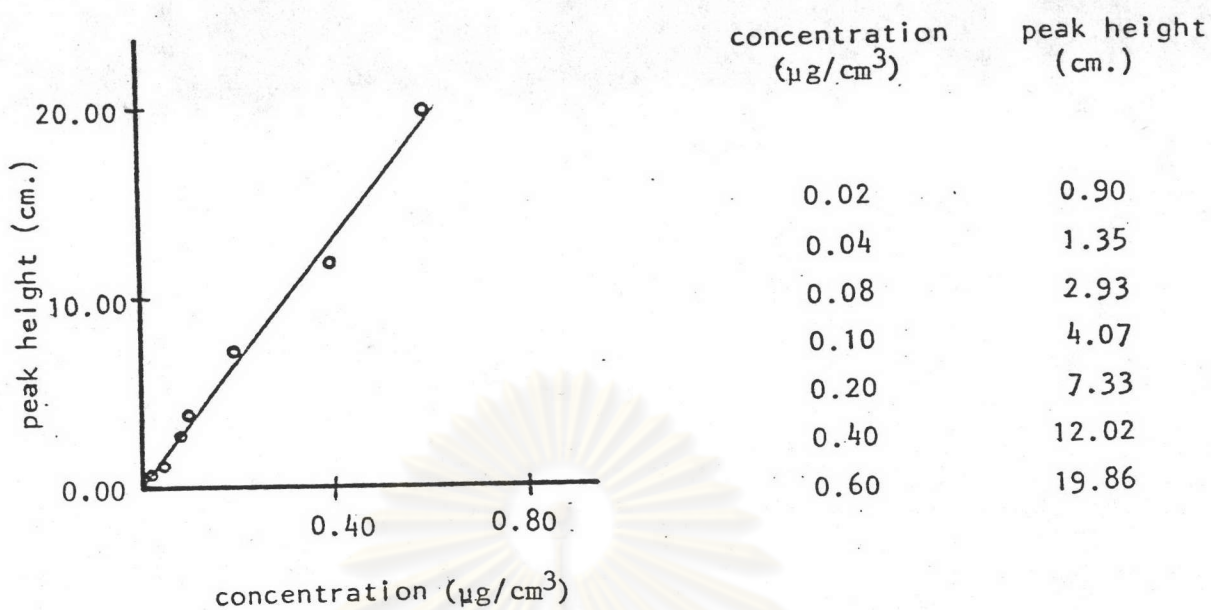
(3) การหาเปอร์เซ็นต์การสกัด

- ก. เตรียมสารละลายของเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ให้มีความเข้มข้น $0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ $0.02 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ และ $0.04 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ ปริมาณอย่างละ 100.00 cm^3
- ข. นำสารละลายของแต่ละธาตุ และแต่ละความเข้มข้นจำนวน 100.00 cm^3 และ 10.00 cm^3 ไปสกัดด้วยกรวยแยก และ MIXOR ตามวิธีในข้อ (2) ก. และข้อ (2) ข. ตามลำดับ

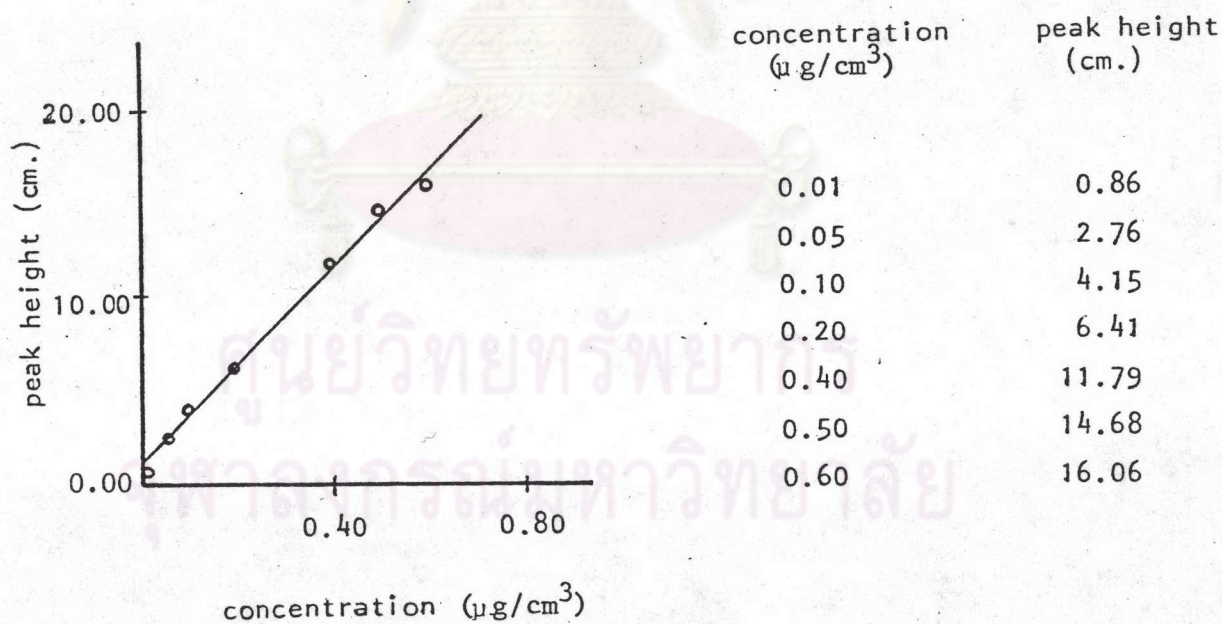
ค. นำสารละลายที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GFA โดยใช้สภาวะของเครื่อง ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ง. หาความเข้มข้นของสารละลายที่สกัดได้ โดยอ่านจากกราฟมาตรฐานของเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ดังแสดงในรูปที่ 3.12-3.14

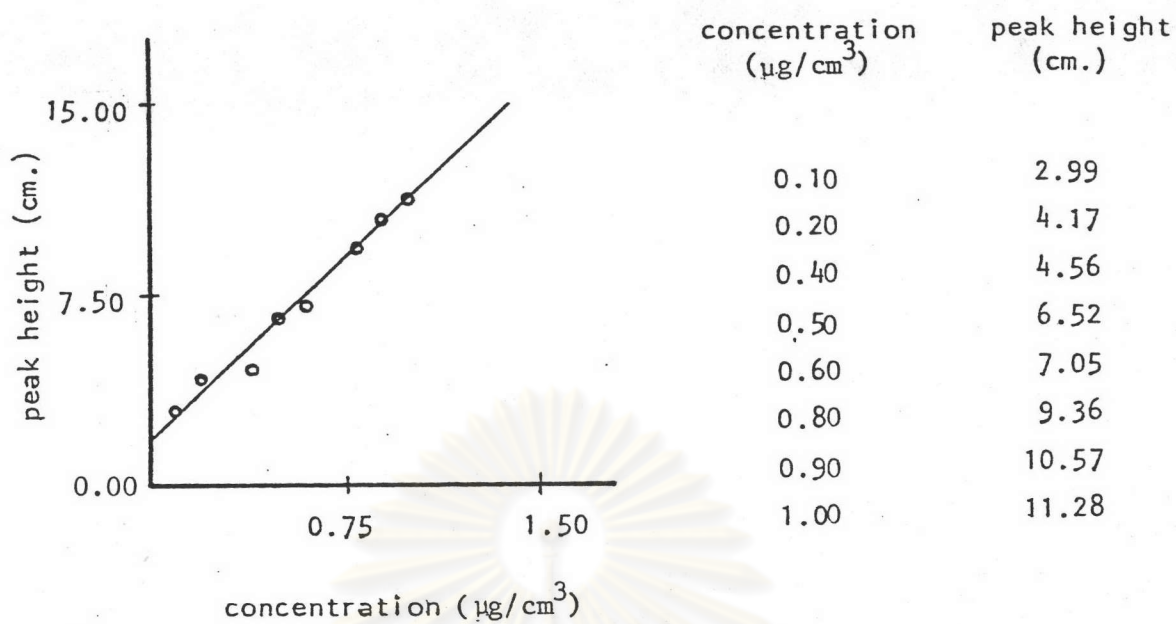
จ. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสกัดและเปรียบเทียบผลระหว่างการสกัดด้วยกรวยแยกกับการสกัดด้วย MIXOR ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.3



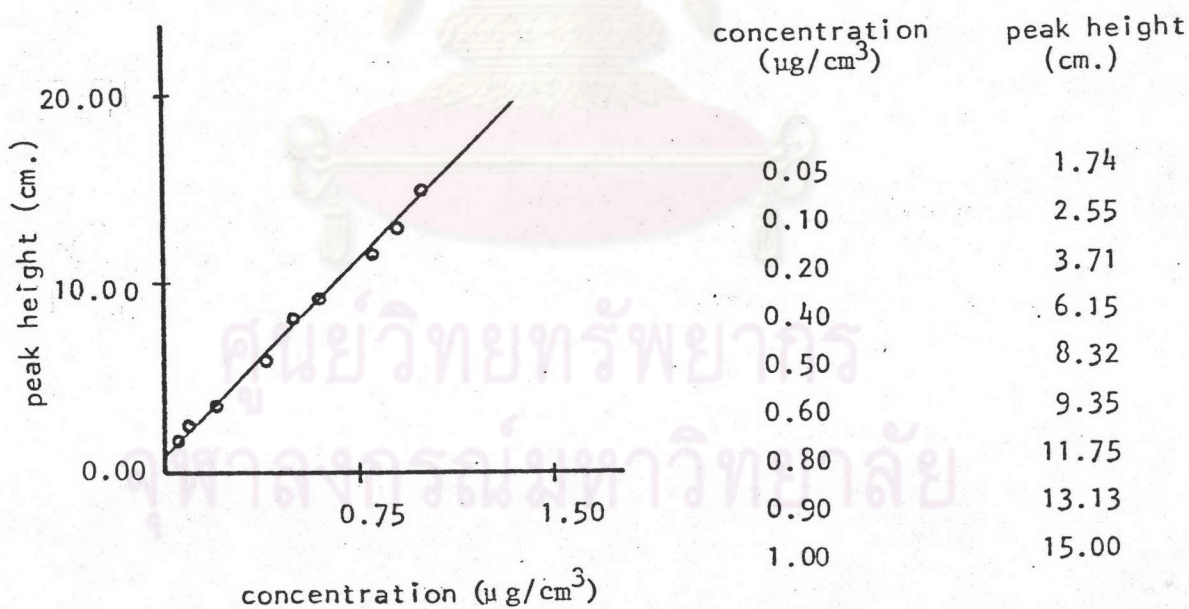
รูปที่ 3.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นสารละลาย
เหล็กหลังจากสกัดด้วยกรวยแยก



