

การวิเคราะห์ปริมาณไอออนโลหะหนักในน้ำโดยใช้กรดคาร์มินิก
ในระบบไหลอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรี

Determination of some heavy metal ion in water using carminic acid
with flow injection spectrophotometric system



โดย

นายธีรวัฒน์ อึ้งสิทธิพูนพร

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

เรื่อง การวิเคราะห์ปริมาณไอออนโลหะหนักในน้ำโดยใช้กรดคาร์มินิกในระบบโฟลวอินเจกชัน
สเปกโทรโฟโตเมตรี

โดย นายธีรวัฒน์ อึ้งสิทธิพูนพร

ได้รับอนุมัติเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลภา เอื้องไมตรีภรณ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์พนวสันต์ เอี่ยมจันทร์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ ดร.ภัสสรพล งามอุโฆษ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวรักษ์ เฟื่องสวัสดิ์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบ และอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วัน.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์ปริมาณไอออนโลหะหนักในน้ำโดยใช้กรดคาร์มินิกในระบบ

โพลวอินเจ็กชันสเปกโทรโฟโตเมตรี

ชื่อนิสิตในโครงการ นายธีรวัฒน์ อึ้งสิทธิพูนพร เลขประจำตัว 533 30884 23

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์พนวสันต์ เอี่ยมจันทร์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ ดร.ภัสสรพล งามอุโฆษ

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

ทดลองนำกรดคาร์มินิกไปใช้เป็นรีเอเจนต์สำหรับการตรวจวัดไอออนเหล็ก(III) โดยวิธีทางสเปกโทรเมตรี สืบเนื่องจากความสามารถในการเกิดสารเชิงซ้อนที่มีสีม่วงเข้ม เมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารละลายที่มีค่าพีเอชต่างๆ ของกรดคาร์มินิก และสารเชิงซ้อนของเหล็ก(III) พบว่าพีเอชในการเกิดสารเชิงซ้อนนี้อยู่ในช่วง 5-7 และมีความยาวคลื่นดูดกลืนเท่ากับ 660 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารเชิงซ้อนซึ่งไม่ถูกรบกวนจากรีเอเจนต์ที่มากเกินไป ข้อมูลนี้นำไปใช้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก(III) ในน้ำ ทั้งโดยระบบแบทช์ และระบบโพลว และสามารถสร้างกราฟมาตรฐานที่เป็นเส้นตรงของปริมาณเหล็ก(III) ในช่วง 0.5-11 พีพีเอ็ม สำหรับวิธีแบทช์ และ 1.7-11 พีพีเอ็ม สำหรับวิธีโพลว

คำสำคัญ : กรดคาร์มินิก, เทคนิคโพลวอินเจ็กชันอะนาไลซิส, วิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III)

Title Determination of some heavy metal ion in water using carminic acid with flow injection spectrophotometric system

Student Name Mr.Thirawat Aungsittipoonporn ID 533 30884 23

Advisor Lect.Ponwasom Eamchan

Co-advisor Dr.Passapol Ngamukot


Department of Chemistry, Faculty of science, Chulalongkorn University



Abstract

Utilising carminic acid as a new spectrophotometric reagent for Fe(III) was proposed based on the ability to form intense violet complex. In comparing the obtained visible absorption spectra of carminic acid and Fe(III) complex in various pH solution, the optional pH range for complex formation at 5-7 and good absorption wavelength at 660 nm were chosen to lessen interference of the excess reagent. Both batch and flow systems were developed for quantitative information in Fe(III) determination in aqueous solution. The calibration curves were constructed with good linearity for Fe(III) in the range of 0.5-11 ppm for batch method and 1.7-11 ppm for FIA.

Keywords : Carminic acid, Flow Injection Analysis (FIA), Determination of Fe(III)



กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยและรายงานฉบับนี้ไม่อาจสำเร็จได้หากไม่ได้รับความเมตตา กรุณาจาก อาจารย์ พนมสันต์ เอี่ยมจันทร์ และอาจารย์ ดร.ภัสสรพล งามอุโฆษ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และคอยให้คำปรึกษาตลอดระยะเวลาการทำวิจัย ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลภา เอื้องไมตรีภิมย์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวรักษ์ เพ็องสวัสดิ์ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าในการตรวจสอบ แก้ไขรายงาน และให้เกียรติเป็น คณะกรรมการสอบโครงการ ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านที่คอยอบรม สั่งสอนให้ความรู้ในวิชาเคมี ขอขอบคุณคณาจารย์ และพี่ๆ ในหน่วยปฏิบัติการวิจัยการวิเคราะห์เชิงสภาวะแวดล้อม (EARU) และ พี่ๆ ในห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร (FRTL) โดยเฉพาะ ว่าที่ ร.ต.ศิระ นิธิยานนทกิจ ที่ช่วยเหลือ ขอขอบคุณรุ่นพี่ และเพื่อนภาควิชาเคมีทุกคนที่เป็นกำลังใจ

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุน โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ประจำปีการศึกษา 2556 รวมทั้งภาควิชาเคมีที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องสถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตารางประกอบ	ฌ
สารบัญรูป	ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมา และมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 แนวคิดเหตุผล หรือสมมติฐาน	3
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
1.4 วัตถุประสงค์ และขอบเขตงานวิจัย	7
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
2.1. ลิแกนด์ และคีเลต	8
2.2. เทคนิค job's method	11
2.3. เทคนิค mole ratio method	11
2.4. สเปกโทรโฟโตเมตริกรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ไอออนโลหะ และปัจจัยที่ศึกษา	12
2.5. การวิเคราะห์ไอออนโลหะ โดยเทคนิคฟลาวอินเจ็กชันอะนาไลซิส (FIA) และปัจจัยที่ศึกษา	16
บทที่ 3 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี	
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	21
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	21
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	22

3.4 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	23
บทที่ 4 วิธีการทดลอง ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 ขั้นตอนสอบเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคมินิสเกลในการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างไอออนโลหะชนิดต่างๆกับกรดคาร์มินิกในสารละลายที่มี pH ต่างๆ	26
4.1.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของกรดคาร์มินิกเมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆ	27
4.1.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของกรดคาร์มินิกเมื่อเติมไอออนเหล็ก(III) ในสารละลายที่มีช่วง pH ต่างๆ	30
4.2 ขั้นตอนตรวจวัดสเปกตรัมดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิซิเบิล ของกรดคาร์มินิกและสารเชิงซ้อนกับไอออนเหล็ก(III) ในสารละลาย pH ต่างๆ เพื่อหาค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดสารเชิงซ้อนและความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัด	32
4.2.1 ศึกษาปัจจัยของค่า pH ที่มีผลต่อสเปกตรัมของกรดคาร์มินิก	32
4.2.2 ศึกษาปัจจัยของค่า pH ที่มีผลต่อสเปกตรัมของกรดคาร์มินิกและไอออนของเหล็ก(III)	35
4.3 การศึกษาอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยวิธี Job's method และ mole ratio method	40
4.3.1 การศึกษาอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยวิธี Job's method	40
4.3.2 การศึกษาอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยวิธี mole ratio method	43
4.4 การศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry	46
4.4.1 การหาค่า pH ที่เหมาะสมในการศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry	46

	หน้า
4.4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry	49
4.5 การศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคฟลาวอินเจ็กชันอะนาไลซิส	52
4.5.1 ชั้นการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคฟลาวอินเจ็กชันอะนาไลซิส	52
4.5.2 ชั้นศึกษาเพื่อหาค่าอัตราการไหลของสารที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคฟลาวอินเจ็กชันอะนาไลซิส	55
4.5.3 ชั้นศึกษาเพื่อหาค่าปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในการฉีดแต่ละครั้ง ในการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคฟลาวอินเจ็กชันอะนาไลซิส	57
4.5.4 ชั้นวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคฟลาวอินเจ็กชันอะนาไลซิส	59
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	62
เอกสารอ้างอิง	64
ประวัติผู้วิจัย	68

สารบัญตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงลิแกนด์อะตอมที่ให้อิเล็กตรอนและตัวอย่างของลิแกนด์	8
4.1 แสดงค่าความยาวคลื่นที่ได้ในแต่ละแถบการดูดกลืนแสง	29
4.2 แสดงปริมาตรที่เติมลงไป เพื่อเตรียมสารละลายผสมในอัตราส่วนต่างๆ	36
4.3 ปริมาตรกรดคาร์มิติกและไอออนเหล็ก(III) ที่ใช้ในการเตรียมสารในชั้น job's method	41
4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนและ mole fraction ของไอออนเหล็ก(III) ที่ pH 5-7	42
4.5 ปริมาตรไอออนเหล็ก(III) และกรดคาร์มิติกที่ใช้ในการเตรียมสารในชั้น mole ratio method	44
4.6 ปริมาตรไอออนเหล็ก(III) และกรดคาร์มิติกที่ใช้ในการเตรียมสารในชั้น หา pH ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์	47
4.7 ปริมาตรไอออนเหล็ก(III) และกรดคาร์มิติกที่ใช้ในการเตรียมสารในชั้น วิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มิติกเป็นรีเอเจนต์	50

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 โครงสร้างของกรดคาร์มินิก	3
1.2 ผลของไอออนชนิดต่างๆต่อกรดคาร์มินิก	4
2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ crown ether (a), (b), (c), Cryptate (d) และ EDTA (e)	9
2.2 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ คลอโรฟิลล์เอ (a), คลอโรฟิลล์บี (b) ฮีโมโกลบินเอ (c) และ ฮีโมโกลบินบี (d)	9
2.3 แสดงตำแหน่งและตัวอย่างการเกิดสารเชิงซ้อนของ alizarin และ pyrocatechol	10
2.4 แสดงตำแหน่งที่น่าจะเกิดปฏิกิริยาคีเลชันของกรดคาร์มินิกกับโลหะ	11
2.5 แสดงส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	13
2.6 แสดงการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Fe(II) และ 1,10-phenanthroline	15
2.7 แสดงการเคลื่อนที่ของสารแบบ Laminar flow ในระบบ โพลวอินเจ็กชันอะนาไลซิส	16
2.8 แสดงส่วนประกอบของระบบโพลวอินเจ็กชันอะนาไลซิส	17
2.9 แสดงส่วนประกอบของเครื่องโพลวอินเจ็กชันสเปกโทรโฟโตเมตรี ที่ใช้ในงานวิจัย	19
4.1 ผลของไอออนชนิดต่างๆ ต่อกรดคาร์มินิก	28
4.2 แสดงผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาปัจจัยของ pH และอัตราส่วนที่มีผลในการวิเคราะห์ (pH 3-11 ตามลำดับ)	31
4.3 แสดง mole fraction (%) ของสปีชีส์ต่างๆ ของกรดคาร์มินิกในสารละลาย ที่มี pH ต่างๆ	31
4.4 แสดงสเปกตรัมของกรดคาร์มินิกที่ pH ต่างๆ	33

	หน้า
4.5 แสดงสเปกตรัมของกรดคาร์มินิกแบบต่างๆ	34
4.6 แสดงสเปกตรัมของกรดคาร์มินิก ที่ความเข้มข้น 0.10, 0.20, 0.30 mM และสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 1:1 2:1 3:1 และ 3:2 ที่ pH 4	37
4.7 แสดงสเปกตรัมของเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 3:2 ที่ pH 1-12	37
4.8 แสดงสเปกตรัมของเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 3:2 ที่ pH 1-4	38
4.9 แสดงสเปกตรัมของเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 3:2 ที่ pH 5-7	38
4.10 แสดงสเปกตรัมของเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 3:2 ที่ pH 8-12	39
4.11 ค่าการดูดกลืนแสงและ mole fraction ของไอออนเหล็ก(III) ที่ pH 5, pH 6 และ pH 7	42
4.12 ค่าการดูดกลืนแสงและ mole ratio ของกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) ที่ pH 5, pH 6 และ pH 7	45
4.13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 nm และความเข้มข้นของไอออนเหล็ก(III) ที่ใช้เมื่อมีลิแกนด์มากเกินไป (ใช้กรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.00 mM) ที่ pH 5, pH 6, pH 7	48
4.14 แสดงลักษณะของเส้นสเปกตรัมสารเชิงซ้อนที่ได้จากสารละลายความเข้มข้นเหล็ก(III) ต่างๆ ที่ pH 5, 6 และ 7	49
4.15 แสดงกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.00 mM ในสารละลาย pH 5 เป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry ที่ความยาวคลื่น 660 nm	51

	หน้า
4-17 แสดงส่วนประกอบของเครื่องโพลวอินเจ็กชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ใช้	53
4.18 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.00 mM และสารละลายมาตรฐานที่ถูกเจือจางไป 10 เท่า และ 20 เท่า	54
4.19 แสดงพีคที่ได้จากการปรับค่าอัตราการไหลที่ 2 mL/min, 2.8 mL/min, 3.6 mL/min, 5.2 mL/min และ 6 mL/min	56
4.20 แสดงพีคที่ได้จากการปรับค่า injection volume เป็น 50, 140 และ 150 μ L	58
4.21 แสดงแผนภาพการตรวจวัดสารเมื่อมี injection volume น้อยเกินไป (ซ้าย) พอดี (กลาง) และมากเกินไป (ขวา)	58
4.22 แสดงกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มิคเป็นรีเอเจนต์	61
4.23 แสดงพีคที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มิคเป็นรีเอเจนต์ โดยมีความเข้มข้นเหล็ก(III) ในช่วง 0.01-0.05 mM	61

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมา และมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

ในปัจจุบันประเทศไทยมีการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมมาก และส่วนใหญ่มีการปล่อยน้ำเสียที่ประกอบไปด้วยโลหะหนักที่เป็นพิษออกมาเป็นจำนวนมากโดยปราศจากการบำบัด และโรงงานส่วนใหญ่มักปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยตรง ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ เนื่องจากน้ำเป็นสิ่งสำคัญในการอุปโภค บริโภคของมนุษย์ และเป็นสิ่งจำเป็นขั้นพื้นฐานในห่วงโซ่อาหาร หากแหล่งน้ำมีการปนเปื้อนของโลหะหนักมากเกินไป ประกอบกับกระบวนการผลิตน้ำเพื่ออุปโภค บริโภคที่ไม่ได้มาตรฐาน ก็จะทำให้เกิดการสะสมภายในร่างกาย หรืออาจทำให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังได้ และหากมีการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำธรรมชาติก็อาจส่งผลให้มีจำนวนสัตว์น้ำลดลง ซึ่งจะทำให้แหล่งอาหารของมนุษย์ลดลงไปด้วยและอาจได้รับโลหะหนักจากการบริโภคสัตว์น้ำเหล่านั้น นอกจากนี้ยังอาจส่งผลให้สัตว์น้ำบางชนิดสูญพันธุ์ หรืออาจเกิดการกลายพันธุ์ได้

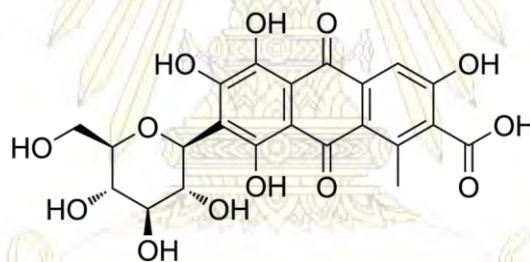
โลหะหนักที่เป็นพิษและมักพบปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำมีหลายชนิดเช่น ตะกั่ว(II) พรอท(II) ทองแดง(II) แคดเมียม(II) เหล็ก(III) นิกเกิล(III) โครเมียม(VI) เป็นต้น โดยเหล็ก(III) เป็นตัวอย่างหนึ่งที่น่าสนใจทำการศึกษา เนื่องจากเป็นไอออนที่มีความสำคัญต่อร่างกาย และเป็นส่วนประกอบสำคัญในยาหลายชนิด ซึ่งธาตุเหล็กมักถูกมองข้าม เนื่องจากมีอันตรายน้อยเมื่อเทียบกับโลหะอื่นๆ ทั้งนี้หากร่างกายได้รับเหล็กมากเกินไปก็อาจทำให้เกิดอันตรายได้ โดยธาตุเหล็กเป็นธาตุที่สำคัญในการสร้างฮีโมโกลบิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในเม็ดเลือดแดง นอกจากนี้ธาตุเหล็กยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเอ็นไซม์หลายชนิด โดยเหล็กมักจะรวมอยู่ในสารประกอบจำพวก porphyrin และ heme ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของโปรตีนหลายๆ ชนิด เช่น ฮีโมโกลบินในกล้ามเนื้อ, enzyme cytochrome P-450, enzyme catalase peroxidase และฮีโมโกลบินใน

เลือด เป็นต้น^[1] ปกติธาตุเหล็กที่ได้รับเข้าไปจะมีการดูดซึมในทางเดินอาหารค่อนข้างน้อย (ประมาณ 10 %) ทั้งนี้ยังขึ้นกับสภาวะการขาดธาตุเหล็กของร่างกาย และชนิดของธาตุเหล็กที่ได้รับ โดยทั่วไปธาตุเหล็กจะมีความเป็นพิษน้อย แต่หากได้รับในปริมาณมากเกินไปก็อาจทำให้เสียชีวิตได้ โดยปริมาณที่เหมาะสมในแต่ละวันคือ 10-20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หากได้รับเกินกว่า 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะมีอาการอาเจียน ปวดท้อง และท้องเสีย หากได้รับเกินกว่า 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อาจทำให้เสียชีวิตได้ นอกจากนี้หากเกิดการสะสมเป็นเวลานาน จะทำให้เนื้อเยื่อบางส่วนเช่น ตับ หัวใจ และต่อมไร้ท่อต่างๆ ถูกทำลายได้^[2]

เทคนิคที่มักใช้ในการวิเคราะห์ไอออนเหล็กที่เจือปนในน้ำได้แก่ เทคนิคอินดักทีฟฟอสฟอริสเปกโตรเมตรี (ICP-AES), เทคนิคแกรไฟต์เฟอร์เนตอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรเมตรี (GFAAS) และเทคนิคอิเล็กโทรโฟเรซิส^[3] ซึ่งทั้งสามเทคนิคเป็นเทคนิคที่มีค่าความไวในการตรวจวัดปริมาณโลหะได้ถึงระดับหนึ่งในพันล้านส่วน (ppb) แต่ก็มีค่าใช้จ่ายในการตรวจวัดสูง และยังต้องใช้อุปกรณ์ราคาแพงและต้องอาศัยบุคลากรในตรวจวัดที่มีประสิทธิภาพในการใช้เครื่องมืออื่นๆ นอกจากนี้ยังใช้เวลาตรวจวัดที่นาน โดยเฉพาะเทคนิคอิเล็กโทรโฟเรซิส ซึ่งอาจใช้เวลาในการตรวจวัดหลายชั่วโมงต่อหนึ่งตัวอย่าง นอกจากนี้ยังมีเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี (UV-visible spectroscopy) ซึ่งให้ผลการตรวจวัดในระดับหนึ่งในล้านส่วน (ppm) แต่ก็ยังมีวิธีการเตรียมตัวอย่างและการใช้งานที่ค่อนข้างยาก ดังนั้นจึงเลือกใช้ เทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส (FIA) ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในน้ำเนื่องจากเป็นเทคนิคที่ไม่ซับซ้อน มีความว่องไวและถูกต้องแม่นยำในการวิเคราะห์สูง^[4] นอกจากนี้ยังเป็นระบบปิดซึ่งสามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ในการวิเคราะห์ได้

สำหรับสารเคมีที่นิยมใช้ในการตรวจวัดเหล็กได้แก่สารจำพวก 1,10-ฟีแนนโทรลีน ซึ่งจะต้องรีดิวซ์เหล็ก(III) ให้กลายเป็นเหล็ก(II) ก่อนแล้วจึงเติมสารจำพวกฟีแนนโทรลีนลงไป ซึ่งจะได้สารผสมที่มีสีส้ม และมีค่าคงที่ของการดูดกลืนแสง (molar absorption coefficient) เท่ากับ $11,000 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ซึ่งมีค่าที่สูงมาก นอกจากนี้ยังมีการใช้สารจำพวก 4,7-ไดฟีนิล-1,10-ฟีแนนโทรลีน หรือ 2,4,6-ไตร(2-ไพริดีล)-1,3,5-ไตรอะซีน (TPTZ) ซึ่งให้ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงมากถึง $22,000$

$\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ^[5] ถึงแม้สารเคมีทั้งสามจะมีค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงที่สูง แต่ก็มีความเป็นอันตรายต่อร่างกายและสิ่งแวดล้อมมาก เนื่องจากเป็นสารจำพวกสารอินทรีย์ ซึ่งส่งผลเสียต่อระบบประสาท และเนื้อเยื่อต่างๆ ในร่างกาย และหากสะสมมากๆ ก็อาจทำให้เสียชีวิตได้^{[6],[7],[8]} จึงเลือกใช้สารเคมีที่ปลอดภัยกว่า แต่ให้ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงสูงอย่างกรดคาร์มินิก ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่มีอันตรายต่อร่างกาย^[9] กรดคาร์มินิกเป็นสารประกอบจำพวกแอนทราควิโนน (anthraquinone) ที่เชื่อมกับน้ำตาลกลูโคสด้วยพันธะไกลโคไซด์ ส่งผลให้โครงสร้างประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิลเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้จากการทดลอง กรดคาร์มินิกยังให้ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงมากถึง $10,000\text{-}20,000 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (ในช่วงความยาวคลื่น 250-350 และ 450-500 nm) จึงเหมาะจะนำมาศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไอออนโลหะหนัก โดยกรดคาร์มินิกมีสูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของกรดคาร์มินิก

(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f9/Carminic_acid_structure.png)

1.2 แนวคิดเหตุผล หรือสมมติฐาน

กรดคาร์มินิกถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต่างๆ มายาวนาน แต่ไม่ได้ถูกใช้อย่างแพร่หลาย ในอดีตมีการใช้กรดคาร์มินิกในการหาปริมาณโบรอน และยังถูกใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างกรดคาร์มินิกและโลหะต่างๆ ยังมีผู้ทดลองศึกษาค้นข้าน้อย^[10] โดยเทคนิคที่เคยถูกใช้ในกระบวนการวิเคราะห์ได้แก่ ion exchange resin^[11], redox couples^[12], spectrofluorimetric^[13] และ HPLC-DAD^[14]

เป็นต้น ซึ่งเป็นเทคนิคที่ค่อนข้างยุ่งยาก และใช้สารตัวอย่างปริมาณมาก ในงานวิจัยนี้เป็นการประยุกต์ใช้เทคนิคโพลิวินิลเจ็กชั้นสเปกโทรโฟโตเมตรีมาใช้ในการวิเคราะห์ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่ายกว่าและใช้สารปริมาณน้อยกว่า ประกอบกับรีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบ (กรดคาร์มินิก) เป็นสารที่มีสีจึงสามารถตรวจสอบได้ง่ายกับเครื่องมือในกลุ่มสเปกโทรโฟโตเมตรี

จากการทดสอบในระดับมินิสเกลพบว่า ไอออนที่ให้ผลการเปลี่ยนแปลงสีชัดเจนกับกรดคาร์มินิกมากที่สุดก็คือ เหล็ก(III) แสดงว่ากรดคาร์มินิกที่ใช้มีความจำเพาะต่อการเกิดสารเชิงซ้อนกับเหล็ก(III) มาก (ดังแสดงในรูปที่ 1.2) นอกจากนี้การที่กรดคาร์มินิกให้ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงมากถึง $10,000-20,000 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษา เนื่องจากเป็นสารเคมีที่ไม่มีพิษต่อสิ่งแวดล้อมและยังให้ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงสูง เมื่อเทียบกับการใช้รีเอเจนต์ชนิดอื่นๆ ที่ให้ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงที่พอๆ กันแต่มีความเป็นพิษมากกว่า



รูปที่ 1.2 ผลของไอออนชนิดต่างๆ ต่อกรดคาร์มินิก

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำกรดคาร์มิติกมาใช้ในปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อน และการใช้เทคนิคโฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรีในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ในน้ำนั้นยังมีน้อย และส่วนใหญ่มักจะไม่ได้ได้รับความนิยม เนื่องจากเหล็ก(III) เป็นไอออนโลหะหนักที่มีความเป็นพิษต่ำและมีความน่าสนใจน้อยเมื่อเทียบกับไอออนโลหะหนักอื่นๆ นอกจากนี้กรดคาร์มิติกยังเป็นสารที่ยังแพร่หลายในงานวิจัยต่างๆ ซึ่งก็นับเป็นโอกาสอันดีที่จะได้ทำการศึกษาสารเคมีชนิดนี้ให้มากขึ้น สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องได้แก่

ในปี 1995 Pérez-Ruiz และคณะ^[15] ได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณ โมลิบดีนัม(VI) และ วาเนเดียม(IV) โดยใช้กรดคาร์มิติกเป็นรีเอเจนต์เพื่อเกิดสารเชิงซ้อนกับโลหะทั้งสองชนิด โดยใช้ ซิทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (CTAB) เป็นตัวเพิ่มการละลาย และใช้เทคนิคโฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรีในการวิเคราะห์ ซึ่งผลการศึกษาพบว่าปริมาณโลหะที่วิเคราะห์ได้ อยู่ในช่วง 0.76 - 28.8 $\mu\text{g/ml}$ (โมลิบดีนัม(VI)), 0.30 - 9.1 $\mu\text{g/ml}$ (วาเนเดียม(IV)) และมีขีดจำกัดในการวัดเท่ากับ 0.33 และ 0.16 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความถูกต้อง และใกล้เคียงกับผลที่ได้จากการวัดโดยใช้เครื่อง ICP-AES ซึ่งการทดสอบโดยใช้เทคนิคโฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรีมีค่าใช้จ่ายที่ถูกลงกว่ามาก

ในปี 1998 Filik และคณะ^[16] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณแกลเลียม(III) โดยใช้กรดคาร์มิติกและเฮกซะเดคิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (HDPC) เป็นรีเอเจนต์ และใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีในการวิเคราะห์ โดยใช้อัตราส่วนแกลเลียม(III):กรดคาร์มิติกเท่ากับ 1:4 ซึ่งผลการทดลองพบว่าสารเชิงซ้อนที่ได้ให้ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสงมากถึง $30,000 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (ที่ความยาวคลื่น 570 nm, pH 4) และให้ช่วงการวิเคราะห์ที่ $2.0 \times 10^{-6} - 2.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) เท่ากับ 1.4% และในงานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการวิเคราะห์แกลเลียม(III) จากแกลเลียมอาร์เซไนด์ (ซึ่งเป็นสารเคมีคอนดักเตอร์) โดยที่ไม่ต้องมีการแยกในเบื้องต้น และยังสามารถวิเคราะห์แกลเลียม(III) ในตัวอย่างดินที่มีปริมาณอะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(III) มากๆ ได้ นอกจากนี้ยังมีผลของสิ่งรบกวนอื่นๆ น้อยมาก

ในปี 2002 Pojanagaroon และคณะ^[17] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เทคนิครีเวอร์สโพลวอินเจ็กชันสเปกโทรโฟโตเมตรี ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ในน้ำธรรมชาติ โดยใช้นอร์ฟลอกซาซินเป็นรีเอเจนต์ จากการศึกษาพบว่าสามารถหาปริมาณเหล็ก(III) ได้ในช่วง 0.2–1.4 $\mu\text{g/mL}$ และมีขีดจำกัดในการวัดที่ 0.01 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) เท่ากับ 1.77% (12 ซ้ำ) และยังได้ค่ารีโคฟเวอรรี่จากการเติมเหล็ก(III) ลงไปเท่ากับ 92.6–99.8%

ในปี 2008 Ruengsitagoon^[18] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เทคนิครีเวอร์สโพลวอินเจ็กชันสเปกโทรโฟโตเมตรี ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ในตัวอย่างน้ำธรรมชาติ โดยใช้คลอร์เตตระไซคลินเป็นรีเอเจนต์ จากการศึกษาพบว่าสามารถหาปริมาณเหล็ก(III) ได้ในช่วง 0.5–20.0 $\mu\text{g/mL}$ และมีขีดจำกัดในการวัดและขีดจำกัดในการวิเคราะห์ที่ 0.10 และ 0.82 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 10.0 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ 0.43 และ 0.59 % (12 ซ้ำ)

ในปี 2012 Tontrong และคณะ^[19] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เทคนิคโพลวอินเจ็กชันสเปกโทรโฟโตเมตรี ในการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมโดยใช้สารสกัดธรรมชาติจากรากของ *Morinda citrifolia* ซึ่งสกัดแล้วได้สารจำพวก anthraquinone (ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในกรดคาร์มินิก) เพื่อให้เกิดปฏิกิริยากับอะลูมิเนียม โดยสามารถใช้สารที่สกัดได้นี้เป็นรีเอเจนต์ในระบบโพลวอินเจ็กชันได้โดยไม่ต้องทำให้บริสุทธิ์อีก ผลการทดลองประสบความสำเร็จในการหาปริมาณอะลูมิเนียมในสารตัวอย่าง โดยวิธี flame atomic absorption spectroscopy ข้อดีคือเป็นวิธีการที่ง่าย รวดเร็ว ประหยัด และยังเป็นวิธีการที่ไม่เกิดมลพิษอีกด้วย

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4 วัตถุประสงค์ และขอบเขตงานวิจัย

วิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ในน้ำโดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ในการเกิดสารเชิงซ้อนกับเหล็ก(III) โดยใช้เทคนิคฟลาวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรี ซึ่งเป็นรีเอเจนต์และเป็นเทคนิคที่น่าสนใจในการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ในน้ำ ซึ่งในขั้นตอนแรกจะทำการทดลองย่อยในระดับมินิสเกล เพื่อทดสอบความเป็นไปได้ในการวิเคราะห์โลหะหนักชนิดต่างๆ และความเป็นไปได้ของผลการทดลองที่ควรจะเป็นก่อนการนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนที่มีความละเอียดและใช้เทคนิคสูงขึ้น จากนั้นจึงทำการศึกษาปัจจัยและผลกระทบของการทดลอง โดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี (UV-visible spectroscopy) และในขั้นตอนสุดท้ายคือการศึกษาปัจจัย และผลกระทบของการทดลอง และทำการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักโดยใช้เทคนิคฟลาวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรี จากนั้นก็เปรียบเทียบผลที่ได้กับเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี

สำหรับปัจจัยและผลกระทบของการทดลองที่จะทำการศึกษานั้นได้แก่ ชนิดของไอออนโลหะหนักที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับกรดคาร์มินิกและไอออนต่างๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ ผลกระทบของค่า pH และค่า pH ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ผลกระทบของช่วงความยาวคลื่นต่างๆ และช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของรีเอเจนต์ (กรดคาร์มินิก) และไอออนโลหะหนักที่ใช้ในการวิเคราะห์ ผลของปริมาตรสารตัวอย่าง (ไอออนโลหะ) ที่ใช้ในการฉีดแต่ละครั้งและอัตราการไหลของสารในระบบฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิส รวมทั้งหาปริมาตรและอัตราการไหลที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

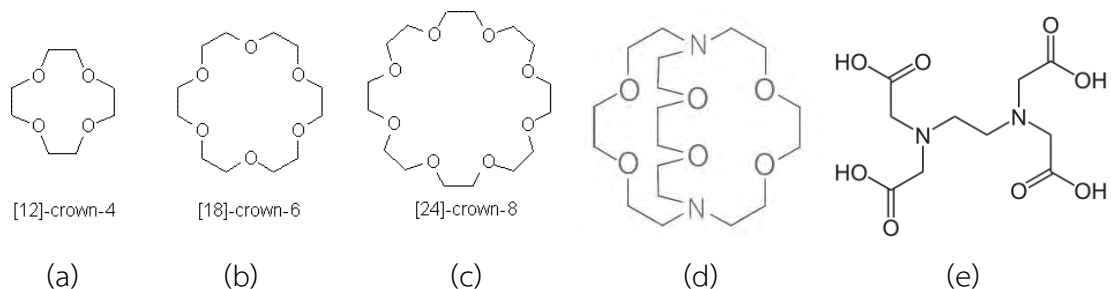
2.1 ลิแกนด์ และคีเลต

ลิแกนด์ (Ligand) หมายถึง อะตอม ไอออน หรือโมเลกุลที่เกิดพันธะกับอะตอมกลางที่เป็นโลหะ หรือไอออน ส่วนมากมักเกิดพันธะกับอะตอมกลางแบบโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์ และจะทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่ไอออนหรืออะตอมกลาง และส่วนมากมักมีค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตีสูง ตัวอย่างของลิแกนด์แสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงลิแกนด์อะตอมที่ให้อิเล็กตรอนและตัวอย่างของลิแกนด์^[20]

ลิแกนด์	อะตอมที่ให้อิเล็กตรอน	ตัวอย่าง
CN^- , CO	C	$[\text{Co}(\text{CN})_6]^{2-}$
NH_3 , NO , NO_2^-	N	$[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]^{3-}$
H_2O , OH^- , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$	O	$[\text{Cr}(\text{OH})_6]^{3-}$
SCN^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	S	$[\text{Pt}(\text{SCN})_6]^{2-}$
F^- , Cl^- , Br^- , I^-	แฮโลเจน	$[\text{HgI}_4]^{2-}$

นอกจากนี้ยังมีลิแกนด์ซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีขนาดใหญ่กว่า เช่น crown ether, cryptate, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นต้น



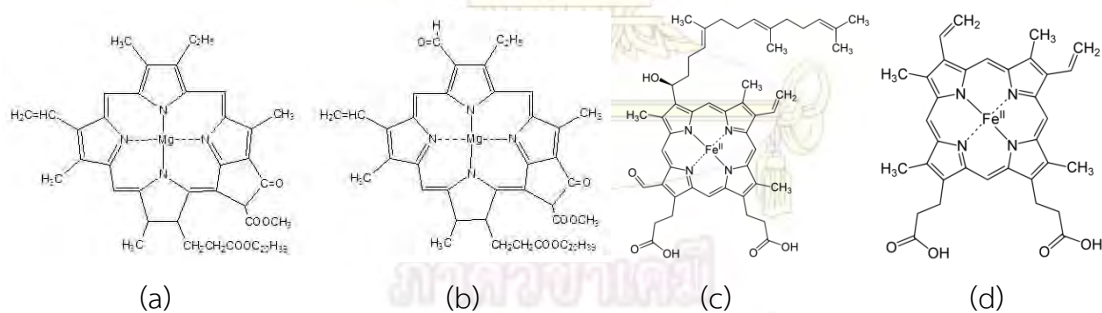
รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ crown ether (a), (b), (c), cryptate (d) และ EDTA (e)

(<http://chemvista.org/images/crownether1.GIF>)

(<http://www.o-18.com/image/structure%20cryptand-222.jpg>)

(<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3c/EDTA.svg/290px-EDTA.svg.png>)

ลิแกนด์ที่สามารถเกิดพันธะกับโลหะได้ 1 ตำแหน่งจะเรียกว่าโมโนเดนเทตลิแกนด์ (mono-dentate ligand) และหากเกิดพันธะกับโลหะได้มากกว่า 1 ตำแหน่งจะเรียกว่าพอลิเดนเทตลิแกนด์ (poly-dentate ligand) ซึ่งอาจเรียกพอลิเดนเทตลิแกนด์ได้ว่า คีเลตติงลิแกนด์ (chelating ligand) ซึ่งสารที่เกิดกระบวนการคีเลชัน (chelation) จะเรียกว่า คีเลต (chelate) คีเลตที่พบบ่อยในธรรมชาติได้แก่ คลอโรฟิลล์ และฮีโมโกลบิน



รูปที่ 2.2 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ คลอโรฟิลล์เอ (a), คลอโรฟิลล์บี (b), ฮีโมโกลบินเอ (c)

และ ฮีโมโกลบินบี (d)

(<http://alliedhealthblog.com/wp-content/uploads/2010/11/chlorophyll.jpg>)

(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/1b/Heme_a.svg/620px-Heme_a.svg.png)

(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/be/Heme_b.svg/200px-Heme_b.svg.png)

สำหรับลิแกนด์ที่นำมาใช้ในการศึกษา คือ กรดคาร์มินิก ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่มสีย้อม (Dyes) มักใช้ในอุตสาหกรรมหมึก สีย้อม การถ่ายภาพ สีย้อมแบคทีเรีย รีเอเจนต์ และอาหาร เป็นต้น ปกติอยู่ในรูปผงสีส้มแดง ละลายได้ดีในน้ำและน้ำมัน เปลี่ยนสีตามค่า pH ได้ ทนแสงและความร้อน ได้ดีมาก เมื่อละลายน้ำให้สารละลายสีส้มแดงที่มีความเข้มข้นมากแม้เจือจาง สกัดจากแมลงตระกูล Cochineal (*Coccus cacti* L.)^[21,22] ซึ่งมีภาคัยอยู่บนต้นกระบองเพชร นอกจากนี้กรดคาร์มินิกยัง ประกอบไปด้วยหมู่แอนทราควิโนน (anthraquinone) ที่เชื่อมกับน้ำตาลกลูโคสด้วยพันธะไกลโคไซด์ ส่งผลให้โครงสร้างประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิลเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้จากโครงสร้าง (รูปที่ 1.1) ยังพบว่าหมู่ไฮดรอกซิลเหล่านั้นต่ออยู่กับวงเบนซีน และยังมีหมู่คีโตนที่อยู่ในตำแหน่งถัดไปด้วย โดยมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับ alizarin และ pyrocatechol ซึ่งสารทั้งสองสามารถเกิดปฏิกิริยาคีเลชันได้ดีกับโลหะหลายชนิด และมีอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนได้หลายแบบ เช่น 1:1 2:1 3:1 (ลิแกนด์:โลหะ) ขึ้นอยู่กับชนิดของลิแกนด์และ pH ที่ใช้ในการทดลอง



รูปที่ 2.3 แสดงตำแหน่งและตัวอย่างการเกิดสารเชิงซ้อนของ alizarin และ pyrocatechol

(ซ้าย) แสดงตัวอย่างการเกิดสารเชิงซ้อนของ alizarin กับอะลูมิเนียม(III)

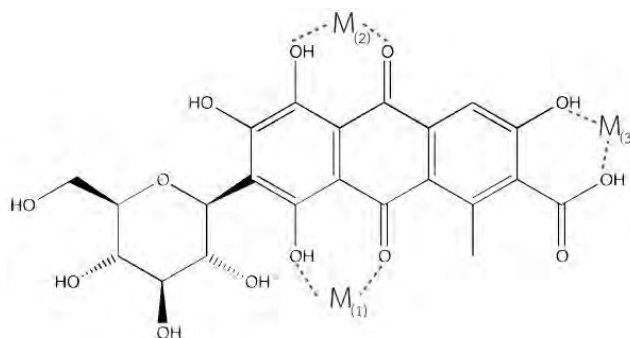
(ขวา) แสดงตัวอย่างการเกิดสารเชิงซ้อนของ pyrocatechol กับกรดบอริกโดยที่

มีอัตราส่วนของ pyrocatechol:กรดบอริก เป็น 1:1 (a) และ 3:2 (b)

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/4/45/Alizarin-Aluminium-Komplex.svg/366px-Alizarin-Aluminium-Komplex.svg.png>

<http://www.rsc.org/ej/CS/2011/c0cs00023j/c0cs00023j-s2.gif>

จากตัวอย่างข้างต้นจึงทำให้สามารถทำนายตำแหน่งการเกิดสารเชิงซ้อนของกรดคาร์มินิกกับโลหะได้ โดยตำแหน่งที่น่าจะเกิดปฏิกิริยาได้ แสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงตำแหน่งที่น่าจะเกิดปฏิกิริยาคีเลชันของกรดคาร์มินิกกับโลหะ

2.2 เทคนิค job's method

เทคนิค job's method หรือ continuous variation เป็นเทคนิคที่ใช้ในการหาอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของแคตไอออนหรือไอออนโลหะที่ศึกษากับลิแกนด์ที่ใช้ในการเกิดสารเชิงซ้อน มีวิธีการหาโดยผสมสารละลายแคตไอออน หรือไอออนโลหะที่สนใจศึกษา (M) กับ ลิแกนด์หรือรีเอเจนต์ (L) ที่มีความเข้มข้นเท่ากันโดยให้ปริมาตรรวมของสารผสมคงที่แต่มีอัตราส่วนโดยปริมาตรที่แตกต่างกัน เช่น (0 mL:10 mL), (1 mL:9 mL) หรือ (2 mL:8 mL) เป็นต้น หรือถ้าความเข้มข้นไม่เท่ากันก็ต้องมีผลรวมของความเข้มข้นโลหะและลิแกนด์เท่ากันในทุกสารละลายที่ใช้วัด เช่น (0.0 M:1.0 M), (0.1 M:0.9 M) หรือ (0.2 M:0.8 M) เป็นต้น จากนั้นจึงนำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสม แล้วสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเศษส่วนปริมาตรของแคตไอออนหรือลิแกนด์ ซึ่งก็คือ $V_M/(V_M+V_L)$ และ $V_L/(V_M+V_L)$ หรือ $C_M/(C_M+C_L)$ และ $C_L/(C_M+C_L)$ ตามลำดับ และหากจุดสูงสุด (หรือต่ำสุด) เกิดขึ้นที่ใดจุดๆ นั้นจะเป็นจุดกำหนดอัตราส่วนของแคตไอออนและลิแกนด์ในสารเชิงซ้อน

2.3 เทคนิค mole ratio method

เทคนิค mole ratio method เป็นเทคนิคที่ใช้ในการหาอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของแคตไอออนหรือไอออนโลหะที่ศึกษากับลิแกนด์ที่ใช้ในการเกิดสารเชิงซ้อน คล้ายกับวิธี job's method แต่จะมีข้อแตกต่างในการทดสอบเล็กน้อย มีวิธีการหาโดยเตรียมสารละลายผสมโดยให้

ความเข้มข้นของโลหะ (M) คงที่ และเตรียมสารละลายลิแกนด์ (L) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยให้ปริมาตรรวมของสารละลายผสมคงที่ จากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสม แล้วสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับอัตราส่วนโดยโมลของ L:M จะได้กราฟเส้นโค้งที่ประกอบไปด้วยเส้นตรงสองเส้นที่มีความชันต่างกัน และเมื่อต่อเส้นตรงทั้งสองให้ตัดกันจะเป็นจุดที่กำหนดอัตราส่วนโดยโมลที่เกิดสารเชิงซ้อน

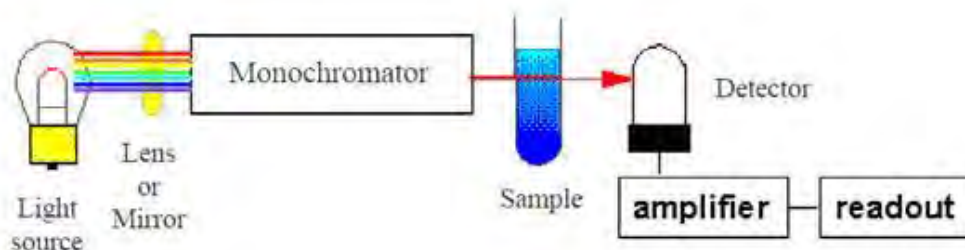
2.4 สเปกโทรโฟโตเมตริกเอนเจนด์สำหรับวิเคราะห์ไอออนโลหะ และปัจจัยที่ศึกษา^[23,24]