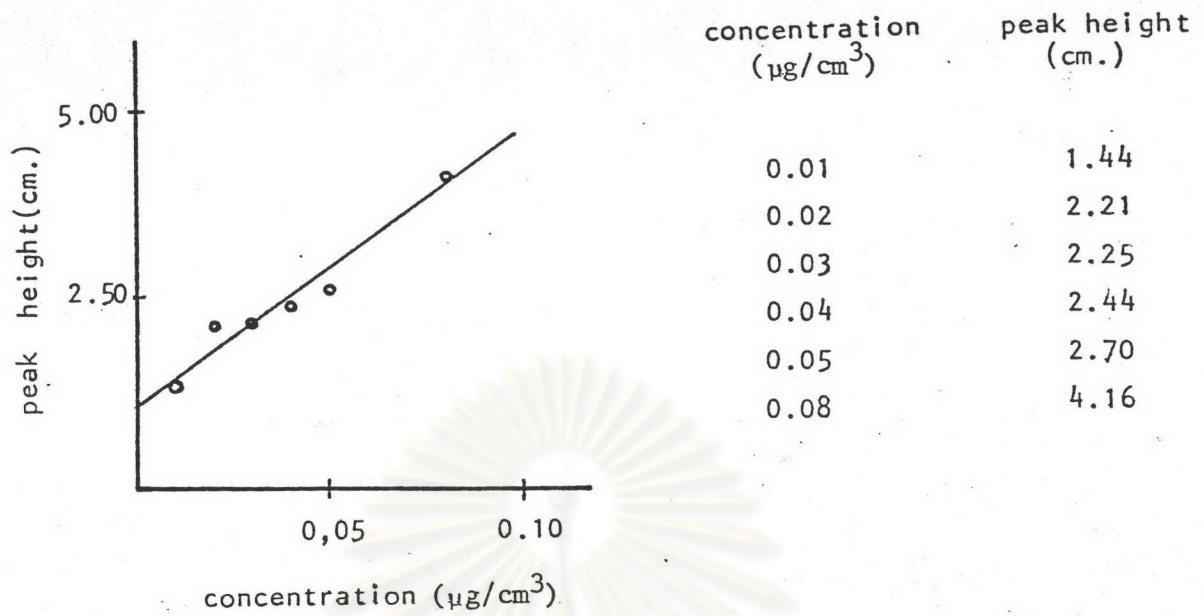
รูปที่ 3.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นสารละลาย
เหล็กหลังจากสกัดด้วย MIXOR



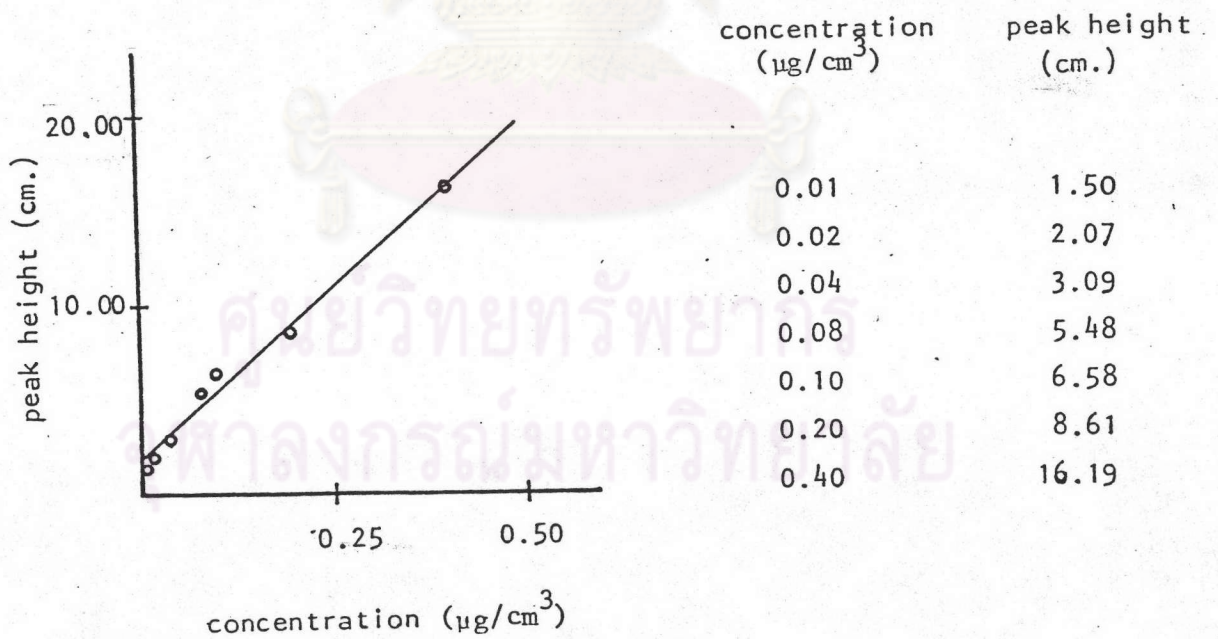
รูปที่ 3.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นสารละลาย
ทองแดงหลังจากสกัดด้วยกรวยแยก



รูปที่ 3.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นสารละลาย
ทองแดงหลังจากสกัดด้วย MIXOR



รูปที่ 3.16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นสารละลาย
สังกะสีหลังจากสกัดด้วยกรวยแยก



รูปที่ 3.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นสารละลาย
สังกะสีหลังจากสกัดด้วย MIXOR

ตารางที่ 3.3 แสดง เปอร์เซ็นต์การสกัดสารละลาย เหล็ก ทองแดง และสังกะสี ด้วยระบบ APDC-MIBK โดยการใช้กรวยแยกเปรียบเทียบกับ MIXOR

อุปกรณ์ที่ใช้สกัด	ธาตุ	ความเข้มข้นสารละลายที่ควรสกัดได้ตามทฤษฎี ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	ความเข้มข้นที่วัดได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	เปอร์เซ็นต์* การสกัด
กรวยแยก	เหล็ก	0.10	0.08	80.0
		0.20	0.16	80.0
		0.40	0.32	80.0
MIXOR	เหล็ก	0.10	0.08	80.0
		0.20	0.17	85.0
		0.40	0.35	87.5
กรวยแยก	ทองแดง	0.10	0.09	90.0
		0.20	0.18	90.0
		0.40	0.38	95.0
MIXOR	ทองแดง	0.10	0.08	80.0
		0.20	0.20	100.0
		0.40	0.39	97.5
กรวยแยก	สังกะสี	0.01	0.008	80.0
		0.02	0.016	80.0
		0.04	0.036	90.0
MIXOR	สังกะสี	0.01	0.009	90.0
		0.02	0.018	90.0
		0.04	0.038	95.0

* เปอร์เซ็นต์การสกัดที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 5 ครั้ง

(4) การทดสอบ Precision และ Accuracy ของการสกัดสารละลายเหล็ก ทองแดง และสังกะสีด้วย MIXOR เปรียบเทียบกับกรวยแยกโดยใช้ระบบ APDC-MIBK ซึ่งดำเนินการทดลองดังต่อไปนี้

- ก. เตรียมสารละลายของธาตุเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ให้แต่ละชนิดมีความเข้มข้น $0.05 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ ปริมาณ 1000.00 cm^3
- ข. นำสารละลายแต่ละธาตุ จำนวน 100.00 cm^3 ไปสกัดด้วยกรวยแยกตามวิธีในข้อ (2) ก. จำนวน 10 ครั้ง ซึ่งถ้าสกัดได้หมดจะทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 10 เท่า
- ค. นำสารละลายที่เตรียมแต่ละธาตุมาครั้งละ 10.00 cm^3 ไปสกัดด้วย MIXOR จำนวน 10 ครั้ง ตามวิธีในข้อ (2) ข. ซึ่งถ้าสกัดได้หมดจะทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 10 เท่า
- ง. นำสารละลายที่สกัดได้ของแต่ละธาตุไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GFA โดยใช้สภาวะของเครื่องดังแสดงในตารางที่ 3.2
- จ. คำนวณความเข้มข้นของสารละลายที่สกัดได้ของแต่ละธาตุ โดยอ่านจากกราฟมาตรฐานรูปที่ 3.12-3.17
- ฉ. คำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ย และค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งผลการคำนวณแสดงอยู่ในตารางที่ 3.4



ตารางที่ 3.4 แสดง Precision และ Accuracy ของการสกัดสารละลายเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ด้วยกรวยแยกเปรียบเทียบกับ MIXOR โดย