สเปกโทรโฟโตมิเตอร์เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาการดูดกลืนแสงของสารในช่วงคลื่นตั้งแต่ช่วงอัลตราไวโอเล็ต (100-400 นาโนเมตร) แสงขาว (400-700 นาโนเมตร) และอินฟราเรด (700-4000 นาโนเมตร) การวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและแสงขาว ส่วนใหญ่จะใช้ในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ ในขณะที่การวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงอินฟราเรดจะใช้กับการวิเคราะห์สารอินทรีย์ การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสามารถใช้หาปริมาณสารที่จะวิเคราะห์ได้ ซึ่งทำได้โดยการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นค่าหนึ่งที่สารดูดกลืนแสงได้มากที่สุด (λ_{max}) แล้วนำไปเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ที่สร้างจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานชนิดเดียวกันซึ่งเตรียมให้มีความเข้มข้นต่างๆ กัน (อย่างน้อย 3-5 ความเข้มข้น) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่สารนั้นดูดกลืนแสงได้มากที่สุด (λ_{max}) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารแต่ละความเข้มข้นที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้กราฟผ่านจุดกำเนิดเป็นกราฟมาตรฐาน ซึ่งการหาปริมาณสารโดยการวัดการดูดกลืนแสงในช่วงแสงขาวมีหลักสำคัญคือ สารที่ต้องการหาปริมาณจะต้องมีสีหรือสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นแล้วทำให้เกิดสารที่มีสีได้ สารละลายมีสีที่ใช้ในการวิเคราะห์ควรมีสมบัติดังนี้

1. สีของสารควรมีความเข้มมากพอที่จะวัดการดูดกลืนของแสงได้ แม้ว่าสารนั้นจะประกอบด้วยสารที่ต้องการวิเคราะห์จำนวนเล็กน้อยก็ตาม
2. สีของสารที่อยู่ในสารละลายจะต้องอยู่ตัวไม่จางลงอย่างรวดเร็ว

3. สีของสารจะต้องไม่เปลี่ยนแปลงหรือจางลง เมื่อ pH หรืออุณหภูมิของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย
4. สารที่ทำให้เกิดสีกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ จะต้องไม่มีสีหรือไม่ดูดกลืนแสงช่วงเดียวกับสารมีสีที่เกิดขึ้น
5. ปฏิกิริยาของรีเอเจนต์กับสารที่ต้องการวิเคราะห์ จะต้องให้สารมีสีชนิดเดียวเท่านั้น

2.4.1 ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์



รูปที่ 2.5 แสดงส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

(<http://www.gibthai.com/userfiles/image/technote/spectrophotometer.JPG>)

1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source) แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย สำหรับความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเล็ตจะใช้หลอดดีวเทอเรียม (deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งให้แสงในช่วง 185-375 nm ส่วนหลอดทังสแตน (tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้ คือตั้งแต่ 320-2500 nm โดยปกติจะเปิดเครื่องอุ่นหลอดทิ้งไว้ก่อนใช้งานประมาณ 30 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าหลอดดีวเทอเรียมหรือหลอดทังสแตนให้แสงที่มีความเข้มสม่ำเสมอ

2. อุปกรณ์แยกคลื่นแสง (monochromator) เป็นส่วนที่ใช้แยกความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆ ความยาวคลื่น (polychromatic wavelength) ให้เป็น

แถบแสงในช่วงแคบๆ หรือ เป็นความยาวคลื่นเดี่ยว (monochromatic wavelength) เครื่องมือสมัยก่อนจะใช้ปริซึมหรือ ฟิลเตอร์สำหรับแยกความยาวคลื่น แต่ปัจจุบันเปลี่ยนมาใช้โมโนโครเมเตอร์ (monochromator) แบบเกรตติง (grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่าน ช่องแสงออก (exit slit) ไปสู่สารตัวอย่าง

3. ภาชนะสำหรับใส่สารที่ต้องการวิเคราะห์ เรียกว่า เซลล์ (cell) หรือคิวเวตต์ (cuvette) มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกันขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ต จะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ เนื่องจากแก้วไม่มีผลกระทบในช่วงความยาวคลื่นนี้ และเซลล์ที่ทำจากควอตซ์ยังมีราคาแพงกว่าแก้วมาก นอกจากนี้ยังมีภาชนะที่ทำจากพลาสติกพอลิเมอร์ ซึ่งใช้กับสารอินทรีย์ที่มีผลกับควอตซ์หรือแก้ว

4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (detector) เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย ก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ปัจจุบันเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่ นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิดคือ

4.1 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT)

4.2 โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode arrays; PDA)

5. อุปกรณ์อ่านหรือแปลสัญญาณ (signal indicator, read out) ทำหน้าที่ขยายสัญญาณ และแปลผลสัญญาณให้ออกมาในมาตราส่วนแบบล็อก (log scale)

โดยทั่วไปไอออนของโลหะมักไม่ดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและแสงขาว ดังนั้นในการวิเคราะห์โลหะจึงไม่นิยมใช้วิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมตรี (UV-Vis spectrophotometry) แต่จะมีโลหะที่อยู่ในกลุ่มของโลหะทรานซิชันบางตัวที่สามารถนำมาวิเคราะห์โดยวิธีนี้ได้ โดยทำให้โลหะเหล่านั้นอยู่ในรูปของสารเชิงซ้อนกับลิแกนด์บางชนิดเช่น ไทโอไซยาเนต, 1,10-phenanthroline เป็นต้น ซึ่งกลไกในการเกิดสีของสารเชิงซ้อนจะเกี่ยวข้องกับการดูดกลืนแสง 2 ชนิดคือ

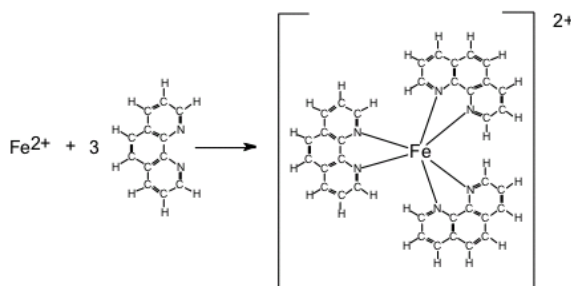
1. Charge transfer absorption

2. d-d transition

สำหรับโลหะที่มักใช้ในการวิเคราะห์ที่ใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี ได้แก่ เหล็ก(II), เหล็ก(III) และ อะลูมิเนียม(III) เป็นต้น สำหรับไอออนเหล็ก(II) สามารถเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับ 1,10-phenanthroline ได้เป็น $\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3^{2+}$ ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงในช่วงแสงขาวได้ โดยในปฏิกิริยาจะทำการเติม hydroxylamine ลงไปเพื่อทำการรีดิวซ์เหล็ก(III) ให้เป็นเหล็ก(II) ดังสมการ



สำหรับปฏิกิริยาระหว่างเหล็ก(II) และ 1,10-phenanthroline จะเกิดได้ดี เมื่อ pH ของสารละลายมีค่าประมาณ 3-9 โดยเกิดปฏิกิริยาดังนี้



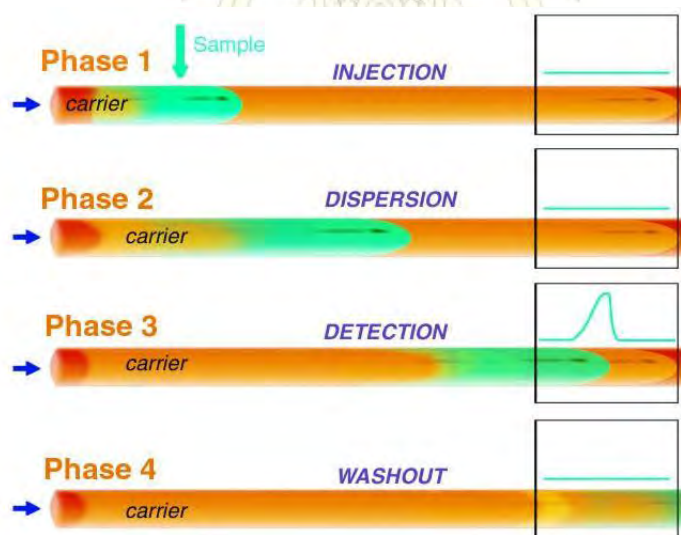
รูปที่ 2.6 แสดงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเหล็ก(II) และ 1,10-phenanthroline

(<http://water.me.vccs.edu/courses/env211/changes/ironreaction.gif>)

ปัจจัยที่มักศึกษาในเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสีของสารหรือองค์ประกอบต่างๆ ที่มีผลต่อการดูดกลืนแสง (ในกรณีที่วัดเป็นการค่าดูดกลืนแสง) ได้แก่ ค่า pH ค่าความเข้มข้นของสารที่เหมาะสมในการวัด ขนาดความกว้างของเซลล์หรือคิวเวตต์ ชนิดของตัวตรวจวัดที่ใช้ ช่วงความยาวคลื่นที่ใช้และผลกระทบของการเกิดสารเชิงซ้อนที่มีผลต่อความยาวคลื่นที่เปลี่ยนไป

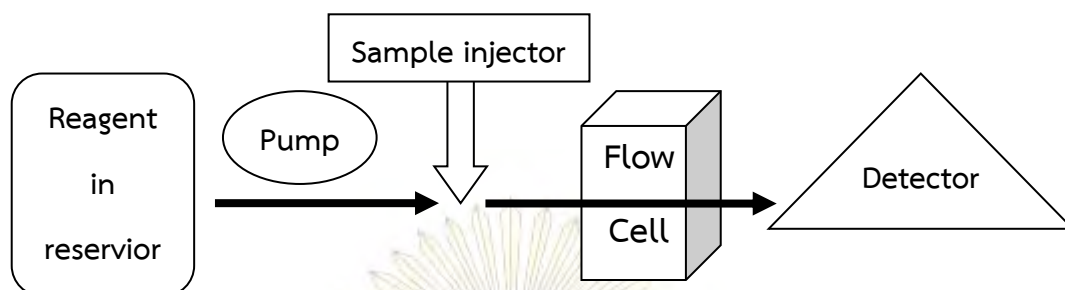
2.5 การวิเคราะห์ไอออนโลหะโดยเทคนิคฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิส (FIA) และปัจจัยที่ศึกษา^[25]

การวิเคราะห์โดยวิธีฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิส จัดเป็นการวิเคราะห์ทางเคมีแบบต่อเนื่อง มีหลักการคือ ฉีดสารละลายตัวอย่างปริมาณน้อยๆ (carrier) เข้าไปในระบบที่ไหลด้วยอัตราการไหลคงที่อย่างต่อเนื่องภายในท่อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กโดยอาศัยปั๊มเป็นตัวพา จากนั้นสารตัวอย่างจะเข้าผสมกับสารที่เข้าทำปฏิกิริยา (reagent) ภายใน mixing coil แล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและหรือทางเคมีขึ้น ซึ่งสามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้ด้วยเครื่องตรวจวัด (detector) ซึ่งมีหลักการที่แตกต่างกันตามชนิดของเครื่องตรวจวัด เช่น วัดการดูดกลืนแสง วัดศักย์ไฟฟ้า วัด pH เป็นต้น และบันทึกสัญญาณที่ได้เป็นพีค การเคลื่อนที่ของสารภายในท่อมี่ลักษณะเป็นแบบ laminar flow ที่จุดกึ่งกลางท่อ สารละลายจะมีความเร็วมากที่สุดและจะค่อยๆ มีความเร็วลดลงจนถึงบริเวณผนังท่อ ทำให้บริเวณรอยต่อของสารละลายแต่ละช่วงมีลักษณะโค้ง ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 แสดงการเคลื่อนที่ของสารแบบ laminar flow ในระบบฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิส

โดยส่วนประกอบที่สำคัญของระบบโพลวอินเจ็กชันอะนาไลซิส มีดังนี้



รูปที่ 2.8 แสดงส่วนประกอบของระบบโพลวอินเจ็กชันอะนาไลซิส

1. **ภาชนะบรรจุสารเคมี (reservoir)** เป็นภาชนะที่ใช้บรรจุรีเอเจนต์ หรือตัวทำละลาย อาจทำด้วยแก้วหรือพลาสติกก็ได้ แต่ระบบที่สร้างขึ้นมามีภาชนะบรรจุสารเคมี 1 ใบ หรือมากกว่า 1 ใบก็ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยากับสารเคมีที่บรรจุ และไม่ทำให้สมบัติของสารเคมีที่บรรจุมีการเปลี่ยนแปลงไป

2. **ปั๊ม (pump)** เป็นอุปกรณ์ที่ทำให้เกิดการไหลของสารเคมี หรือกระแสตัวพา (carrier) ไปยังส่วนต่างๆ ของระบบ ปั๊มที่ดีควรจะต้องไม่ทำให้เกิดพัลส์ (pulse free) สามารถควบคุมอัตราการไหลของสารเคมีได้อย่างแม่นยำ ซึ่งอัตราการไหลของสารจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับการตั้งค่าให้เหมาะสมในการวิเคราะห์สารตัวอย่างแต่ละชนิด ปัจจุบันนิยมใช้ peristaltic pump โดยมีหลักการทำงาน คือ การบีบท่อสายยางโดยชุดลูกกลิ้งของปั๊ม ทำให้เกิดการไหลของกระแสตัวพา

3. **ระบบการฉีด (injection system)** เป็นส่วนที่ประกอบด้วยทางเปิด เพื่อนำสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานที่มีปริมาตรเท่ากันทุกๆ ครั้ง (ซึ่งอาจถูกควบคุมโดยสายยางที่มีความยาวคงที่และคำนวณปริมาตรไว้แล้ว) ให้ถูกฉีดเข้าสู่กระแสตัวพาที่กำลังไหลอย่างต่อเนื่อง โดยไม่รบกวนการไหลของกระแสตัวพา ระบบการฉีดที่ดีควรจะทำให้ง่ายและรวดเร็ว เพื่อให้ได้อัตราเร็วในการฉีดสารตัวอย่างสูง อุปกรณ์ที่ใช้ในระบบการฉีดของเทคนิคนี้ เช่น เข็มฉีดยา (syringe) เข็มไฮโปเดอริค (hypodermic needle) โดยใช้ระบบการฉีดแบบโรตารีวาล์ว (rotary valve) และใช้ระบบ auto sample เป็นต้น ซึ่งแต่ละแบบมีประสิทธิภาพในการทำงานไม่เหมือนกัน

4. **transport system** เป็นส่วนที่สารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่างทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดปฏิกิริยา และการแพร่กระจายของ sample zone ซึ่ง transport system โดยทั่วไปจะเป็นท่อพลาสติก (plastic tubing) หรือเทฟลอน (Teflon) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็ก

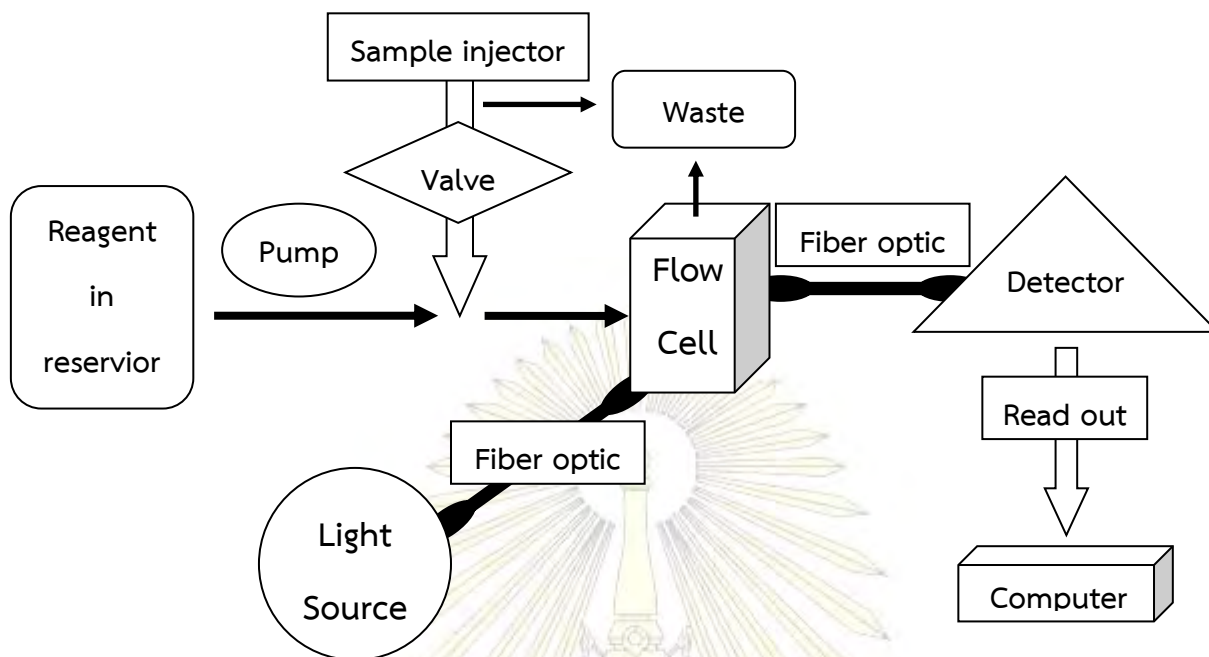
5. **โฟลวเซลล์ (flow cell)** เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่คล้ายเซลล์สำหรับเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ แต่โฟลวเซลล์ในระบบโฟลวอินเจกชันอะนาลิซิสจะมีท่อที่ต่อมาจากระบบท่อเข้าสู่ตัวโฟลวเซลล์ ผ่านไปยังระบบท่อภายในโฟลวเซลล์ โดยจะมีช่องๆ หนึ่งที่สามารถให้แสงผ่านไปยังเครื่องตรวจวัดได้ และจะมีท่ออีกเส้นที่ต่อออกไปยังภาชนะใส่ของเสีย

6. **เครื่องตรวจวัด (detector)** เป็นเครื่องที่ใช้ในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยอาศัยสมบัติหนึ่งของสารละลายตัวอย่างหรือผลผลิตจากปฏิกิริยาที่ไหลอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับเทคนิคในการวิเคราะห์สารแต่ละชนิด

สำหรับระบบโฟลวอินเจกชันอะนาลิซิสที่ใช้ในการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้จะประกอบไปด้วยสองส่วน คือ

1. ส่วนที่เป็นระบบโฟลวอินเจกชัน ซึ่งประกอบไปด้วยสายยางที่จุ่มในภาชนะบรรจุรีเอเจนต์ (reservoir) ที่ต่ออยู่กับปั๊มแบบ peristaltic pump จากนั้นรีเอเจนต์จะไหลไปตามระบบท่อและเมื่อฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ sampling coil พร้อมกับเปิดวาล์ว สารผสมจะไหลเข้าสู่โฟลวเซลล์และไหลออกไปยังภาชนะบรรจุของเสีย

2. ส่วนที่เป็นระบบสเปกโทรโฟโตเมตรี ซึ่งประกอบไปด้วยแหล่งกำเนิดแสงที่ให้แสงในช่วงแสงขาว (visible light) ผ่านไปยังสายสัญญาณที่เป็นไฟเบอร์ออปติก (fiber optic) และผ่านไปยังช่องในโฟลวเซลล์ จากนั้นก็ถูกส่งผ่านสัญญาณไปยังสายสัญญาณไฟเบอร์ออปติกอีกเส้น เข้าสู่เครื่องตรวจวัดที่วัดค่าดูดกลืนแสง จากนั้นผลการตรวจวัดจะแสดงให้เห็นบนหน้าจอคอมพิวเตอร์ โดยเครื่องที่ใช้มีส่วนประกอบดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 แสดงส่วนประกอบของเครื่องฟลาวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรีที่ใช้ในงานวิจัย

สำหรับโลหะที่มักใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลาวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรี จะเป็นประเภทเดียวกับเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี แต่จะมีข้อดีกว่าตรงที่ระบบฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิส ใช้ปริมาณสารน้อยกว่า ซึ่งสามารถเตรียมสารตัวอย่างในปริมาณน้อยๆ ได้และยังทำให้เกิดของเสียปริมาณน้อยกว่าเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีทั่วไป นอกจากนี้เทคนิคฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิสทำงานเป็นระบบกึ่งอัตโนมัติ จึงทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์และการเตรียมตัวอย่างน้อยกว่าเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี และมีการดูแลรักษาเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ง่ายกว่ากว่าเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี

สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิส จะเกี่ยวข้องกับการตั้งค่าและการจัดการกับระบบ ซึ่งได้แก่

1. ความยาวของท่อที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่าง จะส่งผลต่อปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไป และระยะเวลาเมื่อสารผสมผ่านตัวตรวจวัด ซึ่งจะถูกแปรผลออกมาในลักษณะกราฟที่ต่างกัน
2. ความยาวของระบบท่อต่างๆ ที่ใช้ จะส่งผลถึงระยะเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมไปถึงถึงระยะเวลาที่สารจะสามารถผสมกันได้อย่างสมบูรณ์ก่อนที่จะตรวจวัดผ่านเครื่องตรวจวัด นอกจากนี้

หากระบบท่อต่างๆ มีความยาวมากหรือน้อยเกินไปก็อาจส่งผลถึงแรงดันภายในท่อได้ ซึ่งจะทำให้ฟิสิกส์ที่ได้จากการวัดและสัญญาณ (noise) ที่เกิดจากการวัดต่างๆ ไม่คงที่

3. อัตราการไหลของสาร จะส่งผลถึงระยะเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ และระยะเวลาที่สารสามารถผสมกันได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังส่งผลถึงลักษณะฟิสิกส์ที่ได้จากการวิเคราะห์ กล่าวคือ หากใช้อัตราการไหลของสารมาก จะทำให้ฟิสิกส์ที่ได้มียอดแหลมและมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าการใช้ อัตราการไหลของสารต่ำ และยังทำให้เกิดผลของสิ่งรบกวนน้อยกว่า แต่หากใช้อัตราการไหลของสารมากเกินไปก็มีข้อเสียเนื่องจากจะทำให้เปลืองสารทำให้เกิดของเสียมากขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ระบบป้อนเร็วเกินไป

นอกจากนี้อาจมีปัจจัยอื่นๆ ไปที่เกี่ยวข้องอีก เช่น ชนิดของเครื่องตรวจวัดที่ใช้ ชนิดและขนาดของท่อที่ใช้ ชนิดของโพลีเมอร์ที่ใช้ ปัจจัยทางสเปกโทรโฟโตเมตรีต่างๆ อุณหภูมิ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการทดลองทั้งสิ้น

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์, UV-visible spectrophotometer (HP 8453)
2. เครื่องมือในระบบโฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
 - 2.1 ปั๊ม, peristaltic pump (Masterflex L/S)
 - 2.2 แหล่งกำเนิดแสง, light source (Avantes AvaLight-Hal)
 - 2.3 ตัวตรวจวัด, detector (Avantes Avaspec-2048)
 - 2.4 โฟลวเซลล์, flow cell (starna)
 - 2.5 สายไฟเบอร์ออปติก, fiber optic wire (Avantes FC-UV200-1-ME-SR)
 - 2.6 วาล์ว, injection valve (V-451)
 - 2.7 เครื่องคอมพิวเตอร์
3. เครื่องซั่งอิเล็กทรอนิกส์ชนิดงานเดี่ยวความละเอียด 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234)
4. เครื่องวัดพีเอช, pH meter (Mettler Toledo รุ่น Seven Compact)
5. เครื่องกวนแม่เหล็ก, Stirrer (GEM รุ่น MS101)
6. ไมโครปิเปตขนาด 1-10 μ L, 10-100 μ L, 100-1000 μ L และ 0.5-5 mL (BRAND)

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ปีกเกอร์ ขนาด 10, 25, 50 และ 100 mL
2. แท่งแก้วคน

3. แม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar)
4. ซ้อนตักสาร
5. กระจกใส่น้ำกลั่น
6. กรวยแก้ว
7. กระจกตวงขนาด 10 mL
8. ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 5, 10, 25, 50, 100, 250 mL
9. หลอดหยดพลาสติก ขนาด 3 mL
10. หลอดทดลองขนาด 10 mL
11. ขวดแก้วบรรจุสารขนาดเล็ก, vial ขนาด 4, 6, 8 dram
12. ถาดหลุมสีขาว
13. เข็มฉีดยา, Syringe

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น, HCl 37% (Merck)
2. กรดคาร์มินิก, $C_{12}H_{20}O_{13}$ (Sigma-Aldrich)
3. โซเดียมแอซิเตด, $NaCH_3COOH$ (Merck)
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์, NaOH (Merck)
5. แอมโมเนียเข้มข้น, NH_3 35% (Merck)
6. สารละลายมาตรฐาน Fe(III) ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
7. สารละลายมาตรฐาน Cd(II) ความเข้มข้น 1000 ppm (Fluka)
8. สารละลายมาตรฐาน Ag(I) ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
9. สารละลายมาตรฐาน Cr(VI) ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
10. สารละลายมาตรฐาน Mn(II) ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
11. สารละลายมาตรฐาน Zn(II) ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
12. สารละลายมาตรฐาน Pb(II) ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)

13. สารละลายมาตรฐาน As(V) ความเข้มข้น 1000 ppm (Fluka)
14. สารละลายมาตรฐาน Cu(II) ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
15. สารละลายมาตรฐาน Ni(II) ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
16. สารละลายมาตรฐาน Na ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
17. สารละลายมาตรฐาน K ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
18. สารละลายมาตรฐาน Mg ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
19. สารละลายมาตรฐาน Ca ความเข้มข้น 1000 ppm (Merck)
20. สารละลายมาตรฐาน Al ความเข้มข้น 1000 ppm (Fluka)
21. สารละลายมาตรฐาน Se(IV) ความเข้มข้น 1000 ppm (Fluka)
22. สารละลายมาตรฐาน P(V) ความเข้มข้น 1000 ppm (Fluka)
23. Hydrogen peroxide solution, H₂O₂ (Sigma-Aldrich)
24. น้ำปราศจากไอออน, DI water

3.4 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M
เตรียมจากกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37% ปริมาตรประมาณ 0.2 mL เติมน้ำในบีกเกอร์ที่มี
น้ำปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางจนมีปริมาตร 25 mL
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M
ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์หนัก 0.1 g ในบีกเกอร์ เติมน้ำปริมาตร 10 mL คนสารละลาย
จนของแข็งละลายหมด จากนั้นเจือจางจนมีปริมาตร 25 mL
3. สารละลายโซเดียมแอสซิเตดความเข้มข้นประมาณ 0.1 M
ชั่งโซเดียมแอสซิเตดหนัก 0.4 g ในบีกเกอร์ เติมน้ำปริมาตร 25 mL คนสารละลายจนของแข็ง
ละลายหมด จากนั้นเจือจางจนมีปริมาตร 50 mL

4. สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้นประมาณ 0.1 M
เตรียมจากสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 35% ปริมาตรประมาณ 0.3 mL เติมลงใน
ปิកเกอร์ที่มีน้ำปริมาตร 25 mL จากนั้นเจือจางจนมีปริมาตร 50 mL
5. สารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 2.000 mM
ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) เข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 5.560 mL ลงใน
ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100.00 mL เติมน้ำปริมาตร 50 mL เขย่าจนเป็นสารละลาย
เนื้อเดียวกัน จากนั้นปรับปริมาตรจนถึงขีดกำหนดปริมาตร
6. สารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.000 mM
ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) เข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 1.390 mL ลงใน
ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL เติมน้ำปริมาตร 25 mL เขย่าจนเป็นสารละลาย
เนื้อเดียวกัน จากนั้นปรับปริมาตรจนถึงขีดกำหนดปริมาตร
7. สารละลายมาตรฐานกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 10.00 mM
ชั่งกรดคาร์มินิกหนัก 246.2 mg ในปิกเกอร์ เติมน้ำปริมาตร 25 mL คนสารละลายจน
ของแข็งละลายหมด เทสารละลายที่ได้ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL จากนั้น
ปรับปริมาตรจนถึงขีดกำหนดปริมาตร
8. สารละลายมาตรฐานกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 2.00 mM
ชั่งกรดคาร์มินิกหนัก 49.2 mg ในปิกเกอร์ เติมน้ำปริมาตร 25 mL คนสารละลาย
จนของแข็งละลายหมด เทสารละลายที่ได้ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL จากนั้น
ปรับปริมาตรจนถึงขีดกำหนดปริมาตร
9. สารละลายมาตรฐานกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.00 mM
ชั่งกรดคาร์มินิกหนัก 24.6 mg ในปิกเกอร์ เติมน้ำปริมาตร 25 mL คนสารละลาย
จนของแข็งละลายหมด เทสารละลายที่ได้ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL จากนั้น
ปรับปริมาตรจนถึงขีดกำหนดปริมาตร

10. สารละลายบัฟเฟอร์ pH ช่วงกรด

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ โดยตวงสารละลายโซเดียมแอสิตัดความเข้มข้นประมาณ 0.1 M ปริมาตร 50 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ และปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ

11. สารละลายบัฟเฟอร์ pH ช่วงเบส

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ โดยตวงสารละลายแอมโมเนียความเข้มข้นประมาณ 0.1 M ปริมาตร 50 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ และปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

วิธีการทดลอง ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองแบ่งออกได้เป็น ขั้นตอนหลักคือ

1. ขั้นตอนทดสอบเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคมินิสเกลในการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างไอออนโลหะชนิดต่างๆ กับกรดคาร์มินิกในสารละลายที่มี pH ต่างๆ
2. ขั้นตอนตรวจวัดสเปกตรัมดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล ของกรดคาร์มินิกและสารเชิงซ้อนกับไอออนเหล็ก(III) ในสารละลายที่มี pH ต่างๆ เพื่อหาค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดสารเชิงซ้อนและความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัด
3. การศึกษาอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดย Job' method และ mole ratio method
4. การศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry
5. การศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคโฟลวอินเจ็กชันอะนาไลซิส

4.1 ขั้นตอนทดสอบเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคมินิสเกลในการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างไอออนโลหะชนิดต่างๆ กับกรดคาร์มินิกในสารละลายที่มี pH ต่างๆ

กรดคาร์มินิกละลายน้ำได้ดี และได้สารละลายสีแดงเข้ม จากข้อมูลเบื้องต้น^[10] พบว่ามีค่าความยาวคลื่นสูงสุด ในช่วงยูวี-วิสิเบิลเป็น 222, 279, 316, 468, 493 และ 531 nm ตามลำดับ สามารถเกิดสารเชิงซ้อนกับไอออนโลหะได้หลายชนิด เช่น อะลูมิเนียม(III) เหล็ก(III) โมลิบดีนัม(VI)

วานเนเดียม(IV) แกลเลียม(III) คอปเปอร์(II) นิกเกิล(II) สังกะสี(II) ดีบุก(II) ยูเรเนียม(VI) และ ทอเรียม(IV) เป็นต้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานใดที่กล่าวถึงการแปลงเปลี่ยนสีเมื่อเกิดสารเชิงซ้อน ในการทดลองนี้จึงได้ทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของกรดคาร์มินิกเมื่อมีการเติมไอออนโลหะ บางชนิดลงไป ไอออนโลหะที่เลือกใช้คือ แคลเซียม(II) เงิน(I) โครเมียม(VI) แมงกานีส(II) สังกะสี(II) ตะกั่ว(II) อาร์เซนิก(V) เหล็ก(III) ทองแดง(II) นิกเกิล(II) โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม อลูมิเนียม เซเลเนียม(IV) ฟอสฟอรัส(V) และตัวออกซิไดส์บางชนิด คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

4.1.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของกรดคาร์มินิกเมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆ

การทดลอง

ปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.00 mM ปริมาตร 1.000 mL ลงในภาดหลุมสีขาวจำนวน 19 ช่อง หลังจากนั้นจึงปิเปตสารละลายมาตรฐานไอออนโลหะชนิดต่างๆ ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 10 μ L ลงในภาดหลุมแต่ละช่อง คนเบาๆ ให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายผสมและบันทึกผลที่ได้จากการทดลอง

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบเบื้องต้นในระดับมินิสเกลดังแสดงในรูปที่ 4.1 พบว่า สารละลายกรดคาร์มินิกที่ไม่มีไอออนอื่นๆ ปน มีสีแดงอมส้ม เมื่อเติมไอออนโลหะลงไปพบว่า มีเพียงไอออนเหล็ก(III) เท่านั้นที่เห็นการเปลี่ยนสีจากสารละลายสีแดงส้มเป็นสารละลายสีม่วง ในขณะที่ไอออนอื่นๆ ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงใดๆ จึงพอสรุปได้ว่ากรดคาร์มินิกน่าจะนำมาใช้เป็นรีเอเจนต์ในการตรวจสอบไอออนเหล็ก(III) ได้โดยการมองเห็นด้วยตาเปล่า (โดยที่ความเข้มข้นของเหล็ก(III) เท่ากับ 10 ppm) ซึ่งเป็นปริมาณที่สามารถจะนำไปวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ได้โดยเทคนิค colorimetry ได้ โดยที่ไอออนโลหะอื่นไม่ว่าจะเกิดปฏิกิริยาหรือไม่เกิดปฏิกิริยาก็จะไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของกรดคาร์มินิก



รูปที่ 4.1 ผลของไอออนชนิดต่างๆ ต่อกรดคาร์มินิก

ทั้งนี้จากผลการวิจัยในอดีตพบว่ายังมีไอออนโลหะหลายชนิดที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับกรดคาร์มินิกได้ เช่น อะลูมิเนียม(III) โมลิบดีนัม(VI) วาเนเดียม(IV) แกลเลียม(III) เป็นต้น แต่ในการทดลองนี้ไม่ได้ควบคุม pH ของสารละลาย จึงทำให้เราไม่สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงของไอออนโลหะเหล่านั้น ซึ่งปัจจัยที่มีผลได้แก่ ค่า pH ที่ไม่เหมาะสม จากงานวิจัยของ Tontrong และคณะในปี 2012^[17] ได้ศึกษาเกี่ยวกับไอออนของอะลูมิเนียม(III) พบว่า pH ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์จะอยู่ที่ประมาณ 4.5 และเมื่อเปลี่ยน pH ไป ค่าดูดกลืนแสงที่ได้ก็จะมีค่าน้อยลง ซึ่งจะทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของสีได้ไม่ชัดเจน นอกจากนี้ยังมีผลงานวิจัยของ Fain และคณะในปี 2007^[10] ศึกษาเกี่ยวกับการเกิดทัวโทเมอร์ (tautomer) ของไอออนโลหะกับกรดคาร์มินิก และวัดค่าความยาวคลื่นในแต่ละแถบการดูดกลืนแสง (absorption band) ได้ค่าต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าความยาวคลื่นที่ได้ในแต่ละแถบการดูดกลืนแสง

Metal	pH	λ_{\max} of absorption band
H	Base	492, 530, 571
Be(II)	4	530
Fe(II)	7.8	492
Fe(III)	7.8	492, 608
Ga(III)	4	570
Cu(I)	7.8	490, 515, 560
Cu(II)	7.8	490, 515, 560
V(IV)	2.5-4.5	570
V(IV)	>4.5	530
U(VI)	5.9-7.5	597
Th(IV)	5.9-7.5	616

จากตารางแสดงให้เห็นว่าถึงแม้ว่าไอออนโลหะบางชนิดจะเกิดปฏิกิริยากับกรดคาร์มินิกได้ดี แต่ก็ไม่สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีได้ชัดเจน เนื่องจากสารเชิงซ้อนที่ได้มีค่าความยาวคลื่นที่ใกล้เคียงกับลิแกนด์ (กรดคาร์มินิก) ทำให้ไม่สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาได้ด้วยการเปลี่ยนแปลงสี และนอกจากนี้ไอออนบางชนิด ไม่ค่อยนิยมใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปจึงไม่สามารถนำมาทดสอบเปรียบเทียบได้ ในการศึกษาต่อไปจึงมุ่งเป้าไปที่การทดสอบสารเชิงซ้อนของเหล็ก(III) เท่านั้น

4.1.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของกรดคาร์มินิกเมื่อเติมไอออนเหล็ก(III) ในสารละลายที่มีช่วง pH ต่างๆ

กรดคาร์มินิกเป็นกรดอ่อนแบบพอลิโปรติก การเปลี่ยนแปลงค่า pH ย่อมส่งผลต่อรูปกรดเบสรวมทั้งมีผลต่อตำแหน่งของการเกิดสารเชิงซ้อนกับไอออนเหล็ก(III) ซึ่งอาจจะมีผลต่อการผิดเพี้ยนไปจากการทดลองในชั้น 4.1.1 จึงต้องศึกษาผลกระทบของไฮโดรเนียมไอออนต่อการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดสารเชิงซ้อน

การทดลอง

ปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3-11 ปริมาตร 0.500 mL ลงในภาตหลุมสีขาวทั้ง 3 แถวโดยเรียงค่า pH ของบัฟเฟอร์จากน้อยไปมาก

แถวที่ 1 และ 3 ปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.00 mM ปริมาตร 0.500 และ 0.250 mL ตามลำดับ แถวที่ 2 และ 3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.000 mM ปริมาตร 0.500 และ 0.250 mL ตามลำดับ สังเกต บันทึก และวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อพิจารณาสีของสารละลายในภาตหลุมแถวแรกซึ่งเป็นกรดคาร์มินิกที่ไม่มีเหล็ก(III) พบว่าในช่วง pH ที่เป็นกรด (pH 3-4) กรดคาร์มินิกมีสีเหลืองส้มและเริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดง ที่ pH 5-10 และเปลี่ยนเป็นสีม่วงที่ pH 11 จึงพอสรุปได้ว่า กรดคาร์มินิกมีสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสที่มีช่วงเปลี่ยนสีสองช่วงคือที่ pH 5 ± 1 (เหลืองส้ม-แดง) และ pH 10 ± 1 (แดง-ม่วง) ในขณะที่สารละลายไอออนเหล็ก(III) เป็นสารละลายไม่มีสีและเมื่อเทียบกับสารละลายในแถวที่ 3 ซึ่งเป็นสารละลายผสมระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนของเหล็ก(III) จะเห็นการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีม่วงทั้งแถว ดังที่แสดงในรูปที่ 4.2

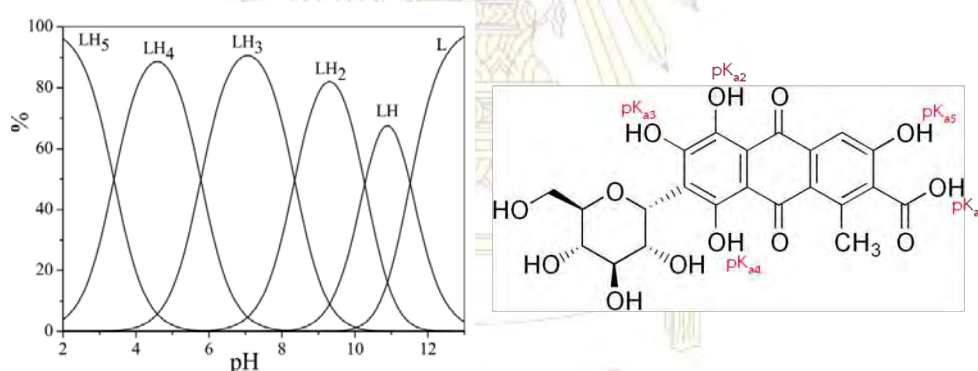


รูปที่ 4.2 แสดงผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาปัจจัยของ pH และอัตราส่วนที่มีผลในการวิเคราะห์ (pH 3-11 ตามลำดับ)

แถวที่ 1 : ผลของค่า pH ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของกรดคาร์มินิก

แถวที่ 2 : ผลของค่า pH ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III)

แถวที่ 3 : ผลของค่า pH ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของสารเชิงซ้อน



รูปที่ 4.3 แสดง mole fraction (%) ของสปีชีส์ต่างๆ ของกรดคาร์มินิกในสารละลายที่มี pH ต่างๆ^[31]

โมเลกุลของกรดคาร์มินิก (LH_5) มีไฮโดรเจนที่สามารถแตกตัวเป็นกรดได้ 5 ตำแหน่ง โดยมีค่า pK_a เท่ากับ 3.39, 5.78, 8.35, 10.27 และ 11.51 และจากรูป 4.3 แสดงว่า LH_5 และ LH_4^- น่าจะเป็นสปีชีส์ที่มีสีเหลือง เพราะสารละลายในช่วง pH 3-4 มีสีเหลือง ในขณะที่ LH_3^{2-} และ LH_2^{3-} น่าจะเป็นสปีชีส์ที่มีสีแดง เนื่องจากสารละลายเริ่มเห็นเป็นสีแดงปนเหลืองตั้งแต่ pH 5 และมีสีแดงไปจนถึง pH 10 และ LH_4^- น่าจะเป็นสปีชีส์ที่มีสีม่วง ในขณะที่ L^{5-} ไม่สามารถระบุให้ชัดเจนได้ว่ามีสีใดเนื่องจาก pH ที่ใช้ในการทดลองยังไม่สูงพอที่จะทำนายสีของสารเชิงซ้อนได้ สารเชิงซ้อนของ

กรดคาร์มินิกและไอออนเหล็ก(III) สามารถมองเห็นได้เป็นสีม่วงเพียงสีเดียว นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่า ไอออนเหล็ก(III) สามารถเกิดปฏิกิริยากับกรดคาร์มินิกได้ไม่ว่าจะเป็น pH เท่าไรก็ตาม แสดงว่า หมู่ต่างๆ ที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาจะต้องมีค่า $K_{\text{formation}}$ ที่สูงมากซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลพบว่าหมู่ของ กรดคาร์มินิกที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับไอออนเหล็ก(III) ได้ คือ หมู่ *o*-hydroxy-salicylic acid ($\log\beta_3 = 36$)^[29] และหมู่ hydroxy anthraquinone ($\log\beta_3 = 32.2$)^[30] และพบว่าที่ pH ต่ำๆ ก็ยังสามารถเกิดสารเชิงซ้อนได้ดี แต่จากการสังเกตพบว่าที่ pH ต่ำๆ (pH 3 และ 4) สีที่สังเกตได้ มีความเข้มข้นน้อยกว่าที่ pH สูงๆ อย่างไรก็ตามสีที่สังเกตได้ก็ยังมีเข้มข้นมากพอที่จะบอกความแตกต่างระหว่างสีของกรดคาร์มินิกและสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น

4.2 ขั้นตรวจวัดสเปกตรัมดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล ของกรดคาร์มินิกและสารเชิงซ้อนกับไอออนเหล็ก(III) ในสารละลายที่มี pH ต่างๆ เพื่อหาค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดสารเชิงซ้อนและความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัด

จากการทดลองที่ 4.1 ซึ่งพอจะเห็นความแตกต่างของสีที่เกิดขึ้น และมีความเข้มของสีที่สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้เทคนิค colorimetry และเพื่อนำข้อมูลทาง absorption spectrum มาใช้วิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นสาร spectrometric reagent และสามารถนำข้อมูลที่ได้มาพิจารณาความแตกต่างโดยละเอียด

4.2.1 ศึกษาปัจจัยของค่า pH ที่มีผลต่อสเปกตรัมของกรดคาร์มินิก

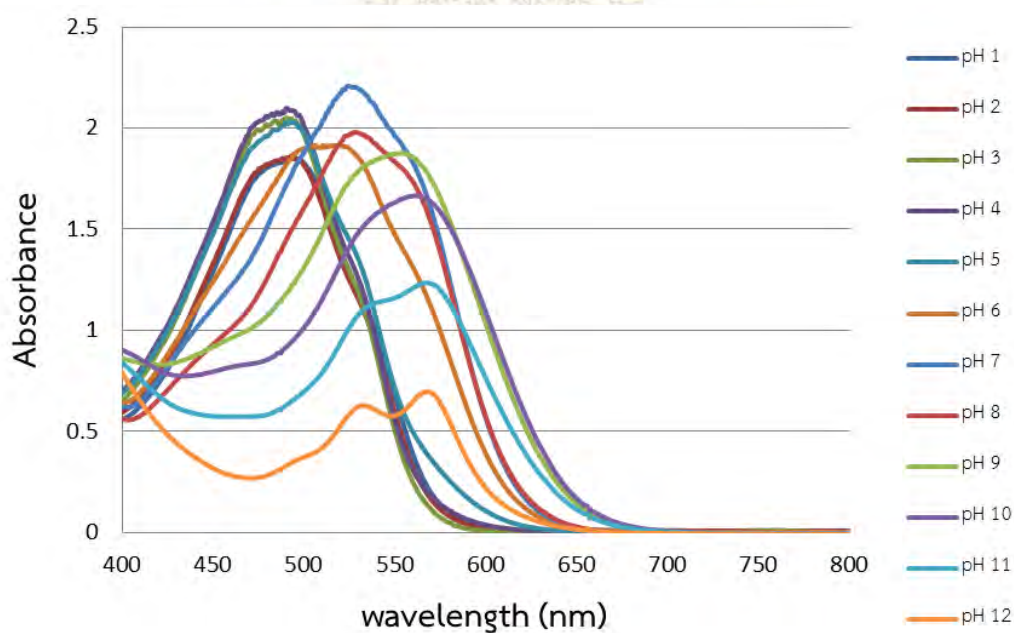
จากการทดลองที่ 4.1 ซึ่งคาดว่า LH_5 และ LH_4^- น่าจะเป็นสปีชีส์ที่มีสีเหลืองส้ม ในขณะที่ LH_3^{2-} และ LH_2^{3-} น่าจะเป็นสปีชีส์ที่มีสีแดง และ LH^4- น่าจะเป็นสปีชีส์ที่มีสีม่วง จึงนำมาวัดสเปกตรัมในช่วงวิสิเบิลเพื่อดูความแตกต่างของลักษณะแถบค่าการดูดกลืนแสงและ λ_{max} ของสปีชีส์ต่างๆ เหล่านี้