ใช้ระบบ APDC-MIBK และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GFA

อุปกรณ์ที่ใช้สกัด	ธาตุ	ครั้งที่สกัด	ความเข้มข้นที่ควรจะสกัดได้ ตามทฤษฎี ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	ความเข้มข้นที่วัดได้ จากการทดลอง ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	ความเข้มข้นเฉลี่ย ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	relative error (%)	standard deviation (σ)
กรวยแยก	เหล็ก	1	0.50	0.41	0.40	-18	0.02
		2	0.50	0.42		-16	
		3	0.50	0.40		-20	
		4	0.50	0.42		-16	
		5	0.50	0.39		-22	
		6	0.50	0.37		-26	
		7	0.50	0.41		-18	
		8	0.50	0.42		-16	
		9	0.50	0.39		-22	
		10	0.50	0.40		-20	
MIXOR	เหล็ก	1	0.50	0.42	0.43	-16	0.01
		2	0.50	0.43		-14	
		3	0.50	0.42		-16	
		4	0.50	0.44		-12	
		5	0.50	0.42		-16	
		6	0.50	0.44		-12	
		7	0.50	0.41		-18	
		8	0.50	0.42		-16	
		9	0.50	0.43		-14	
		10	0.50	0.42		-16	

ตารางที่ 3.4 (ต่อ)

อุปกรณ์ที่ใช้สกัด	ธาตุ	ครั้งที่สกัด	ความเข้มข้นที่ควรจะสกัดได้ตามทฤษฎี ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	ความเข้มข้นที่วัดได้จากผลการทดลอง ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	ความเข้มข้นเฉลี่ย ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	relative error (%)	standard deviation (๘)
กรวยแยก	ทองแดง	1	0.50	0.46	0.47	-8	0.01
		2	0.50	0.47			
		3	0.50	0.46			
		4	0.50	0.46			
		5	0.50	0.47			
		6	0.50	0.48			
		7	0.50	0.46			
		8	0.50	0.47			
		9	0.50	0.46			
		10	0.50	0.48			
MIXOR	ทองแดง	1	0.50	0.48	0.48	-4	0.004
		2	0.50	0.49			
		3	0.50	0.49			
		4	0.50	0.48			
		5	0.50	0.48			
		6	0.50	0.48			
		7	0.50	0.49			
		8	0.50	0.48			
		9	0.50	0.48			
		10	0.50	0.48			

ตารางที่ 3.4 (ต่อ)

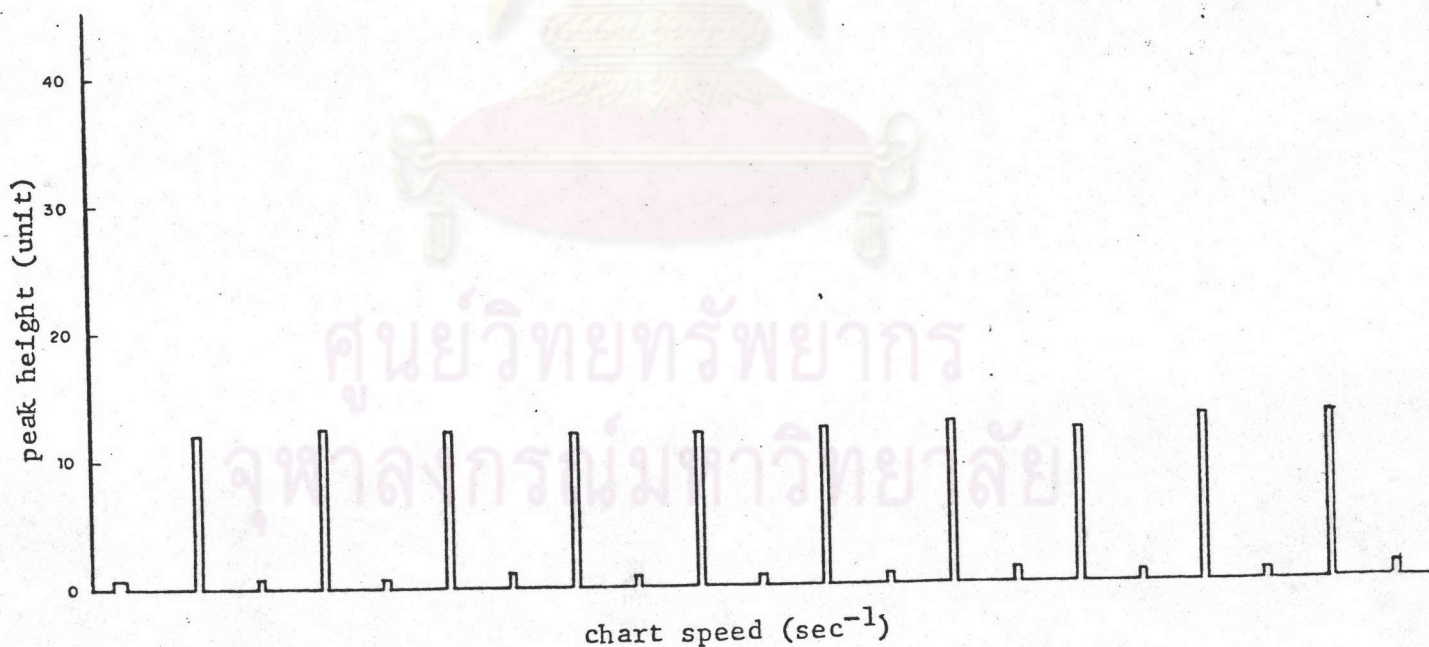
อุปกรณ์ที่ใช้สกัด	ธาตุ	ครั้งที่สกัด	ความเข้มข้นที่ควรจะสกัดได้ตามทฤษฎี ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	ความเข้มข้นที่วัดได้จากการทดลอง ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	ความเข้มข้นเฉลี่ย ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	relative error (%)	standard deviation (δ)
ถ้วยแยก	สังกะสี	1	0.50	0.42	0.41	-16	0.01
		2	0.50	0.40		-20	
		3	0.50	0.41		-18	
		4	0.50	0.40		-20	
		5	0.50	0.40		-16	
		6	0.50	0.42		-16	
		7	0.50	0.41		-18	
		8	0.50	0.40		-20	
		9	0.50	0.42		-16	
		10	0.50	0.42		-16	
MIXOR	สังกะสี	1	0.50	0.46	0.45	-8	0.01
		2	0.50	0.45		-10	
		3	0.50	0.45		-10	
		4	0.50	0.44		-12	
		5	0.50	0.45		-10	
		6	0.50	0.46		-8	
		7	0.50	0.45		-10	
		8	0.50	0.45		-10	
		9	0.50	0.45		-10	
		10	0.50	0.44		-12	

(5) การหา detection limit ของการวิเคราะห์ปริมาณธาตุในสารละลายที่ไม่ได้สกัดเปรียบเทียบกับ detection limit ของการวิเคราะห์ปริมาณธาตุในสารละลายที่ได้จากการสกัด

ก. เตรียมสารละลายเหล็ก ทองแดง และสังกะสีให้มีความเข้มข้นที่แน่นอนอันหนึ่ง ซึ่งให้ความสูงของพีคของธาตุที่สนใจเป็น 2 เท่าของพีคแบลнк (blank) อย่างละ 250.00 cm³

ข. นำสารละลายของแต่ละธาตุที่เตรียมในข้อ (5) ก. นี้ ปริมาณอย่างละ 100.00 cm³ และ 10.00 cm³ ไปสกัดโดยใช้ระบบ APDC-MIBK ด้วยกรวยแยก และ MIXOR ตามวิธีในข้อ (2) ก. และข้อ (2) ข. ตามลำดับ

ค. นำสารละลายที่สกัดได้ของแต่ละธาตุไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GFA สลับกับ blank จำนวน 10 ครั้ง แล้วคำนวณหา detection limit ซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.8 3.9 และ 3.10 โดยเปรียบเทียบกับตารางที่ 3.5 3.6 และ 3.7



รูปที่ 3.18 แสดงตัวอย่างพีคของการหา detection limit ของเทคนิค GFA

ตารางที่ 3.5 แสดงผลการทดสอบความสามารถของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเหล็ก
ทาง AAS ด้วยเทคนิค GFA โดยใช้ความเข้มข้นสารละลาย 0.05 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง ลบความสูงของพีคแบล็ก (\bar{X})	$(X - \bar{X})^2$	standard deviation (σ)*	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้** ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	1.72	0.0064	0.10	6.09×10^{-3}
2	1.74	0.0100		
3	1.67	0.0089		
4	1.74	0.0100		
5	1.56	0.0064		
6	1.47	0.0289		
7	1.75	0.0121		
8	1.67	0.0009		
9	1.55	0.0081		
10	1.55	0.0081		
	$\bar{X} = 1.64$	$\Sigma(X - \bar{X})^2 = 0.0918$		

หมายเหตุ * $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma(X - \bar{X})^2}{n-1}}$ n = จำนวนข้อมูล

** ค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ = $\frac{2 \times \text{ความเข้มข้น} \times \sigma}{\bar{X}}$ มีหน่วยเป็น $\mu\text{g}/\text{cm}^3$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.6 แสดงผลการทดสอบความสามารถของการวิเคราะห์ทองแดงทาง AAS
ด้วยเทคนิค GFA โดยใช้ความเข้มข้นสารละลาย $0.05 \mu\text{g}/\text{cm}^3$

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง ลบความสูงของพีคแบล็ก (x)	$(x - \bar{x})^2$	standard deviation (σ)	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	1.63	0.0225		
2	1.72	0.0036		
3	1.69	0.0081		
4	1.78	0.0000		
5	1.82	0.0016		
6	1.75	0.0009	0.09	5.06×10^{-3}
7	1.90	0.0144		
8	1.92	0.0196		
9	1.88	0.0100		
10	1.72	0.0036		
	$\bar{x} = 1.78$	$\Sigma(x - \bar{x})^2 = 0.0843$		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.7 แสดงผลการทดสอบความสามารถของการวิเคราะห์สิ่งทง AAS

ด้วยเทคนิค GFA โดยใช้ความเข้มข้นสารละลาย $0.05 \mu\text{g}/\text{cm}^3$

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง ลบความสูงของพีคแบล็ก (X)	$(X - \bar{X})^2$	standard deviation (σ)	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	1.57	0.1849		
2	5.05	0.0025		
3	0.46	0.2116		
4	5.19	0.0361		
5	4.89	0.0121		
6	4.62	0.1440	0.31	6.02×10^{-3}
7	4.67	0.1089		
8	5.16	0.0256		
9	5.06	0.0036		
10	5.37	0.1369		
	$\bar{X} = 5.00$	$\Sigma(X-\bar{X})^2=0.0866$		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.8 แสดงผลการทดสอบความสามารถของการวิเคราะห์เหล็กทาง AAS

ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยกรวยแยก และ MIXOR ร่วมกับ GFA จากการใช้สารละลาย
ที่มีความเข้มข้น $0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^3$

1. ใช้เทคนิคการสกัดด้วยกรวยแยก

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง ลบความสูงของพีคแบล็ก (X)	$(X - \bar{X})^2$	standard deviation (s)	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	1.68	0.0025	0.14	1.72×10^{-3}
2	1.70	0.0049		
3	1.40	0.0529		
4	1.70	0.0049		
5	1.40	0.0529		
6	1.75	0.0144		
7	1.81	0.0324		
8	1.68	0.0025		
9	1.58	0.0025		
10	1.60	0.0009		
	$\bar{X} = 1.63$	$\Sigma(X-\bar{X})^2 = 0.1708$		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ใช้เทคนิคการสกัดด้วย MIXOR

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง ลบความสูงของพีคแบล็ก (X)	$(X - \bar{X})^2$	standard deviation (s)	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	1.65	0.0000	0.05	6.06×10^{-4}
2	1.75	0.0100		
3	1.61	0.0016		
4	1.65	0.0000		
5	1.60	0.0025		
6	1.60	0.0025		
7	1.69	0.0016		
8	1.63	0.0004		
9	1.64	0.0001		
10	1.72	0.0049		
	$\bar{X} = 1.65$	$\Sigma(X - \bar{X})^2 = 0.0236$		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.9 แสดงผลการทดสอบความสามารถของการวิเคราะห์ทองแดงทาง AAS ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยกรวยแยก และ MIXOR ร่วมกับ GFA จากการใช้สารละลายที่มีความเข้มข้น $0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^3$

1. ใช้เทคนิคการสกัดด้วยกรวยแยก

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง ลบความสูงของพีคแบล็ก (X)	$(X - \bar{X})^2$	standard deviation (s)	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	2.00	0.0144	0.09	9.57×10^{-4}
2	1.93	0.0025		
3	1.92	0.0016		
4	1.84	0.0016		
5	2.01	0.0169		
6	1.80	0.0064		
7	1.87	0.0001		
8	1.77	0.0121		
9	1.92	0.0016		
10	1.73	0.0225		
	$\bar{X} = 1.88$	$\Sigma(X-\bar{X})^2 = 0.0797$		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ใช้เทคนิคการสกัดด้วย MIXOR

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง- ลบความสูงของพีคแบล็ก (X)	$(X - \bar{X})^2$	standard deviation (σ)	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	2.10	0.0004	0.03	2.88×10^{-4}
2	2.06	0.0004		
3	2.06	0.0004		
4	2.03	0.0025		
5	2.10	0.0004		
6	2.12	0.0016		
7	2.03	0.0025		
8	2.09	0.0001		
9	2.12	0.0016		
10	2.07	0.0001		
	$\bar{X} = 2.08$	$\Sigma(X - \bar{X})^2 = 0.0100$		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.10 แสดงผลการทดสอบความสามารถของการวิเคราะห์สังกะสีทาง AAS
ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยกรวยแยก และ MIXOR ร่วมกับ GFA จากการใช้
สารละลายที่มีความเข้มข้น $0.06 \mu\text{g}/\text{cm}^3$

1. ใช้เทคนิคการสกัดด้วยกรวยแยก

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง ลบความสูงของพีคแบล็ก (X)	$(X - \bar{X})^2$	standard deviation (s)	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	7.63	0.0324	0.32	5.15×10^{-3}
2	7.31	0.0196		
3	7.19	0.0676		
4	7.34	0.0121		
5	8.20	0.5625		
6	7.11	0.1156		
7	7.50	0.0025		
8	7.63	0.0324		
9	7.36	0.0081		
10	7.19	0.0676		
	$\bar{X} = 7.45$	$\Sigma(X - \bar{X})^2 = 0.9025$		



2. ใช้เทคนิคการสกัดด้วย MIXOR

ครั้งที่	ความสูงของพีคตัวอย่าง ลบความสูงของพีคแบล็ก (X)	$(X - \bar{X})^2$	standard deviation (s)	ค่าต่ำสุดที่ วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)
1	8.25	0.0324	0.15	2.23×10^{-3}
2	7.92	0.0225		
3	7.95	0.0144		
4	7.95	0.0144		
5	7.97	0.0100		
6	7.94	0.0169		
7	7.95	0.0144		
8	8.22	0.0225		
9	8.25	0.0324		
10	8.25	0.0324		
	$\bar{X} = 8.07$	$\Sigma(X - \bar{X})^2 = 0.2123$		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ในตัวอย่างดิบ ด้วยเทคนิคทางอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมตรี

2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

- (1) สารละลายมาตรฐานธาตุเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ซึ่งมีความเข้มข้น 1.00 mg/cm^3 สำหรับอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมตรีของบริษัท MERCK
- (2) กรดไนตริก กรดซัลฟูริก และกรดเปอร์คลอริก ชนิด Analar Grade ของบริษัท RIEDEL
- (3) เครื่องมือสำหรับย่อยสลายสารตัวอย่าง (Bomb digestion apparatus) ขนาด 25.00 cm^3 ของบริษัท UNISEAL
- (4) ตู้อบของบริษัท MEMMERT
- (5) เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ model AA-650 พร้อมกับ Graphite Furnace Atomization unit model GFA-3 ของบริษัท Shimadzu

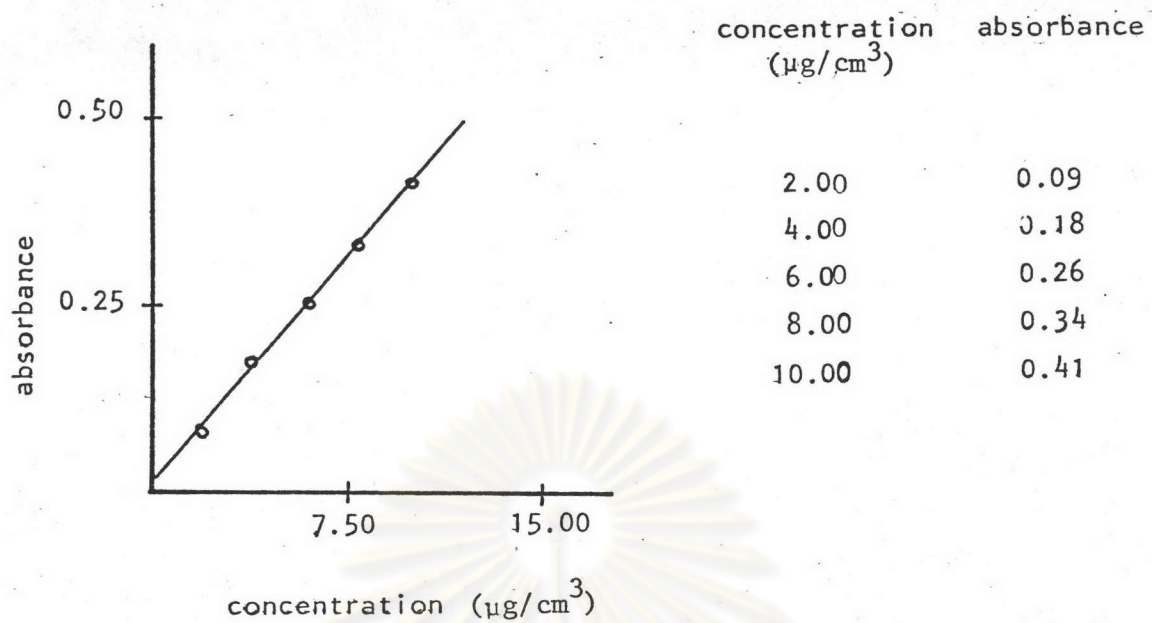
2.2 วิธีการทดลองและผลการทดลอง

(1) การสร้างกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้ในการหาความเข้มข้นของธาตุในตัวอย่างดิบ

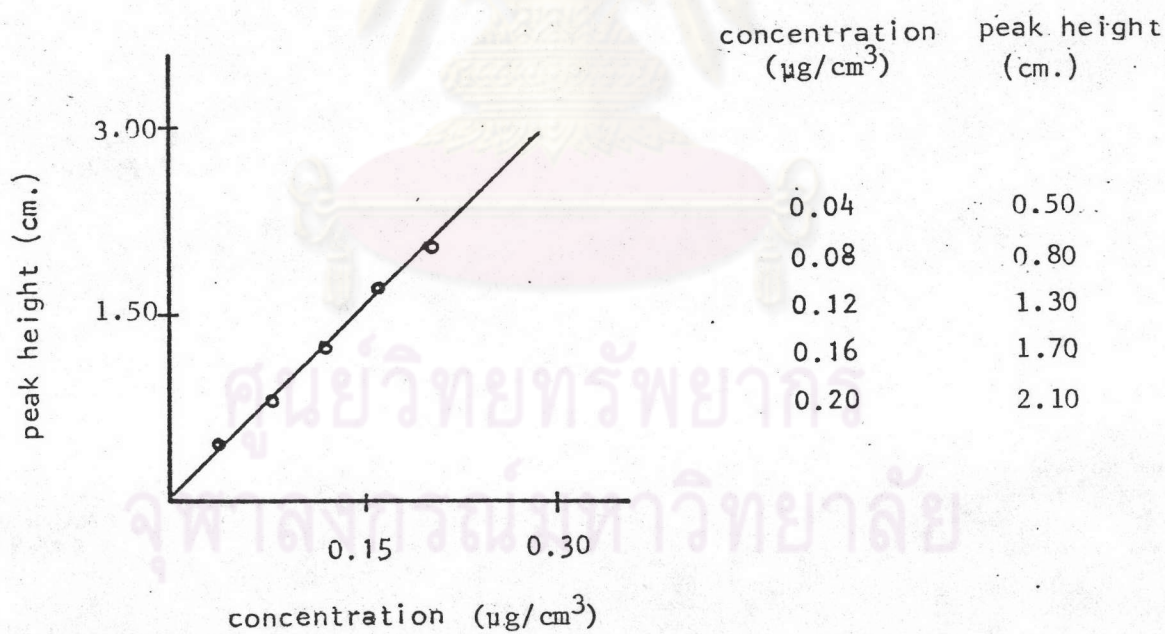
ก. เตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็ก ทองแดง และสังกะสี โดยการเจือจางสารละลายมาตรฐาน ซึ่งเข้มข้น 1.00 mg/cm^3 ด้วยน้ำปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้นดังนี้

สารละลายมาตรฐานเหล็ก	:	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00	$\mu\text{g/cm}^3$
สารละลายมาตรฐานทองแดง	:	0.04	0.08	0.12	0.16	0.20	$\mu\text{g/gm}^3$
สารละลายมาตรฐานสังกะสี	:	0.20	0.40	0.80	1.20	1.60	$\mu\text{g/cm}^3$

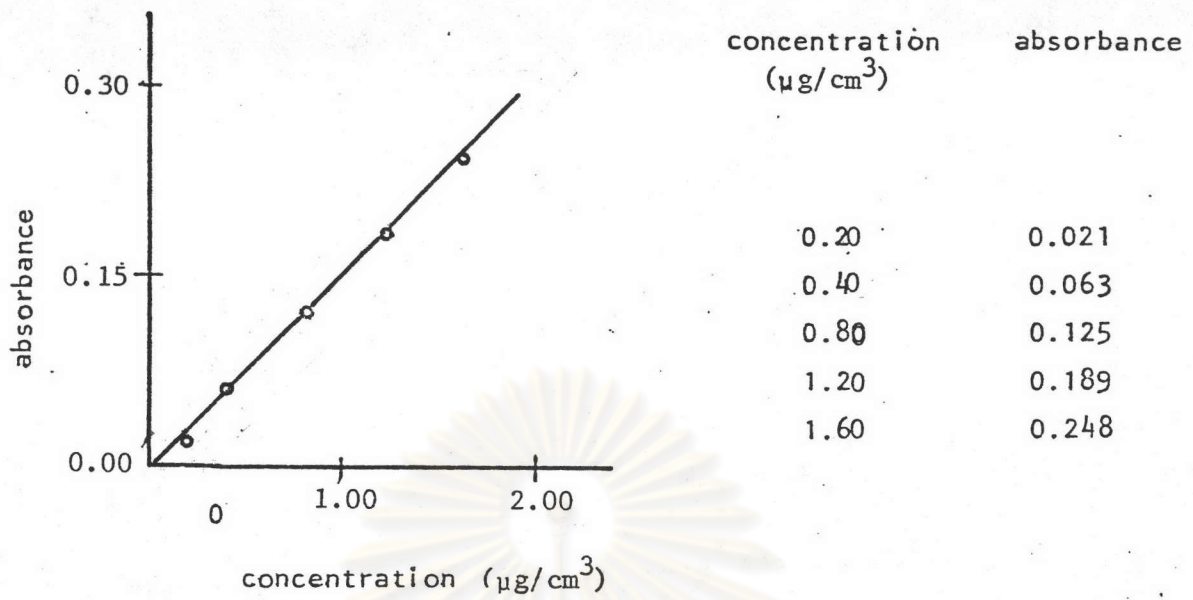
ข. นำชุดสารละลายมาตรฐานของแต่ละธาตุไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมตรี โดยใช้สภาวะดังตารางที่ 3.11



รูปที่ 3.19 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอบซอร์เบนต์ กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก

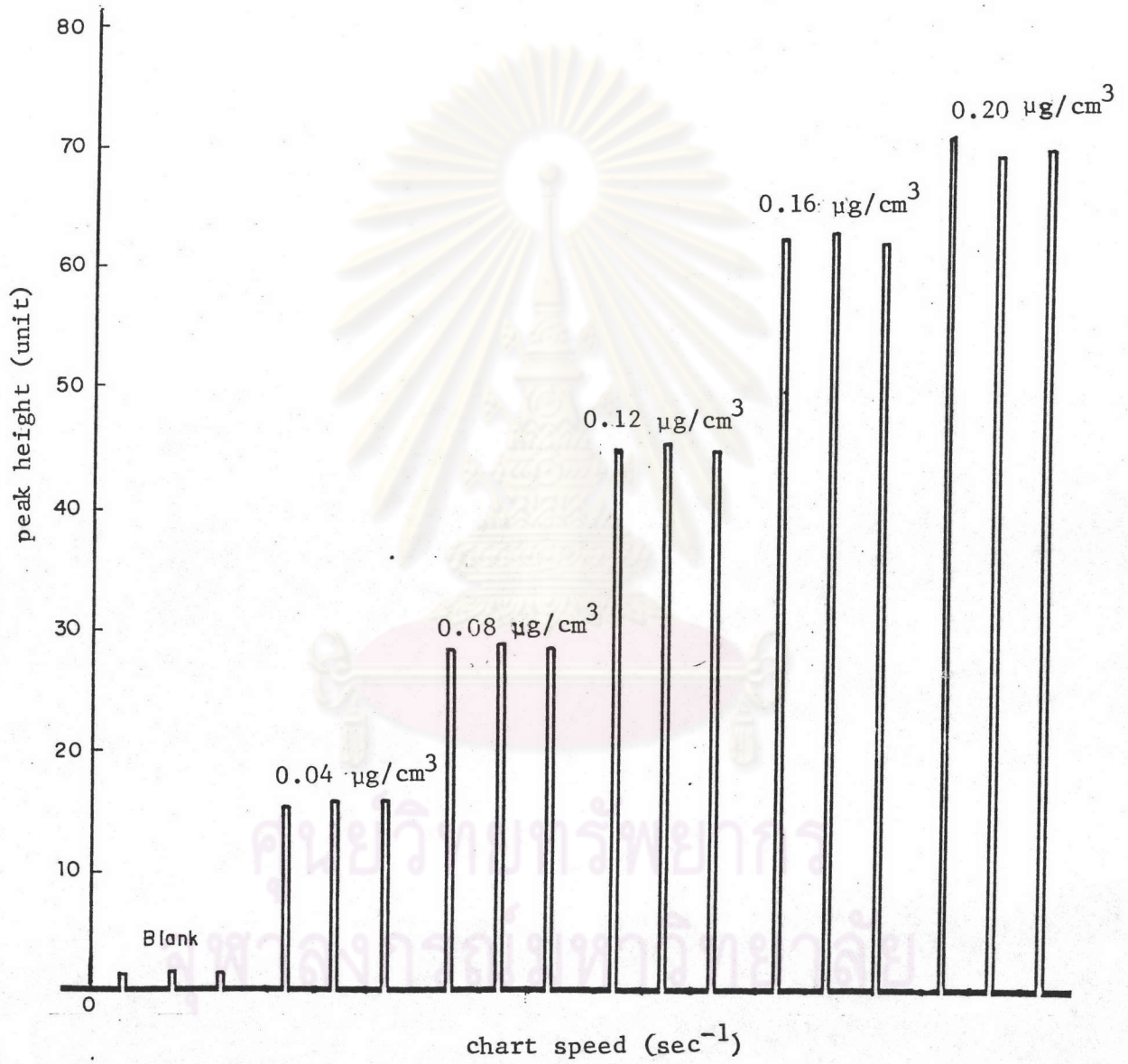


รูปที่ 3.20 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของพีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานทองแดง



รูปที่ 3.21 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอมซอร์เบ้นซ์กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสังกะสี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.22 แสดงตัวอย่างของพีคที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานทองแดง ด้วยเทคนิค GFA

ตารางที่ 3.11 แสดงค่าต่าง ๆ ของสภาวะเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ในตัวอย่างคัม

สภาวะของเครื่องที่ใช้	เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
lamp current (mA)	6.8	2.5	3.5
wave length ($^{\circ}$ A)	2483	3247	2135
spectral bandwidth ($^{\circ}$ A)	2	3	5
background corrector	ใช่	ใช่	ใช่
atomization	flame	graphite furnace	flame
sample size (μ l)	-	20	-
temperature programm	-	-	-
drying stage		120 $^{\circ}$ C, 25 sec.	
ashing stage		500 $^{\circ}$ C, 25 sec.	
atomizing stage		2340 $^{\circ}$ C, 4 sec.	

ค. นำผลการวิเคราะห์ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างแอบซอร์แมนซ์ (absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายเหล็กหรือสังกะสี และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความสูงของพีค (peak height) กับความเข้มข้นของสารละลายทองแดง กราฟที่ได้แสดงในรูป 3.19, 3.20, 3.21 และรูปที่ 3.22 แสดงตัวอย่างพีค (peak) ที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณทองแดงด้วยเทคนิค GFA

(2) การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็ก ทองแดง และสังกะสี ในตัวอย่างคัม

ก. การเตรียมสารละลายตัวอย่างคัม

1. นำตัวอย่างคัมที่แห้ง และทราบน้ำหนักแน่นอน (สำหรับตัวอย่างคัมชุดที่อาจรังสีนิวตรอนได้ทั้งไว้ให้เรดิโอไอโซโทปต่าง ๆ สลายตัวไปจนหมดเสียก่อน ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน) นำไปย่อยสลายด้วยสารละลายกรดผสมของกรดไนตริกเข้มข้นจำนวน 1.50cm³ กรดซัลฟูริกเข้มข้นจำนวน 0.50cm³ และกรดเปอร์คลอริกเข้มข้นจำนวน

0.50 cm³ โดยใช้ bomb digestion apparatus จนได้สารละลายใส ซึ่งใช้อุณหภูมิที่ 90°C นาน 1 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 120°C นาน 1 ชั่วโมง

2. นำสารละลายที่ได้มาเติมน้ำกลั่นจำนวนเล็กน้อย แล้วเทสารละลายตัวอย่างลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10.0 cm³ ปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากันดี และเก็บสารละลายตัวอย่างไว้ในขวดโพลีเอทิลีน

3. นำสารละลายตัวอย่างดับที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก ทองแดง และสังกะสี โดยใช้สภาวะ เครื่องอะตอมมิกแอสซอพซันส เปกโครโฟโตมิเตอร์ ดังตารางที่ 3.11

4. คำนวณหาปริมาณธาตุทั้งสามในสารละลายตัวอย่างดับ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานรูป 3.19, 3.20, 3.21 โดยใช้ Least Square Method และคำนวณให้เป็นปริมาณธาตุค่อน้ำหนักแห้ง (ไมโครกรัม/กรัม) ซึ่งแสดงผลการวิเคราะห์ในตารางที่ 3.12

ตารางที่ 3.12 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก ทองแดง และสังกะสีในตัวอย่างดับด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอสซอพซันส เปกโครโฟโต เมตรี

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)		
		เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
0 00 01 N	0.0539	534	188	126
0 00 02 N	0.0538	565	275	273
0 00 03 N	0.0521	566	224	242
0 00 04 N	0.0967	573	299	233
0 00 05 N	0.0977	1088	132	154
0 00 06 N	0.0718	831	316	499
0 00 07 N	0.0603	1008	331	160

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

0 00 01 N

สภาวะของตัวอย่าง: N=คนปกติ, A=ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ : 00 = เด็กเกิดใหม่

เพศ : 0 = ชาย, 1 = หญิง

ตารางที่ 3.12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)		
		เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
0 00 08 N	0.0389	1004	170	297
0 00 09 N	0.0586	1071	160	381
0 00 10 N	0.0471	619	215	300
0 00 11 N	0.1032	537	113	373
0 00 12 N	0.2920	244	109	563
0 00 13 N	0.0838	283	488	312
0 00 14 N	0.0119	237	368	252
0 00 15 N	0.1520	206	151	359
0 00 16 N	0.1320	370	392	249
0 03 01 N	0.0902	534	26	229
0 08 01 N	0.0699	154	17	131
0 14 01 N	0.0566	425	39	121
0 14 02 N	0.0839	373	24	237
0 14 03 N	0.0950	369	42	266
0 15 01 N	0.3323	467	24	403
0 20 01 N	0.1962	131	35	262
0 23 01 N	0.2224	526	36	163
0 25 01 N	0.5367	484	34	192
0 29 01 N	0.1009	369	21	137

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

0 00 08 N

สภาวะตัวอย่าง: N=คนปกติ, A=ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ: 00 = เด็กเกิดใหม่

เพศ: 0 = ชาย, 1 = หญิง

ตารางที่ 3.12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)		
		เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
0 29 02 N	0.0551	464	19	229
0 29 03 N	0.0529	241	26	164
0 29 04 N	0.2232	194	25	251
0 38 01 N	0.3034	826	34	207
0 39 01 N	0.1847	832	32	130
0 42 01 N	0.1194	175	24	101
0 46 01 N	0.1916	353	37	290
0 47 01 N	0.0939	263	29	208
0 47 02 N	0.0692	260	26	285
0 49 01 N	0.1149	497	15	262
0 49 02 N	0.2428	485	13	280
0 50 01 N	0.3242	702	34	237
0 52 01 N	0.2595	316	26	293
0 54 01 N	0.1293	550	34	233
0 56 01 N	0.0605	422	14	275
0 60 01 N	0.1636	429	39	188
0 60 02 N	0.2746	1049	49	232
0 61 01 N	0.3472	320	17	394
0 65 01 N	0.2772	546	21	545

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

0 29 01 N

สภาวะตัวอย่าง: N=คนปกติ, A=ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ: 29 = 29 ปี

เพศ: 0 = ชาย, 1 = หญิง

ตารางที่ 3.12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)		
		เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
0 67 01 N	0.1513	650	23	198
0 73 01 N	0.1357	1041	20	191
0 75 01 N	0.0734	674	26	431
0 85 01 N	0.2460	444	40	137
0 87 01 N	0.2937	907	52	393
1 00 01 N	0.0819	1070	317	431
1 00 02 N	0.0787	1054	133	182
1 00 03 N	0.0419	859	154	274
1 00 04 N	0.0576	636	235	218
1 00 05 N	0.0657	981	223	270
1 00 06 N	0.1144	1053	324	426
1 00 07 N	0.1296	722	377	210
1 00 08 N	0.1838	346	201	348
1 00 09 N	0.1611	349	328	343
1 00 10 N	0.2081	308	103	392
1 00 11 N	0.1504	422	189	408
1 00 12 N	0.1885	422	178	348
1 00 13 N	0.1724	599	394	399
1 01 01 N	0.0687	650	99	312
1 01 02 N	0.0403	552	35	113
1 01 03 N	0.0782	533	32	119

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

0 67 01 N

สภาวะตัวอย่าง: N=คนปกติ, A=ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ: 67 = 67 ปี

เพศ: 0 = ชาย, 1 = หญิง

ตารางที่ 3.12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)		
		เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
1 02 01 N	0.2785	1061	22	290
1 02 02 N	0.1861	1061	27	226
1 03 01 N	0.0646	946	19	201
1 03 02 N	0.0539	1035	24	203
1 12 01 N	0.0799	276	33	375
1 12 01 N	0.0467	275	37	329
1 16 01 N	0.0692	688	53	253
1 16 02 N	0.0927	553	44	281
1 16 03 N	0.0769	725	34	253
1 18 01 N	0.1056	138	23	150
1 22 01 N	0.0208	479	78	438
1 24 01 N	0.1481	871	32	421
1 27 01 N	0.1124	532	25	218
1 27 02 N	0.0463	509	25	189
1 27 03 N	0.0813	444	28	254
1 31 01 N	0.4013	603	33	241
1 36 01 N	0.0977	446	24	394
1 36 02 N	0.1483	369	20	356
1 42 01 N	0.3236	993	34	294

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

1 | 02 | 01 | N

สภาวะของตัวอย่าง: N=คนปกติ, A=ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ: 02 = 2 ปี

เพศ: 0 = ชาย, 1 = หญิง

ตารางที่ 3.12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)		
		เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
1 46 01 N	0.0715	257	28	129
1 46 02 N	0.0634	215	25	102
1 47 01 N	0.2930	482	42	177
1 53 01 N	0.0567	575	35	272
1 53 02 N	0.1091	550	27	137
1 55 01 N	0.0513	348	24	162
1 55 02 N	0.0851	272	25	191
1 56 01 N	0.1114	631	26	148
1 57 01 N	0.2742	1053	37	190
1 60 01 N	0.0779	489	27	404
1 60 02 N	0.0854	402	21	335
1 61 01 N	0.0591	503	44	575
1 68 01 N	0.2457	1056	26	416
1 75 01 N	0.0707	335	32	175
1 75 02 N	0.0640	335	24	146
1 75 03 N	0.0390	269	19	378
1 18 01 A	0.0086	9578	846	90
1 18 02 A	0.0034	23229	1853	56

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

1 | 46 | 01 | N

สภาวะของตัวอย่าง: N = คนปกติ, A = ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ: 46 = 46 ปี

เพศ: 0 = ชาย, 1 = หญิง

ตารางที่ 3.12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง *	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)	ปริมาณธาตุ (ไมโครกรัม/กรัม)		
		เหล็ก	ทองแดง	สังกะสี
1 19 01 A	0.0054	22328	1640	66
1 12 01 A	0.0018	12751	1198	61
1 23 01 A	0.0043	25309	1375	57
1 25 01 A	0.0043	24382	1280	84
1 32 01 A	0.0038	10017	1401	68
1 32 01 A	0.0047	20032	2821	92
1 36 01 A	0.0080	33441	2410	88
1 54 01 A	0.0047	10932	2099	77

* ความหมายของรหัสตัวอย่าง

1	19	01	A
---	----	----	---

สภาวะของตัวอย่าง: N = คนปกติ, A = ผู้ป่วย

เลขกำกับตัวอย่าง

อายุ: 19 = 19 ปี

เพศ: 0 = ชาย, 1 = หญิง

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

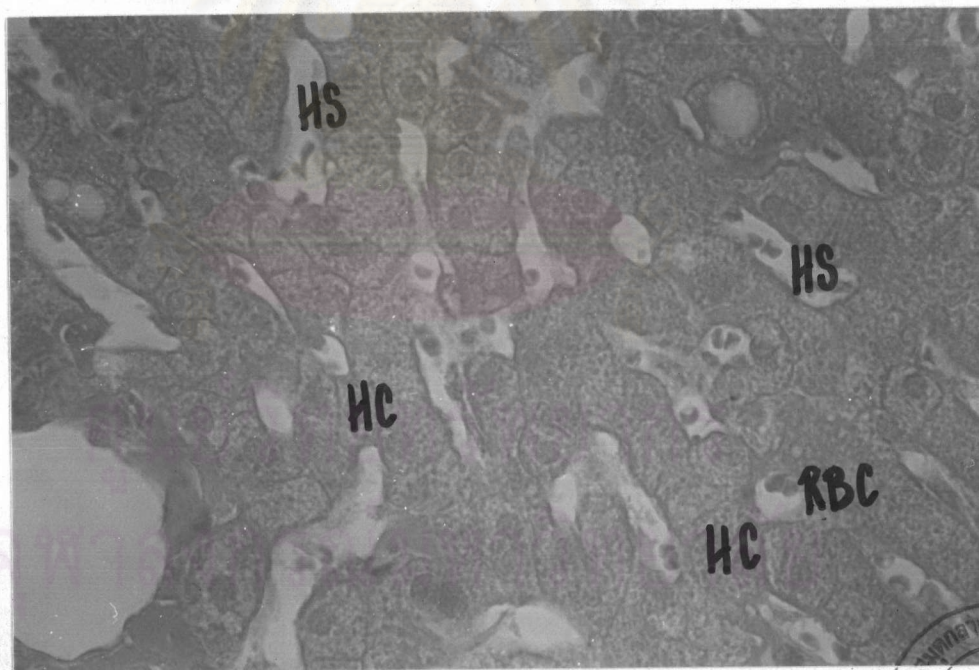
การตรวจดู เซลล์ของคนปกติ เปรียบ เทียบกับ เซลล์ของผู้ป่วย โรคธาลัสซีเมีย

เนื่องจากโรคธาลัสซีเมีย เป็นภาวะที่เกิดการร่างกายมีปริมาณ เหล็กสะสมมากผิดปกติ โดยที่การสะสมของ เหล็กจะ เกิดมากในอวัยวะที่มี เซลเรดิคูลเอนโคทีเลียล เป็นจำนวนมาก เพื่อให้เห็นการ เปลี่ยนแปลงของปริมาณ เหล็กสะสมในตับคนปกติและตับผู้ป่วยโรคนี ผู้วิจัยจึงนำตัวอย่าง ตับไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์แบบทรานสมิชชันอิเล็กตรอนไมโคร-สโคป ซึ่งได้ผลการตรวจดังต่อไปนี้

1. การตรวจดู เซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา

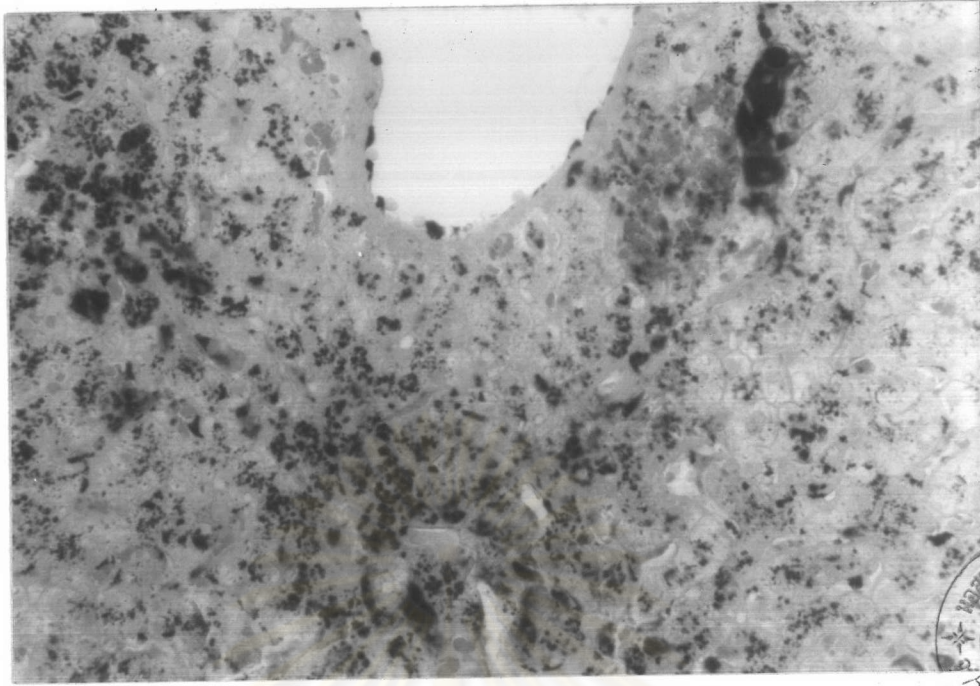
ตัวอย่างตับชิ้นบาง ๆ จะถูกนำมาย้อมสีแบบ Turnbull blue และ H & E หรือ Routine Harris Hematoxyline and Eosin Stain ซึ่งเป็นเทคนิคการย้อมสีที่ทำให้ไมเลกุล เหล็กในเซลล์ติดสีชัดเจน และใช้กำลังขยายของกล้อง 200 และ 400x ผลที่ได้แสดงดังรูปที่

3.23-3.28

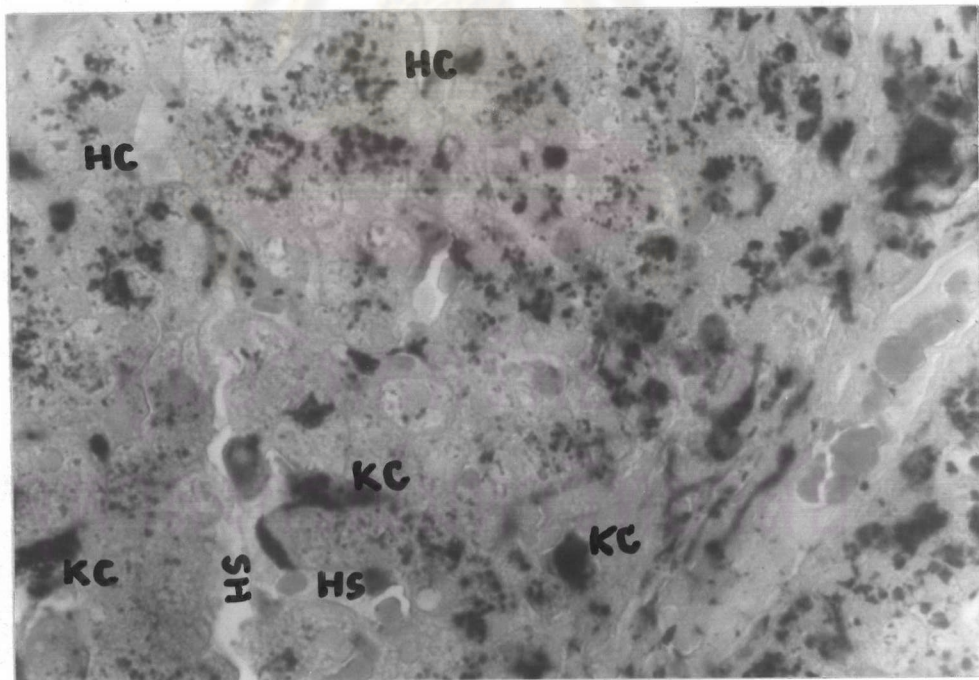


รูปที่ 3.23 แสดงเซลล์ในตัวอย่างตับคนปกติ ย้อมสี Turnbull blue; 400x,

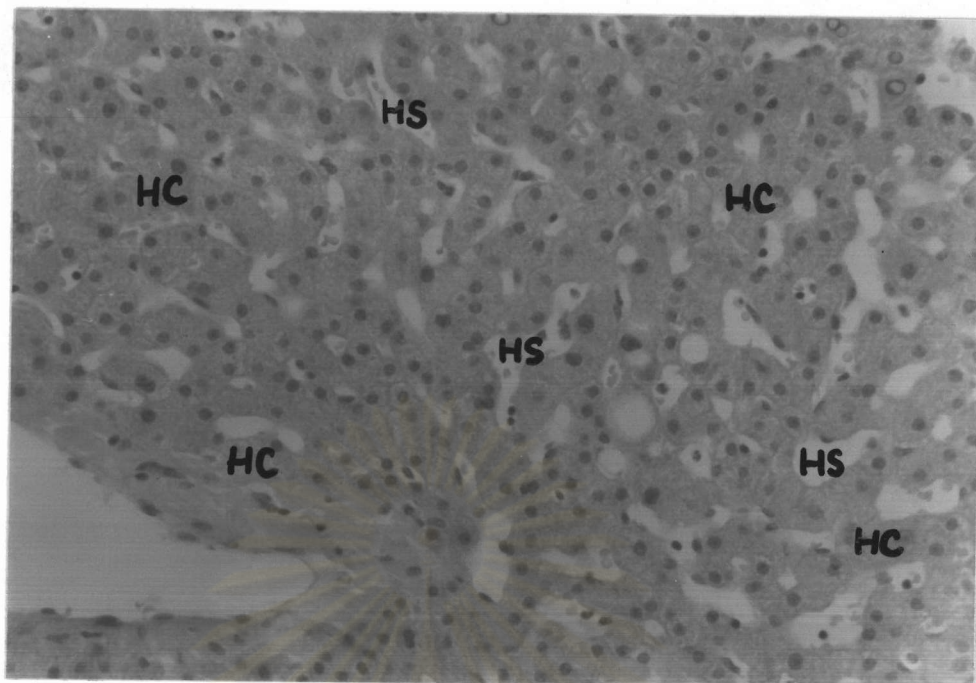
HC = เซพาคิกเซล ; HS = เซพาคิกไซนูซอยด์



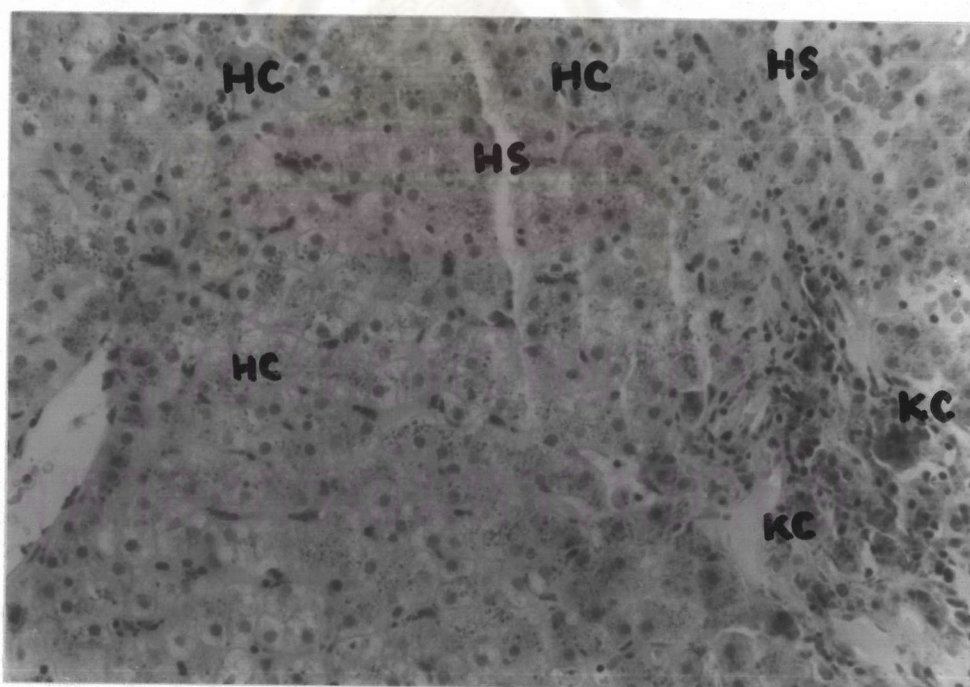
รูปที่ 3.24 แสดงเหล็ก (สีเขียวอมน้ำเงิน) ในคัพเฟอร์ เซลล์ของตับผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย, ย้อมสี Turnbull blue; 200x



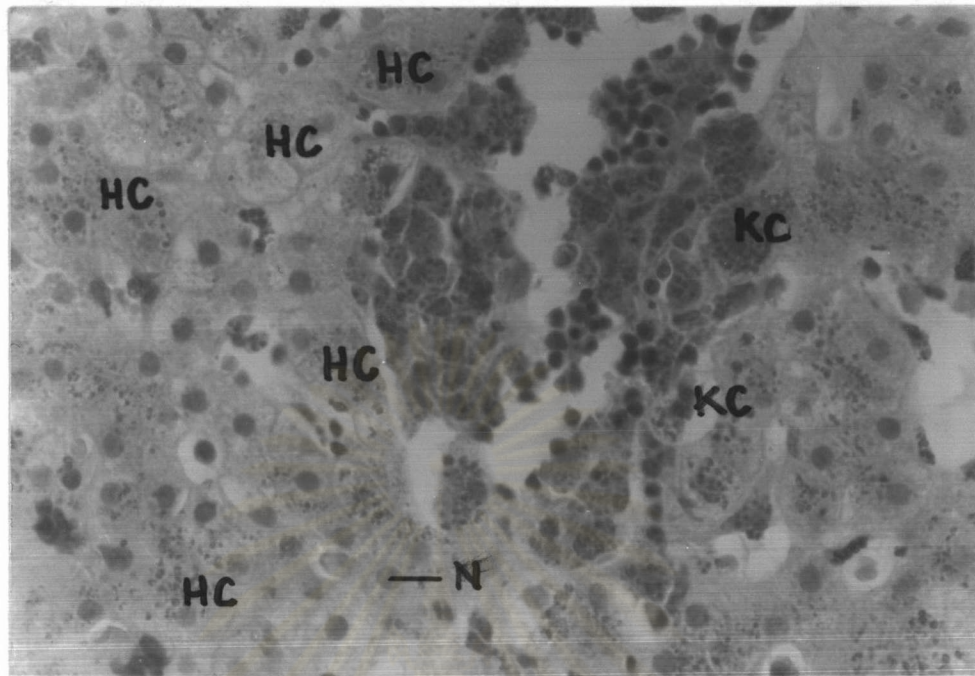
รูปที่ 3.25 เซลล์ของตัวอย่างตับผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียที่ขยายมาจากรูปที่ 3.24 แสดงเหล็กในเฮพาทิกเซลล์ (HC) และคัพเฟอร์เซลล์ (KC); 400x



รูปที่ 3.26 แสดง เซลล์ของตัวอย่างตัวคนปกติ, ย้อมสี H & E; 200x HC =
 เซพติกเซลล์, HS = เซพติกไซนูซอยด์



รูปที่ 3.27 แสดง เหล็ก (สีน้ำตาลเข้ม) ในคัพเฟอร์เซลล์ (KC) และ เซพติกเซลล์
 (HC) ของตัวอย่างตัวผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย, ย้อมสี H & E, 200x

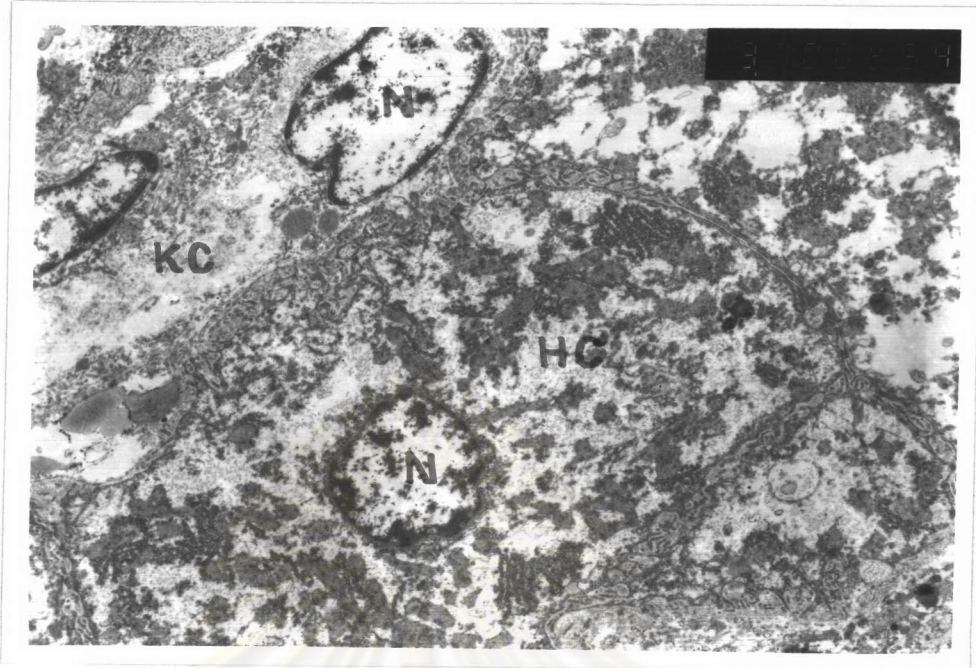


รูปที่ 3.28 เซลล์ของตัวอย่างตับผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียที่ขยายจากรูปที่ 3.27 แสดง
เทลิท (สีน้ำตาลเข้ม) ใน KC และ HC; 400x

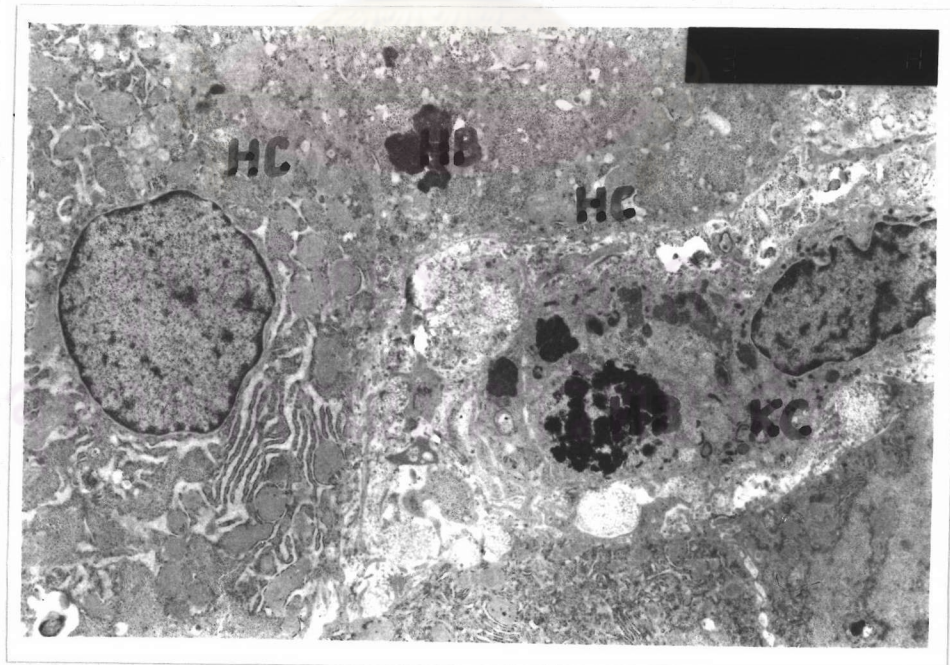
2. การตรวจดูเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบทรานมิชชันอิเล็กตรอนไมโครสโคป

ตัวอย่างตับ (สด) จะถูกนำมาย้อมสีตามขบวนการเฉพาะสำหรับเทคนิค TEM และเมื่อนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ TEM โดยใช้กำลังขยาย 3,700 เท่า ซึ่งได้ผลดังในรูปที่ 3.29 และ 3.30

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.29 แสดงเฮพาทิกเซลล์ (HC) และคัพเฟอร์เซลล์ (KC) ในตัวอย่างตับ
คนปกติ; 3700X



รูปที่ 3.30 แสดงฮีโมไลเคอริน บอดี (HB) ในคัพเฟอร์เซลล์ (KC) และเฮพาทิกเซลล์
(HC) ของตัวอย่างตับผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย; 3700x