การทดลอง

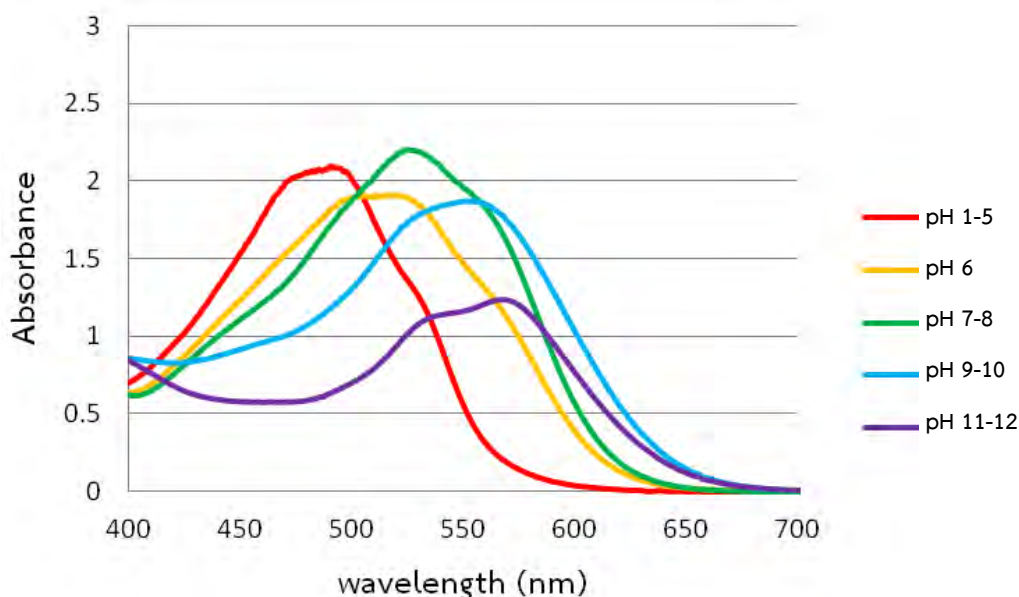
ปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 2.00 mM ปริมาตร 1.500 mL ลงไปในบีกเกอร์ขนาด 10 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1-12 ปริมาตร 5 mL ลงไปในแต่ละบีกเกอร์ จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ ปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 10.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 0.300 mM นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี สังเกตค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ ลักษณะของสเปกตรัมที่ได้เปรียบเทียบกับระหว่าง pH ต่างๆ และอภิปรายผลการทดลอง

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากสเปกตรัมที่เกิดจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดคาร์มินิกในช่วง pH 1-12 ดังรูปที่ 4.4 พบว่าแถบสเปกตรัมที่ได้มีลักษณะแตกต่างกัน 5 แบบคือ pH 1-5, pH 6, pH 7-8, pH 9-10, pH 11-12 ดังรูป 4.5



รูปที่ 4.4 แสดงสเปกตรัมของกรดคาร์มินิกที่ pH ต่างๆ



รูปที่ 4.5 แสดงสเปกตรัมของกรดคาร์มินิกแบบต่างๆ

เนื่องจากกรดคาร์มินิกสามารถเกิด tautomerism ได้หลายแบบ^[23] แต่ละแบบนี้ก็ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ต่างกัน ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงนอกจากนี้ ยังอาจทำให้สารเชิงซ้อนที่ได้มีโครงสร้างแตกต่างกันออกไป

แบบที่ 1 pH 1-5 สารละลายมีสีเหลืองส้ม และมีแถบสเปกตรัมที่มีลักษณะและตำแหน่งของ λ_{max} เหมือนกันที่ 493 nm ซึ่งในสารละลาย pH 1 จะมีเพียง LH_5 เพียงสปีชีส์เดียว ในขณะที่ pH 4-5 จะพบ LH_4^- เป็นส่วนใหญ่ และให้สเปกตรัมที่ไม่แตกต่างกัน

แบบที่ 2 pH 6 สารละลายมีสีส้มแดง และมี λ_{max} ที่ 519 nm แถบสเปกตรัมที่ได้จะเป็นการรวมกันของ LH_4^- และ LH_3^{2-}

แบบที่ 3 pH 7-8 สารละลายมีสีแดงเข้ม มี λ_{max} ที่ 524 nm ในสารละลายจะมี LH_3^{2-} และ LH_2^{3-}

แบบที่ 4 pH 9-10 สารละลายมีสีแดงม่วง มี λ_{max} ที่ 549 nm ในสารละลายจะมี LH_3^{2-} LH_2^{3-} และ LH_4^- แต่ส่วนใหญ่เป็น LH_2^{3-}

แบบที่ 5 pH 11-12 สารละลายมีสีม่วง มี λ_{max} ที่ 533 และ 567 nm ในสารละลายจะมี LH_2^{3-} LH_4^- และ L^{5-} แต่ส่วนใหญ่จะเป็น LH_4^- และ L^{5-}

จากสเปกตรัมในรูป 4.5 และ 4.6 พบว่าเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้สเปกตรัมมีการเคลื่อนไปทางช่วงที่ความยาวคลื่นมากขึ้น และสีของสารละลายจะใกล้เคียงกับสีของสารเชิงซ้อน ดังจะกล่าวในตอนต่อไป

4.2.2 ศึกษาปัจจัยของค่า pH ที่มีผลต่อสเปกตรัมของกรดคาร์มินิกและไอออนของเหล็ก(III)

จากผลการทดลองในตอนต้นที่ 4.1 พบว่าสารละลายผสมระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) เกิดขึ้นเป็นสีม่วงเพียงสีเดียวและในช่วง pH ที่กว้างมากคือระหว่าง 3-11 นำมาวัดสเปกตรัมในช่วงวิสิเบิล เพื่อดูความแตกต่างของลักษณะแถบค่าการดูดกลืนแสงและ λ_{max} ของสารเชิงซ้อน และศึกษาปัจจัยของอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกต่อไอออนเหล็ก(III) ในอัตราส่วนที่คาดว่า จะเกิดขึ้นได้คือ 1:1, 2:1, 3:1 และ 3:2 ว่ามีผลต่อรูปแบบของสเปกตรัมของสารเชิงซ้อนอย่างไร

การทดลอง

ปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 2.00 mM ปริมาตร 5.000 mL ลงไปในบีกเกอร์ขนาด 10 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1-12 ปริมาตร 5 mL ลงไปในแต่ละบีกเกอร์ จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ ปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติสารละลายที่ได้ใส่ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 0.400 mM จากนั้นปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกที่ได้ และสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 2.000 mM ที่เตรียมไว้ใส่ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 5.00 mL โดยใช้อัตราส่วนดังในตารางที่ 4.2 และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี สังเกตค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ ลักษณะของสเปกตรัมที่ได้ เปรียบเทียบกันระหว่าง pH ต่างๆ และอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกและเหล็ก(III) (L:M) ที่ใช้อภิปรายผลการทดลอง

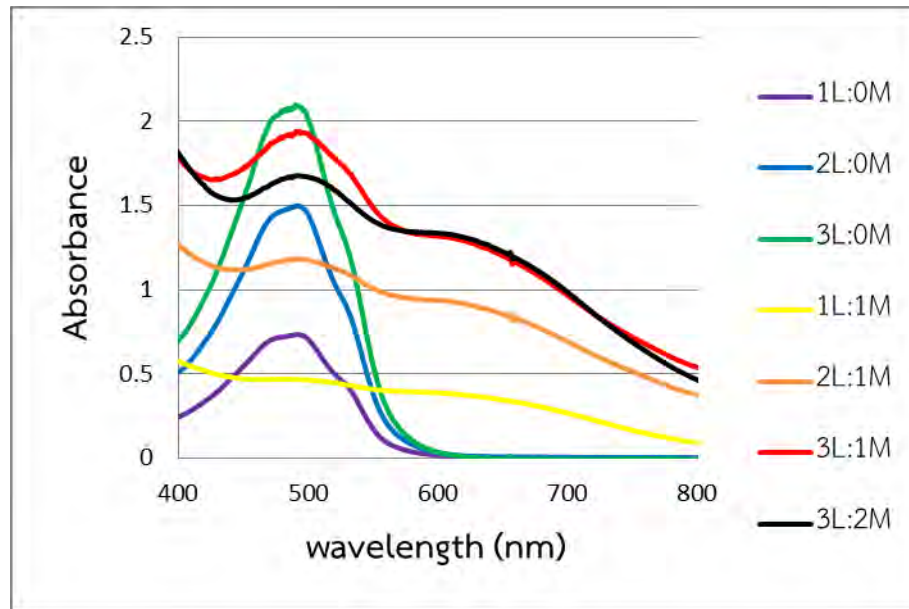
ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณที่เติมลงไป เพื่อเตรียมสารละลายผสมในอัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนโมล ระหว่างกรดคาร์มินิก และเหล็ก(III) (L:M)	ปริมาตรของสารละลาย กรดคาร์มินิก (mL)	ความเข้มข้นของ กรดคาร์มินิก (mM)	ปริมาตรของ สารละลายมาตรฐาน เหล็ก(III) (μ L)	ความเข้มข้นของ ไอออนเหล็ก(III) (mM)
1:0	1.250	0.100	0	0
2:0	2.500	0.200	0	0
3:0	3.750	0.300	0	0
1:1	1.250	0.100	0.250	0.100
2:1	2.500	0.200	0.250	0.100
3:1	3.750	0.300	0.250	0.100
3:2	3.750	0.3000	0.500	0.200

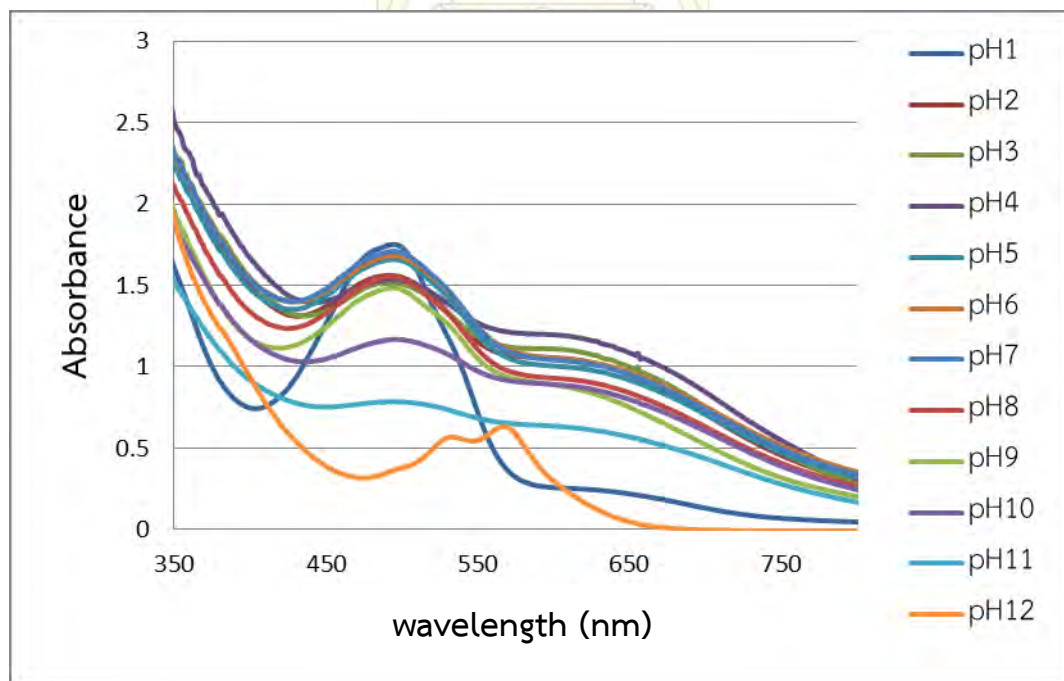
ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองวัดสเปกตรัมของกรดคาร์มินิกที่ไม่มีไอออนเหล็ก(III) ในสารละลายที่มีค่า pH 1 พบว่าไม่มีแถบการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่มากกว่า 600 nm ทั้งสามความเข้มข้น (0.10, 0.20 และ 0.30 mM) และเมื่อเติมไอออนเหล็ก(III) ลงไปในอัตราส่วนต่างๆ คือ 1:1, 2:1, 3:1 และ 3:2 พบว่าสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองส้มเป็นสีม่วง และเกิดแถบการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ต่ำลงที่ความยาวคลื่น 493 nm และเกิดแถบการดูดกลืนแสงใหม่ที่ช่วงความยาวคลื่นมากกว่า 600 nm (λ_{\max} ประมาณ 640 nm) ยืนยันได้ว่าเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างกรดคาร์มินิกและไอออนเหล็ก(III) ขึ้นได้ในช่วง pH 2-11 และสเปกตรัมที่ได้มีลักษณะคล้ายกัน แต่ยังไม่สามารถยืนยันว่าสารเชิงซ้อนนี้เกิดขึ้นเพียงแบบเดียว อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มจำนวนโมลของกรดคาร์มินิก ค่าการดูดกลืนแสงในช่วงที่มากกว่า 600 nm นี้เพิ่มขึ้นเมื่อมีกรดคาร์มินิกที่มากขึ้น แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนระหว่างกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) ไม่ใช่ 1:1 และ 2:1 จึงเป็นไปได้ว่าสาร

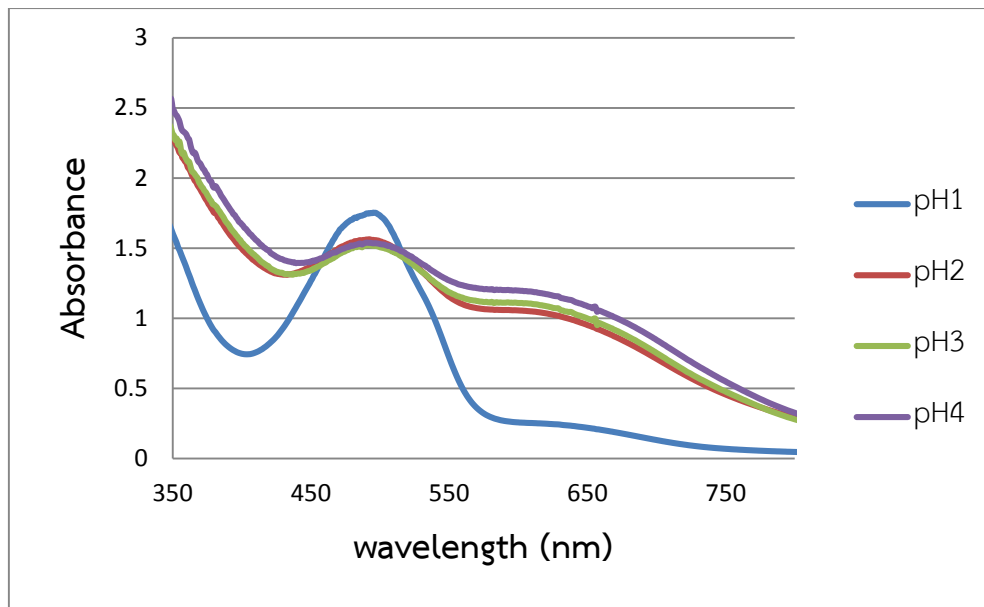
เชิงซ้อนที่เกิดขึ้น มีแนวโน้มที่จะเป็น 3:2 หรือ 3:1 หรือเกิดทั้งสองแบบ ซึ่งแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.6-4.10



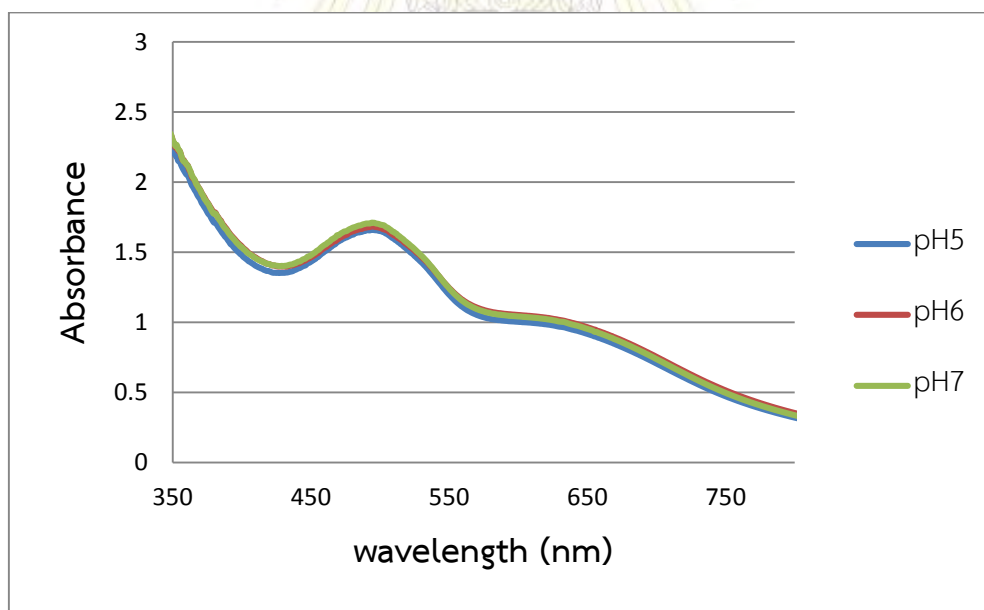
รูปที่ 4.6 แสดงสเปกตรัมของกรดคาร์มินิก ที่ความเข้มข้น 0.10, 0.20, 0.30 mM และสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 1:1 2:1 3:1 และ 3:2 ที่ pH 4



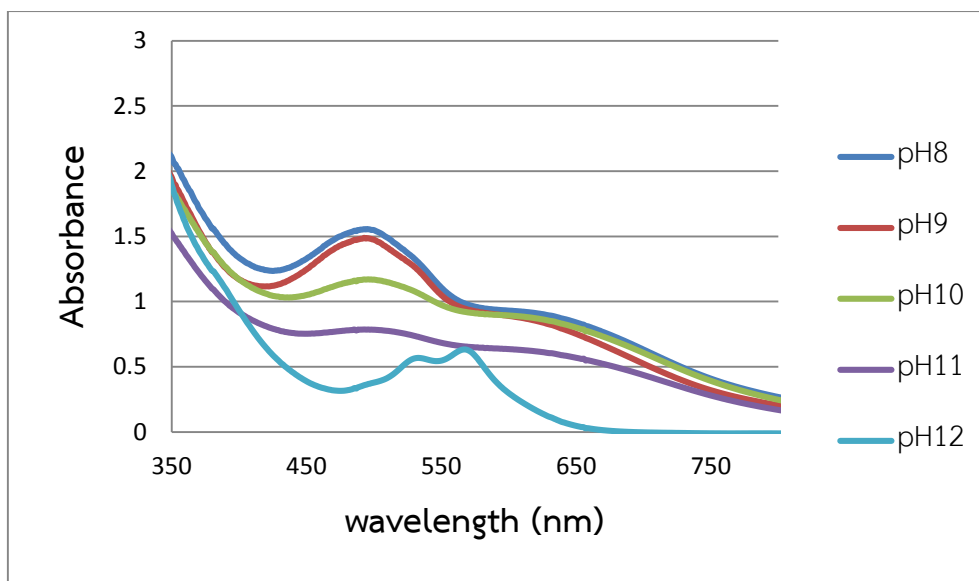
รูปที่ 4.7 แสดงสเปกตรัมของเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 3:2 ที่ pH 1-12



รูปที่ 4.8 แสดงสเปกตรัมของเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 3:2 ที่ pH 1-4



รูปที่ 4.9 แสดงสเปกตรัมของเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 3:2 ที่ pH 5-7



รูปที่ 4.10 แสดงสเปกตรัมของเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยมีอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 3:2 ที่ pH 8-12

จากสเปกตรัมในรูปที่ 4.8 พบว่าสารเชิงซ้อนจะเกิดได้ดีที่ pH มากกว่า 1 ดังจะเห็นว่าแถบดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นมากกว่า 600 nm ปรากฏขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อมี pH ตั้งแต่ 2 ขึ้นไปและมีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อมีค่า pH สูงขึ้น และค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าสูงสุดและคงที่ในช่วง pH เท่ากับ 5-7 แต่เมื่อพิจารณาสเปกตรัมที่ได้จากสารละลายผสม pH มากกว่า 7 พบว่าแถบการดูดกลืนแสงนี้มีค่าการดูดกลืนแสงลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้น และหายไปเมื่อ pH เท่ากับ 12 จากผลการทดลองที่ได้กล่าวมาแล้ว ถึงแม้ว่าสารละลายกรดคาร์มินิกที่ pH 1-4 (สารละลายสีเหลือง-เหลืองส้ม ซึ่งเป็นสปีชีส์ LH_5 และ LH_4) จะมีสเปกตรัมที่แตกต่างจากสเปกตรัมของสารเชิงซ้อนอย่างชัดเจน ($\lambda_{max} = 493$ nm) ที่ครอบคลุมค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนน้อยกว่าที่ pH 5-7 ก็ตาม แต่พบว่าที่ pH 1-4 ยังเกิดสารเชิงซ้อนในปริมาณที่น้อย การตรวจวัดปริมาณสารเชิงซ้อนในช่วง pH 5-7 จึงเหมาะสมกว่า ถึงแม้จะมีผลรบกวนจากกรดคาร์มินิกบ้างก็ตาม นอกจากนี้ถ้า pH มากกว่า 7 การตรวจวัดปริมาณสารเชิงซ้อนจะถูกรบกวนด้วยกรดคาร์มินิกมากกว่า (ซึ่งเป็นสปีชีส์ LH_2^{3-} , LH_4 , L_5^- ที่ $\lambda_{max} = 533, 549$ และ 567 nm) ดังนั้นในการทดลองต่อไป จึงเลือกควบคุม pH ของสารละลาย

ที่เกิดสารเชิงซ้อนให้อยู่ในช่วง 5-7 และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 640-660 nm ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะถูกรบกวนไม่มากนักจากกรดคาร์มินิกที่มากเกินไป

4.3 การศึกษาอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยวิธี Job's method และ mole ratio method

จากการทดลองในขั้น 4.2 พบว่าเอกลักษณ์ของสารเชิงซ้อนมีแถบการดูดกลืนแสงที่ 600 nm ขึ้นไป โดยมี λ_{\max} อยู่ที่ 640 nm โดยที่กรดคาร์มินิกไม่ปรากฏค่าการดูดกลืนใดๆ ที่บริเวณนี้ (blank) โดยมีสมมติฐานว่าสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นน่าจะมีแบบเดียว ซึ่งเกิดได้ดีที่ pH 5-7 อย่างไรก็ตามอัตราส่วนระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) นั้น ซึ่งเดิมคาดว่ามีโอกาสเป็น 3:2 ก็ยังไม่เป็นที่แน่ชัด จึงทำการพิสูจน์ทราบโดยวิธีของ Job และ mole ratio ต่อไปในการละลายที่มี pH 5-7 โดยจะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 nm เพราะเป็นความยาวคลื่นที่ถูกรบกวนด้วยกรดคาร์มินิกน้อยที่สุด โดยยังคงมีค่าความไวในการตรวจวัดไม่ลดลงไปมากนัก

4.3.1 การการศึกษาอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นโดยวิธี Job' method

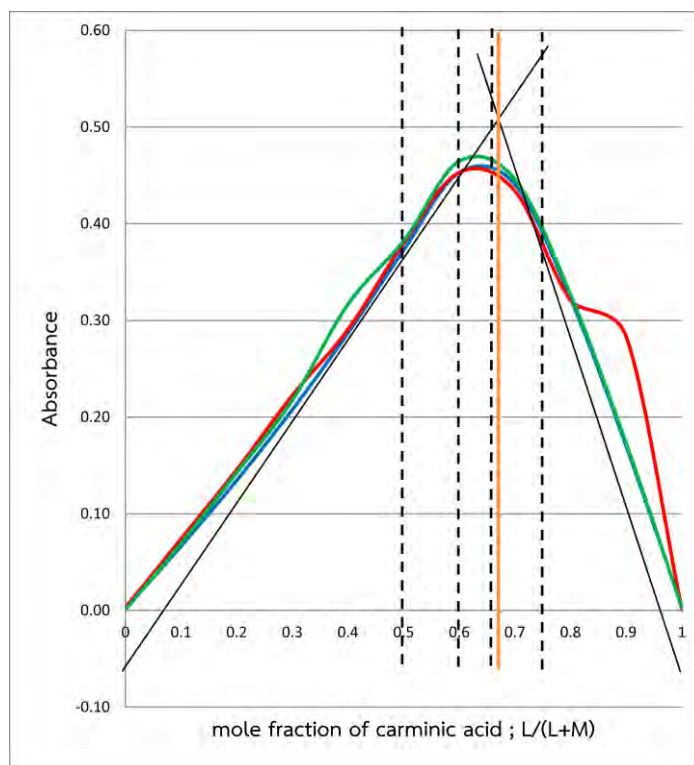
การทดลอง

ปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 10.00 mM ปริมาตร 5.000 mL ลงในปิเปเจอร์ขนาด 50 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5-7 ปริมาตร 25 mL ลงในแต่ละปิเปเจอร์ จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติสารละลายที่ได้ใส่ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 0.1000 mM จากนั้นปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกที่เตรียมไว้ และสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.000 mM ลงในปิเปเจอร์ขนาด 10 mL ให้มีปริมาตรดังตารางที่ 4.3 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เทคนิค

ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตริกที่ความยาวคลื่น 660 nm นำค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟกับ mole fraction ของกรดคาร์มินิก, $L/(L+M)$ เปรียบเทียบกันระหว่าง pH ต่างๆ

ตารางที่ 4.3 ปริมาตรกรดคาร์มินิกและไอออนเหล็ก(III) ที่ใช้ในการเตรียมสารในขั้น job's method

ปริมาตรกรดคาร์มินิก (mL)	ปริมาตรเหล็ก(III) (mL)	mole fraction ของกรดคาร์มินิก, $L/(L+M)$	ปริมาตรกรดคาร์มินิก (mL)	ปริมาตรเหล็ก(III) (mL)	mole fraction ของกรดคาร์มินิก, $L/(L+M)$
0.000	5.000	0.00	3.000	2.000	0.60
0.500	4.500	0.10	3.500	1.500	0.70
1.000	4.000	0.20	4.000	1.000	0.80
1.500	3.500	0.30	4.500	0.500	0.90
2.000	3.000	0.40	5.000	0.000	1.00
2.500	2.500	0.50			



รูปที่ 4.11 ค่าการดูดกลืนแสงและ mole fraction ของไอออนเหล็ก(III) ที่ pH 5 (น้ำเงิน), pH 6 (แดง) และ pH 7 (เขียว)

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนและ mole fraction ของไอออนเหล็ก(III) ที่ pH 5-7

L/(L+M)	Absorbance ที่ $\lambda=660$ nm			L/(L+M)	Absorbance ที่ $\lambda=660$ nm		
	pH5	pH6	pH7		pH5	pH6	pH7
0.00	0.0017	0.0030	0.0008	0.60	0.4530	0.4532	0.4646
0.10	0.0666	0.0741	0.0697	0.70	0.4408	0.4340	0.4459
0.20	0.1347	0.1456	0.1427	0.80	0.3228	0.3209	0.3266
0.30	0.2078	0.2225	0.2176	0.90	0.1698	0.2832	0.1728
0.40	0.2870	0.2907	0.3169	1.00	0.0038	0.0011	0.0032
0.50	0.3728	0.3800	0.3824				

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากรูปที่ 4.11 ซึ่งเป็นกราฟของ Job's method และจากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 nm มีค่าการดูดกลืนสูงสุดที่ mole fraction ของกรดคาร์มินิก $L/(L+M)$ เท่ากับ 0.67 ทั้งสามค่า pH ที่ทำการทดลอง (pH 5-7) เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนโมลของกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) ในสารเชิงซ้อน 1:1, 2:1, 3:1 และ 3:2 ซึ่งมีค่า mole fraction ของกรดคาร์มินิก, $L/(L+M)$ เป็น 0.5, 0.66, 0.75 และ 0.60 ตามลำดับ พบว่าผลการทดลองให้ผลใกล้เคียงกับอัตราส่วนโมลของกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) เป็น 2:1 มากที่สุด อย่างไรก็ตามผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารเชิงซ้อนเกิดขึ้นไม่ตึ้นัก เนื่องจากจุดเปลี่ยนความชันมีลักษณะเป็นเส้นโค้งไม่ใช่อุดแหลม ซึ่งจากการทดลองไม่ได้เก็บข้อมูลละเอียดในช่วงนี้ (ระหว่าง mole fraction ของกรดคาร์มินิก, $L/(L+M)$ ระหว่าง 0.6-0.7) จึงยังไม่สามารถสรุปได้ว่าอัตราส่วนกรดคาร์มินิกต่อไอออนโลหะเป็นเท่าไรระหว่าง 2:1 และ 3:2 นอกจากนี้ผลการทดลองจะเชื่อถือได้ต่อเมื่อสารเชิงซ้อนมีเพียงอัตราส่วนเดียว จึงต้องทำการศึกษาในขั้นตอนถัดไปคือการหาอัตราส่วนกรดคาร์มินิกต่อไอออนโลหะโดยใช้ mole ratio method

4.3.2 การศึกษาอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยวิธี mole ratio method

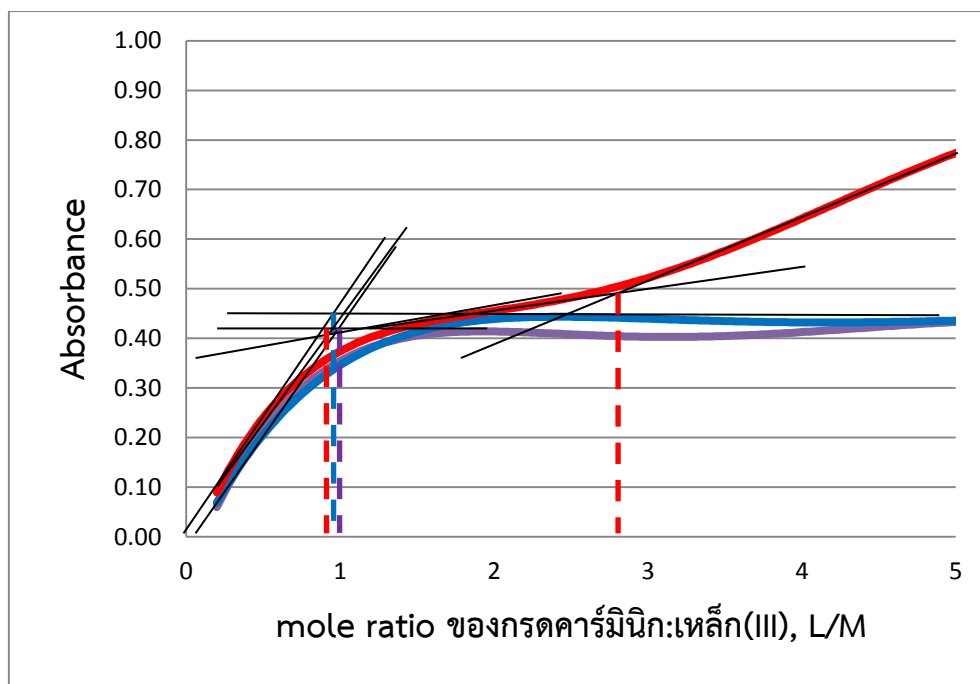
การทดลอง

ปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 10.00 mM ปริมาตร 6.000 mL ลงไปในปิเกตอร์ขนาด 50 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 25 mL จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติสารละลายที่ได้ใส่ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน ทำซ้ำวิธีเดิม จะได้สารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.200 mM เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 6 และ 7 ด้วยวิธีการเดียวกัน จากนั้นปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกที่เตรียมไว้ และสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III)

ความเข้มข้น 1.00 mM ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 5.00 mL ให้มีปริมาตรดังตารางที่ 4.5 ปรับปริมาตรของสารละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรีที่ความยาวคลื่น 660 nm นำค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟกับ mole ratio ของกรดคาร์มินิก, L/M เปรียบเทียบกันระหว่าง pH ต่างๆ

ตารางที่ 4.5 ปริมาตรไอออนเหล็ก(III) และกรดคาร์มินิกที่ใช้ในการเตรียมสารในชั้น mole ratio method

mole ratio ของกรดคาร์มินิก, L/M	ความเข้มข้นของกรดคาร์มินิกที่ใช้ (mM)	ปริมาตรของกรดคาร์มินิก (mL)	ความเข้มข้นของกรดคาร์มินิกในสารละลายผสม (mM)	ความเข้มข้นของเหล็ก(III) ที่ใช้ (mM)	ปริมาตรของเหล็ก(III) (mL)	ความเข้มข้นของเหล็ก(III) ในสารละลายผสม (mM)
0	1.200	0.000	0.000	1.000	0.500	0.100
1	1.200	0.420	0.100	1.000	0.500	0.100
2	1.200	0.840	0.200	1.000	0.500	0.100
3	1.200	1.260	0.300	1.000	0.500	0.100
4	1.200	1.680	0.400	1.000	0.500	0.100
5	1.200	2.100	0.500	1.000	0.500	0.100



รูปที่ 4.12 ค่าการดูดกลืนแสงและ mole ratio ของกรดคาร์มินิก:เหล็ก(III) ที่ pH 5 (ม่วง), pH 6 (น้ำเงิน), pH 7 (แดง)

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากรูปที่ 4.12 ซึ่งเป็นกราฟ mole ratio method ของกรดคาร์มินิก:เหล็ก(III), L/M จากกราฟที่ pH 5 และ 6 จะมีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เป็นเส้นตรงจนถึงจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงน้อย จะเห็นว่าจุดเปลี่ยนโค้งของกราฟอยู่ในช่วงอัตราส่วน 1.0 ซึ่งเป็นกรดคาร์มินิก:เหล็ก(III) 1:1 กราฟที่ได้จาก pH 5 และ 6 นี้ยืนยันได้ว่าเกิดสารเชิงซ้อนขึ้นเพียงอัตราส่วนเดียว แต่เป็นที่สังเกตว่า pH 7 ค่าการดูดกลืนแสงที่จุดเปลี่ยนโค้งของกราฟมีค่าเพิ่มขึ้นได้อีก คาดว่าอาจเกิดสารเชิงซ้อนในอัตราส่วนอื่นได้อีกในภาวะที่มีลิแกนด์มาก โดยสารเชิงซ้อนที่อัตราส่วนอื่นนี้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 nm น้อยลง อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองที่กล่าวมาก็ยังไม่สามารถระบุโครงสร้างสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นได้อย่างแน่ชัดเนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่ผิดแปลกไปจากงานวิจัยที่เคยศึกษามา แต่หากต้องการทราบโครงสร้างของสารเชิงซ้อนนี้คงต้องทำการทดลองเพิ่มโดยทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่นอื่นๆ หรือใช้วิธีการสังเคราะห์ต่อไป

4.4 การศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์

โดยเทคนิค colorimetry

จากผลการทดลองในตอนต้นที่ 4.2 พบว่า ค่า pH ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์คือ pH ที่อยู่ในช่วง 5-7 ซึ่งเป็นช่วง pH ที่เกิดสารเชิงซ้อนได้ดี และจากผลการทดลองในตอนต้นที่ 4.3 พบว่า อัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ที่คาดว่า เป็นคือ 3:2 แต่ก็ไม่อาจสรุปได้ว่าสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจะมีอัตราส่วนนี้จริง เนื่องจากยังไม่มีผลการวิจัยยืนยัน และยังไม่ทราบโครงสร้างที่แท้จริงของสารเชิงซ้อนนี้ ซึ่งการทดลองในตอนต้นที่ 4.3 บอกได้ว่าสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นที่ pH 5 และ 6 น่าจะเกิดในอัตราส่วนเดียว แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry ก็ยังเป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากผลการเปลี่ยนแปลงสีของสารสามารถเห็นได้อย่างชัดเจน และน่าจะสามารถใช้ตรวจหาไอออนเหล็ก(III) ทางปริมาณวิเคราะห์ได้ และได้เลือกใช้ pH ในช่วง 5-7 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm ในการวิเคราะห์เนื่องจากเป็นค่าที่ถูกใช้ และได้ผลการทดลองที่ดีในขั้นต้นก่อนๆ

4.4.1 การหาค่า pH ที่เหมาะสมในการศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry

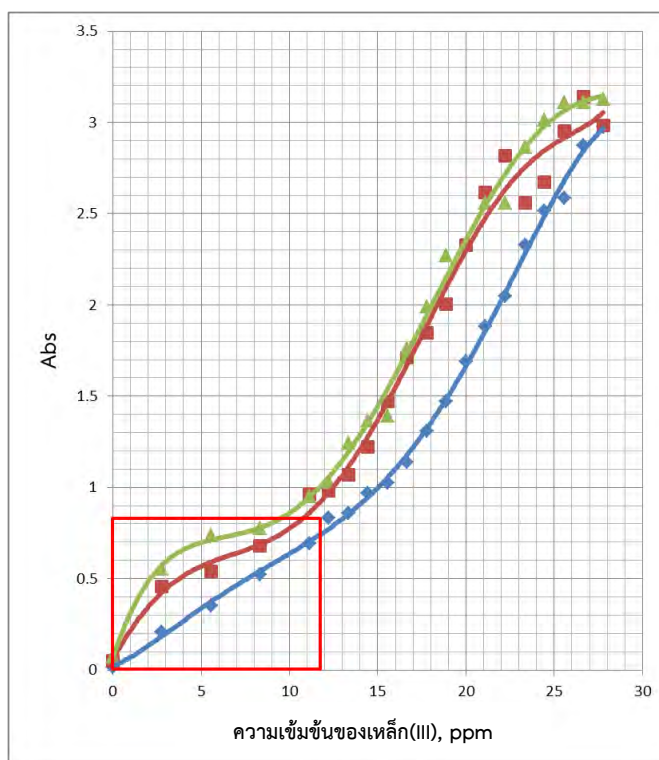
การทดลอง

ปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 10.00 mM ปริมาตร 5.000 mL ลงไปในบีกเกอร์ขนาด 50 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5-7 ปริมาตร 25 mL ลงในบีกเกอร์แต่ละใบ จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติมสารละลายที่ได้ใส่ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.000 mM จากนั้นปิเปตสารละลายกรดคาร์มินิกที่เตรียมไว้ และสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.000 mM ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด

5.00 mL ให้มีปริมาตรดังตารางที่ 4.6 ปรับปริมาตรของสารละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรีที่ความยาวคลื่น 660 nm นำค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟกับความเข้มข้นเหล็ก(III) เปรียบเทียบกันระหว่าง pH ต่างๆ

ตารางที่ 4.6 ปริมาตรไอออนเหล็ก(III) และกรดคาร์มินิกที่ใช้ในการเตรียมสารในค้นหา pH ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

ความเข้มข้น ไอออนเหล็ก (III) (ppm)	ปริมาตรของ กรดคาร์มินิก ที่ใช้ (mL)	ปริมาตรของ ไอออนเหล็ก (III) ที่ใช้ (mL)	ความเข้มข้น ไอออนเหล็ก (III) (ppm)	ปริมาตรของ กรดคาร์มินิก ที่ใช้ (mL)	ปริมาตรของ ไอออนเหล็ก (III) ที่ใช้ (mL)
0.00	2.500	0.000	17.8	2.500	1.600
2.78	2.500	0.250	18.9	2.500	1.700
5.56	2.500	0.500	20.0	2.500	1.800
8.33	2.500	0.750	21.1	2.500	1.900
11.1	2.500	1.000	22.2	2.500	2.000
12.2	2.500	1.100	23.3	2.500	2.100
13.3	2.500	1.200	24.4	2.500	2.200
14.4	2.500	1.300	25.6	2.500	2.300
15.6	2.500	1.400	26.7	2.500	2.400
16.7	2.500	1.500	27.8	2.500	2.500

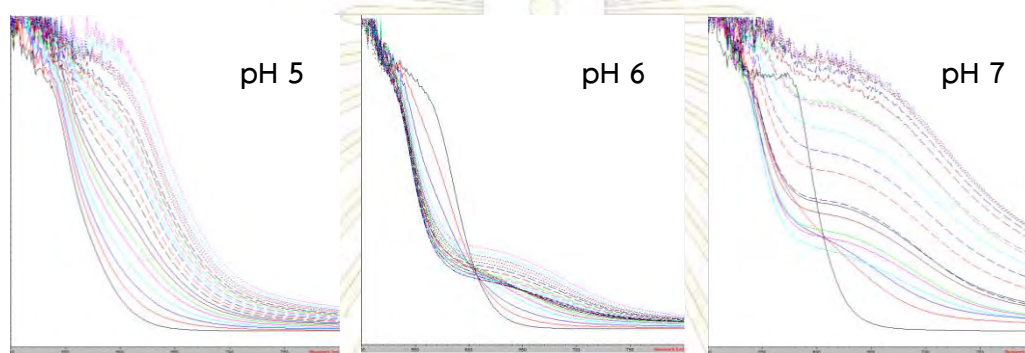


รูปที่ 4.13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 nm และความเข้มข้นของไอออนเหล็ก(III) ที่ใช้เมื่อมีลิแกนด์มากเกินพอ (ใช้กรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.00 mM) ที่ pH 5 (น้ำเงิน), pH 6 (สีแดง), pH 7 (สีเขียว)

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากกราฟในรูปที่ 4.14 แสดงให้เห็นว่ากราฟที่ pH ทั้งสามเป็นเส้นโค้งหมดซึ่งไม่เหมาะสำหรับใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ และไม่ตรงกับสมมติฐานก่อนการทดลอง คือ เกิดสารเชิงซ้อนที่มีอัตราส่วนโลหะต่อลิแกนด์เพียงแบบเดียวโดยกราฟที่ได้ควรจะเป็นเส้นตรง หรือมีช่วงที่เป็นเส้นตรงอย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตามกราฟที่ได้จากสารละลายที่มี pH 5 มีลักษณะที่เป็นเส้นตรงในช่วงต้นๆ ต่างจากที่ pH 6 และ 7 จากการสังเกตข้อมูลดิบ (ในรูปที่ 4.14) ก่อนนำมาพล็อตกราฟพบว่าที่ pH 6 และ 7 เกิดการบวกรวนของค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนที่ความเข้มข้นไอออนเหล็ก(III) ต่ำ จึงทำให้สารเชิงซ้อนเกิดขึ้นไม่มากและมีลิแกนด์เหลือมาก ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จึงมีค่าสูงกว่าที่ pH 5 และกราฟมีลักษณะโค้งขึ้นคาดว่าเป็นผลบวกรวนที่เกิดจากการดูดกลืนแสงของกรดคาร์มินิก เมื่อ pH อยู่ในช่วง 6-7 และพบว่าในช่วง pH ดังกล่าว λ_{\max} เริ่มมีการเคลื่อนไปทางที่มีความยาวคลื่น

มากขึ้น ซึ่งข้อนี้ที่บรรบวณความยาวคลื่นของสารเชิงซ้อนที่ทำการศึกษา นอกจากนี้อาจเกิดการดูดกลืนแสงจากสารเชิงซ้อนในอัตราส่วนลิแกนด์ต่อโลหะในอัตราส่วนอื่น เนื่องจากที่ pH 6 และ 7 ในรูปที่ 4.14 เห็นจุดตัดของสเปกตรัม (isosbestic point) ในขณะที่ pH 5 ไม่เกิดจุดตัดดังกล่าว และมีผลกระทบจากการรบกวนของลิแกนด์ที่น้อยมากๆ จึงเลือกใช้ pH 5 ในการศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ต่อไป และได้ทำการเลือกช่วงที่จะทำการวิเคราะห์ให้ละเอียดขึ้นในช่วงความเข้มข้นไอออนเหล็ก(III) ตั้งแต่ 0-12 ppm (0-0.20 mM) เนื่องจากเป็นช่วงที่เป็นเส้นตรงมากที่สุด



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะของเส้นสเปกตรัมสารเชิงซ้อนที่ได้จากสารละลายความเข้มข้นเหล็ก(III) ต่างๆ ที่ pH 5, 6 และ 7

4.4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิก เป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry

จากผลการทดลองที่ผ่านมาพบว่าที่ pH 5 สารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นระหว่างกรดคาร์มินิกและไอออนเหล็ก(III) เกิดขึ้นในอัตราส่วนลิแกนด์:โลหะเพียงชนิดเดียว และเกิดขึ้นในปริมาณที่มากกว่า pH อื่นๆ นอกจากนี้สเปกตรัมของสารเชิงซ้อนและกรดคาร์มินิกแตกต่างกันอย่างชัดเจนที่ความยาวคลื่น 640-660 nm โดยกรดคาร์มินิกมีการดูดกลืนแสงน้อยกว่าที่ความยาวคลื่นดังกล่าว และจากการทดลองที่ 4.4.1 พบว่ากราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเหล็ก(III) มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 0-12 ppm จึงทำการทดลองหา linear range ในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวอย่างละเอียด เพื่อนำมาเป็นข้อมูลประยุกต์ใช้หาปริมาณเหล็ก(III) ในน้ำโดยเทคนิค colorimetry ทั้งในระบบแบทช์ และระบบฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิส

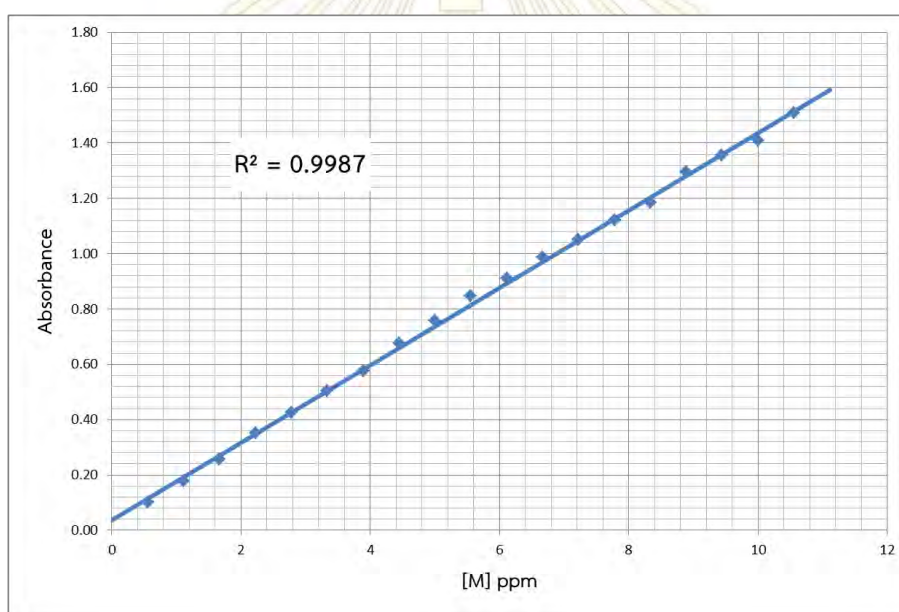
การทดลอง

ปิเปตสารละลายกรดคาร์บอนิกความเข้มข้น 10.00 mM ปริมาตร 10.00 mL ลงไปใน บีกเกอร์ขนาด 100 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 50 mL จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวน สาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติมสารละลายที่ได้ใส่ขวดกำหนด ปริมาตรขนาด 100.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายกรดคาร์บอนิก ความเข้มข้น 1.000 mM จากนั้นปิเปตสารละลายกรดคาร์บอนิกที่เตรียมไว้ และสารละลายมาตรฐาน เหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.000 mM ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 5.00 mL ให้มีปริมาตรดังตาราง ที่ 4.7 ปรับปริมาตรของสารละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการ ดูดกลืนแสงโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรีที่ความยาวคลื่น 660 nm นำค่าการดูดกลืน แสงมาสร้างกราฟกับความเข้มข้นเหล็ก(III)

ตารางที่ 4.7 ปริมาตรไอออนเหล็ก(III) และกรดคาร์บอนิกที่ใช้ในการเตรียมสารในชั้นวิเคราะห์ปริมาณ ไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์บอนิกเป็นรีเอเจนต์

ความเข้มข้น ไอออนเหล็ก (III) (ppm)	ปริมาตรของ กรดคาร์บอนิก ที่ใช้ (mL)	ปริมาตรของ ไอออนเหล็ก (III) ที่ใช้ (mL)	ความเข้มข้น ไอออนเหล็ก (III) (ppm)	ปริมาตรของ กรดคาร์บอนิก ที่ใช้ (mL)	ปริมาตรของ ไอออนเหล็ก (III) ที่ใช้ (mL)
0.00	2.000	0	3.33	2.000	0.240
0.56	2.000	0.040	3.89	2.000	0.280
1.11	2.000	0.080	4.44	2.000	0.320
1.67	2.000	0.120	5.00	2.000	0.360
2.22	2.000	0.160	5.56	2.000	0.400
2.78	2.000	0.200	6.11	2.000	0.440

ความเข้มข้น ไอออนเหล็ก (III) (ppm)	ปริมาตรของ กรดคาร์มินิก ที่ใช้ (mL)	ปริมาตรของ ไอออนเหล็ก (III) ที่ใช้ (mL)	ความเข้มข้น ไอออนเหล็ก (III) (ppm)	ปริมาตรของ กรดคาร์มินิก ที่ใช้ (mL)	ปริมาตรของ ไอออนเหล็ก (III) ที่ใช้ (mL)
6.67	2.000	0.480	9.44	2.000	0.680
7.22	2.000	0.520	10.0	2.000	0.720
7.78	2.000	0.560	10.6	2.000	0.760
8.33	2.000	0.600	11.1	2.000	0.800
8.89	2.000	0.640			



รูปที่ 4.15 แสดงกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.00 mM ในสารละลาย pH 5 เป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry ที่ความยาวคลื่น 660 nm

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากรูปที่ 4.15 จะเห็นว่ากราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนกับปริมาณไอออนเหล็ก(III) ในสารละลายที่มีกรดคาร์มินิกมากเกินไปเป็นลิแกนด์ที่ pH 5 ในช่วง

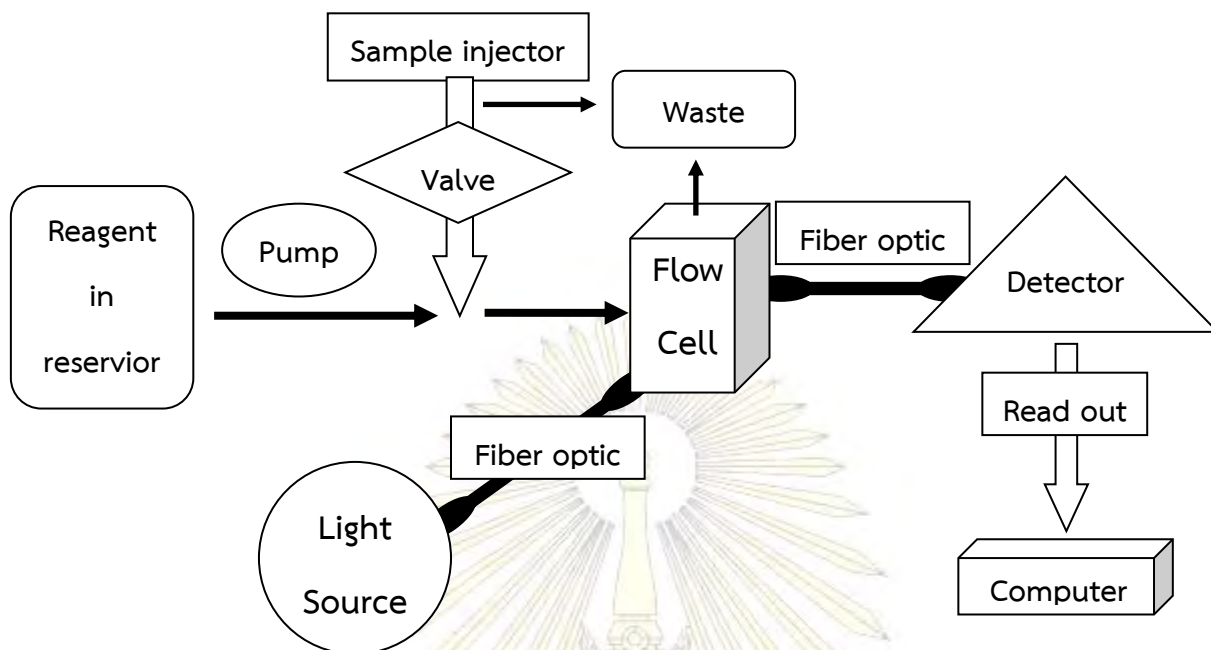
ความเข้มข้น 0-11 ppm มีความเป็นเส้นตรงดี โดยมีค่า linear regression (R^2) เท่ากับ 0.9987 จึงเป็นไปได้ว่าสามารถวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) ได้โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry นอกจากนี้เมื่อดูแนวโน้มของกราฟแล้ว แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นมากกว่า 11 ppm กราฟน่าจะมีความเป็นเส้นตรงต่อไปได้อีก เหมาะที่จะทำการทดลองและศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต ในการศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิสในขั้นตอนต่อไปจะใช้ข้อมูลจากระบบแบทช์คือ ความเข้มข้นของกรดคาร์มินิกเป็น 1.000 mM ในสารละลาย pH 5 และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นในช่วงความยาวคลื่น 640-660 nm

4.5 การศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส

หลังจากศึกษากระบวนการต่างๆ ในการวิเคราะห์ไอออนเหล็ก(III) ตั้งแต่การศึกษาลของไอออนชนิดต่างๆ ที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับกรดคาร์มินิกได้ กระทั่งเลือกไอออนเหล็ก(III) มาใช้ในการศึกษาทางปริมาณวิเคราะห์และผ่านการวิเคราะห์ในวิธีต่างๆ นำมาสู่กระบวนการทางสเปกโทรสโกปี พบว่าสามารถนำมาใช้หาปริมาณไอออนเหล็ก(III) ได้ แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของเวลาที่ต้องใช้เตรียมสารนาน และใช้สารตัวอย่างปริมาณมากกว่า จึงนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ในระบบแบทช์มาใช้ในเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส ซึ่งเป็นระบบที่รวดเร็ว และใช้สารตัวอย่างน้อย

4.5.1 ขั้นศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส

ในขั้นตอนนี้จะศึกษาความเป็นไปได้ และการเซทค่าเครื่องมือต่างๆ ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส โดยข้อมูลต่างๆ ของเครื่องโฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะเป็นดังนี้



รูปที่ 4.17 แสดงส่วนประกอบของเครื่องฟลาวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ใช้

เครื่องฟลาวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ใช้มีส่วนประกอบดังนี้

- ป้อน, peristaltic pump (Masterflex L/S)
- แหล่งกำเนิดแสง, light source (Avantes AvaLight-Hal)
- ตัวตรวจวัด, detector (Avantes Avaspec-2048)
- flow cell (starna) มีค่า $b = 1.0$ cm
- สายไฟเบอร์ออปติก, fiber optic wire (Avantes FC-UV200-1-ME-SR)
- วาล์ว, injection valve (V-451)

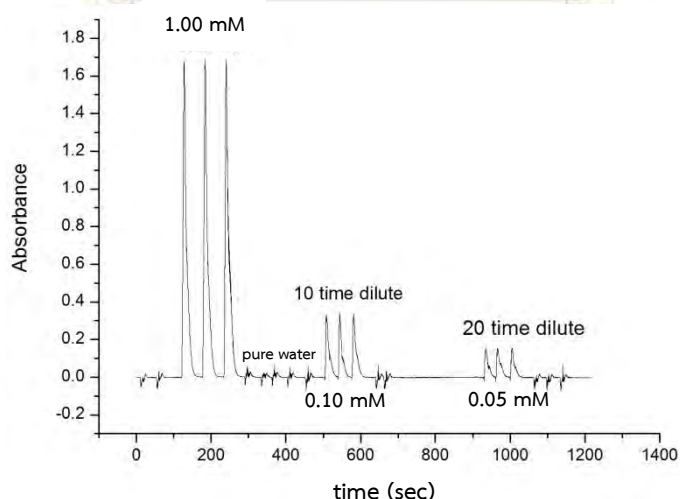
และมีค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ดังนี้

- flow rate = 4 mL/min
- injection volume = 140 μ L
- $\lambda = 650$ nm
- pH = 5

การทดลอง

ปิเปตสารละลายกรดคาร์บอนิกความเข้มข้น 10.00 mM ปริมาตร 10.00 mL ลงไปในบีกเกอร์ขนาด 100 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 200 mL จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติสารละลายที่ได้ใส่ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 250.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายกรดคาร์บอนิกความเข้มข้น 1.000 mM จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน เหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.000 mM และเจือจางสารละลายนี้เป็น 10 เท่า และ 20 เท่าตามลำดับ จากนั้นนำสารที่เตรียมไว้ไปวัดในระบบโฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรีโดยใช้กรดคาร์บอนิกเป็นรีเอเจนต์ และสารละลายมาตรฐาน เหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.000 mM เป็นเสมือนสารตัวอย่าง ฉีดสารละลายมาตรฐาน เหล็ก(III) เข้าไปในระบบ และปรับค่าพารามิเตอร์ต่างๆให้เท่ากับที่แสดงก่อนหน้านี้ สังเกต signal response (absorbance) ที่วัดได้เมื่อเวลาผ่านไป พิจารณาลักษณะของพีค และอภิปรายผลการทดลอง

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง



รูปที่ 4.18 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.00 mM และสารละลายมาตรฐานที่ถูกเจือจางไป 10 เท่า และ 20 เท่าตามลำดับ

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.18 แสดงให้เห็นว่าเกิดพีคเมื่อฉีดสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.00 mM (55.6 ppm) โดยมีสัญญาณค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนสูงถึง 1.8 และยังให้ค่าที่สามารถวิเคราะห์ได้แม้จะถูกเจือจางถึง 20 เท่า (0.050 mM หรือ 2.78 ppm) นอกจากนี้ยังมีผลของน้อยส์ที่เกิดจากการฉีดน้ำบริสุทธิ์น้อยมาก หากพิจารณาพีคที่ได้จะพบว่า พีคที่ได้มีรูปร่างสวยงาม (well defined peak shape) คือ เป็นพีคที่มียอดแหลม มีฐานแคบ และ ยังมี signal respond ที่สูงพอที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงได้

4.5.2 ขั้นศึกษาเพื่อหาค่าอัตราการไหลของสารที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณของ ไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส

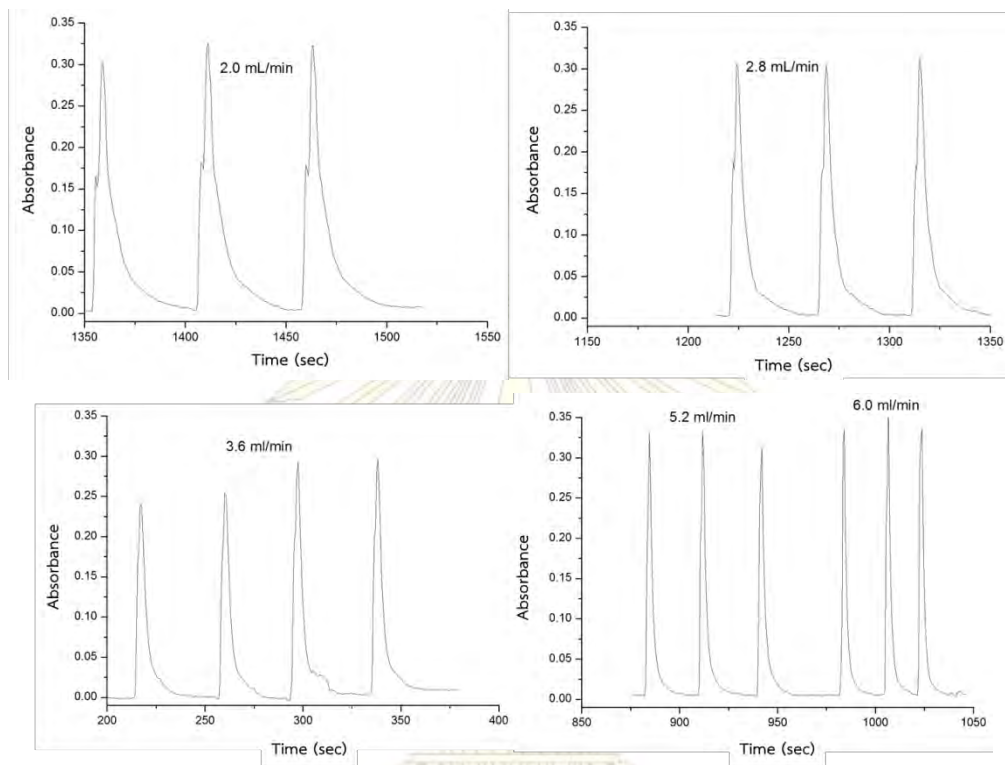
อัตราการไหล (flow rate) เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อขนาดและรูปร่างของสัญญาณที่ตรวจวัดได้ และยังเป็นค่าที่สามารถควบคุมได้ง่ายที่สุด การปรับค่าอัตราการไหลให้เหมาะสม นอกจากจะทำให้ผลการทดลองออกมาดีแล้ว ยังจะทำให้สามารถควบคุมปริมาณรีเอเจนต์เพื่อให้ใช้งานได้อย่างเพียงพอตลอดการทดลองอีกด้วย

การทดลอง

เปิดสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 10.00 mM ปริมาตร 5.000 mL ลงไปในบีกเกอร์ขนาด 50 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 25 mL จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติสารละลายที่ได้ใส่ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.000 mM จากนั้นเจือจางสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.000 mM 10 เท่า ให้เหลือความเข้มข้น 0.1000 mM จากนั้นนำสารที่เตรียมไว้ไปทำการวัดในระบบโฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรี โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยใช้ injection volume = 140 μ L วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 nm และปรับค่าอัตราการไหลของสารให้อยู่ระหว่าง 2.0-6.0

mL/min สังเกต signal response (absorbance) ที่วัดได้เมื่อเวลาผ่านไป พิจารณาลักษณะของพีค และอภิปรายผลการทดลอง

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง



รูปที่ 4.19 แสดงพีคที่ได้จากการปรับค่าอัตราการไหลที่ 2 mL/min, 2.8 mL/min, 3.6 mL/min, 5.2 mL/min และ 6 mL/min

จากรูป 4.19 พบว่าเมื่อปรับค่าอัตราการไหลของสารให้มีอัตราการไหลต่างๆ (2 และ 2.8 mL/min) จะเกิดการสะดุดของพีค เนื่องจากที่อัตราการไหลต่างๆ กรดคาร์บอนิกและไอออนเหล็ก(III) ซึ่งมี refractive index ที่ไม่เท่ากัน ทำให้เกิดสารเชิงซ้อนที่ไม่สมบูรณ์ และเมื่อรอยต่อระหว่างสารทั้งคู่ที่ยังผสมกันไม่สมบูรณ์ผ่านเครื่องตรวจวัดก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณพีคเล็กน้อย ทำให้สัญญาณพีคสะดุด เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารก็จะทำให้ไม่เกิดการสะดุดของสัญญาณพีค และจะได้พีคที่สวยงาม แต่หากเราใช้อัตราการไหลที่สูงเกินไปก็จะทำให้เปลืองสารมาก และยังทำให้ป้อนเร็ว ดังนั้นจึงเลือกค่าอัตราการไหลที่ 4 mL/min เนื่องจากเป็นอัตราการไหลที่มักใช้ในห้องปฏิบัติการและเป็นอัตราเร็วที่พอดีสำหรับการวิเคราะห์

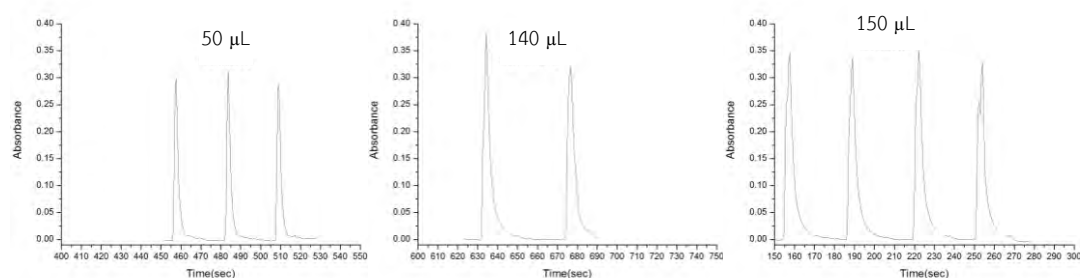
4.5.3 ขั้นศึกษาเพื่อหาค่าปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในการฉีดแต่ละครั้งในการวิเคราะห์ ปริมาณของไอออนเหล็ก(III)โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส

โดยปกติปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในแต่ละครั้งสำหรับเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี จะไม่มีผล ต่อค่าการดูดกลืนแสง เนื่องจากสมการ $A=εbc$ ค่าการดูดกลืนแสงจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร เพียงอย่างเดียว (ในกรณีที่มีค่า molar absorptivity และ optical path length คงที่) แต่อย่างไรก็ตามในระบบโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิสอาจมีผลของ dilution effect ที่เกิดจาก dispersion force ของสารละลายในระบบ จึงทำให้ injection volume อาจส่งผลต่อลักษณะของพีค และค่าการดูดกลืนแสงได้บ้างเล็กน้อย ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาผลกระทบของ injection volume ในการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์

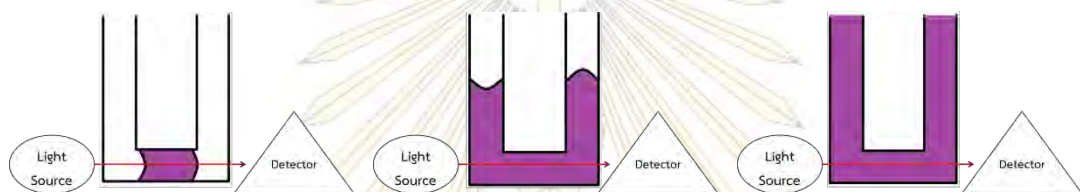
การทดลอง

เปิดสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 10.00 mM ปริมาตร 5.000 mL ลงไปใน ปีกเกอร์ขนาด 50 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 50 mL จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวน สาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติสารละลายที่ได้ใส่ขวด กำหนดปริมาตรขนาด 50.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลาย กรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.000 mM จากนั้นเจือจางสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น 1.0 mM 10 เท่า ให้เหลือความเข้มข้น 0.1000 mM จากนั้นนำสารที่เตรียมไว้ไปทำการวัดในระบบ โฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรี โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ ปรับค่า injection volume ให้ อยู่ระหว่าง 50 μ L, 140 μ L และ 150 μ L โดยใช้ค่า flow rate = 4 mL/min วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 650 nm สังเกต signal response (absorbance) ที่วัดได้เมื่อเวลาผ่านไป พิจารณา ลักษณะของพีค และอภิปรายผลการทดลอง

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง



รูปที่ 4.20 แสดงพีคที่ได้จากการปรับค่า injection volume เป็น 50, 140 และ 150 μL



รูปที่ 4.21 แสดงแผนภาพการตรวจวัดสารเมื่อมี injection volume น้อยเกินไป (ซ้าย) พอดี (กลาง) และมากเกินไป (ขวา)

จากรูป 4.20 จะเห็นได้ว่า injection volume มีผลเพียงเล็กน้อยต่อค่าการดูดกลืนแสง โดย injection volume น้อยกราฟที่ได้จะแหลม แต่จะให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ต่ำกว่า เมื่อเพิ่ม injection volume ทำให้พีคที่ได้มีค่าการดูดกลืนแสงมากขึ้น แต่จะเกิด tailing ทำให้ใช้เวลาวิเคราะห์นานขึ้น ทั้งนี้สามารถอธิบายโดยรูปที่ 4.21 ในระบบโพลวอินเจกชันจะเกิด dilution effect เป็นผลมาจาก dispersion force ที่เกิดขึ้น เมื่อฉีดตัวอย่างเข้าไปน้อย ทำให้ท่อนสารสั้น และเมื่อไอออนเหล็ก(III) ทำปฏิกิริยากับกรดคาร์มินิก เกิด dilution effect ที่บริเวณรอยต่อระหว่างสารทั้งสอง ทำให้บริเวณรอยต่อมีสารเชิงซ้อนที่เจือจางกว่าปกติ เมื่อท่อนสารดังกล่าวผ่าน optical path length ของ โพลวเซลล์ไม่เต็มช่อง จะทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่น้อยกว่าปกติ แต่ถ้าเพิ่ม injection volume ก็จะทำให้ท่อนสารเต็มช่อง optical path length และค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ก็จะปกติ นอกจากนี้ ถ้าหากใช้ injection volume มากเกินไปจะทำให้พีคที่ได้กว้างมาก และอาจทำให้ไม่สามารถแยกพีคได้ สำหรับ injection volume ที่เหมาะสมกับการทดลองควรอยู่ระหว่าง 50 μL กับ 140 μL

เนื่องจาก ที่ 50 μL ท่อสำหรับต่อกับวาล์วจะสั้นเกินไปทำให้ท่ออาจเกิดความเสียหายได้ และที่ 140-150 μL ก็จะมี tailing แต่เนื่องจากการควบคุม injection volume ให้พอดีทำได้ยากเนื่องจากต้องคำนวณปริมาตรที่เหมาะสมและตัดท่อให้พอดี ซึ่งท่อบางชนิดมีราคาแพง วิธีการนี้จึงไม่ค่อยได้รับการนิยม ดังนั้นจึงเลือกใช้ injection volume เท่ากับ 140 μL เนื่องจากเป็นปริมาตรที่เป็นมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ

4.5.4 การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส

หลังจากที่เราได้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เหมาะสมแล้ว จึงทำการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส ซึ่งมีค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมดังนี้

- flow rate = 4 mL/min
- injection volume = 140 μL
- $\lambda = 650 \text{ nm}$
- pH = 5

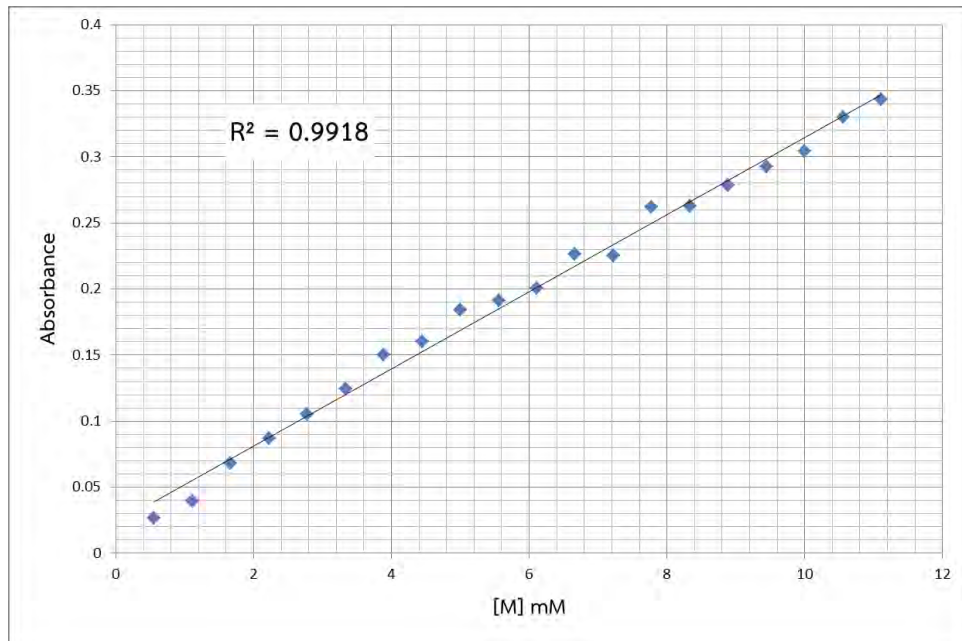
การทดลอง

ปิดเตปเตสารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 10.00 mM ปริมาตร 25.00 mL ลงไปในบีกเกอร์ขนาด 250 mL เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5 ปริมาตร 150 mL จากนั้นใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร นำไปกวนบนเครื่องกวนแม่เหล็กจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัดค่า pH ของสารละลายที่ได้ จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นประมาณ 0.1 M หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นประมาณ 0.1 M จนได้ pH ที่ต้องการ (± 0.1) เติมสารละลายที่ได้ใส่ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 250.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายกรดคาร์มินิกความเข้มข้น 1.000 mM จากนั้นเจือจางสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ความเข้มข้น

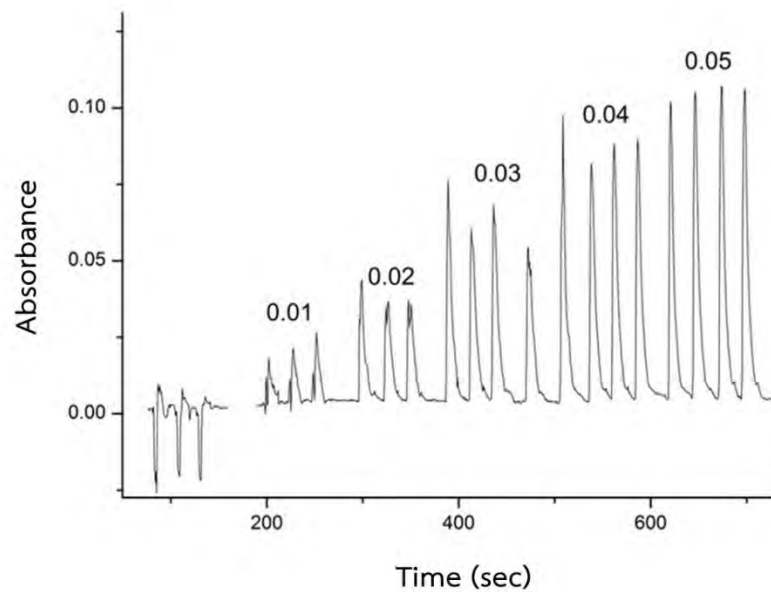
1.000 mM ให้มีความเข้มข้นใหม่ตั้งแต่ 0.0-11.0 ppm จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ไปวัดในระบบโฟลวอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมตรี โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ สังเกต signal response (absorbance) ที่วัดได้เมื่อเวลาผ่านไป พิจารณาลักษณะของพีค สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนและปริมาณไอออนเหล็ก(III) ในสารละลายที่มีกรดคาร์มินิกมากเกินไป อภิปรายผลการทดลอง

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

จะเห็นว่ากราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนกับปริมาณไอออนเหล็ก(III) ในสารละลายที่มีกรดคาร์มินิกมากเกินไปที่ pH = 5 flow rate = 4 mL/min injection volume = 140 μ L และ λ = 650 nm ในช่วงความเข้มข้น 1.67-11.1 ppm มีความเป็นเส้นตรงดี โดยมีค่า linear regression (R^2) เท่ากับ 0.9918 นอกจากนี้เมื่อดูแนวโน้มของกราฟแล้ว แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นมากกว่า 11.1 ppm กราฟน่าจะมีความเป็นเส้นตรงต่อไปได้อีก เหมาะที่จะทำการทดลองและศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต และจากรูปที่ 4.22 สามารถหาขีดจำกัดในการตรวจวัดได้โดยขีดจำกัดในการตรวจวัดควรจะมีค่าการดูดกลืนแสงเป็น 3 เท่าของนอยส์ (น้ำกลั่น) ซึ่งเท่ากับ 0.02 mM หรือประมาณ 1.11 ppm แต่พีคที่จุดดังกล่าวเป็นพีคที่ไม่มีจุดยอดชัดเจน และยังเป็นพีคที่มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยเกินไปจึงไม่เหมาะในการวัด จึงเลือกความเข้มข้นถัดมาคือ 0.03 mM หรือประมาณ 1.67 ppm เป็นขีดจำกัดในการตรวจวัดแทน



รูปที่ 4.22 แสดงกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิก เป็นรีเอเจนต์



รูปที่ 4.23 แสดงพีคที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิก เป็นรีเอเจนต์ โดยมีความเข้มข้นเหล็ก(III) ในช่วง 0.01-0.05 mM

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคโฟลวอินเจกชันอะนาไลซิส โดยในขั้นแรกได้ทำการทดสอบเบื้องต้นโดยใช้เทคนิคมินิสเกลในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอออนโลหะชนิดต่างๆกับกรดคาร์มินิกในสารละลายที่มี pH ต่างๆ พบว่าไอออนเหล็ก(III) เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนกับกรดคาร์มินิก ซึ่งไอออนอื่นๆจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของกรดคาร์มินิก และเมื่อทำการศึกษาที่สภาวะ pH ต่างๆพบว่าสารเชิงซ้อนระหว่างกรดคาร์มินิกและไอออนเหล็ก(III) สามารถเกิดได้ทุก pH นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของ pH ที่ทำให้กรดคาร์มินิกเกิดสปีชีส์ต่างๆและให้สีที่แตกต่างกัน ตรวจวัดสเปกตรัมดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิลของกรดคาร์มินิกและสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนเหล็ก(III) ในสารละลาย pH ต่างๆ เพื่อหาค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนและความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัด โดยพบว่ากรดคาร์มินิกที่ pH 1-5 จะมี λ_{\max} ในช่วงวิสิเบิลอยู่ที่ความยาวคลื่นประมาณ 493 nm โดยที่ pH ตั้งแต่ 6-12 ค่า λ_{\max} จะเลื่อนไปทางช่วงที่มีความยาวคลื่นมากๆ ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของกรดคาร์มินิก และเมื่อเติมไอออนเหล็ก(III) ลงไปในกรดคาร์มินิก จะพบว่า สารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น ปรากฏแถบสเปกตรัมที่มีความยาวคลื่นประมาณ 600 nm ขึ้นไปซึ่งแถบสเปกตรัมนี้จะไม่พบในสารละลายกรดคาร์มินิก แถบสเปกตรัมในช่วงนี้เป็นตัวบ่งบอกถึงการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อน และพบว่าที่ pH 5-7 สารเชิงซ้อนมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดและคงที่ เมื่อศึกษาอัตราส่วนโมลระหว่างกรดคาร์มินิกกับไอออนเหล็ก(III) ของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดย Job' method และ mole ratio method พบว่าอัตราส่วนที่ได้ยังไม่แน่ชัด แต่มีความเป็นไปได้ว่าอัตราส่วนกรดคาร์มินิก:ไอออนเหล็ก(III) จะเป็น 3:2 ในขั้นตอนศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิค colorimetry พบว่าที่ pH 6 และ 7 เกิดการรบกวนค่าการดูดกลืนแสงจากกรดคาร์มินิกที่มากเกินไปและอาจเกิดสารเชิงซ้อนที่มีอัตราส่วนอื่นเกิดร่วมด้วย จึงไม่เหมาะกับการวิเคราะห์ ในขณะที่ pH 5 มีผลรบกวนน้อยมากและน่าจะเกิดสารเชิงซ้อนในอัตราส่วนเดียว และเมื่อเลือก pH 5 ในการสร้างกราฟมาตรฐานปริมาณ

วิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนที่ความยาวคลื่น 660 nm ได้กราฟเส้นตรงที่มีความเป็นเส้นตรง มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9987 ได้ช่วงความเข้มข้นของเหล็ก(III) เป็น 0.5-11 ppm และมีความเป็นไปได้ที่จะใช้กรดคาร์มินิกในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) และในขั้นตอนสุดท้ายคือการการศึกษาปริมาณวิเคราะห์ของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ โดยเทคนิคฟลูออริเมตริกชันอะนาไลซิส พบว่า ได้ well defined peak shape มี signal respond สูง และค่าทางพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดในการวัดคือ pH 5 ที่ความยาวคลื่น 650 nm โดยใช้ flow rate เท่ากับ 4 mL/min และใช้ injection volume เท่ากับ 140 μ L และได้กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนเหล็ก(III) โดยใช้กรดคาร์มินิกเป็นรีเอเจนต์ ได้กราฟเส้นตรงที่มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9918 ในช่วงของการวัดเท่ากับ 1.7-11 ppm ซึ่งจากการทดลองทั้งหมดพบว่า งานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเพื่อศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก(III) ในน้ำทิ้งในระบบฟลูออริเมตริกชันสเปกโทรโฟโตเมตรี และระบบแบทช์



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. http://www.sci.nu.ac.th/chemistry/directionlab/media_doc/256351/256351-lab7.pdf
2. http://www.summacheeva.org/index_thaitox_iron.htm
3. http://journal.msu.ac.th/2012_/index.php/SCI/article/view/217/194
4. Yamane, T.; Yamaguchi, Y. Complex formation of 2-(5nitro-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-Nsulfo-propylamino)phenol with lead, cadmium and manganese for their sensitive spectrophotometric detection in flow injection and ion chromatography systems. *Analytica Chimica Acta*. **1997**, *345*, 139-146
5. พรทิพย์ รักษาสวัสดิ์, จริญญา จักรมณี., “โพลีอินเจคชันอะนาลิซิสสำหรับการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)”
6. <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9927689>
7. <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9923023>
8. <http://datasheets.scbt.com/sc-254352.pdf>
9. <http://datasheets.scbt.com/sc-214669.pdf>
10. Fain, V.Y.; Zaitsev, B.E.; Ryabov, M.A. Tautomerism of Metal Complexes with Carminic Acid. *Russian Journal of Coordination Chemistry*. **2008**, *34*, 310–314
11. El-Moselhy, M.M.; Sengupta, A.K.; Smith, R. Carminic acid modified anion exchanger for the removal and preconcentration of Mo(VI) from wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. **2011**, *185*, 442–446
12. Tütem, E.; Apak, R.; Sözgen, K. The interaction of antitumor-active anthraquinones with biologically important redox couples: I. Spectrophotometric investigation of the interaction of carminic acid and mitoxantrone with the iron(II, III) and copper(I, II) redox couples. *Journal of Inorganic Biochemistry*. **1996**, *61*, 79-96

13. Kirkbright, G.F.; West, T.S.; Woodward, C. Carminic acid as a reagent for the spectrofluorimetric determination of molybdenum and tungsten—II: Determination of molybdenum in mild steel. *Talanta*. **1966**, *13*, 1645–1647
14. Deveoglu, O.; Torgan, E.; Karadag, R. Identification of Dyestuffs in the Natural Pigments Produced with Al³⁺, Fe²⁺ and Sn²⁺ Mordant Metals from Cochineal (*Dactylopius coccus* Costa) and Walloon oak (*Quercus ithaburensis* Decaisne) by HPLC-DAD. *Asian Journal of Chemistry*, **2010**, *22*, 7021-7030
15. Pérez-Ruiz, T.; Martínez-Lozano, C.; Tomás, V.; Paredes, C. Flow-Injection Spectrophotometric Determination of Molybdenum and Vanadium with Carminic Acid in the Presence of Cetyltrimethylammonium Bromide. *Mikrochim Acta*. **1995**, *118*, 203-211
16. Filik, H.; Tiitem, E.; Apak, R.; Ercag, E. Spectrophotometric Determination of Gallium(III) with Carminic Acid and Hexadecylpyridinium Chloride. *Mikrochim Acta*. **1998**, *129*, 57-63
17. Pojanagaroon, T.; Watanesk, S.; Rattanaphani, V.; Liawrungrath, S. Reverse flow injection spectrophotometric determination of iron(III) using norfloxacin. *Talanta*. **2002**, *58*, 1293-1300
18. Ruengsitagoon, W. Reverse flow injection spectrophotometric determination of iron(III) using chlortetracycline reagent. *Talanta*. **2008**, *74*, 1236-1241
19. Tontrong, S.; Khonyoung, S.; Jakmune, J. Flow injection spectrophotometry using natural reagent from *Morinda citrifolia* root for determination of aluminium in tea. *Food Chemistry*. **2012**, *132*, 624–629
20. lms.mju.ac.th/courses/127/locker/บทที่%205.doc
21. Samari, F.; Hemmateenejad, B.; Shamsipur, M. Spectrophotometric determination of carminic acid in human plasma and fruit juices by second

- order calibration of the absorbance spectra–pH data matrices coupled with standard addition method. *Analytica Chimica Acta*. **2010**, *667*, 49–56
22. Lev-Goldman, V.; Mester, B.; Ben-Aroya, N.; Hanoch, T.; Rupp, B.; Stanoeva, T.; Gescheidt, G.; Seger, R.; Koch, Y.; Weiner, L.; Fridkin, M. Conjugates of gonadotropin releasing hormone (GnRH) with carminic acid: Synthesis, generation of reactive oxygen species (ROS) and biological evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2008**, *16*, 6789–6798
23. http://www.sci.nu.ac.th/chemistry/directionlab/media_doc/256351/256351-lab7.pdf
24. <http://glasswarechemical.com/scientific-instrument/%E0%B8%AB%E0%B8%A5%E0%B8%B1%E0%B8%81%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3-uv-vis-spectrophotometer/>
25. www.mwit.ac.th/~itipol/lab/lab9.doc
26. Mercê, A.L.R.; Lombardi, S.C.; Mangrich, A.S.; Levy, N.M.; Szpoganicz, B. Electrochemical and Spectroscopic Studies of The Complexed Species of Models of Nitrohumic Acids derived from Phthalic Acid. *J. Braz. Chem. Soc.* **1998**, *9*, 231-242
27. Das, S.; Saha, A.; Mandal, P.C. Radiosensitization of thymine by Fe(III)-1,2 dihydroxyanthraquinone complex in dilute aqueous solution. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. **1995**, *196*, 57-63
28. Atabey, H.; Sari, H.; Al-Obaidi, F.N. Protonation Equilibria of Carminic Acid and Stability Constants of Its Complexes with Some Divalent Metal Ions in Aqueous Solution. *Journal of Solution Chemistry*. **2012**, *41*, 793-803

ประวัติผู้วิจัย

นาย ธีรวัฒน์ อึ้งสิทธิพูนพร เกิดเมื่อวันที่ 19 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2534 ภูมิลำเนาจังหวัดชัยนาท สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนลาซาลโชติรวินครสวรรค์ และได้เข้าศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษา ในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจากจบการศึกษาระดับปริญญาตรี บ้านเลขที่ 72 หมู่.1 ตำบลหันคา อำเภอยะนาค จังหวัดชัยนาท รหัสไปรษณีย์ 17130 อีเมลล์ te_ang_19@hotmail.com



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย