การวิเคราะห์เบนโซ(เอ)ไพรีน ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนต์

BENZO(A)PYRENE ANALYSIS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH FLUORESCENCE DETECTOR

ชนิสรา ศาสตร์เสริม

ชลลดา ชีพชล

ปิยะนุช เชิดฉาย

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BENZO(A)PYRENE ANALYSIS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH FLUORESCENCE DETECTOR

CHANISARA SARTSERM

CHOLLADA CHEEPCHOL

PIYANOOCH CHERDCHAY

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(ENVIRONMENTAL CHEMISTRY)

DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์เบนโซ(เอ)ไพรีนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนต์ Benzo(a)pyrene Analysis by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detector
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชนิสรา ศาสตร์เสริม รหัสนักศึกษา 58050600 นางสาวชลลดา ชีพชล รหัสนักศึกษา 58050603 นางสาวปิยะนุช เชิดฉาย รหัสนักศึกษา 58050653
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.กรองแก้ว ทิพยศักดิ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง(สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีสิ่งแวดล้อม ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	**ลายมือชื่อ**
ผศ.ดร.ชมพูนุท ไชยรักษ์ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.สุวรรณี จรรยาพูน กรรมการ	
ผศ.กรองแก้ว ทิพยศักดิ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์เบนโซ(เอ)ไพรีนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนต์
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชนิสรา ศาสตร์เสริม รหัสนักศึกษา 58050600
	นางสาวชลลดา ชีพชล รหัสนักศึกษา 58050603
	นางสาวปิยะนุช เชิดฉาย รหัสนักศึกษา 58050653
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา	เคมี
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.กรองแก้ว ทิพยศักดิ์

บทคัดย่อ

เบนโซ(เอ)ไพรีน หรือ B(a)P เป็นสารประกอบในกลุ่มของพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หรือ พีเอเอช (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) สามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติจากกระบวนการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ จัดเป็นสารพิษที่มีความเสี่ยงในการก่อมะเร็ง และก่อให้เกิดการกลายพันธุ์สูง โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ B(a)P ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนต์ (High Performance Liquid Chromatography - Fluorescence Detector, HPLC-FLD) ใช้คอลัมน์ชนิด C18 ขนาดอนุภาค 5 µm เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 mm และความยาว 150 mm โดยใช้อะซิโตไนไทรล์และน้ำความบริสุทธิ์สูงเป็นสารชะ ใช้อัตราการไหล 1 mL/min ตัวตรวจวัดใช้ความยาวคลื่นที่กระตุ้น 264 nm และปล่อยที่ 407 nm โดยทดสอบกับสารมาตรฐานผสม PAHs 24 ชนิด (PAHs-24) และสารมาตรฐาน B(a)P จากผลการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมของ PAHs-24 พบว่าสภาวะที่ดีที่สุด คือ เงื่อนไขที่ 11 ปรับ Mobile phase แบบ Gradient elution สามารถลดเวลาในการวิเคราะห์ และลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ เวลาในการวิเคราะห์ PAHs-24 50 นาที และใช้ตัวทำละลาย (Solvent) น้อยลง พีคของ B(a)P แยกได้ดี และออกที่เวลา 25.554 นาที และกราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับพื้นที่ใต้พีคตลอดช่วงความเข้มข้น 0.001–0.005 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังสมการ $Y = 95884x + 44218$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (R^2) เท่ากับ 0.9973

คำสำคัญ: พอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน, เบนโซ(เอ)ไพรีน, โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง-ตัวตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนต์, สารก่อมะเร็ง, การกลายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Benzo(a)pyrene Analysis by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detector
Students	Miss Chanisara Sartserm Student ID 58050600
	Miss Chollada Cheepchol Student ID 58050603
	Miss Piyanooch Cherdchay Student ID 58050653
Degree	Bachelor of Science (Environmental Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Asst. Prof. Krongkaew Tippayasak

Abstract

Benzo(a)pyrene (BaP) is the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) compound. These occur naturally from the incomplete combustion of organic material. It also classifies as toxic substances that possible to be human carcinogen and high mutation. This project aims to study the optimal conditions of B(a)P by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detector (HPLC–FLD), C18 column: particle size 5 µm, diameter 4.6 mm. and length 150 mm. The mobile phase are acetonitrile and ultrapure water with flow rate 1 mL/min. The excitation wavelength and emission wavelength were 264 and 407 nm, respectively. The mixed PAHs standard solution (PAHs-24) and the B(a)P single standard were analyzed for high separation and high resolution. The condition of PAHs-24, the best separation is condition no. 11 which gradient mobile phase. These reduced the analyzed time and the amount of mobile phase consumption. The PAHs-24 analysis was run within 50 minutes and less solvent. Peak of B(a)P was well separated and the retention time of B(a)P at 25.554 minutes. The calibration curve has a linear relationship between the concentration of standard solutions and the peak area throughout the concentration range 0.001–0.005 µg/mL. As the equation Y = 95884x + 44218 with the correlation coefficient (R^2) is 0.9973.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons, Benzo(a)pyrene, High Performance Liquid Chromatography - Fluorescence Detector (HPLC–FLD), risked of cancer, mutation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องด้วยความร่วมมือและความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ทางคณะผู้ทำโครงงานพิเศษ จึงขอขอบพระคุณทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ดังต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.กรองแก้ว ทิพยศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผู้ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ รวมทั้งความเอาใจใส่อย่างใกล้ชิด และช่วยเหลือตลอดการดำเนินงานของโครงงานพิเศษครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ชมพูนุท ไชยรักษ์ และ รศ.ดร.สุวรรณี จรรยาพูน คณะกรรมการคุมสอบที่ได้ให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์ต่อโครงงานพิเศษนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณประภาส เทียนประทีป ผู้ให้คำปรึกษาด้านเครื่องมือ และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานโครงการพิเศษนี้เป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ คุณกัญญา มงคลโภชน์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือครั้งนี้เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณพิสิฐ วีระพันธ์ จากศูนย์ห้องปฏิบัติการกรมอนามัย ที่ให้ความอนุเคราะห์เอื้อเฟื้อนำสารเคมีมาใช้ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกด้านการใช้เครื่องมือ สารเคมี รวมไปถึงอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ และให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ครอบครัว และเพื่อนๆ ทุกคนที่ให้การสนับสนุนความช่วยเหลือ และให้กำลังใจแก่ผู้จัดทำโครงงานพิเศษเสมอมา

ชนิสรา ศาสตร์เสริม
ชลลดา ชีพชล
ปิยะนุช เชิดฉาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
คำย่อ/สัญลักษณ์	ซ
บทที่ 1 บทนำ	**1**
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**4**
2.1 พอลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน	4
2.1.1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสาร PAHs	5
2.1.2 แหล่งกำเนิดของ PAHs	9
2.1.3 การแพร่กระจาย PAHs สู่สิ่งแวดล้อม	16
2.1.4 การสลายตัวตามธรรมชาติของสาร PAHs ในบรรยากาศ	18
2.1.5 ความเป็นพิษของพีเอเอชต่อสิ่งมีชีวิต	21
2.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่าง ๆ	27
2.3 การเตรียมตัวอย่างโดยใช้เทคนิค	28
2.4 โครมาโตแกรมของเหลวสมรรถนะสูง	32
2.3.1 ชนิดของโครมาโทกราฟีเหลว	33
2.3.2 องค์ประกอบ HPLC	37
2.3.3 การเลือกชนิดของโครมาโทกราฟี	46
2.5 ปัญหาและสาเหตุ	50
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	53
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	**61**
3.1 เครื่องมือ	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 สารเคมีและสารมาตรฐาน 61
3.3 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ทดลอง 63
3.3.1 การทดลองส่วนที่ 1 63
3.3.2 การทดลองส่วนที่ 2 63
3.4 วิธีการทดลอง 63
3.4.1 การทดลองส่วนที่ 1 63
3.4.2 การทดลองส่วนที่ 2 67
3.5 จัดทำสื่อโสตทัศนูปกรณ์ 68

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 69

4.1 การทดลองส่วนที่ 1 69
4.1.1 การปรับสัดส่วน Mobile phase แบบ Isocratic elution 69
4.1.2 การปรับสัดส่วน Mobile phase แบบ Gradient elution 70
4.1.3 การเปรียบเทียบการหาสภาวะของสารมาตรฐาน PAHs 74
4.1.4 การเปรียบเทียบโครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 และ B(a)P 75
4.2 การทดลองส่วนที่ 2 75

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 77

5.1 สรุปผลการทดลอง 77
5.2 ข้อเสนอแนะ 77

เอกสารอ้างอิง 78

ภาคผนวก 88

ภาคผนวก ก 89
ภาคผนวก ข 91
ภาคผนวก ค 93
ภาคผนวก ง 94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ชื่อสารเคมี สูตรโมเลกุล น้ำหนัก และ CAS	5
2.2 โครงสร้างของสารพีเอเอชทั้ง 16 ชนิด	6
2.3 สมบัติทางกายภาพและเคมีของพีเอเอช	7
2.4 แบบสำรวจอาหารปิ้งย่างที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร ที่มีการปนเปื้อนของ B(a)P	9
2.5 ปริมาณสูงสุดของ B(a)p ตามมาตรฐานของสหภาพยุโรป	10
2.6 ปริมาณของพีเอเอชจากแหล่งต่าง ๆ	11
2.7 แหล่งที่มาของสาร PAHs	12
2.8 Solid Phase Extraction (SPE) ชนิดต่าง ๆ	22
2.9 ลักษณะของนอร์มอลเฟสและรีเวิร์สเฟสโครมาโทรกราฟี	27
2.10 คอลัมน์ชนิดต่าง ๆ	29
2.11 คุณสมบัติของวัสดุที่บรรจุลงในคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	31
2.12 การเลือกชนิดของโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	37
2.13 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับโครมาโทกราฟีที่เลือกมากับวัฏภาคไหล	38
2.14 ปัญหาและสาเหตุที่พบบ่อย	40
3.1 เงื่อนไขที่ใช้ในการวิเคราะห์สาร PAHs-24 ด้วยเครื่อง HPLC-FLD	49
4.1 สภาวะและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์	56
ข-1 การเตรียมสารมาตรฐาน PAHs	69
ข-2 การเตรียมสารมาตรฐาน B(a)P	69
ค-1 ความยาวคลื่น (λ) สำหรับ Excitation และ Emission	71
ง-1 พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน B(a)P	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ส่วนประกอบของคอลัมน์	29
2.2 สกาเวนเจอร์คอลัมน์และการ์ดคอลัมน์	30
2.3 เครื่องกำจัดก๊าซอัตโนมัติ	33
3.1 PAH Standard (QUEBEC MINISTRY OF ENVIRON.PAH MIX) 500 µg/mL	47
3.2 Benzo(a)Pyrene 96%	47
3.3 สารมาตรฐาน PAHs 0.001 µg/mL ที่ใช้ในการวิเคราะห์	48
3.4 เครื่อง HPLC-FLD (Shimadzu) ที่ใช้ในการวิเคราะห์	48
3.5 ก-ค สารมาตรฐานสำหรับกราฟมาตรฐาน	51
4.1 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 1	52
4.2 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 2	53
4.3 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 3	53
4.4 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 4	54
4.5 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 5	54
4.6 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 6	54
4.7 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 7	55
4.8 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 8	55
4.9 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 9	55
4.10 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 10	56
4.11 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 11	56
4.12 การเปรียบเทียบโครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24	57
4.13 การเปรียบเทียบโครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 และ B(a)P	58
4.14 กราฟมาตรฐาน B(a)P	58
ง-1 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน B(a)P	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
MP	Mobile Phase, เฟสเคลื่อนที่
PAHs-24	สารมาตรฐาน PAHs ผสม 24 ชนิด
B(a)P	สารมาตรฐาน Benzo(a)Pyrene
ACN	Acetonitrile
λ	ความยาวคลื่น
HPLC-FLD	High Performance Liquid Chromatography - Fluorescence Detector
PAHs	Polycyclic aromatic hydrocarbons
µg/mL	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
ng/mL	นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร
ppm	Parts per million = µg/mL
mL	มิลลิลิตร (milliliter)
µL	ไมโครลิตร (Microliter)
nm	นาโนเมตร (Nanometre)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีเฉพาะอะตอมของไฮโดรเจนและคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงอะโรมาติกตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป จัดเรียงเป็นเส้นตรง เป็นมุม หรือเป็นกลุ่ม การเรียงตัวของวงแหวนที่ต่างกันทำให้สารมีคุณสมบัติ และความเป็นพิษแตกต่างกัน คุณสมบัติโดยทั่วไป PAHs เป็นสารที่มีขั้วต่ำ มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวสูง ความดันไอต่ำ ละลายน้ำได้เล็กน้อย สามารถละลายได้ดีในไขมันหรือตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว มีความไวต่อแสง และทนต่อความร้อน แหล่งที่มาของ PAHs สามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติจากกระบวนการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ของถ่านหิน น้ำมัน และก๊าซ หรือเกิดจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การเผาไหม้เชื้อเพลิงในโรงงานอุตสาหกรรม การเผาไหม้น้ำมันดิบ ท่อไอเสียของเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ หรือเกิดจากกระบวนการปรุงอาหารโดยการปิ้งย่าง การทอด การรมควัน การให้ความร้อนอาหารที่สัมผัสกับเปลวไฟโดยตรง สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นสาเหตุการก่อให้เกิดสาร PAHs ได้ สำนักงานป้องกันสิ่งแวดล้อมสหรัฐอเมริกา (US EPA) ได้กำหนดให้ PAHs 16 ชนิดเป็นสารพิษอันตรายที่ควรให้ความสำคัญ ได้แก่ แนปทาลีน (Naphthalene, Nap) อะซีแนปทิลลีน (Acenaphthylene, Ace) อะซีแนปทีน (Acenaphthene, Acy) ฟลูออรีน (Fluorene, Fo) แอนทราซีน (Anthracene, An) ฟีแนนทรีน (Phenanthrene, Phe) ฟลูออแรนทรีน (Fluoranthene, Fluo) ไพรีน (Pyrene, Pyr) เบนโซเอแอนทราซีน (Benzo[a]anthracene, B[a]A) ไครซีน (Chrysene, Chry) เบนโซบีฟลูออแรนทรีน (Benzo[b]fluoranthene, B[b]F) เบนโซเคฟลูออแรนทรีน (Benzo[k]fluoranthene, B[k]F) เบนโซเอไพรีน (Benzo[a]pyrene, B[a]P) เบนโซจีเอชไอเพอริลีน (Benzo[g,h,i]perylene, B[g,h,i]P) อินดีโน(1,2,3-ซีดี)ไพรีน (Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Ind) และไดเบนโซเอเอชแอนทราซีน (Dibenz[a,h]anthracene, D[a,h]A) โดยทั่วไป PAHs เป็นสารเคมีที่มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่ำในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงจะพบความเป็นพิษเรื้อรัง การได้รับอย่างต่อเนื่องอาจทำให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย จากรายงานการทดลองผลของการได้รับสารในกลุ่มนี้ได้ข้อสรุปว่า PAHs จัดเป็นสารพิษชนิด probable human carcinogen องค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) ได้ระบุให้ B(a)P เป็นสารที่มีความเสี่ยงก่อให้เกิดมะเร็งและมีผลในการก่อกลายพันธุ์สูง

งานวิจัยในครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์ B(a)P ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนต์ High Performance Liquid Chromatography - Fluorescence Detector (HPLC-FLD) หาสภาวะที่เหมาะสมของ B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs ผสม 24 ชนิด (PAHs-24) โดยทำการวิเคราะห์แบบ Isocratic elution กับแบบ Gradient elution

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และได้พัฒนาปรับสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ โดยเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ “โครงการพอลิไซคลิกแอโรแมติกไฮโดรคาร์บอนในก๊าซที่เกิดจากเครื่องยนต์ดีเซลที่ใช้น้ำมันไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิง” ซึ่งงานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อลดเวลาในการวิเคราะห์ ลดค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมี และเป็นการรักษาคุณภาพของสิ่งแวดล้อม

1.2 วัตถุประสงค์

1) เพื่อศึกษาเทคนิคการใช้เครื่อง HPLC และการแก้ไขปัญหาเบื้องต้น
2) เพื่อสามารถใช้งานเครื่อง HPLC ได้อย่างเหมาะสม
3) เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารมาตรฐาน B(a)P
4) เพื่อสามารถวิเคราะห์สารได้อย่างรวดเร็ว และประหยัด Mobile phase

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1) ศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับการใช้งานเครื่อง HPLC และจัดทำสื่อโสตทัศนูปกรณ์
2) ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของสามาตรฐาน B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs-24 ด้วยเครื่อง HPLC-FLD
3) ทำการเปรียบเทียบการปรับสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่แบบ Isocratic elution และ Gradient elution
4) ทำการเปรียบเทียบการหาสภาวะที่เหมาะสมของสารมาตรฐาน B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs-24 กับงานวิจัยต้นแบบ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) เพื่อเป็นประโยชน์ในการศึกษาค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับ B(a)P ต่อไปในอนาคต
2) เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกเครื่องมือและวิธีวิเคราะห์ให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์ B(a)P
3) เพื่อให้เข้าใจการใช้งานเครื่อง HPLC และสามารถปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พอลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon: PAHs)

สารประกอบพอลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนเป็นสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มของไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbons: PAHs) ที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงอะโรมาติกตั้งแต่ 2 วงเชื่อมต่อกัน โดยมีการจัดเรียงเป็นเส้นตรง เป็นมุม หรือเป็นกลุ่ม ซึ่งวงอะโรมาติก 2 วงที่อยู่ติดกันจะมีการใช้คาร์บอน 2 อะตอมร่วมกัน วงอะโรมาติกอาจมีคาร์บอน 5 หรือ 6 อะตอมก็ได้ เกิดเป็นกลุ่มสารเคมีที่มีมากกว่า 100 ชนิด ซึ่งประกอบด้วยสารที่มีสูตรโครงสร้างหลักมีความแตกต่างกัน 35 ชนิด โดยแต่ละสูตรจะมีโครงสร้างหลักประกอบด้วยอนุพันธ์ต่าง ๆ (Derivative) ระดับความเป็นพิษจะรุนแรงขึ้นตามจำนวนวงแหวนที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ เช่น รูปแบบของโครงสร้างทางเคมี แหล่งกำเนิดที่หลักของสาร PAHs มีทั้งเกิดขึ้นตามธรรมชาติ เช่น น้ำมันดิบ ถ่านหิน ไฟไหม้ป่า ควันจากภูเขาไฟ และแหล่งกำเนิดจากมนุษย์ เช่น ไอเสียเกิดจากการสันดาปที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete combustion) ควันจากการจุดธูป กระบวนการแปรรูปอาหารโดยการอบ ปิ้ง ย่าง ที่ไหม้เกรียมทำให้เกิดการปนเปื้อนของ PAHs ในอาหาร ซึ่งสาร PAHs มักพบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ปิ้งย่างโดยเฉพาะเนื้อสัตว์ที่มีส่วนของไขมันหรือมันเปลวติดอยู่ด้วย ชนิดของอาหารที่พบสาร PAHs ปนเปื้อนมาก ได้แก่ หมูย่างติดมัน เนื้อย่างติดมัน ไก่ย่างส่วนที่มีมัน เนื่องจากขณะปิ้งย่าง ไขมันจะหยดลงไปบนเตาไฟแล้วเกิดการเผาไหม้จนได้ควันและเขม่า ซึ่งจะลอยขึ้นมาเกาะติดกับชิ้นของเนื้อสัตว์ โดยทั่วไป PAHs เป็นสารพิษด้านสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็งในสัตว์และมีความเป็นพิษต่อพืช เป็นสารเคมีที่มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่ำ ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงจะพบเป็นพิษเรื้อรัง การได้รับอย่างต่อเนื่องอาจทำให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย ดังนั้นจึงควรได้รับความสนใจและใส่ใจในการป้องกันไม่ให้สาร PAHs เข้ามาสู่สิ่งแวดล้อมเพื่อลดอันตรายที่อาจเกิดขึ้นต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพอนามัย

สาร PAHs ที่มีมวลโมเลกุลสูง มีจุดเดือดสูงและความดันไอต่ำ การย่อยสลายและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีเกิดขึ้นได้ยากกว่าสาร PAHs ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ทำให้สาร PAHs ที่มีมวลโมเลกุลสูงสามารถสะสมตัวอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน (Retnam *et al.*, 2013 ; Zong *et al.*, 2014) สำหรับมนุษย์นั้นสาร PAHs สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายและรวดเร็ว โดยการหายใจ การรับประทานอาหาร และดื่มน้ำที่มีอนุภาค PAHs เจือปน การรับประทานอาหารจากการกระบวนการปรุงแบบปิ้งย่างในปริมาณสูงอาจจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของฮอร์โมนต่าง ๆ ที่มีความสัมพันธ์ต่อระบบต่าง ๆ ภายในร่างกาย เช่น ระบบการเจริญเติบโต ระบบสืบพันธุ์ในการได้รับสาร PAHs โดยการสะสมทีละน้อย จึงทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสาร PAHs

สาร PAHs โดยทั่วไปในอุณหภูมิปกติจะมีลักษณะเป็นของแข็ง มีจุดเดือด และจุดหลอมเหลวสูง ความดันไอต่ำ และละลายน้ำได้น้อย ซึ่งในการละลายน้ำจะขึ้นอยู่กับมวลโมเลกุลของ PAHs (จินตนา, 2541) PAHs สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์และละลายได้ดีในไขมัน มีความเฉื่อยสูงเพราะมีวงเบนซินเกาะกันอยู่ ความสามารถในการละลายน้ำ การระเหยของสาร PAHs จะลดลงตามน้ำหนักโมเลกุลหรือจำนวนวงแหวนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสาร PAHs มีจุดหลอมเหลวระหว่าง 101 - 438 องศาเซลเซียส และจุดเดือด 150 – 325 องศาเซลเซียส สาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular PAHs) คือสารที่มีวงแหวนเบนซีน 2-3 วง จะอยู่ในรูปของก๊าซ (Mustafa *et al.*, 1999) ส่วนสาร PAHs ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงคือมีวงแหวนเบนซีน 12 มากกว่า 4 วง จะอยู่ในรูปของอนุภาค (Kim *et al.*, 2002) ซึ่งสาร PAHs ที่อยู่ในรูปอนุภาคจะมีความสามารถในการเป็นสารก่อมะเร็งได้สูงกว่าสาร PAHs ในรูปของก๊าซ (Oanh *et al.*, 1999) จากการที่สาร PAHs ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมนั้นจึงมีการศึกษากันอย่างละเอียด ส่วนสาร PAHs บางตัวที่ไม่พบบ่อยอาจมีรายละเอียดแสดงอย่างจำกัด

นอกจากนี้ PAHs ในสิ่งแวดล้อมสามารถยึดเกาะกับอนุภาคฮิวมิค (humic) ในดินหรือสะสมในสิ่งมีชีวิต (WHO, 2000) PAHs เป็นสารที่มีความคงทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลายาวนานหรือที่เรียกว่า Persistent Organic Pollutants (POPs) รวมถึงมีการสะสมอยู่ในห่วงโซ่อาหารสามารถส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมได้ซึ่งอยู่ในกลุ่มเดียวกับ Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Pyrrolobenzodiazepines (PBDs), Dioxin และสารฆ่าแมลง (Pesticides) (Ravindra *et al.*, 2001)

องค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) ระบุว่า Benzo(a)pyrene เป็น PAHs ที่มีความเสี่ยงก่อให้เกิดมะเร็งและมีผลในก่อกลายพันธุ์สูงไม่ควรมีค่าระดับความเข้มข้นเกินกว่า 1 กรัม/ลูกบาศก์เมตร หากเกินกว่านั้นถือเป็นระดับที่เสี่ยงอันตรายต่อการเป็นโรคมะเร็ง (Ames *et al.*, 1975 ; Moller *et al.*, 1982 ; WHO, 2000 ; Jone, 2001 ; US-EPA, 2003) สำนักงานป้องกันสิ่งแวดล้อมสหรัฐอเมริกา (US-EPA) ได้กำหนดให้ PAHs 16 ชนิดให้เป็นสารพิษอันตรายที่ควรให้ความสำคัญในอันดับต้น ได้แก่ Naphthalene, Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Anthracene, Phenanthrene, Fluoranthene, Chrysene, Benzo(a) anthracene, Pyrene, Benzo(k)fluoranthene, Benzo(b) fluoranthene, Benzo(k) fluoranthene, Benzo(a) pyrene, Benzo(g,h,i) perylene, Dibenzo(a,h) anthracene, Indeno(1,2,3-cd)pyrene (Grariviat, 1999) ชื่อทางเคมี CAS chemical Abstracts service Registry Number สูตรโมเลกุลและน้ำหนักโมเลกุลของ PAHs สูตรโครงสร้างและสมบัติอื่นที่สำคัญ แสดงดังตารางที่ 2.1 – 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

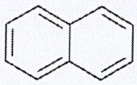
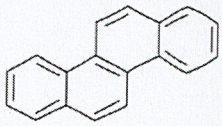
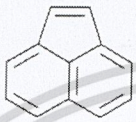
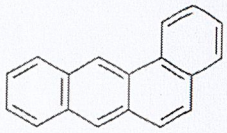
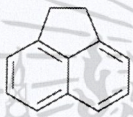
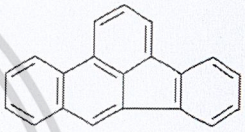
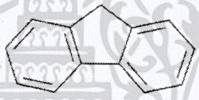
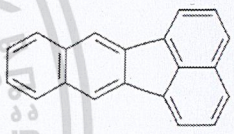
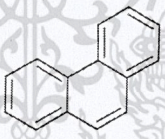
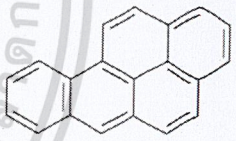
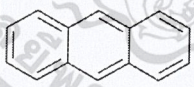
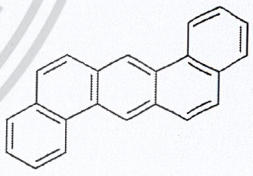
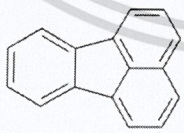
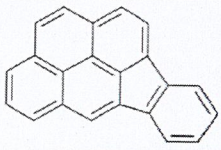
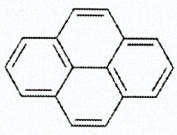
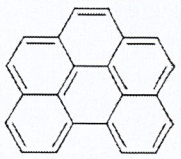
ตารางที่ 2.1 รายละเอียดเกี่ยวกับ PAHs

ชนิดของสารพีเอเอช	ชื่อย่อ	สูตรเคมี	น้ำหนักโมเลกุล	CAS
Naphthalene	Nap	$C_{10}H_8$	128	91-20-3
Acenaphthene	Ace	$C_{14}H_{10}$	178	127-12-7
Acenaphthylene	Acy	$C_{12}H_8$	152	208-96-8
Fluorene	Fo	$C_{13}H_{10}$	166	86-73-7
Anthracene	An	$C_{14}H_{10}$	178	120-12-7
Phenanthrene	Phe	$C_{14}H_{10}$	178	85-01-8
Fluoranthene	Fluo	$C_{16}H_{10}$	202	206-44-0
Pyrene	Pyr	$C_{16}H_{10}$	202	129-00-0
Benzo(a)anthracene	B(a)A	$C_{18}H_{12}$	228	56-55-3
Chrysene	Chry	$C_{18}H_{12}$	228	218-01-9
Benzo(b)fluoranthene	B(b)F	$C_{20}H_{12}$	252	205-99-2
Benzo(k)fluoranthene	B(k)F	$C_{20}H_{12}$	252	207-08-9
Benzo(a)pyrene	B(a)P	$C_{20}H_{12}$	252	50-32-8
Benzo(g,h,i)perylene	B(g,h,i)P	$C_{22}H_{12}$	276	191-24-2
Indeno(1,2,3cd)pyrene	Ind	$C_{22}H_{12}$	276	193-39-5
Dibenzo(a,h)anthracene	D(a,h)A	$C_{22}H_{14}$	278	53-70-3

ที่มา: ATSDR (1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 โครงสร้างของสารพีเอเอชทั้ง 16 ชนิด

ชื่อสารพีเอเอช	สูตรโครงสร้าง	ชื่อสารพีเอเอช	สูตรโครงสร้าง
1. Naphthalene		9. Chrysene	
2. Acenaphthylene		10. Benzo(a)anthracene	
3. Acenaphthene		11. Benzo(b)fluoranthene	
4. Fluorene		12. Benzo(k)fluoranthene	
5. Phenanthrene		13. Benzo(a)pyrene	
6. Anthracene		14. Dibenzo(a,h)anthracene	
7. Fluoranthene		15. Indeno(1,2,3-cd)pyrene	
8. Pyrene		16. Benzo(g,h,i)perylene	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 สมบัติทางกายภาพและเคมีของพีเอเอช

ชนิดของพีเอเอช	จำนวนวงแหวนเบนซีน	จุดหลอมเหลว (°C)	จุดเดือด (°C)	ความสามารถในการละลาย (mg/L)	Log_{0w}[b]	ความดันไอ (torr at 20 °C)
Naphthalene	2	80	218	30	3.37	4.9×10^{-2}
Acenaphthylene	3	92	265	3.93	4.07	2.9×10^{-2}
Acenaphthene	3	96	279	3.47	4.33	2.0×10^{-2}
Fluorene	3	116	293	1.98	4.18	1.3×10^{-2}
Phenanthrene	3	101	340	1.29	4.46	6.9×10^{-4}
Anthracene	3	216	340	0.07	4.45	1.9×10^{-7}
Fluoranthene	4	111	-	0.26	5.33	6.0×10^{-6}
Pyrene	4	149	360	0.14	5.32	6.9×10^{-7}
Chrysene	4	255	-	0.002	5.61	6.3×10^{-7}
Benzo(a)anthracene	4	158	400	0.014	5.61	5.0×10^{-7}
Benzo(b)fluoranthene	5	167	-	1.2×10^{-5}	6.57	5.0×10^{-7}
Benzo(k)fluoranthene	5	217	480	5.5×10^{-4}	6.84	5.0×10^{-7}
Benzo(a)pyrene	5	179	496	3.8×10^{-5}	6.04	5.0×10^{-7}
Dibenzo(a,h)anthracene	5	262	-	5.0×10^{-4}	5.97	1.0×10^{-10}
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	6	163	-	0.062	7.66	1.0×10^{-10}
Benzo(g,h,i)perylene	6	222	-	2.6×10^{-4}	7.23	1.0×10^{-10}

ที่มา: Mabey *et al.* (1982)

2.1.2 แหล่งกำเนิดของ PAHs

แหล่งกำเนิดของสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อมส่วนใหญ่มาจาก 2 แหล่งใหญ่ ๆ คือ จากธรรมชาติ (Natural source) และจากกิจกรรมของมนุษย์ (Anthropogenic source) (Tolosa *et al.*, 2004) ซึ่งทำให้แต่ละแหล่งกำเนิดก่อให้เกิดสาร PAHs ที่แตกต่างกันไป

- แหล่งกำเนิดสาร PAHs จากธรรมชาติ เกิดจากกระบวนการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ เช่น การเกิดไฟป่า ภูเขาไฟระเบิด พืช และแบคทีเรีย สาร PAHs ที่เกิดขึ้นจะสะสมอยู่ในอากาศและถูกชะล้างด้วยน้ำฝนไปสะสมอยู่ในน้ำ (Herngren *et al.*, 2010) เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาความร้อนทางธรณีวิทยาของเชื้อเพลิงฟอสซิลใต้ดิน และพวกแร่ธาตุต่าง ๆ ขึ้น เกิดขึ้นจากการเผาไหม้ของไฟป่าที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ นอกจากนี้ PAHs ยังเกิดได้โดยปฏิกิริยาของพวกพืชและแบคทีเรีย การสังเคราะห์ของสาหร่าย พืช จากการศึกษาในประเทศแคนนาดา การเกิดไฟป่า และการเกิดภูเขา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฟระเบิด จะมีการปลดปล่อยสาร PAHs มากถึง 2,000 ตัน/ปี และ 1.2 – 1.4 ตัน/ปี ตามลำดับ (Environment Canada *et al.*, 1994)

- แหล่งกำเนิดสาร PAHs จากกิจกรรมมนุษย์ เช่น การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงในโรงงานอุตสาหกรรม การกลั่นน้ำมันดิบ รวมทั้งควันจากท่อไอเสียรถยนต์ การเผาขยะ และการเผาตอฟางข้าวของเกษตรกร ความเข้มข้นของสาร PAHs ในสิ่งแวดล้อม ขึ้นกับระยะห่างระหว่างบริเวณที่ปนเปื้อนกับแหล่งที่ผลิตสาร PAHs ระดับของการพัฒนาอุตสาหกรรมและความสามารถในการเคลื่อนย้ายของสาร PAHs

2.1.2.1 แหล่งกำเนิดที่อยู่กับที่

แหล่งกำเกิดที่อยู่กับที่ (Stationary source) อาทิเช่น โรงงานอุตสาหกรรม การสูบบุหรี่ กระบวนการให้ความร้อนอาหาร การผลิตไฟฟ้า เป็นต้น ยกตัวอย่างเช่น

- โรงงานอุตสาหกรรม จากการเผาไหม้สารอินทรีย์ต่าง ๆ ของโรงงานอุตสาหกรรม เช่น ถ่านหิน น้ำมันดิบ ก๊าซธรรมชาติ พลังงานชีวมวล เป็นต้น ตัวอย่างอุตสาหกรรมที่อาจจะพบสาร PAHs จากการเผาไหม้เชื้อเพลิงอินทรีย์ เช่น การกลั่นปิโตรเลียม อุตสาหกรรมเหล็ก เตาเผาขยะ เป็นต้น การตรวจวัดสาร PAHs ใกล้กับบริเวณโรงงานน้ำมัน กรุงมอสโคว ประเทศรัสเซีย พบความเข้มข้นของ B(a)P ในบรรยากาศมากกว่า 13 นาโนกรัมลูกบาศก์เมตร (Khesina, 1994) และจากการตรวจวัดบริเวณโรงงานเหล็กกล้า เมืองออนทาริโอ ประเทศแคนนาดา พบ B(k)F 140 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เมตร B(a)P 90 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (IPCS, 1998)

- กระบวนการให้ความร้อนอาหารการให้ความร้อนในอาหารด้วยวิธีการ อบ รมควัน ปิ้ง และย่าง จะทำให้เกิด B(a)P และเกิดการปนเปื้อนในอาหาร โดยเฉพาะการให้ความร้อนที่อาหารสัมผัสกับเปลวไฟโดยตรง นอกจากนี้ยังเกิดจากควันที่เผาไหม้ไม่สมบูรณ์จากปฏิกิริยาไพโรไลซิสของน้ำมันจากอาหารที่หยดลงบนแหล่งให้ความร้อน ดังนั้นอาหารที่มีไขมันมากจะมีหยดน้ำมันเกิดขึ้นมากระหว่างกระบวนการให้ความร้อนทำให้ปริมาณ B(a)P สะสมในอาหารมากขึ้นด้วย สิ่งที่สำคัญประการหนึ่งก็คือ ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงมากกว่า 350 – 400 องศาเซลเซียสขึ้นไปปริมาณการเกิดของ B(a)P จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 350 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณของ B(a)P ในอาหารอยู่ในระดับต่ำ เช่นเดียวกับการปรุงอาหารด้วยวิธีการนำความร้อนและการปรุงอาหารด้วยวิธีการแพร่ความร้อนตัวอย่างเช่นการทอดด้วยกระทะ และการอบ การปิ้ง หรือการย่างด้วยเตาไฟฟ้า ซึ่งพบว่าปริมาณของ B(a)P อยู่ในระดับต่ำกว่าอาหารที่ปรุงโดยสัมผัสกับเปลวไฟโดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 แบบสำรวจอาหารปิ้งย่างที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร ที่มีการปนเปื้อนของ B(a)P

ชนิด	จำนวนตัวอย่าง		ปริมาณที่พบ (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)		
	วิเคราะห์	ตรวจพบ	ต่ำสุด-สูงสุด	Mean	Median
ไก่ย่าง	35	11	<0.5-0.7	<0.5	<0.5
ปลาดุกย่าง	36	29	<0.5-0.7	0.8	0.7
หมูปิ้ง	30	12	<0.5-0.7	0.6	0.5
รวม	101	52	<0.5-3.2	0.7	0.5

ที่มา: จิตผกา และคณะ (2552)

การรมควันเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิด B(a)P ในอาหาร โดยปกติการรมควันจะใช้ไม้ฟืนหรือขี้เลื่อยเป็นเชื้อแหล่งกำเนิดควัน การรมควันแบบดั้งเดิมแหล่งกำเนิดควันจะอยู่ด้านล่างของเตารมควันและอาหารจะถูกวางอยู่ด้านบน ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการรมควันอาหารสมัยใหม่แหล่งกำเนิดควันจะถูกออกแบบให้แยกออกจากตู้รมควันอาหาร ทำให้สามารถควบคุมกระบวนการรมควันได้ดีกว่า ซึ่งพบว่าปริมาณ B(a)P ในอาหารที่รมควันด้วยวิธีนี้อยู่ระหว่าง 0.2 – 0.9 µg/kg product ตัวอย่างเช่น ไส้กรอก แฮม เบคอน ฯลฯ สำหรับมาตรฐานของ EU, Commission Regulation (EC) No 208/2005 (ตารางที่ 1) กำหนดปริมาณสูงสุดของ B(a)P ในอาหารประเภทเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อรมควัน 5.0 µg/kg wet weight เนื้อปลาและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำรมควัน 5.0 µg/kg wet weight ยกเว้นหอยสองฝา crustaceans/ cephalopods และเนื้อปลาไม่รมควันกำหนดไว้ที่ 10.0 5.0 และ 2.0 µg/kg wet weight ตามลำดับ

ควันบุหรี่ก็ถือว่าเป็นแหล่งสำคัญ ควันจากบุหรี่หนึ่งมวนให้สาร B(a)P ได้ถึง 20–40 ng การสูบบุหรี่ที่ไม่มีก้นกรอง 1 ซองทำให้ร่างกายได้รับ B(a)P 0.7 µg/วัน ในขณะที่การสูบบุหรี่ก้นกรอง 1 ซองทำให้ร่างกายได้รับ B(a)P 0.4 µg/วัน ควันบุหรี่มีสาร PAHs หลายชนิด เช่น B(a)P และอีกมากกว่า 40 ชนิดที่ทราบและสงสัยว่าก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ควันจากบุหรี่ที่ไหม้ในระหว่างการสูบพบว่ามีสาร PAHs และสารพิษต่อเซลล์ในปริมาณที่มากกว่าควันจากการพ่นออกของผู้สูบอย่างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 ปริมาณสูงสุดของ B(a)P ตามมาตรฐานของสหภาพยุโรป

ผลิตภัณฑ์	ปริมาณสูงสุดของ Benzo (a)pyrene (ไมโครกรัม/ กิโลกรัม)
น้ำมัน และ ไขมันในอาหาร	2.0
นม อาหาร อาหารเสริมสำหรับเด็กเล็ก และทารก	1.0
เนื้อสัตว์รมควัน	5.0
เนื้อปลารมควัน และสินค้าประมงรมควันซึ่งไม่รวมหอย	5.0
เนื้อปลาอื่นที่ไม่ได้รมควัน	2.0
กุ้งปลาหมึกอื่นที่ไม่ได้รมควัน	5.0
หอยสองฝา	10.0

ที่มา: Access to European Unon law (EUR-Lex) (2005)

2.1.2.2 แหล่งกำเนิดเคลื่อนที่

ไอเสียจากรถยนต์ถือว่าเป็นแหล่งกำเนิดมลพิษทางอากาศแบบเคลื่อนที่ (Mobile Source) การใช้เชื้อเพลิงประเภทน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน ก่อให้เกิดสาร PAHs ได้ จากการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสาร PAHs จากสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิง ในเมืองไตนาน ประเทศไต้หวัน พบว่าในน้ำมันเบนซิน มี Nap, Acy และ Ace ประมาณร้อยละ 40 ของสาร PAHs ที่ตรวจพบ และในน้ำมันดีเซลพบสาร PAHs รวม ปริมาณถึง 7,341 ± 1,491 มิลลิกรัมต่อลิตร (Lee *et al.*, 1995) จากการศึกษาสาร PAHs จากไอเสียรถยนต์พบว่า ไอเสียเครื่องยนต์เบนซินพบ Flu, Cry, Ind, B(g,h,I)P, Cyc, Cor เป็นหลัก ส่วนไอเสียเครื่องยนต์ดีเซลพบ Ace, Fluor, Flu, Phe, Pyr, Cry, และ B(a)P เป็นหลัก (Ho *et al.*, 2002) และกองการจัดการสารอันตรายและกากของเสีย (2543) ได้มีการอ้างถึง (Alsbeng *et.al.*, 1985) ว่ามีรายงานชนิด และปริมาณของพีเอเอชที่มีการปล่อยจากท่อไอเสียรถยนต์ 4 สูบ มีอายุการใช้งานประมาณ 1 ปี ใช้น้ำมันผสมสารตะกั่วปริมาณ 0.15 กรัม/ลิตร มีค่าออกเทน 96 ดังที่แสดงในตารางที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 ปริมาณของพีเอเอชจากแหล่งต่าง ๆ

พีเอเอช	ควันบุหรี่ (ไมโครกรัม/บุหรี่ 100 มวน)		ไอเสียรถยนต์ (ไมโครกรัม/ระยะทาง 1 กม.)
	ควันโดยตรง	ควันโดยรอบ	
Anthracene	2.3 - 23.5	-	0.7
Anthanthrene	0.2 - 2.2	3.9	0.75
Benz(a)anthracene	0.4 - 7.6	-	5.8
Benzo(b)fluoranthene	0.4 - 2.2	-	5.45
Benzo(j)fluoranthene	0.6 - 2.1	-	1
Benzo(k)fluoranthene	0.6 - 1.2	-	5.45
Benzo(g,h,i)fluoranthene	0.1 - 0.4	-	8.8
Benzo(a)fluorine	4.1 - 18.4	7.5	-
Benzo(g,h,i)perylene	0.3 - 3.9	-	-
Benzo(c)phenanthrene	ตรวจพบ	9.8	9.45
Benzo(a)pyrene	0.5 - 7.8	-	3.2
Benzo(e)pyrene	-	2.5 - 19.9	4.4
Chrysene	0.6 - 9.6	5 - 13.5	7.7
Coronene	0.1	-	9.25
Cyclopentano(c,d)pyrene	-	-	7.45
Dibenz(a,h)Janthracene	0.4	-	-
Dibenzo(a,e)pyrene	ตรวจพบ	-	-
Dibenzo(a,h)pyrene	ตรวจพบ	-	-
Dibenzo(a,i)pyrene	0.17 - 0.32	-	-
Dibenzo(a,l)pyrene	ตรวจพบ	-	-
Fluoranthene	1.0 - 27.2	126	170
Fluorine	ตรวจพบ	-	-
Indeno(1,2,3-cd) fluoranthene	-	-	0.6
Indeno(1,2,3-cd) pyrene	0.4 - 2.0	-	2.65
Perylene	0.3 - 0.5	3.9	0.4
Phenanthrene	8.5 - 62.4	-	2.75
Pyrene	5.0 - 27	39.0 - 101.0	29.5
Triphenylene	ตรวจพบ	-	-
รวม	26.17 - 197.82	273.6 - 353.0	116.85

ที่มา: การจัดการของเสียอันตรายและกากของเสีย (2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 แหล่งที่มาของสาร PAHs

แหล่งที่มา (Source)	สาร PAHs ที่พบ
การใช้แก๊สจากบ้านเรือน	Chry, Pyr และ Fluo
กระบวนการเผาไหม้	B(a)P และ Fluo
เชื้อเพลิงจากน้ำมันในโรงงานอุตสาหกรรม	Fluo, Pyr และ Chry
การเผาไหม้ฟางข้าว	Ind, B(a)P และ D(a,b)A
เตาเผาขยะ	Pyr, Phe และ Fluo
การใช้น้ำมันเบนซินและดีเซลในยานพาหนะ	Fluo, Pyr, B(b)F และ B(k)F

ที่มา: ATSDR (1995)

2.1.3 การแพร่กระจาย PAHs สู่สิ่งแวดล้อม

สาร PAHs เป็นสารอินทรีย์ที่มีอยู่มากมายและแพร่กระจายอยู่ทุกหนทุกแห่งในสิ่งแวดล้อม อาจพบได้ทั้งในอากาศ น้ำ ดินตะกอนหรือแม้แต่ในเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตรวมทั้งในชั้นของน้ำแข็งในหมอก ควัน PAHs ในอากาศส่วนใหญ่มาจากการระเบิดของภูเขาไฟไฟป่า การเผาถ่านหิน และจากการคมนาคมต่าง ๆ ทั้งในพื้นที่ชุมชนเมืองและชนบท (Menzie *et al.*, 1992)

- อนุภาคในชั้นบรรยากาศ (Airborne particulate matter) ประกอบด้วยก๊าซและอนุภาคที่ลอยอยู่ซึ่งอนุภาคประกอบขึ้นจากสารประกอบเชิงซ้อนของของเหลวและ ของแข็งและมีสาร PAHs เป็นองค์ประกอบโดย PAHs จะกระจายตัวสู่ชั้นบรรยากาศโดยผ่านกระบวนการควบแน่นและการดูดซับบนผิวของอนุภาคหลังจากกระบวนการเผาไหม้ ซึ่งอนุภาคจะถูกปลดปล่อยออกมาจากหลายแหล่งสู่ชั้นบรรยากาศและแพร่กระจายไปทั่วสิ่งแวดล้อมสาร PAHs สามารถแพร่กระจายสู่ผิวน้ำได้จากการปล่อยของโรงงานอุตสาหกรรมและน้ำเสียที่เกิดจากการบำบัดน้ำซึ่งสามารถแพร่ไปได้ทั่วในแหล่งน้ำ นอกจากนี้ PAHs ในน้ำยังอาจมีแหล่งกำเนิดจากการที่อนุภาคในอากาศตกลงสู่ผิวหน้าในช่วงฝนตกหรือจากการดูดซับที่ผิวหน้าโดยตรงกับ PAHs เหล่านี้ในบรรยากาศ (Gocht *et al.*, 2001)

- สำหรับในดินพบว่า PAHs สามารถแพร่กระจายไปได้ไกลและเป็นบริเวณกว้าง ซึ่งเกิดจากหลายสาเหตุ การใช้ปุ๋ย การปนเปื้อนมาจากบรรยากาศ และส่วนใหญ่มักพบดินปนเปื้อนสาร PAHs ได้ บริเวณแหล่งของเสียอันตรายหรือโรงงานอุตสาหกรรมซึ่งต้นไม้สามารถดูดซับสาร PAHs จากดินที่ปนเปื้อนได้ ปริมาณพีเอเอชที่มีความเข้มข้นสูงในดินที่ใช้เพาะปลูก นอกจากจะเป็นอันตรายต่อมนุษย์ในการนำมาบริโภคเพื่อประกอบอาหาร แล้วยังส่งผลต่อคุณสมบัติของดินที่ทำการเพาะปลูกทำให้มีความเสียหายต่อพืชและผลผลิต นอกจากนี้ PAHs ในดินก็สามารถปนเปื้อนลงสู่น้ำบาดาลได้ (Budzinski *et al.*, 1997 ; Mai *et al.*, 2001)

- การปนเปื้อน PAHs ในน้ำ พบว่าสาร PAHs สามารถแพร่กระจายไปได้ทั่วในแหล่งน้ำ เนื่องจากมีอนุภาคของ PAHs ที่กระจายอยู่ในอากาศ และตกลงสู่แหล่งน้ำและพื้นดิน รวมถึงน้ำเสียที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งมลภาวะต่าง ๆ นั้นมีผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพมนุษย์ เนื่องจากต้องมีการใช้เพื่ออุปโภค บริโภค

- การปนเปื้อน PAHs ในดินตะกอน PAHs ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำจะเกาะติดกับอนุภาคแขวนลอยในน้ำเนื่องจาก PAHs เป็นสารที่ไม่ชอบน้ำและสุดท้ายจะตกลงสู่ก้นทะเลสาบหรือแม่น้ำสะสมอยู่ในรูปตะกอนดิน (Witt and Trost, 1999 ; Xu *et al.*, 2007) จุลินทรีย์ที่อยู่ในดินหรือน้ำจะย่อยสลายสาร PAHs ไปเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง (Kanaly *et al.*, 1997 ; Beckles *et al.*, 1998 ; Kilbane, 1998) มีการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของสาร PAHs รวมที่ตกค้างในตะกอนดินในน้ำเขตร้อน (Tropical Water)

- การปนเปื้อน PAHs จากปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียม ซึ่งปิโตรเลียมเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เกิดจากการทับถมของซากอินทรีย์ ภายใต้พื้นผิวโลกเป็นเวลาหลายพันปี ซึ่งมี PAHs เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ และเป็นแหล่งกำเนิดของ PAHs ที่สะสมอยู่ในตะกอน ดังนั้นกิจกรรมที่มีการใช้ปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียมมากจะมีโอกาสที่พีเอเอชจะปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมมากตามไปด้วย สาเหตุที่สำคัญต่อการที่ PAHs แพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อม ได้แก่

- การขนส่งน้ำมันโดยเรือบรรทุกน้ำมัน มีโอกาสที่จะรั่วไหลลงสู่ทะเล
- การเกิดอุบัติเหตุของเรือบรรทุกน้ำมันหรือเรือสินค้า
- น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ตั้งอยู่บริเวณชายฝั่ง
- การขุดเจาะน้ำมันหรือแก๊สธรรมชาติ การรั่ว หรือ ชำรุด ของท่อขนส่งน้ำมัน
- การทำความสะอาดถังบรรจุน้ำมัน
- กระบวนการซึมผ่านตามธรรมชาติ

2.1.4 การสลายตัวตามธรรมชาติของสาร PAHs ในบรรยากาศ

ปริมาณและการกระจายตัวของสาร PAHs ขึ้นอยู่กับความคงตัวของสาร PAHs โดยทั่วไปสาร PAHs ในบรรยากาศมี 2 ลักษณะคือก๊าซและอนุภาครวมตัวกับฝุ่นซึ่งขึ้นอยู่กับความดันไอของ PAHs เมื่อสาร PAHs ถูกปล่อยสู่บรรยากาศอนุภาคเหล่านี้จะเข้าสู่กระบวนการหลายกระบวนการความเข้มข้นของ PAHS จะขึ้นอยู่กับชนิดของ PAHs แต่ละตัวในการจับกับอนุภาคสารอินทรีย์และปฏิกิริยาเคมีรวมถึงความคงตัวของสารนั้น (Pankow, 1991 ; Yamasaki *et al.*, 1982) การเปลี่ยนแปลงระหว่างก๊าซและอนุภาคของ PAHs จะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนการพาร์ทิชั่น (partitioning ratio) ซึ่งสามารถแสดงในรูปของอัตราส่วนระหว่างระดับความเข้มข้น PAHs ในรูปอนุภาคกับระดับความเข้มข้น PAHs ในรูปกายโดยทั่วไปแล้ว PAHs ที่อุณหภูมิปกติทั่วไปมีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวสูงค่าความดันไอต่ำ ค่าละลายน้ำได้น้อยมาก และการสลายตัวในสิ่งแวดล้อมได้ต่างกัน สารประกอบPAHs สลายตัวในบรรยากาศได้หลายวิธี อาทิเช่น การสลายตัวโดยแสง การเกิดปฏิกิริยายาออกซิเดชันโดยเคมีแสง การระเหยกลายเป็นไอ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4.1 การสลายตัวโดยแสง (Photo degradation)

กระบวนการสลายตัวเนื่องมาจากแสง (Photo degradation) เป็นกระบวนการสำคัญของการสลายตัวของสาร PAHs ในบรรยากาศเป็นผลมาจากการกระตุ้นของแสงจากงานวิจัยของ (Kamens *et al.*, 1988) สาร PAHs สามารถดูดกลืนแสงในช่วงรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 300-420 nm ซึ่งเป็นการเกิด photo-oxidized ที่รวดเร็วการสลายตัวของ PAHs จะขึ้นอยู่กับความชื้นในบรรยากาศปริมาณแสงอาทิตย์และอุณหภูมิในช่วงเวลาของวันการสลายตัวในบรรยากาศของ PAHs ในอนุภาคของเขม่า (Soot particle) แสดงถึงค่าครึ่งชีวิตของ B(a)A, B(e)P, B(a)P, Ind และ B(b)F จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในบรรยากาศมีค่าต่ำปริมาณแสงต่ำและปริมาณความชื้นต่ำ จากการศึกษาของ (Panther *et al.*, 1999) พบว่า PAHs จะสลายตัวได้ดีในเดือนที่มีสภาพอากาศร้อนเนื่องจากมีชั่วโมงที่มีแสงสว่างมากกว่า และมีความเข้มของแสงมากในบรรยากาศ สาร PAHs ในบรรยากาศโดยทั่วไปส่วนใหญ่ถูกดูดซับอยู่บนเถ้าลอย (fly ash) เขม่า (soot) และผงถ่าน (carbon black) มีความแตกต่างกันอย่างมากถึงแม้ว่าเป็น PAHs สารกลุ่มเดียวกันก็ตาม

2.1.4.2 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยเคมีแสง Photochemical Oxidation

การเปลี่ยนรูปจากปฏิกิริยา Photochemical Oxidation มีความสำคัญต่อการสลายตัวของ PAHs ทั้งในรูปของก๊าซและในรูปของอนุภาคจากงานวิจัยของ Beak et al. (1991) ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสาร PAHs กับ NO_X, N_2O_5, OH, O_3, SO_2 และ peroxyacetyl nitrate ในบรรยากาศถ้ามีความเข้มแสงมากและอุณหภูมิสูง ความเข้มข้นของสาร PAHs ในบรรยากาศก็จะน้อยลง (Tham *et al.*, 2007)

สาร PAHs เมื่อเกิดปฏิกิริยา Photo oxidation จะมีค่าครึ่งชีวิตที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับมวลโมเลกุล โดยกลุ่มที่มีมวลโมเลกุลต่างจะมีค่าครึ่งชีวิตต่ำกว่ากลุ่มที่มีมวลโมเลกุลสูง นอกจากนั้นถ้าในบรรยากาศมีโอโซนและแสงแดดร่วมกันจะยิ่งทำให้ค่าครึ่งชีวิตของสาร PAHs น้อยลง (Katz *et al.*, 1979) โดยปกติสาร PAHs ในรูปของอนุภาคจะตกด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก (Dry deposition) ด้วยกระบวนการทางกายภาพและถูกชะล้างด้วยน้ำฝน หรือละอองน้ำ (Wet deposition) การถูกพัดพากระแสลม นอกจากนี้ยังเกิดการเปลี่ยนสถานะระหว่างก๊าซกับอนุภาคด้วย

การตรึงอนุภาคด้วยแรงโน้มถ่วงหรือ Dry deposition มีกระแสลมและแรงโน้มถ่วงของโลกเป็นตัวกลางในการนำพาสารทั้งที่เป็นก๊าซและอนุภาคที่อยู่ในชั้นบรรยากาศไปยังพื้นที่ที่ไกลจากแหล่งกำเนิด (Davidson and Wu, 1989) Dry deposition เป็นกระบวนการที่เกิดช้ากว่า การชะล้างอนุภาคหรือ Wet deposition แต่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องปัจจัยที่ควบคุม dry deposition คือการเปลี่ยนแปลงทางสภาพภูมิอากาศเช่นความเร็วลมอุณหภูมิภูมิประเทศความชุ่มชื้น เป็นต้น (US-EPA, 1997) ส่วน wet deposition เกิดจากการที่เมฆหมอกฝนและหิมะชะเอาทั้งก๊าซและอนุภาคของมลพิษต่าง ๆ ในชั้นบรรยากาศตกสู่พื้นผิวของโลก (Leister and Baker, 1994) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าปริมาณ PM และความเข้มข้นของ PAHs ในช่วงฤดูร้อนจะมีค่าสูงกว่าในฤดูฝนเนื่องจากฤดูฝนมีน้ำฝนช่วยในการชะล้างและนำเอาฝุ่นละอองต่าง ๆ รวมทั้ง PAHs ที่ลอยอยู่ในชั้นบรรยากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตกลงสู่พื้นดินได้เร็วขึ้น (Than *et al.*, 2007) และ wet deposition เป็นตัวกลางในการแพร่กระจายสาร PAHs สู่สิ่งแวดล้อมอื่น ๆในลักษณะคล้ายกับ dry deposition ได้เช่นกัน (Pantow and Biddlenman, 1991; Leister and Baker, 1994) โดย

1. ฝนจะชะพวกสารเคมีและมลพิษลงมาทำให้อัตราการตกสะสมเพิ่มขึ้นและเป็นตัวหลักที่ทำให้เกิดการ เจือปนสู่ดินน้ำและพืชผักต่าง ๆ
2. เมฆเป็นตัวสกัดกั้นมลพิษในภูมิประเทศที่เป็นภูเขาสูง
3. การตกสะสมของหมอกจะช่วยให้สารประกอบต่าง ๆ รวมตัวกันและตกเป็นหยดน้ำแล้วตกลงสู่พื้นผิวดิน
4. การตกสะสมของหิมะจะนำสารประกอบต่าง ๆ ตกลงมาในช่วงที่เกิดพายุหิมะ

2.1.4.3 การทำปฏิกิริยาของสาร PAHs กับ Reactive gases

นอกจากกิริยา Photochemical Oxidation สาร PAHs สามารถลดลงได้จากการ Evaporative หรือ Oxidative reactions กับ reactive gases ซึ่งก๊าซเหล่านี้อาจจะถูกปล่อยมาจากแหล่งเดียวกัน ได้แก่ ก๊าซไนโตรเจนออกไซด์ (NO) ซัลเฟอร์ออกไซด์ (SO_X) โอโซน (O_3) และสารประกอบอื่น ๆ ของ Photochemical smog และได้มีงานวิจัยของ Lindskog *et al.*, (1983) ศึกษาปฏิกิริยาของสารประกอบ PAHs ที่เกิดจากการเผาไหม้ในอนุภาคเขม่าโดยให้สารประกอบ PAHs ทำปฏิกิริยากับ NO และ O ในสภาวะที่ไม่มีแสงจากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของ PAHs ลดลงซึ่งมีปัจจัยจากความเข้มข้นของก๊าซเวลาในการทำปฏิกิริยาและความชื้นในบรรยากาศเมื่อมีการเพิ่มกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ในอนุภาคเขม่าพบว่าปฏิกิริยาของ PAHs เพิ่มขึ้นมากกว่ามีแต่ก๊าซ NO และ O เพียงอย่างเดียว

2.1.4.4 การระเหยกลายเป็นไอสาร PAHs

มีแนวโน้มในการระเหยกลายเป็นไอเข้าสู่บรรยากาศได้ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่าความดันไอ (Vapor pressure) และอุณหภูมิในบรรยากาศซึ่งสาร PAHs ทุกชนิดระเหยกลายเป็นไอได้น้อยมากที่อุณหภูมิห้อง

2.1.4.5 การรวมตัวของอนุภาคในบรรยากาศ

การกระจายตัวของ PAHs ในบรรยากาศโดยทั่วไปจะแตกต่างกันตามกระบวนการที่เกิดไม่ว่าจะเป็นกระบวนการควบแน่นหรือการดูดซับทำให้พบ PAHs ใน 2 สถานะคือสถานะก๊าซและสถานะที่จับกับอนุภาคแขวนลอยจากการศึกษาของ Chetwittayachan *et al.*, (2002) พบว่าสาร PAHs จะอยู่ในสถานะก๊าซที่อุณหภูมิสูงกว่า 150 องศาเซลเซียสและอยู่ในรูปที่ยึดเกาะกับอนุภาคของขี้เถ้าลอยที่อุณหภูมิต่ำกว่าจากการศึกษาโครงสร้างแบบชั้น (Shell structure) สาร PAHs จะเกาะอยู่บนอนุภาคที่มีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักจากนั้นสาร PAHs จะถูกปกคลุมด้วยสารกลุ่มระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 ความเป็นพิษของพีเอเอชต่อสิ่งมีชีวิต

2.1.5.1 ความเป็นพิษต่อมนุษย์

PAHs สามารถแพร่เข้าสู่ร่างกายได้ทั้งทางตรง เช่น จากการหายใจเอาอากาศที่มี PAHs ปนเปื้อนเข้าไปหรือการสัมผัสวัตถุที่มี PAHs ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณสูง เช่น การสัมผัสกับดินที่มี PAHs ปนเปื้อนในระดับที่สูงหรือทางอ้อม เช่น การกินอาหารหรือการดื่มน้ำที่ปนเปื้อน PAHs (ATSDR, 1995) PAHs เข้าสู่ร่างกายได้ง่ายและรวดเร็วในทุกทางซึ่ง PAHs ในอากาศจะรวมกับอนุภาคแขวนลอยผ่านเข้าปอดเข้าสู่เนื้อเยื่อจนถึงชั้นไขมันและสะสมในตับไตและไขมันเป็นส่วนใหญ่ (ATSDR, 1995 ; Grariviat, 1999) เนื่องจาก PAHs เป็นสารไม่มีขั้ว (nonpolar) จึงละลายได้ดีในไขมันดังนั้นจึงสะสมในชั้นไขมันของร่างกายได้นานและ PAHs ยังอาจสะสมได้ในชั้นเมมเบรนของเซลล์ซึ่งเป็นฟอสโฟลิพิด (phospholipids) (US EPA, 1987, Jacob, 1996) และมีบางชนิดที่สะสมอยู่ในร่างกายได้ไม่นานเนื่องจากถูกขับถ่ายออกมาทางปัสสาวะและอุจจาระเช่น Dia hJA (Platt *et al.*, 1990) มนุษย์สามารถได้รับ PAHs ที่แพร่กระจายอยู่ในสภาพแวดล้อมทั้งภายในภายนอกบ้านและที่ทำงานซึ่งสามารถส่งผลกระทบทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง (Schwartz, 1994)

โดยทั่วไปแล้วการเกิดพิษแบบเฉียบพลันพบได้น้อยมาก บางการศึกษาแสดงให้เห็นว่าผลกระทบที่ไม่ใช่มะเร็งขึ้นกับขนาดการสัมผัส แต่สำหรับการสัมผัสแบบเรื้อรังพบว่าผลกระทบที่ไม่ใช่มะเร็ง เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร ระบบไตและระบบผิวหนัง สาร PAHs ส่วนมากเป็นสารก่อให้เกิดการกลายพันธุ์เพียงเล็กน้อย แต่เมตาบอไลท์หรืออนุพันธุ์ของมันเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ที่ร้ายแรง

ผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ขึ้นอยู่กับขอบเขตของการได้รับสัมผัสเช่นระยะเวลาในการได้รับสัมผัส ระดับความเข้มข้น และปริมาณที่รับเข้าไปความเป็นพิษของ PAHs แต่ละชนิดและเส้นทางที่รับสารเข้าไปไม่ว่าจะเป็นทางการหายใจ การกินหรือทางผิวหนัง และยังมีปัจจัยร่วมอื่นอีก เช่น เงื่อนไขทางด้านสุขภาพของแต่ละคนและอายุเป็นต้น (Hoffman *et al.*, 1984 ; LaRocca *et al.*, 1996) การได้รับสาร PAHs ในปริมาณน้อยแต่เป็นระยะเวลานานเช่นการสัมผัสทางผิวหนังจะเป็นมะเร็งที่ผิวหนัง การสูดดมเข้าไปจะเป็นมะเร็งปอดและระบบทางเดินหายใจส่งผลต่อระบบการสืบพันธุ์และระบบประสาทและเมื่อรับประทานอาหารที่มี PAHs ปนเปื้อนเข้าไปจะเป็นมะเร็งกระเพาะอาหาร (US-EPA, 1987) เด็กอาจจะมีโอกาสได้รับ PAHs น้อยกว่าผู้ใหญ่เพราะกิจกรรมที่ทำมีโอกาสได้รับสาร PAHs น้อยกว่า เช่น การคลานสัมผัสกับฝุ่น การกินการเอามือเข้าปากและการดูดนิ้ว เป็นต้น (Hoffman *et al.*, 1984 ; Larocca *et al.*, 1996)

- เมตาบอลีซึมของสาร PAHs ในร่างกาย

ในชีวิตประจำวันมนุษย์มีโอกาสได้รับสัมผัสสาร PAHs ที่ปะปนในสิ่งแวดล้อมทั่วไป เช่น ไอเสียรถยนต์ ควันจากการทำอาหาร ควันจากการเผาขยะ จากน้ำหรือดินใกล้บริเวณขยะอันตราย จากการกินเนื้อย่างที่ไหม้เกรียม ในธัญญาหาร ขนมปัง ผัก ผลไม้ เนื้อที่ปนเปื้อนสาร PAHs เป็นต้น ซึ่งสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายช่องทาง ไม่ว่าจะเป็นทางการหายใจ ทางเดินอาหาร และการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัมผัสทางผิวหนัง เมื่อร่างกายได้รับสาร PAHs เข้าไป บางส่วนจะถูกเมตาบอไลท์ไป เนื่องจากสาร PAHs เป็นสารไม่มีขั้วจึงละลายได้ดีในไขมัน ดังนั้นส่วนที่เหลือจากการเมตาบอไลท์จะถูกจับไว้โดยเนื้อเยื่อไขมันตามอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และสะสมในไขมันของร่างกายได้นานถูกขับออกจากร่างกายได้ยาก สาร PAHs ในเนื้อเยื่อไขมัน จะไม่ทำให้เกิดพิษจนกว่าจะเข้าไปสู่เซลล์ สาร PAHs นี้อาจสะสมได้ที่ฟอสโฟลิพิดของเยื่อหุ้มเซลล์ อย่างไรก็ตามร่างกายมนุษย์จะมีกระบวนการ Metabolic activation เกิดการเติมหมู่ OH ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่ได้เป็นอนุพันธ์อีพอกไซด์ (epoxide) ของสาร PAHs ทำให้สาร PAHs มีความเป็นขั้วมากขึ้น โดยการเร่งของเอนไซม์จากไมโครโซมชื่อ Mixed function oxidase (MFO) หรือ cytochrome P450 enzymes (Donnelly *et al.*, 1990) ซึ่งเกี่ยวข้องกับ K-region ของโครงสร้างวงแหวนของไฮโดรคาร์บอน จากการศึกษาพบว่า K-region epoxides มีความสามารถในการก่อมะเร็งเพียงเล็กน้อยในสัตว์ทดลอง การเปลี่ยนสาร PAHs เป็น Dihydrodiol epoxides เป็นวิถีในการเกิด Ultimate carcinogens และมีการแสดงให้เห็นว่าเป็น Ultimate mutagenic และเป็นเมตาบอไลท์ 17 ของ Benzo(a)pyrene ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง พบว่าเมตาบอไลท์ของสาร PAHs คล้ายกับ Benzo(a)pyrene คือเป็น Ultimate carcinogen ของสารเหล่านี้ (Buerczynski *et al.*, 1999)

- ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ในการก่อมะเร็ง

ปัจจัยทางโครงสร้างของสาร PAHs มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการก่อมะเร็งของสาร PAHs ดังนี้

- จำนวนวงแหวนเบนซีน ในโมเลกุลของสาร PAHs จะต้องมีวงแหวนเบนซีนหรือฟิวแรน (Furan) อย่างน้อย 5 วงติดกัน

- ปฏิกิริยาการเติมหมู่ธาตุอื่น สารที่มีวงแหวนน้อยกว่า 5 แต่มีหมู่ธาตุอื่นมาแทนที่ไฮโดรเจนในวงแหวนสารนั้นก็จะก่อให้เกิดมะเร็งได้ เช่น Fluorene เดิมจะไม่ก่อมะเร็ง แต่สาร acetylamino fluorine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ Fluorene เป็นสารก่อมะเร็งอย่างแรง

- ตำแหน่งของวงแหวนเบนซีน การวางตำแหน่งวงแหวนเบนซีนมีความสัมพันธ์กับการก่อมะเร็งของสาร PAHs เช่น สารไอโซเมอร์ของสาร Dibenzo(a,h)anthracene ซึ่งมีวงแหวนเบนซีนมาเกาะที่ตำแหน่ง c แทนที่จะเป็นตำแหน่ง a เกิดเป็นสาร Dibenzo(a,c)anthracene ทำให้ความสามารถในการก่อมะเร็งน้อยกว่า Dibenzo(a,h)anthracene

- การแทนที่ด้วยหมู่ต่าง ๆ ที่ตำแหน่งเฉพาะบนวงแหวนเบนซีน เช่น สาร anthracene -9, 10-dimethylanthrecene ไม่ทำให้เกิดมะเร็ง แต่อนุพันธ์ของมัน เช่น 9,10 dimethyl-1,2-bezanthracene (DMBA) กับ 1,2,3,4-tetramethyphenanthrene ก่อให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองได้ จากการศึกษาความแตกต่างทางโครงสร้างเคมีและคุณสมบัติทางชีวภาพ แสดงให้เห็นว่า สาร PAHs ที่ก่อมะเร็งควรมี Phenanthrene nucleus ในโมเลกุลด้วย และไฮโดรเจนใน nucleus นี้จะต้องถูกแทนที่ด้วยหมู่ต่าง ๆ เช่น หมู่เมทิลจำนวนอย่างน้อย 3 ใน 4 ตำแหน่งของตำแหน่งที่ 1, 2, 3 และ 4

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ฤทธิ์ในการก่อมะเร็งของ PAHs สาร PAHs มีความเป็นพิษที่เป็นลักษณะแฝงอยู่ในโมเลกุล ความเป็นพิษจะเกิดและเพิ่มมากขึ้น โดยปฏิกิริยาทางเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ ปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน คือ

1. ปฏิกิริยาเอนไซด์ P-450 cytochrome ที่ทำให้เกิด oxidation และ Hydroxylation ได้สารตัวกลางซึ่งเป็น epoxides และ phenols ซึ่งเป็นสารพิษและสารก่อมะเร็งที่ร้ายแรง ปฏิกิริยาดังกล่าวมักจะเกิดในบริเวณที่เรียกว่า Bay region ในโครงสร้างโมเลกุลของกลุ่ม PAHs ที่มี 3-5 วงแหวน ได้แก่ anthracene, phenanthrene, chrysene, benzo(a)pyrene การที่ PAHs ถูกเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ epoxide เป็นกลไกของการเกิดมะเร็ง เพราะสารตัวกลางนี้มีความว่องไวมากทางชีวเคมี ซึ่งสามารถรวมตัวแบบพันธะโควาเลนต์ได้ดีกับสารพวก ดีเอ็นเอ ได้อนุพันธ์ออกซิไดส์ 18 ของ PAHs ซึ่งอาจถูกเติมด้วยหมู่เมทิล ต่อไปกลายเป็นอนุพันธ์ methoxy ก็ได้ ในกรณีที่ยังไม่ถูกเติมหมู่ใด สารอี-พอกไซด์จะทาปฏิกิริยากับไนโตรเจนเบส (N Base) ของ DNA เกิด PAH-DNA adducts ทำให้เซลล์มีการแปลรหัสทางพันธุกรรมผิดปกติไป และเกิดการกลายพันธุ์

2. ปฏิกิริยา conjugation การทำลายพิษ epoxides และ phenols ดังกล่าวทำปฏิกิริยากับสารอื่น เช่น glucuronide sulfate glutathione ได้สาร conjugates ซึ่งสามารถละลายในน้ำได้ และถูกชะพาออกไปทางน้ำดี อุจจาระและปัสสาวะ การที่ PAHs ถูกเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ epoxide เป็นกลไกของการเกิดมะเร็ง เพราะสารนี้ว่องไวมากสามารถรวมตัวแบบพันธะโควาเลนต์ได้ดีกับสารพวกโปรตีนและกรดนิวคลีอิก (Chiang *et al.*, 1999; Warshawsky, 1999) จากการศึกษาทางสัตว์ทดลองและระบาดวิทยา สาร PAHs ที่ทำให้ก่อเกิดมะเร็งยอมมีอันตรายต่อสุขภาพต่อสัตว์และมนุษย์ IARC กำหนดให้สาร PAHs เป็นสาร Human carcinogens group 1 จากการสำรวจสารพิษร้ายแรงกว่า 275 ชนิด พบว่า สารพิษที่มีพิษร้ายแรงมากที่สุด 20 อันดับแรก มีสารในกลุ่ม PAHs เป็นสารพิษที่ติดอันดับที่ 8,9,10 และที่ 17 (Gery *et al.*, 1984)

- การเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (Mutagenicity) สาร PAHs ที่เป็นสารก่อมะเร็งจะมีฤทธิ์เป็นสารก่อเกิดการกลายพันธุ์ด้วย โดยสาร PAHs บางชนิดเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเมตาบอไลท์โดยเอมไซม์ Cytochrome P-450 ทำให้เกิดการเติมหมู่ไฮดรอกซี (-OH) ที่เป็นวงเบนซินได้เป็นสารอนุพันธุ์ Epoxide ซึ่งเป็นสารที่ว่องไวมาก สามารถสร้างพันธะโควาเลนต์ได้ดีกับสารพวกโปรตีนและกรดนิวคลีอิก จากการศึกษาตำแหน่งบนโครงสร้าง DNA พบว่า เบสและหมู่ฟอสเฟต เป็นตำแหน่งที่เกิดการสร้างพันธะโควาเลนต์กับสารก่อมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5.2 ความเป็นพิษต่อพืช

PAHs เป็นพิษต่อพืชทั้งในด้านการยับยั้งการเจริญเติบโตและส่งผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยา เช่น การสังเคราะห์ด้วยแสงหรือการดูดซึมแร่ธาตุ ตัวอย่างเช่น B(a)P ส่งผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงและการหายใจของพืชโดยทำลายคลอโรฟิลล์และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งอิเล็กตรอน ทำให้พืชที่สัมผัส PAHs เกิดสีเหลือง (Chlorosis) ขึ้นทำให้พืชเหี่ยวเฉาโดยลดแรงดันเต่งภายในเซลล์พืช ซึ่งเป็นผลมาจากการรบกวนการเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์และทำให้สมดุลของไอออนในเซลล์เสียไป PAHs สามารถละลายเข้าสู่ส่วนที่เป็นกรดไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ และไปรบกวนการทำงานเป็นเยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ (Meudec *et al.*, 2007)

PAHs หลายชนิดเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยเฉพาะการเจริญเติบโตของราก และเป็นพิษต่อการเจริญของต้นอ่อนมากกว่าการงอก ความเป็นพิษของ PAHs นี้แตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของพืช ความสามารถในการระเหยของ PAHs และสภาพแวดล้อมของการทดสอบ (Smith *et al.*, 2006) ตัวอย่างเช่น Ren *et al.*, (1996) รายงานว่า แอนทราซีน เบนโซเอไพรีนและฟลูโอแรนทรีน มีผลต่อน้ำหนักสดของต้น*Brassica napus L.* น้อย แต่ยับยั้งน้ำหนักสดของรากมากกว่า Sverdru *et,al* (2003) พบว่า ดินปนเปื้อนฟลูโอแรนทรีน ไพรีน ฟีแนนทรีนหรือฟลูออรีน มีผลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นอ่อนของหญ้าไรน์ Trifolium pretenseและ Synapsis alba โดยค่าการแสดงผลกระทบ 20% (EC20) ของน้ำหนักสดของสารชนิดต่าง ๆ เป็น ฟลูโอแรนทรีน 140-650 mg/kg ฟลูออรีน 55-380 mg/kg ฟีแนนทรีน 37-300 mg/kg และ ไพรีน 49-1300 mg/kg และไม่มีผลต่อการงอกยกเว้น T. pretense เพาะในดินปนเปื้อนฟลูออรีน 950 mg/kg ค่าความเป็นพิษพิจารณาจากน้ำหนักแห้งต่ำกว่าค่าที่พิจารณาจากน้ำหนักสด แสดงว่า PAHs ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักสดมากกว่า Eom *et al.*, (2007) รายงานว่าดินปนเปื้อน PAHs หลายชนิดรวมกัน 2,634 mg/kg ยับยั้งเฉพาะการเจริญระยะแรกของต้นอ่อนผักกาดหอม และ ผักกวางตุ้ง (17 วัน) โดยพิจารณาทั้งจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง แต่ไม่มีผลต่อการงอก

PAHs เป็นสารที่มีความเป็นพิษหลายประการโดยความเป็นพิษของ PAHs นั้นขึ้นกับมวลโมเลกุลของ PAHs และชนิดของพืช PAHs มวลโมเลกุลต่ำเป็นพิษสูง ในขณะที่พืชตระกูลถั่วและพืชตระกูลหญ้ามีแนวโน้มทนทานต่อ PAHs ได้ดี ซึ่งพืชสองกลุ่มนี้เป็นพืชกลุ่มที่มีศักยภาพในการใช้ฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนด้วย PAHs (Kirk *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตาม ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมเป็นอีกสิ่งหนึ่งที่มีผลต่อความเป็นพิษของ PAHs โดยเฉพาะปริมาณสารอินทรีย์และ pH ของดินตัวอย่างเช่น ข้าวโพดและถั่วมีความทนทานต่อดินปนเปื้อน PAHs ที่มี pH 5.5-7.0 ไม่ต่างกัน (Maliszewska-Kordybach and Smreczak, 2000) แต่ในดินที่มี pH 3.3 ข้าวโพดแสดงความทนทานต่อ PAHs มากกว่าพืชตระกูลถั่วอย่างชัดเจน (Chouychai *et al.*, 2007) ซึ่งส่วนหนึ่งเนื่องจากข้าวโพดทนทานต่อความเป็นกรดมากกว่าพืชตระกูลถั่วด้วย (Yan *et al.*, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่าง ๆ

1. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

GC-MS สามารถวิเคราะห์สาร Benzo(a)pyrene ได้ GC เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ของสารที่เราสนใจซึ่งเป็นเทคนิคนี้เหมาะที่จะใช้กับสารที่มีคุณสมบัติพิเศษคือสามารถระเหยกลายเป็นแก๊ส ได้เมื่อถูกความร้อน และกลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ในสารตัวอย่าง จะอาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อเฟส 2 เฟส คือเฟสอยู่นิ่งกับเฟสเคลื่อนที่

ข้อดี : สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบทั่วไปและแบบเฉพาะเจาะจงสูง สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบทั่วไปและแบบเฉพาะเจาะจงให้ Sensitivity ที่สูง สามารถบ่งชี้ชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างได้ สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ

ข้อเสีย : ไม่สามารถวิเคราะห์สารที่มีขั้วสูงหรือน้ำหนักโมเลกุลสูงได้ เนื่องจากสารเหล่านี้ไม่สามารถกลายเป็นไอได้หมด สารบางชนิดถ้าอุณหภูมิที่ใช้วิเคราะห์สูงเกินไปจะทำให้สารสลายตัว

2. Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID)

GC-FID เป็นเทคนิควิเคราะห์ที่เหมาะกับสารที่สามารถถูก Oxidize ได้ใน hydrogen/air flame ได้แก่สารที่มี C-H bonds ในโมเลกุลนั่นหมายความว่า Organic compounds ส่วนมากสามารถใช้ Detector ชนิดนี้จึงนำมาใช้สำหรับการที่วิเคราะห์เป็น Benzo(a)pyrene

ข้อดี : มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารอินทรีย์ มีความว่องไวสูง มี linearity ในช่วงกว้าง และไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ มีอุณหภูมิขีดจำกัดเป็น 400 องศาเซลเซียส

ข้อเสีย : ในการใช้ FID จะเกิดกระบวนการสันดาปในเปลวไฟจะให้ไอน้ำเกิดขึ้น ดังนั้นจะต้องให้เปลวไฟอุณหภูมิมากกว่า 100 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการควบแน่นของน้ำ เพราะว่าถ้าไอน้ำถูกควบแน่นอาจจะรวมกับตัวทำละลาย หรือสารตัวอย่างที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบจะทำให้เกิดการกัดกร่อนขึ้นและทำให้สภาพความว่องไว

3. High performance liquid chromatography (HPLC)

HPLC เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจอยู่ในตัวอย่าง ซึ่งจะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน อาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบในเฟสอยู่นิ่งของคอลัมน์ โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นตัวพาไป สารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้จะขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟสเคลื่อนที่ โดยสารผสมตัวใดที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสเคลื่อนที่ก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่นิ่งก็จะถูกแยกออกมาที่หลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) และสัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่าโครมาโตแกรม (Chromatogram)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดี : สามารถตรวจได้ทั้งเชิงคุณภาพวิเคราะห์ และเชิงปริมาณวิเคราะห์ มีความถูกต้อง ความแม่นยำ ความว่องไว และความจำเพาะเจาะจงที่สูงกว่าเทคนิคอื่น สามารถตรวจวัดปริมาณตัวอย่างในปริมาณความเข้มข้นต่ำถึงระดับ ppb ได้

ข้อเสีย : มีราคาแพง และค่าใช้จ่ายในการซ่อมบำรุงสูง

สำหรับงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ทำการเลือกใช้เครื่องมือ High performance liquid chromatography (HPLC) เนื่องจากสามารถวิเคราะห์สาร Benzo(a)pyrene ได้โดยอยู่ในเงื่อนไขของเครื่องมือ และงบประมาณที่มีอยู่

2.3 การเตรียมตัวอย่างโดยใช้เทคนิค Solid Phase Extraction

การเตรียมตัวอย่างก่อนฉีดเข้าระบบ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และ Gas Chromatography (GC) เป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก เนื่องจากสิ่งสกปรกในตัวอย่างสามารถทำให้ column (ที่มีราคาแพง) และระบบอุดตันได้ถ้า column ของระบบ GC อุดตัน เราสามารถล้างด้วย solvent แล้วทำให้ประสิทธิภาพของ column นั้นกลับดีขึ้นได้ส่วน column ของระบบ HPLC นั้นทำได้ยากกว่าเพราะฉะนั้นวิธีที่สุด คือ การป้องกันไม่ให้สิ่งสกปรกเข้าไปสะสมในระบบหรือ column ได้ โดยมีการเตรียมตัวอย่างที่ดีและถูกต้องนั่นเอง

การเตรียมตัวอย่างเป็นขั้นตอนที่ต้องใช้เวลามาก ประมาณได้เป็น 60-80% ของเวลาทั้งหมดที่นักเคมีใช้ไปกับการวิเคราะห์ นอกเหนือจากเวลาที่ต้องเสียไปแล้ว เรายังสูญเสีย Solvent ไปอีกด้วย จากการประเมินทั่วไปพบว่าเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างที่ใช้กันมากที่สุดคือ Liquid-Liquid Extraction (LLE) LLE มีข้อเสียตรงที่อาจเกิด emulsion กรณีใช้กับตัวอย่างที่เป็นเนื้อเยื่อ การที่ต้องใช้เครื่องแก้วมากมายทำ ให้เป็นการเพิ่มสิ่งสกปรกต่าง ๆ ที่จะมารบกวนการวิเคราะห์ให้มากขึ้น ผลที่ได้ก็อาจไม่ถูกต้อง solvent ที่ใช้มีราคาแพงและใช้ในปริมาณมาก ดังนั้นเราควรลดปริมาณการใช้ลง และควรคำนึงถึงการทิ้ง solvent เหล่านั้นหลังการใช้งานว่ามีผลต่อสิ่งแวดล้อมอย่างไรด้วย Solid Phase Extraction (SPE) เป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่สามารถนำ มาใช้แทน LLE ได้โดยไม่ต้องสิ้นเปลือง ค่าใช้จ่ายมาก วิธีของ SPE มีหลักการคล้ายกับ LLE ตรงที่ใช้หลักการ partition เหมือนกัน แต่ทว่า partition ไม่ได้เกิดระหว่างของเหลวกับของเหลวเหมือนกับของ LLE แต่จะเกิดระหว่างของแข็ง (คือ absorbent ที่อยู่ในแท่ง SPE) กับของเหลวหรือ solvent

ข้อดีของ SPE มีอยู่มาก แต่ที่สามารถสรุปให้เห็นเด่นชัดมีดังนี้คือ

1. ลดปริมาณ solvent ที่จำเป็นต้องใช้ลง
2. ประหยัดเวลา
3. ลดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้น้อยลงหรือเหลือขั้นตอนเดียว
4. สามารถใช้กับระบบการเตรียมตัวอย่างแบบอัตโนมัติได้
5. เลือกใช้ได้กับ solvent หลายชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจะเห็นว่า SPE เป็นเทคนิคที่ปัจจุบันนิยมใช้กันมากที่สุดในการเตรียมตัวอย่าง การใช้ SPE ไม่เพียงแต่ทำความสะอาดตัวอย่างขจัดสารที่รบกวนการวิเคราะห์ออกเท่านั้น แต่ยังเป็นการช่วยยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์ด้วย

ขั้นตอนการใช้ SPE มีขั้นตอนง่าย ๆ 4 ขั้นตอนตามลำดับดังนี้

1. Condition เป็นการเตรียม sorbent หรือ packing ที่บรรจุอยู่ในแท่ง SPE ให้พร้อมรองรับตัวอย่าง
2. Load เป็นการใส่ตัวอย่างลงไปเพื่อให้จับกัน sorbent
3. Rinse เป็นการขจัดเอาสารที่จับกับ sorbent ได้น้อยหรือจับอยู่ที่ส่วนผิวของ sorbent ออก
4. Elution เป็นการดึงเอาสารที่เราสนใจที่เกาะกับ sorbent ออก เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

วิธีเลือก SPE

ที่จริงแล้วการเลือก SPE ไม่ยากอย่างที่คิด หลักการเลือก Sorbent นั้นให้ดูว่าสารที่เราสนใจเป็นพวกที่ละลายน้ำหรือไม่ละลายน้ำ (Hydrophilic หรือ Hydrophobic) ให้เลือก sorbent ที่มี polarity ตรงกับสารที่เราจะแยก ตัวอย่างเช่นถ้ามีสารที่ละลายได้ดีในน้ำเป็นพวกที่มีประจุคือสามารถแตกตัวที่ค่า pH หนึ่ง ตัวอย่างนี้จะใช้ sorbent เป็น ion exchanger โดยใช้ anion สำหรับสารที่มีประจุลบ และ cation สำหรับสารที่มีประจุบวก ตัวอย่างการเลือก cartridge หรือ solvent

ตารางที่ 2.8 Solid Phase Extraction (SPE) ชนิดต่าง ๆ

Sorbent หรือ Packing Material	คุณสมบัติที่ผิว	การวิเคราะห์ที่ใช้
C_{18}	Hydrophobic bonded silica	- แยกสาร Hydrophobic ออกจากสารละลาย aqueous - ยา และ metabolite ของยาในเลือด น้ำเหลืองและปัสสาวะ - สารอินทรีย์ปริมาณน้อยในตัวอย่างน้ำ น้ำเสีย - กรดอินทรีย์ ในพวกเครื่องดื่มและไวน์ - Peptide ในตัวอย่างเลือด น้ำเหลือง และของเหลวในร่างกาย
C_8	Hydrophobic non-polar bonded	- แยกสาร Hydrophobic ออกจากสารละลาย aqueous - ใช้เมื่อต้องการให้สาร retain น้อยลงกว่าแบบ C18 - ยาและ metabolite ของยาในเลือด น้ำเหลืองและปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sorbent หรือ Packing Material	คุณสมบัติที่ผิว	การวิเคราะห์ที่ใช้
		- Peptide ในตัวอย่างเลือด น้ำเหลือง และของเหลวในร่างกาย
Silica	Hydrophilic Polar (Slightly basic)	- แยกสารละลายที่มี polarity ต่ำถึงปานกลางออกจากลารละลาย non-aqueous - ไวตามิน A D E K - ยาฆ่าแมลง - ไขมันชนิดต่าง ๆ - สารสกัดจากธรรมชาติ pigment จากพืช - สารอินทรีย์สังเคราะห์
Florisil	Hydrophilic Polar (Slightly basic)	- แยกสารละลายที่มี polarity ต่ำถึงปานกลางออกจากสารละลาย non-aqueous - วิธีตาม AOAC และ EPA - ตัวอย่างที่มีไขมันสูง - ยาฆ่าแมลง ยาฆ่าวัชพืช ในอาหารและอาหารสัตว์ - สาร Polychlorinated biphenyls ใน Transformer oil
Alumina A	Hydrophilic Polar (Acidic)	- แยกสาร Hydrophilic ออกจากสารละลาย non-aqueous - มีสมบัติเป็น Cation exchanger เล็กน้อย - แยกน้ำตาล คาเฟอีน ในเครื่องดื่มประเภทโคลา-ไวตามินในอาหารและอาหารสัตว์ - ยาปฏิชีวนะ - สารผสมในอาหาร และอาหารสัตว์
Alumina N	Hydrophilic Polar (Neutral)	- แยกสาร Hydrophilic ออกจากสารละลาย non-aqueous - ยาฆ่าวัชพืช - ปิโตรเลียม และ น้ำมัน - สารผสมในอาหาร - สารอินทรีย์สังเคราะห์
Alumina B	Hydrophilic Polar (Basic)	- แยกสาร Hydrophilic ออกจากสารละลาย non-aqueous - มีสมบัติเป็น Cation exchange เล็กน้อย - ยาฆ่าแมลง ยาฆ่าวัชพืช น้ำเสีย - พวก Steroid ต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sorbent หรือ Packing Material	คุณสมบัติที่ผิว	การวิเคราะห์ที่ใช้
Accell plus CM	Hydrophilic Polar (acidic) Cation exchange	- แยกพวก Ion ที่มีประจุบวก ในสารละลาย aqueous หรือ non-aqueous - สกัดโปรตีน เอนไซม์ และ Immunoglobulin ต่าง ๆ ที่มีสภาวะเป็นด่างอ่อน - สารอินทรีย์สังเคราะห์ - แยก Peptide ขนาดต่าง ๆ
Accell Plus QMA	Hydrophilic Polar (Basic) Anion exchange	- แยก Ion ที่มีประจุลบในสารละลาย aqueous หรือnon-aqueous - สกัดโปรตีน เอนไซม์ ที่มีฤทธิ์เป็นกรด และกรดอ่อน - แยก Immunoglobulin ต่าง ๆ - แยก Peptide ขนาดต่าง ๆ - แยก pigment ที่มีฤทธิ์เป็นกรด จากไวน์ น้ำผลไม้ อาหาร - แยกสารพวก Phenolic ต่าง ๆ
Aminopropyl NH_2	Hydrophilic moderately polar (Slightly basic)	- ใช้เป็น weak anion exchanger - ยาและ metabolite ของยา - อุตสาหกรรมปิโตรเลียม และ lube oil - Saccharides - สารพวก Phenol และ pigment พวก Phenolic
Cyanopropyl CN	Hydrophobic moderately non-polar (Neutral)	- วิเคราะห์สารที่ละลายใน aqueous หรือ organic - ยาและ metabolite ของยา จากน้ำในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย - metabolite จากเชื้อราและผลิตภัณฑ์จากการหมัก - ยาฆ่าแมลง - Peptide ที่มีโครงสร้างเป็นสาร Hydrophobic
Diol	Hydrophobic moderately non-polar neutral phase	- วิเคราะห์สารที่ละลายใน aqueous หรือ organic - ธาตุที่มีปริมาณน้อยในน้ำ - ยาปฏิชีวนะในเครื่องสำอาง - แยก Peptide และโปรตีนต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 โครมาโตแกรมของเหลวสมรรถนะสูง High performance liquid chromatography (HPLC)

เทคนิคโครมาโตแกรมของเหลวสมรรถนะสูง High performance liquid chromatography (HPLC) เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่ใช้เทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบในเฟสอยู่นิ่งของคอลัมน์ โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นตัวพาไป สารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้ จะขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟสเคลื่อนที่ โดยสารผสมตัวใดที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสเคลื่อนที่ ก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่นิ่งก็จะถูกแยกออกมาที่หลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้ จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) และสัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโตแกรม (Chromatogram)

2.3.1 ชนิดของโครมาโทกราฟีเหลว

โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูงแบบคอลัมน์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามชนิดของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) และเฟสนิ่ง โดยเรียกชื่อเฟสเคลื่อนที่ก่อนเฟสนิ่ง คือ

1. Liquid-solid chromatography ใช้ของเหลวเป็นเฟสเคลื่อนที่และใช้ของแข็งเป็นเฟสนิ่ง ซึ่งแบ่งย่อยออกเป็น 4 ชนิดคือ

1.1 Gel filtration chromatography ใช้เฟสนิ่งเป็นเม็ดเจลที่มีรูขนาดต่างบรรจุในคอลัมน์ทำให้โมเลกุลของสารที่มีขนาดเล็กเคลื่อนที่เข้าไปในโมเลกุลของเจล เป็นผลให้เคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ได้ช้ากว่าสารตัวอย่างที่มีโมเลกุลใหญ่กว่า

1.2 Ion exchange chromatography เป็นการใช้เฟสนิ่งที่มีประจุแลกเปลี่ยน (counter ion) เมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนประจุกับโมเลกุลของสารตัวอย่างที่มีประจุ โมเลกุลของสารตัวอย่างนั้นจะถูกจับไว้ในคอลัมน์ หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนคุณสมบัติของของเหลวซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนพีเอช การเพิ่มปริมาณไอออนแลกเปลี่ยน จะทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ในอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับจำนวนประจุและความแรงของประจุที่จับกับเฟสนิ่ง

1.3 Affinity chromatography แยกสารออกจากกันโดยอาศัยความแตกต่างของความจำเพาะทางชีวภาพ(biological specificity) โดยการสร้างเฟสนิ่งที่มีความจำเพาะกับสารที่ต้องการแยกตัวอย่างเช่น enzyme/substrate antigen/antibody hormone/receptor เมื่อเฟสเคลื่อนที่พาโมเลกุลของสารที่ต้องการแยกผ่านมา เฟสนิ่งจะจับเฉพาะโมเลกุลที่มีความจำเพาะไว้ หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนคุณสมบัติของเฟสเคลื่อนที่ ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนพีเอช เพิ่มความเข้มข้นของเกลือ หรือเติมตัวแย่งจับเฟสนิ่งลงไป ซึ่งจะทำให้โมเลกุลของสารที่ต้องการถูกขับไล่ออกมาจากคอลัมน์

1.4 Adsorption chromatography เป็นการแยกสารโดยใช้เฟสนิ่งที่เป็นตัวดูดซับ (Adsorbent) ที่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และไม่ละลายในเฟสเคลื่อนที่ ตัวอย่างเช่น แป้ง,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลลูโลส, MgO, Silicic acid, Magnesium silicate ซึ่งการดูดซับอาศัยความมีสภาพมีขั้ว (polarity) และจำนวนหมู่ที่ทำให้เกิดสภาพมีขั้ว (polarity group) ของเฟสนิ่งและสารตัวอย่าง ส่วนการไล่สารต่าง ๆ ออกจากคอลัมน์อาศัยการเปลี่ยนสภาพมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่ กล่าวคือถ้าเฟสเคลื่อนที่มีสภาพมีขั้วสูง สารที่ละลายน้ำได้ดีกว่าจะเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ได้เร็วกว่า

2.Liquid-liquid chromatography หรือพาทิชันโครมาโทกราฟี (Partition chromatography) เป็นวิธีการแยกสารที่ใช้ของเหลวเป็นเฟสเคลื่อนที่ และใช้ของเหลวที่เคลือบอยู่บนของแข็งเป็นเฟสนิ่ง ซึ่งสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างช้า ๆ แยกสารออกจากกันโดยอาศัยความแตกต่างในการละลายของสารตัวอย่างในของเหลวซึ่งเป็นเฟสนิ่งและของเหลวซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ นิยมใช้สำหรับแยกสารที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกันออกจากกัน ตัวอย่างเช่น การแยกกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ออกจากกัน

สำหรับของแข็งที่ใช้เป็นตัวค้ำจุน (supporter) นิยมใช้ silicic acid หรือ silica gel แต่อาจใช้โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูงแป้ง เซลลูโลส หรืออะลูมินา แทนได้ ส่วนเฟสนิ่งที่เคลือบบนของแข็งอาจเป็น น้ำ บัฟเฟอร์ กรดแก่ด่างแก่ แอลกอฮอล์ หรือไนโตรมีเทน ฯลฯ

โดยปกติจะใช้เฟสนิ่งที่มีสภาพมีขั้วสูงเพื่อแยกสารที่มีสภาพขั้วสูงออกจากกัน และใช้เฟสเคลื่อนที่จะมีสภาพขั้วต่ำกว่ามาไล่สารต่าง ๆ ออกจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพขั้วสูงกว่าจะออกมาทีหลัง เรียกวิธีการนี้ว่า โครมาโทกราฟีแบบปกติ หรือ normal phase chromatography แต่ในบางกรณีจะใช้เฟสนิ่งที่มีสภาพขั้วต่ำ ตัวอย่างเช่น สารอินทรีย์ประเภท n-alkyl ซึ่งมีคาร์บอน 8 หรือ 18 โมเลกุล เพื่อแยกสารที่มีสภาพขั้วต่ำออกจากกัน และใช้เฟสเคลื่อนที่มีสภาพขั้วสูงกว่าไล่สารที่ต้องการออกมาจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพขั้วต่ำกว่าจะออกมาช้ากว่า ซึ่งเรียกว่า โครมาโทกราฟีแบบผันกลับ หรือ reversed phase chromatography

นอกจากนี้ โครมาโทกราฟีทั้งสองชนิดยังอาจใช้วิธีการเติมสารที่มีประจุตรงข้ามลงในเฟสเคลื่อนที่ ตัวอย่างเช่น เติม tetramethyl ammonium chloride, triethylamine, tetra butyl ammonium chloride ลงในเฟสเคลื่อนที่เมื่อสารตัวอย่างมีประจุบวก หรือเติม perchloric acid, sodium alkyl sulfonate หรือ methane sulfonic acid ลงในเฟสเคลื่อนที่เมื่อสารตัวอย่างมีประจุลบ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกสาร เรียกวิธีการนี้ว่า ion-pair chromatography สำหรับกลไกที่ทำให้สามารถแยกสารได้ดีขึ้นเกิดจากการที่ไอออนที่มีประจุต่างกันรวมกันกลายเป็นสารที่ไม่มีประจุหรือมีประจุลดลงแล้วเคลื่อนตัวเข้าสู่เฟสนิ่งหรือเฟสเคลื่อนที่ที่มีสภาพขั้วต่ำ ทำให้สารตัวอย่างเคลื่อนที่ได้ช้าลง ซึ่งงานวิจัยนี้จะอธิบายกลไกการแยกแบบนอร์มอลเฟสและรีเวิร์สเฟสโครมาโทรกราฟี

นอร์มอลเฟสและรีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟี (Normal phase and reversed phase chromatography) พาร์ติชันโครมาโทกราฟีสามารถแบ่งตามสภาพมีขั้วสัมพัทธ์ของเฟสอยู่นิ่งและเฟสเคลื่อนที่ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. นอร์มอลเฟสโครมาโทกราฟี (normal phase) หมายถึงโครมาโทกราฟีที่เฟสอยู่นิ่งมีความเป็นขั้วมากกว่าเฟสเคลื่อนที่เช่นเดียวกับการใช้ซิลิกาในแอบซอร์ชันโครมาโทกราฟีแต่จะใช้เป็นบอนเดดเฟสที่มีขั้ว ได้แก่ เฟสที่มีหมู่ diol เฟสที่มีหมู่ amino

2. รีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟี (reversed phase chromatography) ได้แก่ โครมาโทกราฟีที่เฟสอยู่นิ่งมีความเป็นขั้วน้อยกว่าเฟสเคลื่อนที่จะนิยมใช้บอนเดดเฟสที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นไฮโดรคาร์บอนและเฟสเคลื่อนที่ที่มีขั้ว

เมื่อใช้นอร์มอลเฟสและรีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟีลำดับของการแยกสารจะเป็นไปตามลำดับของความมีขั้วแต่จะสลับกันดังนี้

รีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟีสารที่มีขั้วมากที่สุดจะออกมาก่อนแต่นอร์มอลเฟสโครมาโทกราฟีสารที่มีขั้วน้อยที่สุดจะออกมาก่อนนั่นคือเป็นไปตามความสามารถในการละลายกับเฟสเคลื่อนที่นั่นเองสามารถเปลี่ยนพฤติกรรมการคงอยู่ของสารโดยเปลี่ยนสภาพมีขั้วของเฟสอยู่นิ่งตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 ลักษณะของนอร์มอลเฟสและรีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟี

พารามิเตอร์	นอร์มอลเฟส	รีเวิร์สเฟส
สภาพมีขั้วของเฟสอยู่นิ่ง	สูง	ต่ำ
สภาพมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่	ต่ำ – ปานกลาง	ปานกลาง
ตัวอย่างเฟสเคลื่อนที่	Heptane/$CHCl_3$	CH_3OH/H_2O
ลำดับการแยกสาร	สารมีขั้วน้อยที่สุดออกมาก่อน	สารที่ขั้วมากที่สุดออกมาก่อน
เพิ่มเวลาการคงอยู่ของสสาร	ลดความมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่	เพิ่มความมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่

ที่มา: พัฒนา (2547) อ้างถึง Skoog & Leary, (1992)

แม้ว่านอร์มอลเฟสและรีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟสามารถใช้ได้กับสารคล้าย ๆ กันแต่รีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟซึ่งใช้เฟสอยู่นิ่งเป็นกลไกการแยกได้รับความนิยมมากกว่าเนื่องจากข้อเด่นหลายประการของรีเวิร์สเฟสดังนี้

1. แยกสารที่มีสภาพมีขั้วต่างกันได้มากโดยเลือกใช้กลไกการแยกได้หลายชนิด เพื่อปรับให้ได้การแยกที่ต้องการ
2. ใช้เฟสเคลื่อนที่ที่ราคาไม่แพงและสมดุลของเฟสเคลื่อนที่กับเฟะอยู่นิ่งเกิดได้เร็ว
3. ทดลองได้ง่ายรวดเร็วและให้ความเที่ยงดี
4. สามารถปรับเพื่อแยกสารไอออนิกหรือสารที่ถูกไอออไนซ์ได้โดยใช้เทคนิคของไอออนแพริงหรือไอออนซัพเพรสชัน

ในปัจจุบันนั้น นอร์มอลเฟสโครมาโทกราฟีได้เข้ามาแทนที่แอบซอร์พชันโครมาโทกราฟี (ที่ใช้ซิลิกาเป็นเฟสอยู่นิ่ง) เมื่อเปรียบเทียบซิลิกา (ในแอบซอร์พในโครมาโทกราฟี) และบอนเดดเฟสของนอร์มอลเฟสแล้วจะพบว่าการใช้ระบบนี้จะให้พีคที่มีรูปร่างดี (ไม่มีหาง) การปรับสมดุลของระบบเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ก็เกิดได้รวดเร็วกว่าและความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่มีมากกว่า นอกจากนี้นอร์มอลเฟสโครมาโทกราฟียังให้การเลือกเฉพาะที่แตกต่างได้มากกว่าขึ้นกับธรรมชาติของบอนเดดเฟสที่มีหมู่ฟังก์ชันที่มีขั้วซึ่งมีหลายชนิดให้เลือก ได้แก่ บอนเดดเฟสที่มีหมู่ฟังก์ชันที่มีขั้วน้อย เช่น หมู่ diol cyano หรือ nitro และบอนเดดเฟสที่มีหมู่ฟังก์ชันที่มีขั้วมาก เช่น หมู่ amino

รีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟี (Reversed phase chromatography) เป็นระบบโครมาโทกราฟีที่นิยมใช้มากที่สุด ในรีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟีคือ octadecyl silane (ODS) ซึ่งเป็น n-alkane ที่มีคาร์บอน 18 อะตอมเฟสอยู่นิ่งอื่น ๆที่ใช้ได้แก่ C หรือเฟสอยู่นิ่งที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็น phenyl โดย phenyl จะมีขั้วมากกว่า alkyl cyclohexyl และ phenyl กระบวนการดูดซับในแอบซอร์พชันโครมาโทกราฟี น้ำจะเป็นตัวทำละลายที่มีความแรงในการชะมากที่สุดโดยน้ำจะเกิดอันตรกิริยาอย่างแรงกับแอคทีฟไซท์ของซิลิกาและอะลูมินา ดังนั้นการดูดซับของสารจึงเกิดได้ยากและสารจะถูกชะอย่างรวดเร็ว แต่ในระบบรีเวิร์สเฟสจะตรงข้ามกันคือ น้ำไม่สามารถละลายหมู่แอลคิล (ส่วนไม่มีขั้ว) ได้ และน้ำไม่เกิดอันตรกิริยากับหมู่แอลคิลเช่นกัน ดังนั้นน้ำจึงจัดเป็นตัวชะที่อ่อนที่สุดซึ่งจะชะสารออกมาช้าที่สุด เมื่อเฟสเคลื่อนที่มีน้ำมากขึ้นจะทำให้ค่าเวลาในการคงอยู่ของสารนานขึ้น นั่นคือเฟสเคลื่อนที่มีความสามารถในการชะสารลดลง

สารที่เกิดอันตรกิริยาได้ดีกับผิวของเฟสนิ่งจะเป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย (ค่อนข้างมีขั้ว) การคงอยู่ของสารละลายลดลงตามลำดับดังนี้

Aliphatics > induced dipoles (เช่น CCl) > permanent dipoles (เช่น CHCl) > Lewis base ที่อ่อน (ได้แก่ ethers aldehydes ketones) > Lewis base ที่แก่ (เช่น amines) > Lewis acid ที่อ่อน (เช่น alcohol phenols) > Lewis acid ที่แก่ (carboxylic acid)

การคงอยู่ของสารจะเพิ่มตามจำนวนอะตอมของ C ที่เพิ่ม (และสารประกอบที่มีโครงสร้างเป็นสายโซ่ถึง (branched-chain) จะถูกชะออกมาเร็วกว่าโครงสร้างปกติของมัน กฎทั่วไปของระบบรีเวิร์สเฟส คือการคงอยู่ของสารจะเพิ่มเมื่อเพิ่มพื้นที่สัมผัสระหว่างโมเลกุลของสารและเฟสอยู่นิ่งหรืออาจกล่าวว่าเป็นการเพิ่มจำนวนโมเลกุลของน้ำซึ่งจะถูกปล่อยออกมาในระหว่างการดูดซับของสาร

2.3.2 องค์ประกอบ HPLC

2.3.2.1 เฟสอยู่นิ่ง (Stationary Phases)

เฟสอยู่นิ่งหรือสารที่บรรจุในคอลัมน์ของ HPLC มีหลายชนิดจะประกอบด้วยตัวพยุงที่มีผิวเป็นหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ถ้าเฟสอยู่นิ่งมีปริมาณคาร์บอนมาก การคงอยู่ของสารในคอลัมน์จะนานยิ่งขึ้น สมบัติทั่วไปที่ต้องพิจารณาถึงสำหรับเฟสอยู่นิ่งคือ ขนาดของอนุภาค รูปร่างและรูพรุนของอนุภาค และเคมีของพื้นผิว ซึ่งในที่นี้จะอธิบายรวมกับส่วนของคอลัมน์

คอลัมน์สำหรับ HPLC จะเป็นท่อขนาดเล็กภายในคอลัมน์ต้องเรียบมีหลายขนาดแล้วแต่การใช้งานดังแสดงในตารางที่ 2.10

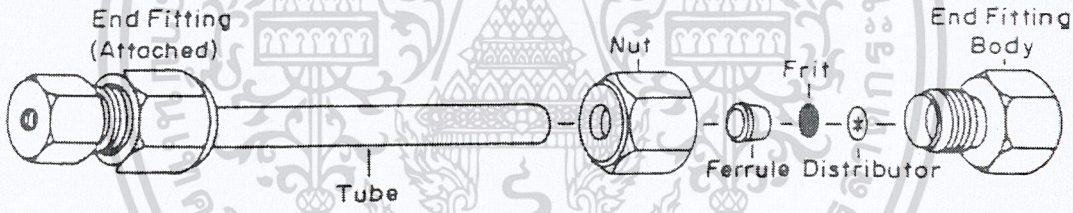
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.10 คอลัมน์ชนิดต่าง ๆ

ชนิด	เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน (mm)	ความยาว (CM)	ขนาดตัวอย่าง (mg)	อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (mL min^{-1})
Microbore Analytical	1-2	7-30	0.01	0.1
Standard Analytical	3-5	7-30	0.1	1.0
Preparative	5-20	25-50	10.0	10.0

ที่มา: พัฒนา (2547)

ส่วนประกอบของคอลัมน์ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ส่วนบนของคอลัมน์จะมีส่วนกำกับทิศทาง (distributor) เพื่อให้สารละลายที่ฉีดเข้าไปตรงกลางคอลัมน์ และจะมีแผ่นรอง หรือ gauze หรือ frit อยู่ด้านบน และด้านล่างคอลัมน์ เพื่อกันไม่ให้สารหลุดออกจากคอลัมน์ ซึ่ง frit จะมีรูพรุนที่มีขนาดเล็กกว่าขนาดอนุภาคที่ใช้ จะใช้ frit ขนาดรูพรุน สำหรับอนุภาคขนาด 5 µm แต่ถ้าขนาดอนุภาคเป็น 3 µm หรือ น้อยกว่าจะใช้ frit ที่มีรูพรุนขนาด ถ้าfrit อุดตันควรเปลี่ยนหรือทำความสะอาดโดยใช้ ตรงปลาย 2 ข้างของคอลัมน์จะมีส่วนข้อต่อเพื่อต่อคอลัมน์เข้ากับท่อแคปพิลลารีในส่วน



ต่าง ๆของเครื่อง

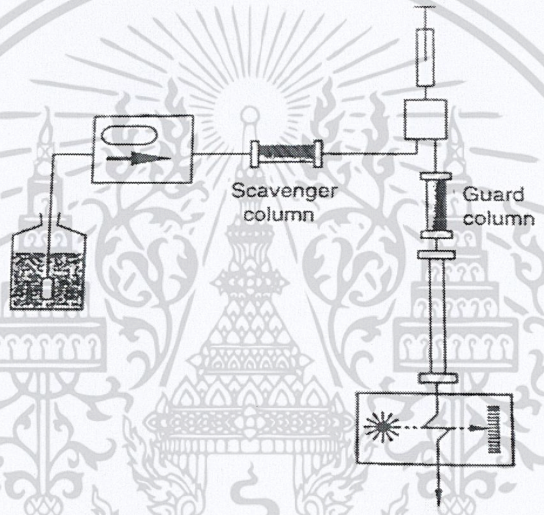
รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของคอลัมน์

ที่มา: พัฒนา (2547) อ้างถึง Lindsay (1992)

สกาเวนเจอร์คอลัมน์และการ์ดคอลัมน์ (Scavenger columns and guard columns) สกาเวนเจอร์คอลัมน์เป็นคอลัมน์สั้นที่ใส่ไว้ระหว่างปั๊มและส่วนฉีดสาร (แสดงรูปที่ 2.2) สกาเวนเจอร์คอลัมน์จะช่วยทำหน้าที่คล้ายกับเป็นตัวกรองที่จะกรองเอาสารปนเปื้อนออกจาก เฟสเคลื่อนที่เพื่อป้องกันคอลัมน์วิเคราะห์ (analytical column) หรือคอลัมน์ที่ใช้แยก (separation column) นอกจากนี้สกาเวนเจอร์คอลัมน์ยังทำหน้าที่เป็น saturation column เมื่อแยกสารด้วยเฟสเคลื่อนที่ที่แรงมาก เช่น เฟสเคลื่อนที่ที่มีความแรงไอออนมากหรือมี pH สูงโดยทั่วไปจะใช้สกาเวนเจอร์คอลัมน์กับคอลัมน์ที่บรรจุเฟสอยู่นิ่งเป็นซิลิกา และเฟสเคลื่อนที่ที่มี pH มากกว่า 8 สกาเวนเจอร์คอลัมน์มักบรรจุด้วยซิลิกาที่มีอนุภาคขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การ์ดคอลัมน์เป็นคอลัมน์สั้น ๆ ที่ใส่ระหว่างส่วนฉีดสารและคอลัมน์วิเคราะห์การ์ดคอลัมน์จะช่วยยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์วิเคราะห์โดยการ์ดคอลัมน์จะป้องกันคอลัมน์วิเคราะห์จากสิ่งเจือปนในตัวอย่างหรือสารที่อาจคงอยู่นานหรือจากอนุภาคแขวนลอยจากปั๊มหรือส่วนฉีดสารนอกจากนี้การ์ดคอลัมน์อาจเป็น saturation column เพื่อป้องกันการละลายของเฟสอยู่นิ่งในคอลัมน์วิเคราะห์ได้เช่นเดียวกับสกาเวนเจอร์คอลัมน์เนื่องจากสารตัวอย่างจะต้องผ่านการ์ดคอลัมน์ด้วย ดังนั้นวัสดุที่บรรจุในการ์ดคอลัมน์จะต้องเหมือนกับในคอลัมน์วิเคราะห์และเพื่อลดการแพร่ของพีคอัตราส่วนของปริมาตรของการ์ดคอลัมน์และคอลัมน์วิเคราะห์ควรอยู่ในช่วง 1: 15 ถึง 1: 25 และการ์ดคอลัมน์ไม่ควรเพิ่มการแพร่ของตัวอย่างเกิน 5-10% การ์ดคอลัมน์มีความจำเป็นมากในการวิเคราะห์ตัวอย่างทางชีวภาพหรือตัวอย่างของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม (beverage) ควรตรวจสอบและเปลี่ยนการ์ดคอลัมน์ตามจำนวนการวิเคราะห์หรือตามความเหมาะสม



รูปที่ 2.2 สกาเวนเจอร์คอลัมน์และการ์ดคอลัมน์
ที่มา: พัฒนา (2547) อ้างถึง Meyer (1998)

สำหรับวัสดุที่บรรจุลงในคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูงนั้น มีทั้งชนิดรูปร่างไม่แน่นอน (irregular) และชนิดเม็ดทรงกลมโดยทั่วไปชนิดเม็ดทรงกลมขนาดเล็กที่มีชั้นรูพรุน (porous layer beads) ขนาดสั้นจะมีขนาด 30 ถึง 45 ไมครอน (a) หรืออนุภาครูพรุนขนาดเล็ก microporous particle) ที่มีรูพรุนยาวจะมีขนาด 20 ถึง 40 ไมครอน หรืออนุภาครูพรุนขนาดเล็กที่มีรูพรุนสั้นจะมีขนาด 5 ถึง 10 ไมครอน วัสดุบรรจุชนิดเม็ดทรงกลมขนาดเล็กที่มีชั้นรูพรุนขนาดสั้นนี้ประกอบด้วยของแข็ง (solid) แกนกลางที่ไม่มีรูพรุน (non-porous core) ซึ่งปกติจะเป็นซิลิกา (silica) และมีชั้นรูพรุนบางเคลือบผิวนอกไว้ขนาดของชั้นรูพรุนบางนี้มีขนาด 1/30 ถึง 1/40 ของเส้นผ่าศูนย์กลางของแกนกลางของของแข็ง (solid core) ชั้นรูพรุนบางที่เคลือบผิวนอกแกนกลางของของแข็งอาจเป็นซิลิกา อะลูมินา (alumina) หรือเรซินแบบไอออนเอ็กซ์เชนจ์ (ion-exchange resin) วัสดุบรรจุชนิดนี้สามารถบรรจุแบบแห้ง (dry packed) เข้าในคอลัมน์ได้เลยโดยไม่ต้องทำให้วัสดุเปียกก่อนที่จะบรรจุข้อเสียของวัสดุนี้คือ พื้นผิวของชั้นรูพรุนบางที่เคลือบผิวนอกแกนกลางของของแข็งมีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้อย (1 ถึง 25 ตารางเมตรต่อกรัม) ซึ่งทำให้มีความจุ (capacity) ต่ำดังนั้นคอลัมน์ชนิดนี้มักเกิดการรับภาระเกินพิกัด (overload) ได้ง่าย

วัสดุบรรจุชนิดอนุภาครูพรุนขนาดเล็กที่ใช้ในโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูงที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5, 10 หรือ 20 ไมครอนนั้นจะมีพื้นที่ผิวมาก (200 ถึง 300 ตารางเมตรต่อกรัม) การใช้ขนาดของอนุภาครูพรุนที่มีขนาดเล็กจะทำให้ได้ประสิทธิภาพของคอลัมน์สูงกว่าขนาดของอนุภาครูพรุนที่มีขนาดใหญ่อย่างไรก็ตามการเลือกขนาดของอนุภาคเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ขึ้นอยู่กับลักษณะงานเป็นสำคัญ

โดยทั่วไปวัสดุที่บรรจุลงในคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูงนั้นควรมีคุณสมบัติดังนี้คือ

1. เป็นสารที่มีความแข็งทนต่อความดันสูงได้เป็นอย่างดีและไม่เสียรูปทรงขณะใช้งาน
2. เป็นวัสดุที่มีรูปร่างทรงกลม (spherical) หรือมีรูปร่างไม่แน่นอน (irregular)
3. เป็นวัสดุที่อาจมีผิวเรียบ (pellicular) หรือมีรูพรุน (porous)
4. เป็นวัสดุที่มีขนาดต่าง ๆ กันตั้งแต่ 3 ถึง 45 ไมครอนขึ้นอยู่กับการใช้งาน

นอกจากคุณสมบัติของวัสดุที่บรรจุลงในคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูงดังที่กล่าวแล้วในตารางที่ 2.11 ได้สรุปคุณสมบัติของวัสดุที่บรรจุลงในคอลัมน์ดังนี้

ตารางที่ 2.11 คุณสมบัติของวัสดุที่บรรจุลงในคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง

คุณสมบัติ	วัสดุที่บรรจุลงในคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง			
	วัสดุที่ผิวรูพรุน		วัสดุที่มีผิวเรียบ	
	รูปร่างไม่แน่นอน (> 20 ไมครอน)	ทรงกลม (>20 ไมครอน)	รูปร่างไม่แน่นอนหรือทรงกลม (>20 ไมครอน)	ทรงกลม (> 20 ไมครอน)
- ประสิทธิภาพ	ต่ำ - ปานกลาง	ต่ำ - ปานกลาง	สูง	ปานกลาง–สูง
- ความเร็ว	ปานกลาง	ปานกลาง	เร็ว	เร็ว
- คุณลักษณะของวัสดุที่บรรจุลงในคอลัมน์	พอใช้	ดี	พอใช้	ดีมาก
- ขนาดสารละลายตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปในคอลัมน์	มาก	มาก	มาก	น้อย
- ราคา	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	สูง

ที่มา: พัฒนา (2547) อ้างถึง Snyder and Kirkland (1979)

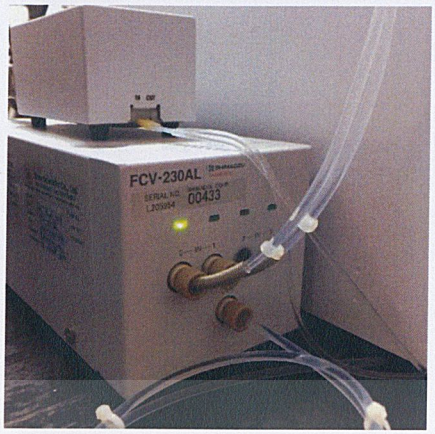
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.2 เฟสเคลื่อนที่

เฟสเคลื่อนที่หรือตัวชะ (eluent) หรือตัวทำละลาย (solvent) มีหน้าที่ช่วยในการแยกสารละลายตัวอย่าง เฟสเคลื่อนที่ที่ดีต้องมีอัตราส่วนผสมของสารที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่คงที่ ไม่มีตะกอนและไม่มีฟองอากาศละลายอยู่ในตัวเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์ทั้งสิ้น ดังนั้นเฟสเคลื่อนที่จะต้องถูกกรองผ่านแผ่นกรอง (membrane filter) ขนาด 0.45 ไมครอนทุกครั้งก่อนใช้งานเพื่อกำจัดตะกอน มิฉะนั้นจะทำให้เกิดการอุดตันในระบบได้ ซึ่งมีผลทำให้ความดันสูงผิดปกติ และเป็นอันตรายต่อคอลัมน์ การกรองโดยใช้แผ่นกรองนั้นจะต้องมีชุดกรองแผ่นกรอง ถ้าเฟสเคลื่อนเป็นน้ำหรือบัฟเฟอร์ (buffer) ซึ่งไม่มีสารละลายอินทรีย์เป็นส่วนประกอบจะใช้แผ่นกรองที่ทำจากเซลลูโลส (cellulose) แต่ถ้าเฟสเคลื่อนที่มีส่วนประกอบของตัวทำละลายอินทรีย์จะใช้แผ่นกรองที่ทำจากสารสังเคราะห์ไนลอน (nylon) พีทีเอฟอี (PTFE) หรือโพลีเอไมด์ (polyamide) เท่านั้น เพราะเฟสเคลื่อนที่ที่มีส่วนประกอบของตัวทำละลายอินทรีย์สามารถละลายแผ่นกรองที่ทำจากเซลลูโลสได้และมีผลต่อการวิเคราะห์

ฟองอากาศในเฟสเคลื่อนที่เป็นปัญหาที่พบในโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถะสูง ฟองอากาศเล็ก ๆ ในเฟสเคลื่อนที่จะรวมตัวเป็นฟองอากาศขนาดใหญ่อุดตันตามท่อ ปั๊ม คอลัมน์ และตัวตรวจวัดได้ซึ่งอาจทำให้เกิดโกสท์พีค (ghost peak) หรือพีคประหลาดในโครมาโตแกรม (chromatogram) และมีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณสารตัวอย่าง ฟองอากาศขนาดเล็กในเฟสเคลื่อนที่ที่เกิดขึ้นในโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถะสูงมีผลทำให้ความดันของปั๊มไม่คงที่ ซึ่งสังเกตได้จากมิเตอร์วัดความดันมีการแกว่งไปมา ดังนั้นการกำจัดฟองออกจากเฟสเคลื่อนที่จึงเป็นสิ่งสำคัญ วิธีการกำจัดฟองอากาศออกจากเฟสเคลื่อนที่มีอยู่หลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้ก๊าซเฉื่อยพ่นลงไปในเฟสเคลื่อนที่ ก๊าซเฉื่อยที่นิยมใช้คือฮีเลียม (helium) ฮีเลียมจะไปแทนที่อากาศที่ละลายอยู่ในเฟสเคลื่อนที่ และป้องกันไม่ให้อากาศกลับมาละลายในเฟสเคลื่อนที่อีก การกำจัดฟองอากาศโดยวิธีดูดเอาอากาศออกจากเฟสเคลื่อนที่โดยใช้ระบบสุญญากาศเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันเพราะเป็นวิธีที่ลงทุนน้อยกว่าวิธีการใช้ก๊าซฮีเลียม แต่จะใช้เวลานานในการกำจัดฟองอากาศออกจากเฟสเคลื่อนที่โดยเฉพาะเฟสเคลื่อนที่ที่มีน้ำหรือบัฟเฟอร์เป็นส่วนประกอบ การใช้อ่างอัลตราโซนิก (ultrasonic bath) เป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันโดยอาศัยการใช้คลื่นเสียงเขย่าเพื่อทำให้ฟองอากาศหลุดออกไปจากเฟสเคลื่อนที่ นอกจากวิธีการกำจัดฟองอากาศออกจากเฟสเคลื่อนที่ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว วิธีการกำจัดฟองอากาศโดยใช้เครื่องกำจัดก๊าซอัตโนมัติเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เครื่องกำจัดก๊าซอัตโนมัติจะต่อเข้าระหว่างเฟสเคลื่อนที่และปั๊ม เครื่องนี้จะมีแผ่นกรองกรองเอาฟองอากาศที่ละลายอยู่ในเฟสเคลื่อนที่ออก ฟองอากาศที่ถูกกรองจะถูกดูดออกด้วยระบบสุญญากาศ เฟสเคลื่อนที่ที่ผ่านแผ่นกรองจะเข้าสู่ปั๊มและไม่มีฟองอากาศปนอยู่ในเฟสเคลื่อนที่นั้นเลย ดังนั้นจึงไม่มีปัญหาเรื่องฟองอากาศที่จะรบกวนระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถะสูง (รูปที่ 2.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 เครื่องกำจัดก๊าซอัตโนมัติ

ไม่ควรเก็บตัวทำละลายหรือเฟสเคลื่อนที่ในขวดพลาสติกเนื่องจาก plasticizer และสารประกอบที่มีมวลต่อโมลต่ำของภาชนะอาจแพร่เข้าไปในสารละลายได้ภาชนะที่ใส่เฟสเคลื่อนที่ควรต้องปิดอาจปิดแน่น (air-tight) หรือใช้วิธีอื่น ๆ ตามความเหมาะสม

ระดับของเฟสเคลื่อนที่ในภาชนะบรรจุจะต้องท่วม filter อยู่เสมอนั่นคือจะต้องไม่ให้ปั๊มแห้งนอกจากนี้ท่อที่นำเฟสเคลื่อนที่จากภาชนะเข้าปั๊มจะต้องมีขนาดค่อนข้างใหญ่โดยทั่วไปจะใช้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 mm

2.3.2.3 บทบาทของสภาพมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่ (Role of mobile phase polarity)

การกระจายตัวสัมพัทธ์ของสารระหว่างเฟสอยู่นิ่งและเฟสเคลื่อนที่จะเกิดเนื่องจากการเกิดอันตรกิริยาของสารที่มีต่อเฟสนั้น ๆ ซึ่งจะทำให้เกิดการแยกได้ ความแรงของการเกิดอันตรกิริยาจะถูกกำหนดโดยชนิดและความแรงของแรงระหว่างโมเลกุล (intermolecular forces) ที่มีอยู่ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ได้แก่สภาพมีขั้วของสารที่เป็นเฟสอยู่นิ่งและเฟสเคลื่อนที่

แรงระหว่างโมเลกุล จะเกิดจากโมเลกุลของสารมีโมเมนต์ขั้วคู่ (dipole moment) ซึ่งจะเกิดอันตรกิริยาเฉพาะกับโมเลกุลอื่นที่มีขั้วคู่เช่นกันหรือถ้าสารสามารถให้หรือรับโปรตอนได้ดีก็จะเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลอื่นโดยการเกิดพันธะไฮโดรเจนนอกจากนี้โมเลกุลอาจเกิดอันตรกิริยาด้วยแรงที่อ่อนกว่า เช่น แรงของการกระจายตัว (dispersion forces) โดยอาศัยการโพลาไรส์ (polarization) จากโมเลกุลอื่น ๆ

สภาพมีขั้ว (polarity) ในโครมาโทกราฟีจะหมายถึงดรรชนี (index) ของความสามารถของสารที่จะเกิดอันตรกิริยากับสารอื่นโดยวิธีต่าง ๆ สภาพมีขั้วจะใช้อธิบายได้กับทั้งสารที่จะแยกเฟสอยู่นิ่งและเฟสเคลื่อนที่โมเลกุลของสารที่มีขั้วมากจะเกิดอันตรกิริยาอย่างแรงกับโมเลกุลอื่นโดยผ่านกลไก (mechanism) ต่าง ๆ ข้างต้นโดยสารที่มีความเป็นขั้วใกล้เคียงกันจะเกิดอันตรกิริยากันได้ดีกว่าพวกที่มีขั้วต่างกันนั่นคือ like dissolves like นั่นเอง

ถ้าเฟสอยู่นิ่งและเฟสเคลื่อนที่มีขั้วใกล้เคียงกันก็จะเกิดอันตรกิริยากับสารได้คล้ายกันจะทำให้เกิดการแยกไม่ดีดังนั้นเฟสอยู่นิ่งที่เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนซึ่งจะไม่มีขั้ว (non-polar)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะต้องใช้เฟสเคลื่อนที่ที่มีขั้ว ในขณะที่เฟสอยู่นิ่งที่ค่อนข้างมีขั้ว (เช่นซิลิกา) จะต้องการเฟสเคลื่อนที่ที่มีขั้วน้อยการคงอยู่ของสารจะสามารถเปลี่ยนได้โดยเปลี่ยนความมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่ (ซึ่งทำได้ง่ายกว่าการเปลี่ยนเฟสอยู่นิ่ง)

2.3.2.4 ตัวตรวจวัด Detector

เครื่องตรวจวัดทำหน้าที่ตามผลของสารละลายที่ออกจากคอลัมน์ ซึ่งเป็นสัญญาณของเครื่องตรวจวัดจะเป็นสัญญาณไฟฟ้า จะสอดคล้องกับสมบัติของเฟสเคลื่อนที่ หรือสารที่จะตรวจวัด โดยตัวตรวจที่ดีควรมีคุณสมบัติในการตอบสนองเร็ว มีความไวในการตรวจวัดสูง มีความจำเพาะเจาะจงกับสารที่ตรวจวัด มีผลการวิเคราะห์ที่เหมือนกันเมื่อวัดสารชนิดเดียวกันในแต่ละครั้ง มีผลการวิเคราะห์ที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสารนั้น ๆ ผลการวิเคราะห์ไม่ควรขึ้นอยู่กับชนิดของเฟสเคลื่อนที่ใช้ หรือผลจากอุณหภูมิ หรืออัตราเร็วของการไหลของเฟสเคลื่อนที่ไม่ละลายตัวทำละลายและไม่ทำให้เกิดการกระจายตัวของแถบ ในการเลือกตัวตรวจวัดเพื่อการใช้งานควรมีคุณลักษณะของตัวตรวจวัด ดังนี้ (พัฒนา, 2547 อ้างถึง Hamilton and Sewell, 1977)

1) สัญญาณรบกวน (Noise) สัญญาณรบกวนของตัวตรวจวัดควรต่ำหรือไม่มีเลย โดยเฉพาะเมื่อวัดสารละลายตัวอย่างที่มีปริมาณต่ำ ๆ สัญญาณรบกวนนี้อาจเกิดขึ้นจากผลรวมของคลื่นความถี่สูงหรืออาจเกิดจากอุณหภูมิรอบ ๆ ของตัวตรวจวัดที่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงอัตราเร็วของการไหลของเฟสเคลื่อนที่ หรืออาจเกิดจากความผิดปกติของการเคลื่อนที่ของลูกสูบของปั๊ม

2) ขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of detection) ขีดจำกัดในการตรวจวัดหรือความไวของตัวตรวจวัดหมายถึงปริมาณต่ำสุดของสารละลายตัวอย่างที่วัดได้ ขีดจำกัดในการตรวจวัดนี้จะขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ของระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถะสูง เช่น ชนิดของเฟสเคลื่อนที่ ชนิดของคอลัมน์ที่ใช้ และความไวของตัวตรวจวัด เป็นต้น

3) ช่วงการเคลื่อนที่เป็นแนวตรง (Linear dynamic range) ช่วงการเคลื่อนที่เป็นแนวตรงหมายถึงสัญญาณของสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวัดต้องเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณหรือความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างนั้น ๆ เมื่อนำค่าดังกล่าวมาเขียนเป็นเส้นมาตรฐาน (standard curve) จะได้เส้นมาตรฐานเป็นเส้นตรง ช่วงการเคลื่อนที่เป็นแนวตรงควรเกิดขึ้นได้ทั้งกับสารที่มีปริมาณมากและสารที่มีปริมาณน้อย เพราะจะทำให้สามารถวิเคราะห์สารที่มีปริมาณมากและสารที่ปริมาณน้อยได้พร้อมกัน

4) ปริมาตรของโฟลเซลล์ (Volume of flow cell) ปริมาตรของโฟลเซลล์ตัวตรวจวัดควรมีปริมาตรต่ำหรือมีปริมาตรน้อยกว่า 1 ใน 10 ของปริมาตรพีค (peak) ที่ต้องการวัด โดยทั่วไปปริมาตรของตัวโฟลเซลล์ตัวตรวจวัดจะมีขนาด 8 ไมโครลิตรและผนังเซลล์ต้องเรียบ มิฉะนั้นพีคที่ได้จะมีหางและเซลล์ตัวตรวจวัดต้องทำด้วยควอร์ต (quartz) นอกจากนี้โฟลเซลล์ตัวตรวจวัดต้องเป็นแบบแอร์ไทท์ (airtight) คือ มีระบบป้องกันไม่ให้อากาศเข้าเซลล์ตัวตรวจวัด ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดฟองอากาศในโฟลเซลล์ตัวตรวจวัด ในการต่อท่อระหว่างคอลัมน์และตัวตรวจวัดผู้ใช้โครมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โตกราฟีของเหลวสมรรถะสูงต้องใช้ท่อที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดเล็กและใช้ท่อสั้นเพื่อป้องกันการเกิดการกระจายตัวของแถบขึ้น

5) การตอบสนองของตัวตรวจวัด (Detector response) ตัวตรวจวัดที่ดีต้องมีการตอบสนองในการวัดสารละลายตัวอย่างที่เร็ว ตัวตรวจวัดที่มีการตอบสนองช้าจะทำให้ได้พีคที่ป้านและเตี้ยหรือได้พีคที่มีรูปร่างผิดปกติ อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปเวลาในการตอบสนองจะอยู่ในช่วง 5 ถึง 10 วินาทีขึ้นอยู่กับชนิดตัวตรวจวัด

เครื่องตรวจวัดที่ใช้ใน HPLC สามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ

1) Bulk property detector เป็นเครื่องตรวจวัดที่อาศัยความแตกต่างของคุณสมบัติทั่วไประหว่างสารละลายตัวอย่างและเฟสเคลื่อนที่ เช่น มาตราดัชนีหักเห (refractive index detector) ตัวตรวจวัดวิสโคเมทริค (viscometric detector) และตัวตรวจวัดคอนดัคทิวิตี (conductivity detector)

2) Solute property detector เป็นเครื่องตรวจวัดที่อาศัยสมบัติที่จำเพาะของสาร ตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) ตัวตรวจวัดเฟลมไอออนไนซ์เซชัน (flame ionization detector, FID) และตัวตรวจวัดอิเลคตรอนแคพเชอร์ (electron capture detector, ECD) เป็นต้น

ในที่นี้จะขอกล่าวถึงตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) และตัวตรวจวัดแบบวัดสารเรืองแสง (Fluorescence photometer)

- ตัวตรวจวัดยูวีเป็นตัวตรวจวัดที่นิยมใช้มากที่สุดในโครมาโตกราฟของเหลวสมรรถะสูง ตัวตรวจวัดยูวีนี้สามารถใช้กับสารละลายตัวอย่างที่มีคุณสมบัติดูดกลืนแสงได้ในช่วง 190 ถึง 900 นาโนเมตร สารละลายตัวอย่างต่อไปนี้สามารถใช้กับตรวจวัดยูวีได้ เช่น โอลีฟิน (olefins) อะโรมาติก (aromatics) และสารประกอบที่ประกอบด้วย C=O, C=S, -N=O และ -N=N- เป็นต้น ตัวตรวจวัดนี้มีแหล่งให้พลังงานรังสีคือหลอดไอปรอทความดันต่ำ (low pressure mercury vapor lamp) ซึ่งมีแถบแสง (spectrum) ที่เด่นที่ 254 นาโนเมตร ส่วนแถบแสงอื่น ๆ จะต้องมีตัวกรองเพื่อให้ได้แสงเอกรงค์ (monochromatic light) ก่อน (พัฒนา, 2547) Hamilton และ Sewell, 1977) ตัวดูดซับ (absorbers) ที่ความยาวคลื่นนี้มีค่าสัมประสิทธิ์เอ็กซ์ทิงค์ชัน (extinction coefficients) ระหว่าง 10^2 ถึง 10^{-1} เดซิเมตร^{3}โมล$^{-1}$เซนติเมตร$^{-1}$ การใช้แหล่งให้พลังงานรังสีที่เป็นไอปรอทความดันปานกลางและใช้ตัวกรองที่เหมาะสมสามารถใช้วัดสารละลายตัวอย่างได้ที่ความยาวคลื่น 254, 280, 313, 334 และ 365 นาโนเมตร

ปกติปริมาตรโฟลเซลล์ในตัวตรวจวัดยูวีมีขนาด 8 ไมโครลิตร มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตรและยาว 10 มิลลิเมตร ตัวตรวจวัดยูวีบางรุ่นสามารถหยุดเฟสเคลื่อนที่และสแกน (scan) หาความยาวคลื่นที่เหมาะสมของตัวถูกละลายในการตรวจวัดตัวถูกละลายนั้น ๆ ได้นอกจากนี้ตัวตรวจวัดชนิดนี้บางรุ่นสามารถวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างได้ทีเดียวสองความยาวคลื่น ตัวตรวจวัดแบบนี้เหมาะสำหรับวัดปริมาณสารละลายตัวอย่างที่ประกอบด้วยองค์ประกอบที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความคลื่นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวตรวจวัดแบบวัดสารเรืองแสง (Fluorescence photometer) เป็นตัวตรวจวัดที่มีความจำเพาะกับสารที่เรืองแสงเท่านั้น ตัวตรวจวัดชนิดนี้มีความไวสูงและสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสารที่ไม่เรืองแสงได้ เช่น สารสเทียรอยด์ (steroids) ซึ่งสามารถทำให้สารที่ไม่เรืองแสงเกิดการเรืองแสงได้เมื่อให้ความร้อนกับกรดซัลฟิวริก (พัฒนา, 2547) อ้างถึง Hamilton และ Sewell, 1977) ตัวตรวจวัดชนิดนี้มีตัวกรองหลายความยาวคลื่น (multi wavelength filter) ซึ่งตัวกรองกระตุ้น (excitation filter) จะเป็นตัวเลือกความยาวคลื่นหรือช่วงความยาวคลื่นที่สารละลายตัวอย่างสามารถถูกกระตุ้นได้ สารละลายตัวอย่างที่เรืองแสงจะปล่อยพลังงาน (emit energy) ออกมาที่ความยาวคลื่นสูงกว่าและผ่านไปยังตัวกรอง การปลดปล่อย (emission filter) เพื่อกำจัดรังสีตกกระทบ และตรวจวัดด้วยโฟโตมัลทิไพลเออร์ (photomultiplier)

ตัวตรวจวัดชนิดนี้มีความไวมากกว่าตัวตรวจวัดที่อาศัยหลักการการดูดกลืนแสง (absorbance detector) ถึง 100 เท่า แต่เส้นมาตรฐานจะไม่เป็นเส้นตรง (non-linear) เหมือนกับตัวตรวจวัดที่อาศัยหลักการการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงในตัวตรวจวัดที่อาศัยหลักการการดูดกลืนแสง ดังนั้นช่วงเส้นฐานที่เป็นเส้นตรงโดยเฉลี่ยจะให้ในช่วงไดนามิกส์ 10^6 (พัฒนา, 2547) อ้างถึง Hamilton และ Sewell, 1977)

2.3.3 การเลือกชนิดของโครมาโทกราฟี

การเลือกชนิดของโครมาโทกราฟีเป็นหัวใจสำคัญที่ทำให้งานวิเคราะห์ที่ได้ประสบผลสำเร็จและมีความน่าเชื่อถือยิ่งขึ้นเพื่อได้โครมาโตแกรมที่มีอำนาจการแยกที่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตามไม่ใช่เรื่องง่ายที่จะได้โครมาโตแกรมดังที่กล่าว แต่ก็มีแนวทางที่ผู้วิเคราะห์สามารถใช้เป็นหลักเบื้องต้นในการเลือกชนิดของโครมาโทกราฟีเพื่อวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างที่จะให้ได้โครมาโตแกรมที่ดีขึ้น

หลักเบื้องต้นในการเลือกชนิดของโครมาโทกราฟี (Principles of chromatography type selection) มีดังนี้ คือ

2.3.3.1 คุณสมบัติของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Sample properties for analysis)

ผู้วิเคราะห์ต้องทราบคุณสมบัติของสารที่ต้องการวิเคราะห์ก่อนทำการวิเคราะห์ทุกครั้ง เช่น ถ้าสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์มีคุณสมบัติเป็นกลาง การเลือกชนิดของโครมาโทกราฟีควรเลือกชนิดรีเวิร์สเฟส (reverse phase) หรือโพลาร์บอนดิดเฟส (polar bonded phase) ในขณะที่ถ้าสารละลายตัวอย่างมีคุณสมบัติเป็นกรดหรือด่างอาจเลือกใช้โครมาโทกราฟีชนิดรีเวิร์สเฟสหรือไอออนแพร์ (ion-pair) หรือโพลาร์บอนดิดเฟส ในกรณีสารละลายตัวอย่างเป็นกลุ่มโพลีเมอร์สังเคราะห์การเลือกชนิดของโครมาโทกราฟีควรเลือกชนิดรีเวิร์สเฟส หรือแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic-interaction) หรือไอออนเอ็กซ์เชนจ์ (ion-exchange) หรือไซซ์เอ็กซ์คลูชันสำหรับไครัลไอโซเมอร์ (chiral isomer) ควรเลือกชนิดโครมาโทกราฟี ชนิดรีเวิร์สเฟส (reverse phase) ดังแสดงในตารางที่ 2.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.12 การเลือกชนิดของโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถะสูง

คุณสมบัติของสารละลายตัวอย่าง	ชนิดของโครมาโตแกรม
กลาง	Reverse phase หรือ Polar bonded phase
กรดหรือด่าง	Reverse phase หรือ Ion pair หรือ Polar bonded phase
โพลีเมอร์สังเคราะห์	Size exclusion
โปรตีน	Reverse phase หรือ Hydrophobic interaction หรือ Ion exchange
ไครัลไอโซเมอร์	Reverse phase หรือ Normal phase

ที่มา: ศุภลักษณ์ (2552) อ้างถึง Dolan และ Snyder, (19962)

2.3.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของโครมาโตรกราฟี (Determination of chromatograph optimum condition)

หลังจากเลือกชนิดของโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถะสูงได้แล้วผู้วิเคราะห์ต้องหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับโครมาโตรกราฟที่ได้เลือกมากับสารละลายตัวอย่าง โดยทั่วไปในการใช้เฟสเคลื่อนที่กับโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถะสูงชนิดรีเวิร์สเฟสคือ

1) ใช้เฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนไทร์ล (Acetonitrile)

2) ถ้าได้ค่าแฟคเตอร์ความจุ (Capacity factor, k) สูงให้เปลี่ยนเป็นโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถะสูงชนิดนอร์มอลเฟส แต่ถ้าได้ค่าแฟคเตอร์ความจุต่ำให้ปรับด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์จนได้ค่าแฟคเตอร์ความจุอยู่ระหว่าง 1 ถึง 20 แล้วบันทึกค่าอะซิโตไนไทร์ลที่ใช้ไว้

3) กรณีสารละลายตัวอย่างสามารถแยกออกจากกันได้ แต่ได้พีคที่มีหาง (tailing peak) ให้เติมไตรเอทิลลามีนอะซิเทต (triethylamine acetate) 30 มิลลิโมลาร์ (mM) ลงไปในเฟสเคลื่อนที่ ส่วนในกรณีสารละลายตัวอย่างไม่สามารถแยกออกจากกันได้ให้เปลี่ยนจากการใช้อะซิโตไนไทร์ลในน้ำกลั่นบริสุทธิ์เป็นเมทานอล (methanol) ในน้ำกลั่นบริสุทธิ์โดยให้มีค่าความแรงของสารละลายเท่าเดิม

4) ถ้าสารละลายตัวอย่างยังไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ให้เปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่จากเมทานอลในน้ำกลั่นบริสุทธิ์เป็นเมทานอล ใน อะซิโตไนไทร์ลในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรเมื่อสังเกตเห็นว่าพีคเริ่มแยกออกจากกันให้เปลี่ยนสัดส่วนของเมทานอลในอะซิโตไนไทร์ลใหม่ จนสารละลายตัวอย่างแยกออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์

5) ถ้าสารละลายตัวอย่างยังไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ให้เปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่จากเมทานอลในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ (ในข้อ 3) เป็นเตตระไฮโดรฟิวแรน (tetrahydrofuran, THE) ในน้ำกลั่นบริสุทธิ์โดยให้มีค่าความแรงของสารละลายเท่าเดิม เมื่อสังเกตเห็นว่าพีคเริ่มแยกออกจากกันให้เปลี่ยน

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามใช้ในเชิงพาณิชย์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฟสเคลื่อนที่จากเตตระไฮโดรฟิวแรนในน้ำกลั่นบริสุทธิ์เป็นเตตระไฮโดรฟิวแรนในเมทานอล ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร

6) ถ้าสารละลายตัวอย่างยังไม่สามารถแยกออกจากกันได้ให้เปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่เป็นอะซิโตไนไทร์ลในเตตระไฮโดรฟิวแรนต่อน้ำกลั่นบริสุทธิ์ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร

7) ถ้าสารละลายตัวอย่างยังไม่สามารถแยกออกจากกันได้ให้เปลี่ยนวัฏภาคไหลเป็นอะซิโตไนไทร์ลในเมทานอลต่อเตตระไฮโดรฟิวแรน ต่อน้ำกลั่นบริสุทธิ์ในอัตราส่วน 1:1:1 โดยปริมาตร

8) ถ้าสารละลายตัวอย่างยังไม่สามารถแยกออกจากกันได้ให้เปลี่ยนเป็นโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงชนิดอื่นแทนรีเวิร์สเฟส

ตารางที่ 2.13 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับโครมาโทกราฟีที่เลือกมากับวัฏภาคไหล

วิธี	คอลัมน์	วัฏภาคไหล	สภาวะที่เลือก
รีเวิร์สเฟส	C_{18}, C_8, Phenyl, Trimethyl silyl, Cyano	น้ำ/สารละลายอินทรีย์	เลือกสารที่เป็นกลางหรือไม่แตกตัว ซึ่งละลายได้ในน้ำหรือในสารผสมอินทรีย์ในน้ำ
ไอออนแพร์	C_{18}, C_8, Cyano	น้ำ/สารละลายอินทรีย์ บัฟเฟอร์ควบคุมพีเอช	เลือกสารที่สามารถแตกตัวได้โดยเฉพาะด่างหรือแคทไอออน (cation) เมื่อใช้เวิร์สเฟสและไอออนแพร์ไม่ได้ผล สามารถนำมาเป็นทางเลือกในการแยกสารละลายตัวอย่างได้ ซึ่งใช้สำหรับสารละลายตัวอย่างที่ไม่ละลายในน้ำหรือสารผสมอินทรีย์ในน้ำ

ที่มา: พัฒนา (2547) อ้างถึง Snyder และ Kirkland, (1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3.3 สมบัติของตัวทำละลาย (Solvent properties)

สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถะสูงมีอยู่หลายชนิด ด้วยกันดังนั้นในการเลือกใช้ผู้ใช้ต้องเลือกให้เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารนั้น ๆ โดยทั่วไป สารละลายที่ใช้ควรมีคุณสมบัติดังนี้

1) สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่างอุปกรณ์ในระบบโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถะสูง

2) โดยทั่วไปสารละลายที่ใช้เป็นวัฏภาคไหลควรมีจุดเดือด 20 ถึง 50 องศาเซลเซียสและสูงกว่าอุณหภูมิที่ใช้แยกสารละลายตัวอย่างเนื่องจากสารละลายที่มีจุดเดือดต่ำเกินไปจะมีผลทำให้อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่เปลี่ยนไปซึ่งส่งผลถึงเวลาชะของสารละลายตัวอย่าง มักจะก่อปัญหาในเรื่องฟองขึ้นที่ปั๊ม นอกจากนี้ควรมีความหนืดไม่เกิน 5 เซนติพอยส์อุณหภูมิที่ใช้แยกสารละลายตัวอย่างในกรณีถ้าใช้สารละลายที่มีความหนืดสูงเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพในการแยกสารละลายตัวอย่างลดลง

3) การใช้สารละลายสองชนิดหรือมากกว่าสองชนิดขึ้นไปมาเป็นเฟสเคลื่อนที่นั้นจะต้องผสมเป็นเนื้อเดียวกันมิฉะนั้นจะทำให้เกิดปัญหาในการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่าง

4) สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ต้องมีความบริสุทธิ์สูงและไม่ก่อปัญหากับเครื่องตรวจวัด ในกรณีใช้ตัวตรวจวัดยูวี (UV detector) ผู้ใช้ควรเลือกสารละลายที่มียูวีคัทออฟ (UV cutoff) ให้เหมาะสมกับสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ตัวอย่างยูวีคัทออฟของสารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่

5) สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ควรหาได้ง่ายและราคาไม่สูงเกินไป

6) สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ผู้ใช้ต้องทราบวิธีใช้มีความปลอดภัยในการใช้งานและไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม

2.5 ปัญหาและสาเหตุ

ปัญหาที่พบได้บ่อยในเครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง มักจะแสดงออกมาในรูปแบบของการแยกสารที่ต้องการไม่ได้ หรือแยกไม่ดี ซึ่งมักเกิดจากสาเหตุต่าง ๆ ดังตารางที่ 2.14 และในบางครั้งเกิดจากสาเหตุร่วมกันหลาย ๆ สาเหตุ ซึ่งต้องพยายามตรวจสอบ แก้ไข ทีละสาเหตุจนกว่าเครื่องมือจะกลับสู่สภาพปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.14 ปัญหาและสาเหตุที่พบบ่อย

ปัญหา	สาเหตุ
Peak กว้าง	- ใส่สารตัวอย่างมากเกิน ควรแก้ไขโดยเจือจางสารตัวอย่าง - ฉีดสารตัวอย่างมากเกิน ควรลดปริมาณสารตัวอย่างลง - ประสิทธิภาพของคอลัมน์ไม่ดี - มีเวลาหน่วง (retention time) นานเกิน - เฟสเคลื่อนที่หนืดเกินไป
Peak มีหาง (tailing)	- ซิลิกาในคอลัมน์ถูกทำลายที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 °C ควรลดอุณหภูมิของคอลัมน์ลง - ซิลิกาในคอลัมน์ถูกทำลายเมื่อพีเอชสูงเกิน ควรลดพีเอชของคอลัมน์ลง
สารตัวอย่างออกมาจากคอลัมน์น้อย (poor recovery)	เฟสนิ่งหรือส่วนอุปกรณ์ดูดซับสารตัวอย่างไว้มาก
มี spike peak	- มีฟองอากาศในเฟสเคลื่อนที่ - มีฟองอากาศในคอลัมน์ ควรปิดฝาคอลัมน์ทุกครั้งที่เก็บ
มี ghost peak	- มีสารอื่นเจือปนลงไปในคอลัมน์
รั่วบริเวณตัวสูบ ตัวฉีด หรือตัวตรวจหา	- เปลี่ยนแหวนยางบริเวณข้อต่อและขันให้แน่น
ความไวลดลง (poor sensitivity)	- ใส่สารตัวอย่างน้อย - สายฉีดสารตัวอย่างอุดตัน - เฟสนิ่งหรือส่วนอุปกรณ์อื่น ๆดูดซับสารตัวอย่างไวมาก
เวลาหน่วงน้อยเกินไป	- อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เร็วเกิน - อุณหภูมิของคอลัมน์ไม่คงที่ - ใส่สารตัวอย่างมากเกินไป
เวลาหน่วงนานเกินไป	- อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ช้าเกิน - สารตัวอย่างจับกับเฟสนิ่งแน่นมาก
Base line ไม่คงที่	- มีฟองอากาศในตัวตรวจหา - เครื่องสูบมีอัตราการสูบของเหลวไม่คงที่ - ตัวตรวจหาสกปรก
ความดันของคอลัมน์สูงเกินไป	- คอลัมน์อุดตัน - จุลินทรีย์เติบโตในคอลัมน์ - เฟสเคลื่อนที่ตกตะกอน
ความดันของคอลัมน์ต่ำเกินไป	- ใช้เฟสเคลื่อนที่ไม่ถูกต้อง - อัตราการไหลออกของเฟสเคลื่อนที่ เคลื่อนที่เร็วเกินไปจากหลักการแยกสารของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กนกพร และจิตผกา (2558) ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ Benzo(a)pyrene (B(a)P) ในน้ำมันบริโภคซึ่ง B(a)P เป็น marker ของสารกลุ่ม Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) ในน้ำมันบริโภคผู้วิจัยได้ศึกษาและเลือกใช้เทคนิค liquid-liquid extraction ร่วมกับ solid phase extraction (SPE) ตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของ B(a)P ด้วย HPLC-FLD จากการทดสอบความถูกต้องของวิธี Method validation พบว่ามีความเหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟ มีความจำเพาะเจาะจงของสาร B(a)P ให้พีคที่เวลา 15.3 นาที โดยไม่ถูกรบกวนจากสารอื่น มีไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) เท่ากับ 0.9997 และ 0.9996 ตามลำดับ เหมาะสมกับการวิเคราะห์เอกลักษณ์และปริมาณของ B(a)P ทำการทดสอบความถูกต้องของวิธี Method validation โดยศึกษาช่วงวิเคราะห์และความเป็นเส้นตรง ความจำเพาะเจาะจงขีดจำกัดของการตรวจพบ ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ ความเที่ยง ร้อยละของการคืนกลับและการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดของวิธีวิเคราะห์ ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใช้สำรวจปริมาณการปนเปื้อนของ B(a)P ในน้ำมันพืชผ่านกรรมวิธีที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

จิตผกา และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษา Benzo(a)pyrene (B(a)P) ซึ่งเป็นเป็นสารประกอบในกลุ่ม Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) ที่เกิดจากปฏิกิริยาการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ หรือการสลายทางเคมีของสารอินทรีย์จากความร้อน จัดเป็นสารพิษชนิด probable human carcinogen หากได้รับอย่างต่อเนื่อง โดยการปรุงอาหารโดยวิธีปิ้งย่างกับเปลวไฟโดยตรงอาจทำให้เกิดสารนี้ได้ จึงได้ทำการศึกษาพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยการย่อยสลายตัวอย่างด้วยด่าง (saponify) จากนั้นแยก B(a)P ออกจากตัวอย่างด้วยวิธี solid phase extraction และได้กำจัดสารเจือปนอื่นด้วย Sep-Pak ชนิด C18 ตรวจวัดชนิดและปริมาณด้วย HPLC-Fluorescence detector ได้ทดสอบความใช้ได้ของวิธี Method validation โดยใช้หมูปิ้งเป็นตัวแทนของอาหารปิ้งย่าง พบว่ามีค่า Limit of detection เท่ากับ 0.3 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และ Limit of quantitation เท่ากับ 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีช่วงการวิเคราะห์ที่ให้ความสัมพันธ์แบบเส้นตรง (Linear working range) เท่ากับ 0.5 - 10.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า Correlation coefficient เท่ากับ 0.9893 และตลอดช่วง Linear working range มีความถูกต้องแสดงด้วย % Recovery เท่ากับ 88 – 95 มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ซ้ำ (Repeatability) แสดงด้วยค่า % RSD เท่ากับ 4.8 - 15.4 จากผลการทดสอบดังกล่าว พบว่าคุณลักษณะเฉพาะของวิธีเป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของสหภาพยุโรปใน Commission Directive 2005/10/EC 4 February 2005) ดังนั้นวิธีที่พัฒนานี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์เพื่อเฝ้าระวังอันตรายจากการได้รับสาร B(a)P จากการบริโภคอาหารปิ้งย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิรมล และคณะ (2555) งานวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับวิธีการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ได้ถูกพัฒนาขึ้นและตรวจสอบความใช้ได้สำหรับการวิเคราะห์ทางปริมาณของอัลลิวไพรอแคทีชอล (APC) 1 และยูกีนอล 2 ในสารสกัดของพลู งานวิจัยนี้ศึกษาผลการสกัดด้วยเทคนิคของไหลวิกฤตยวดยิ่งต่อคุณภาพของสารสกัดจากใบพลู กระบวนการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายต่างชนิด เพื่อสกัดใบพลูแห้งจะนำมาซึ่งความสามารถในการสกัดองค์ประกอบในอัตราส่วนที่ต่างกันของสารสำคัญในสมุนไพร โดยผลกระทบของตัวทำละลายต่อคุณภาพของสารสกัดใบพลูนี้ถูกศึกษาโดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญหลักที่ถูกพบในสารสกัด ได้แก่ APC 1 และยูกีนอล 2 ปัจจัยที่ชักนำสำหรับการสกัดสำคัญหลักเหล่านี้ศึกษาได้จาก HPLC ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณของยูกีนอล 2 เพิ่มขึ้นตามสภาพขั้วที่สูงขึ้นของตัวทำละลาย แต่ขณะเดียวกันปริมาณของสารที่ไม่ต้องการก็เพิ่มขึ้นด้วย การสกัดซ้ำแสดงให้เห็นว่าปริมาณของสารสำคัญเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 40.6 เป็นร้อยละ 55 โดยมวลและจากร้อยละ 10.7 เป็นร้อยละ 45.5 โดยมวลสำหรับ APC 1 และยูกีนอล 2 ตามลำดับ

สุรจิตร และคณะ (2556) งานวิจัยนี้ศึกษาคุณลักษณะของอนุภาค (Particulate matter, PM) และสารพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) ในไอเสียของเครื่องยนต์ดีเซลทั่วไปที่ใช้น้ำมันดีเซล (B0) น้ำมันไบโอดีเซล (B100) และน้ำมันผสม ไบโอดีเซล-ดีเซลที่มีปริมาณไบโอดีเซลเป็น 10% (B10) 20% (B20) 40% (B40) และ 60% (B60) และน้ำมันที่ผสมเอทานอล 5% 10% และ 20% ในน้ำมัน B20 B40 และ B60 ไอเสียที่ผ่านจากเครื่องเก็บตัวอย่างอนุภาคส่วนหนึ่งผ่านเข้าสู่ XAD-2 cartridge เพื่อเก็บตัวอย่างก๊าซหลังจากนั้นใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (IMPLC) ร่วมกับตัวตรวจวัด 2 ชนิดคือ Diode array detector (DAD) และ Fluorescence (FLD) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนทั้งตัวอย่างอนุภาคและตัวอย่างก๊าซผลการทดลองพบว่าปริมาณของอนุภาคโดยรวมเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของน้ำมันไบโอดีเซลและน้ำมันที่ผสมเอทานอลแต่ความเข้มข้นของสาร PAHs แต่ละชนิดทั้งในส่วนของก๊าซและส่วนของอนุภาคลดลงโดยผลรวมของสาร PAHs ทั้งหมดในไอเสียของเครื่องยนต์ดีเซลเมื่อใช้น้ำมันผสมไบโอดีเซลดีเซลเป็นเชื้อเพลิงลดลง 19.2-40.4% ในขณะที่การใช้น้ำมันผสมเอทานอล-ไบโอดีเซล-ดีเซลมีประสิทธิภาพในการลดลงได้มากกว่าเป็น 26.7-43.9% เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันดีเซลและโดยส่วนใหญ่กลุ่มสารที่พบเป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ ได้แก่ Naphthalene (Nap), Acenaphthylene (Acy), Acenaphthene (Ace) และ Fluorene (Fle) นอกจากนี้การใช้น้ำมันไบโอดีเซล (B100) สามารถลดค่า carcinogenic potency equivalent (B(a)P) ได้ 18% เมื่อเทียบกับการใช้น้ำมันดีเซล (B0)

Maria และคณะ (2012) เป็นการตรวจวิเคราะห์สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) ในตัวอย่างชาด้วย เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพร้อมตัววัดแสงฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งเป็นการศึกษานี้มุ่งเน้นไปที่การปนเปื้อนของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) 15 ชนิดตามคำแนะนำของ US Environmental Environment Protection Agency ในชาที่จัดจำหน่ายในอิตาลี 10 แบรนด์ ทำการวิเคราะห์โดยใช้ saponification, liquid Extraction และการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์ PAH ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพร้อมตัววัดแสงฟลูออเรสเซนต์ (HPLC-FLD) นอกจากนี้ยังมีรายงานการเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ การปนเปื้อนจะแสดงเป็นผลรวมของ PAHs ที่วิเคราะห์และอยู่ในช่วงระหว่าง 347 และ 4120 ng/L มีค่าเฉลี่ย 1675 ng/L PAHs 92% ที่พบมี 3-4 วงแหวน ในขณะที่ PAHs ที่มี 5 และ 6 วงแหวน พบ 7% และ 1% ตามลำดับ จากข้อมูลพบว่าสามตัวอย่างมีค่าเกินมาตรฐาน EU 2008 ที่กำหนดขึ้นสำหรับน้ำดื่ม ซึ่งผลรวมของ benzo(k)fluoranthene, benzo(b)fluoranthene, benzo(g,h,i)perylene, และ indeno(1,2,3-cd)pyrene ได้รับการพิจารณา (<100 ng/L) และสองตัวอย่างมีปริมาณ benzo(a)pyrene เกินระดับ 10 ng/L ที่อนุญาตให้ใช้

Faradian *et.al* (2015) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของ PAHs จากการหมักในเนื้อย่างทั้งหมด 6 กรรมวิธี 1) หมักขั้นพื้นฐานหมักกับน้ำตาล น้ำหัวหอมใหญ่ ขมิ้น ตะไคร้ เกลือ กระเทียม และอบเชย 2) หมักขั้นพื้นฐานกับน้ำมัน 3) หมักกับเครื่องหมักสำเร็จรูป 4) หมักขั้นพื้นฐานกับน้ำมันและน้ำมะนาว 5) หมักขั้นพื้นฐานกับน้ำมะนาว 6) หมักกับเครื่องหมักสำเร็จรูปกับมะขาม ระยะเวลาในการหมักมี 4 ช่วงเวลาคือ 0, 4, 5 และ 12 ชั่วโมงก่อนนำเนื้อไปย่างถ่านควบคู่ไปกับการ Clean up ด้วย SPE และทำการวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC-FLD จากการศึกษาพบว่าการหมักมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) พบว่า PAHs ลดลง 709 ในเนื้อที่ผ่านกรรมวิธีการหมักกับน้ำหนักที่มีความเป็นกรด (มีน้ำมะนาว 1.29%) หมักขั้นพื้นฐานกับน้ำมะนาว > หมักขั้นพื้นฐาน-หมักขั้นพื้นฐานกับน้ำมันและน้ำมะนาว > หมักขั้นพื้นฐานกับน้ำมันเป็นลำดับที่ดีที่สุดในการหมักส่วนระยะเวลาในการหมักมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

Lee *et.al* (2018) ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของสาร Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) จำนวน 8 ชนิดในอาหารแปรรูปต่าง ๆ และวัตถุดิบในประเทศเกาหลี โดยตัวอย่างถูกแบ่งออกเป็น 10 กลุ่มหลัก ได้แก่ ธัญพืช, ถั่ว, ผลไม้, เนื้อ, ปลาและหอย, เครื่องดื่ม, เครื่องปรุงรส, pulse crops, ผักและไข่ ในกลุ่มตัวอย่างเหล่านี้พบว่ามีการตรวจพบสาร PAHs ในอาหาร 20 อย่างจาก 7 กลุ่มอาหารหลัก ได้แก่ ธัญพืช, ถั่ว, ผลไม้, เนื้อ, ปลา, เครื่องดื่ม และเครื่องปรุงรส โดยความเข้มข้นที่ตรวจพบสาร PAHs ทั้ง 8 ชนิดอยู่ในช่วง 0.08-11.97 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในด้านของการประเมินความเสี่ยงนั้นปริมาณการรับสัมผัสสาร PAHs ในแต่ละวันจะมีค่าอยู่ในช่วง 1.63×10^{-9} ถึง 2.93×10^{-5} ของประชากรทั้งหมดและ 1.74×10^{-7} ถึง 2.94×10^{-3} ในกลุ่มที่บริโภค นอกจากนี้การได้รับสารดังกล่าวมีค่าอยู่ที่ 1.20×10^{7} ของประชากรทั้งหมดและ 5.64×10^{5} ในกลุ่มที่บริโภค โดยมีความเสี่ยงในการก่อให้เกิดมะเร็งเพิ่มขึ้นที่ 2.03×10^{-8} และ 6.35×10^{-6} ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Janoszka (2011) ผลกระทบของหัวหอมและกระเทียมต่อการก่อตัวของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) ถูกประเมินโดยการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสาร PAHs ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ และน้ำเกรวี่ที่มาจากหมูที่เตรียมไว้ในที่ที่ไม่มีเครื่องเทศ วิเคราะห์ PAHs ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพร้อมการตรวจจับการเรืองแสง ขั้นตอนการทำความสะอาดรวมถึงการไฮโดรไลซ์อัลคาไลน์การสกัดแบบโซลิดเฟส (โดยในคอลัมน์สกัดบรรจุดินเบาและกรดโพรพิลซัลโฟนิก) และคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีบนซิลิกาเจล ความเข้มข้นรวมของ 6 PAHs ได้แก่ benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)anthracene, benzo(a)pyrene, dibenz(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)perylene (ใน ng/g ของเนื้อสัตว์ปรุงสุก) จาก 2.0 เป็น 7.2 ในตัวอย่างเนื้อสัตว์และจาก 0.05 ถึง 0.6 ในเกรวี่ ความเข้มข้นของ B(a)P อยู่ระหว่าง 0.38 ถึง 1.61 ในเนื้อสัตว์และจาก 0.01 ถึง 0.11 ในตัวอย่างน้ำเกรวี่ หัวหอม (30/100 กรัมเนื้อ) ทำให้ลดลงเฉลี่ย 60% ของเนื้อหาทั้งหมดของ PAHs ในเนื้อทอดกระทะและกว่า 90% ใน gravies กระเทียม (15/100 กรัมเนื้อ) ลดความเข้มข้น 54% ในเนื้อโดยเฉลี่ยและ 13.5-79% ในเกรวี

Wang และคณะ (2017) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการปนเปื้อนโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) ในดิน พืช และความเสี่ยงด้านสุขภาพที่เกี่ยวข้องในพื้นที่อุตสาหกรรมของภูมิภาคสามเหลี่ยมปากแม่น้ำแยงซี (YRDR) โดยการเก็บตัวอย่างดินและพืชจากพื้นที่เพาะปลูกที่ล้อมรอบด้วยอุตสาหกรรมทั่วไปสามแห่งประกอบด้วย โรงงานเหล็กกล้า (SW) โรงงานปิโตรเคมี (PF) โรงไฟฟ้า (PP) และความเข้มข้นความเสี่ยงต่อสุขภาพของประเมิน PAHs ในดินและพืช ความเข้มข้นเฉลี่ย PAHs 16 US-EPA ลำดับความสำคัญในพื้นผิวดินและใต้ดิน 471.30 mg/Kg และ 341.40 mg/Kg ตามลำดับ ความเข้มข้นเฉลี่ยตามลำดับของ 16 PAHs ในผักโขม, ผักขม, ลูกกระเทียมจีนและเนื้อเยื่อข้าวคือ 1710.49, 1176.96, 1218.36 และ 352.12 mg/Kg ขึ้นอยู่กับทั้งผลลัพธ์ของการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) และอัตราส่วน PAH แหล่งที่มาของ PAHs ในดินมาจากการเผาไหม้ของถ่านหินและปิโตรเลียม เพื่อมาประเมินความเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง สำหรับเด็ก วัยรุ่น วัยผู้ใหญ่ จากการทดสอบพบว่าดินที่ปนเปื้อนด้วยสาร PAHs มีความเสี่ยงมากกว่าพืช และสำหรับผู้ชายและผู้หญิงยังคงมากกว่าค่าพื้นฐาน ผลลัพธ์ของการตรวจสอบนี้ให้ข้อมูลใหม่สำหรับการประเมินการปนเปื้อนและการประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของ PAHs

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fu และคณะ (2008) การวิเคราะห์โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) ในน้ำด้วย ZORBAX Eclipse PAH Colum โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) เป็นสารประกอบก่อมะเร็งที่พบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมอันเป็นผลมาจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของยาสูบ น้ำมันดิน และเชื้อเพลิง มีวิธีการกำกับดูแลมากมายสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบเหล่านี้ในตัวอย่างทุกประเภท เช่น อากาศ น้ำ ดิน และอาหาร ในการวิเคราะห์สาร PAHs ในน้ำจำเป็นต้องมีวิธีการที่มีความไวสูง งานนี้อธิบายถึง วิธี HPLC ทั้งหมดสำหรับการวิเคราะห์ PAH ในน้ำโดยใช้คอลัมน์ PAH ZORBAX Eclipse ที่พัฒนาล่าสุดและ Accu Bond ODS C18 Solid Phase Extraction (SPE) สำหรับการแยกน้ำ การทำให้ Eclipse PAHs เหมาะสมกับ C18 bonded เพื่อเพิ่มสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการวิเคราะห์เป็นประจำ

Zachara และคณะ (2017) ได้ทำการศึกษาระดับการปนเปื้อนโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) ของผลิตภัณฑ์จำพวกเนื้อปลาและเนื้อสัตว์รมควันชนิดต่าง ๆ ตามท้องตลาดในประเทศโปแลนด์ซึ่งได้มีการกำหนดค่าจำกัดเอาไว้ในกฎระเบียบ Commission Regulation (EU) 2015/1125 โดย PAHs เหล่านี้คือ benzo(a)pyrene B(a)P และผลรวมของ PAHs ทั้งสี่ประเภทดังต่อไปนี้ประกอบไปด้วย benzo(a)pyrene, benzo(a)anthracene B(a)A, benzo(b)fluoranthene B(b)F และ chrysene (Chr) วัตถุดิบในการวิจัยจะเป็นผลิตภัณฑ์จำพวกเนื้อปลา เนื้อสัตว์และเนื้อไก่รมควันที่ผลิตขึ้นด้วยเทคนิคดั้งเดิมหรือเทคนิคทางอุตสาหกรรม วิธีการทดลองประกอบด้วย กระบวนการซาพอนนิฟิเคชัน (saponification) การสกัดส่วนของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของ PAHs ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLD) ปริมาณสูงสุดของ B(a)P และผลรวมของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนทั้งสี่ประเภท (∑PAHs) (36.51 มก/กก. และ 73.01 มก/กก. ตามลำดับ) จะพบได้ในปลาสปรัทรมควันสำเร็จรูปในน้ำมันและค่าเหล่านี้จะเกินกว่าระดับสูงสุดที่กำหนดเอาไว้ในกฎระเบียบ Commission Regulation (EU) 2015/1125 ผลิตภัณฑ์รมควันที่ผ่านการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคดั้งเดิมจะมีค่า PAHs ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์รมควันที่ผ่านการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางอุตสาหกรรมหรือผลิตขึ้นด้วยการใส่สารแต่งกลิ่นรมควัน (smoke flavorings)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ

1) เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ยี่ห้อ Shimadzu High Performance Liquid Chromatography System with FCV-230AL valve unit, FCV-20AH$_2$ valve unit LC-20AP preparative liquid chromatograph, CBM-20A communications bus module, SIL-20A HT auto sampler, FRC-10A fraction collector, RF-20A fluorescence detector, Column InertSustain™ C18 5 µm 4.6x150 mm, ประเทศญี่ปุ่น
2) เครื่องชั่ง (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) รุ่น TC-254 บริษัท Danver Instrument Company, ประเทศเยอรมนี
3) Axygen® Axypet® Single-channel Pipettor, ประเทศสหรัฐอเมริกา
4) Syringe filter Nylon 0.45 µm ขนาด 13 mm
5) ขวดแก้วสีชา (Amber glass vial) ขนาด 2 mL
6) ขวดแก้วเล็ก (Vial) ขนาด 4 mL
7) กระบอกฉีดยาขนาด 5, 10 mL
8) อะลูมิเนียมฟอยล์
9) เครื่องแก้วต่าง ๆ

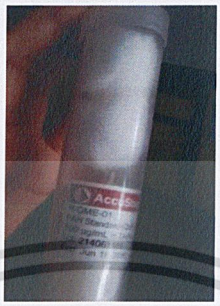
3.2 สารเคมีและสารมาตรฐาน

1) Acetonitrile (HPLC grade) บริษัท Fisher Scientific Korea Ltd., ประเทศเกาหลี
2) Methanol (HPLC grade) บริษัท Fisher Scientific Korea Ltd., ประเทศเกาหลี
3) Deionized water (DI water) จากห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์, สจล., ประเทศไทย
4) Benzo(a)Pyrene 96%, บริษัท Sigma-Aldrich Pte. Ltd., ประเทศสิงคโปร์
5) PAH Standard (QUEBEC MINISTRY OF ENVIRON.PAH MIX) (PAHs-24) 500 µg/mL in Dichloromethane:Benzene (50:50), บริษัท AccuStandard, Inc., ประเทศสหรัฐอเมริกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ทดลอง

3.3.1 การทดลองส่วนที่ 1 การวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs ผสม 24 ชนิด (PAHs-24) รายละเอียดดังภาคผนวก ก



รูปที่ 3.1 PAH Standard (QUEBEC MINISTRY OF ENVIRON.PAH MIX) 500 µg/mL

3.3.2 การทดลองส่วนที่ 2 การสร้างกราฟมาตรฐาน B(a)P

รูปที่ 3.2 Benzo(a)Pyrene 96%

3.4 วิธีการทดลอง

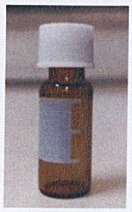
การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบ B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs-24 500 µg/mL ด้วยเครื่อง HPLC-FLD

3.4.1 การทดลองส่วนที่ 1 การวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs-24 500 ug/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การเตรียมสารมาตรฐาน PAHs-24 สำหรับใช้ในการวิเคราะห์

เตรียมจากสารมาตรฐาน PAHs-24 500 µg/mL นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 30, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 µg/mL

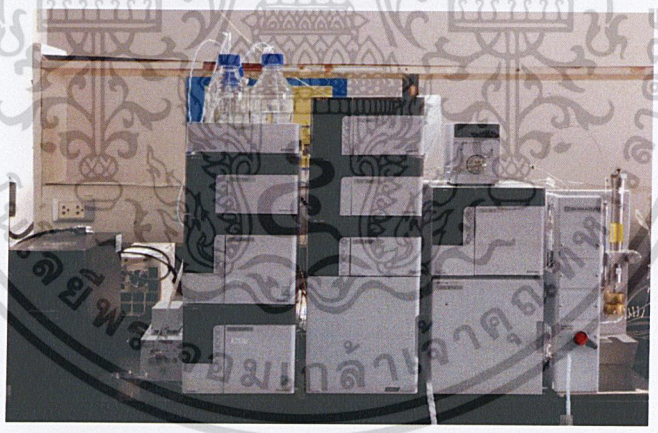


รูปที่ 3.3 สารมาตรฐาน PAHs 0.001 µg/mL ที่ใช้ในการวิเคราะห์

2. การวิเคราะห์สารมาตรฐาน PAHs-24 ด้วยเทคนิค HPLC-FLD

1) นำสารมาตรฐาน PAHs-24 เจือจางที่ความเข้มข้น 0.001 µg/mL ใส่ลงในขวดแก้วสีชา ขนาด 2 mL ดังรูปที่ 3.3

2) นำสารมาตรฐาน PAHs-24 ไปตรวจหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยเครื่อง HPLC-FLD ในรูปที่ 3.4 คอลัมน์ที่ใช้เป็น InertSustain™ C18 (5 µm, 4.6x150 mm) guard column โดยมี injection volume เป็น 10 µL ที่ความยาวคลื่น (λ) สำหรับกระตุ้น (excite) 264 nm และสำหรับตรวจวัด (emit) 407 nm โดยเป็นความยาวคลื่นที่เหมาะสำหรับตรวจวัด B(a)P ซึ่งเงื่อนไขที่ใช้ในการวิเคราะห์สาร PAHs-24 แสดงในตารางที่ 3.1-3.11



รูปที่ 3.4 เครื่อง HPLC-FLD ที่ใช้ในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs-24 ด้วยการปรับ Mobile phase แบบต่าง ๆ

ตารางที่ 3.1 เงื่อนไขที่ใช้ในการวิเคราะห์สาร PAHs-24 ด้วยเครื่อง HPLC-FLD

เงื่อนไข	Time (min)	Acetonitrile (%)	DI Water (%)	Flow rate (mL min^{-1})
1 Isocratic elution	60	80	20	1.0
2 Isocratic elution	90	60	40	1.0
3 Gradient elution	5	35	65	0.6
	20	60	40	0.6
	60	90	10	0.6
	70	100	0	0.6
	80-85	35	65	0.6
4 Gradient elution	2	50	50	0.6
	40	100	0	0.6
	42	50	50	0.6
	60	50	50	0.6
5 Gradient elution	2	50	50	1.0
	40	100	0	1.0
	42	50	50	1.0
	60	50	50	1.0
6 Gradient elution	20	63	37	1.0
	40	100	0	1.0
	45	100	0	1.0
	46-55	63	37	1.0
7 Gradient elution	20	63	37	1.0
	30	81.5	18.5	1.0
	32	87	13	1.0
	42	87	13	1.0
	47	100	0	1.0
	52	100	0	1.0
	55-60	63	37	1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เงื่อนไข	Time (min)	Acetonitrile (%)	DI Water (%)	Flow rate (mL min^{-1})
8 Gradient elution	15	63	37	1.0
	25	81.5	18.5	1.0
	45	87	13	1.0
	50	87	13	1.0
	53	100	0	1.0
	55	100	0	1.0
	57-60	63	37	1.0
9 Gradient elution	20	63	37	1.0
	30	81.5	18.5	1.0
	32	87	13	1.0
	35	87	13	1.0
	40	100	0	1.0
	45	100	0	1.0
	47-55	63	37	1.0
10 Gradient elution	10	63	37	1.0
	20	80	20	1.0
	25	81.5	18.5	1.0
	30	81.5	18.5	1.0
	40	87	13	1.0
	43	87	13	1.0
	45	100	0	1.0
	50	100	0	1.0
	52-65	63	37	1.0
11 Gradient elution	10	63	37	1.0
	15	81.5	18.5	1.0
	30	81.5	18.5	1.0
	32	100	0	1.0
	37	100	0	1.0
	40-50	63	37	1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

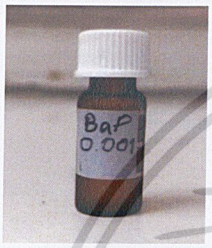
3.4.2 การทดลองส่วนที่ 2 การสร้างกราฟสารมาตรฐาน B(a)P

1. ขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐาน B(a)P 100 µg/mL

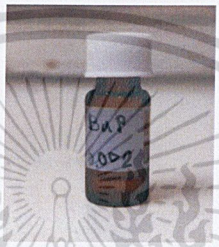
1. ชั่งสารมาตรฐาน B(a)P 0.0026 g ละลายใน methanol ปรับปริมาตรเป็น 25 mL ใช้เป็น stock standard solution (100 µg/mL) แสดงการคำนวณความเข้มข้นดังภาคผนวก ก

2. การทำกราฟมาตรฐาน สำหรับฉีด HPLC

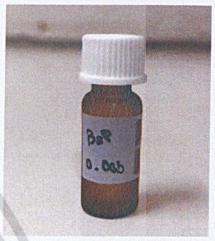
1. เตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.001, 0.002, 0.005 µg/mL
2. นำสารละลายที่เตรียมไว้ มากรองผ่าน Syringe filter Nylon 0.45 µm ขนาด 13 mm ใส่ลงในขวดแก้วสีชา ขนาด 2 mL



(ก) สารมาตรฐาน B(a)P 1 ppb



(ข) สารมาตรฐาน B(a)P 2 ppb



(ค) สารมาตรฐาน B(a)P 5 ppb

รูปที่ 3.5 ก-ค สารมาตรฐานสำหรับกราฟมาตรฐาน

3. นำสารละลายมาตรฐานไปตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC-FLD โดยใช้เงื่อนไขที่เหมาะสมที่สุดที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองส่วนที่ 1
4. สร้างกราฟมาตรฐาน

3.5 จัดทำสื่อโสตทัศนูปกรณ์

จัดทำสื่อโสตทัศนูปกรณ์สำหรับสอนขึ้นเพื่อสอนการใช้งานเครื่อง HPLC-FLD, โปรแกรม Lab solution และการแก้ไขปัญหาเบื้องต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

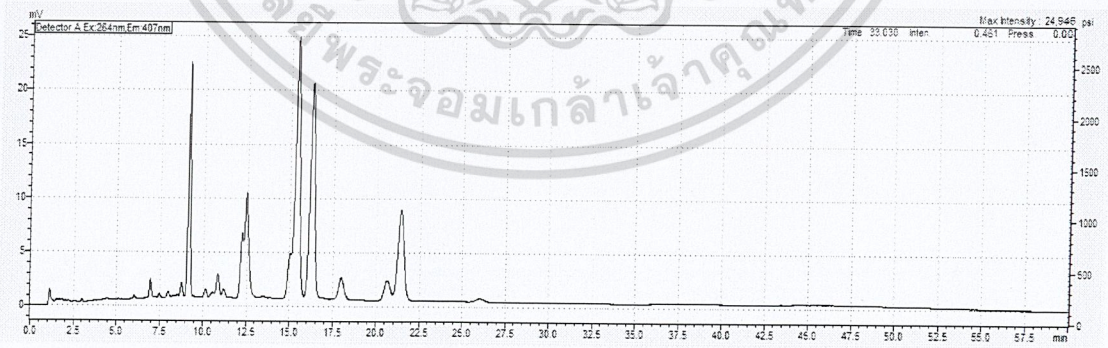
บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

จากผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารมาตรฐาน B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs ผสม 24 ชนิด ซึ่งเป็นสารที่มีผลก่อให้เกิดมะเร็ง โดยนำสารมาตรฐาน PAHs-24 500 µg/mL มาตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography with fluorescence (HPLC-FLD) คอลัมน์ที่ใช้เป็น InertSustain™ C18 (5 µm, 4.6x150 mm) guard column ซึ่งมี injection volume เป็น 10 µL โดยที่ความยาวคลื่น (λ) สำหรับกระตุ้น (excite) 264 nm และสำหรับตรวจวัด (emit) 407 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่เหมาะสำหรับตรวจวัด B(a)P โดยนำมาเปรียบเทียบเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

4.1 การทดลองส่วนที่ 1 การวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs-24 500 ug/mL

4.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารมาตรฐาน B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs-24 ด้วยการปรับสัดส่วน Mobile phase แบบ Isocratic elution

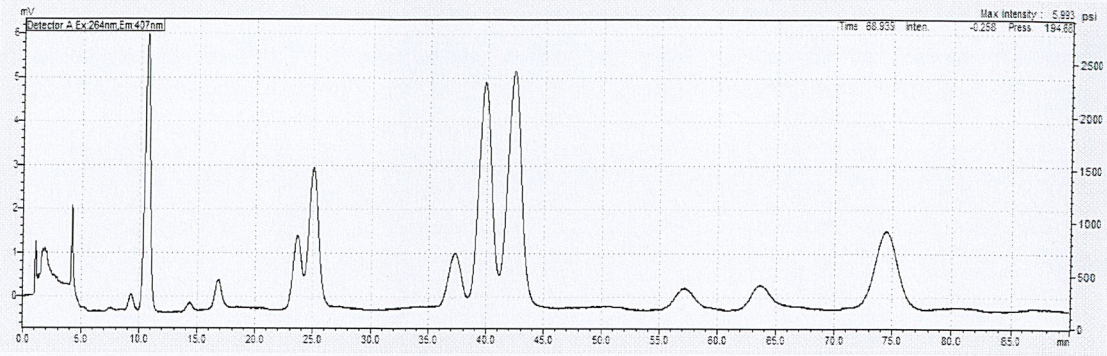
ในการทดลองนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-FLD โดยใช้สภาวะที่แตกต่างกันในการการวิเคราะห์ ได้แก่ การปรับปริมาณ Mobile phase, MP ซึ่งจากการทดลองในการเปรียบเทียบแต่ละสภาวะพบว่าการใช้สัดส่วน MP คงที่ตลอดการวิเคราะห์ ทำให้ความสามารถในการแยกไม่ดี และใช้เวลานานเนื่องจากสภาพขั้วสม่ำเสมอตลอด แสดงดังรูปที่ 4.1-4.2



รูปที่ 4.1 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 1 (ACN: Water, 80:20)

จากรูปที่ 4.1 (ตารางที่ 3.1) ให้สภาพไม่มีขั้ว 80 สภาพมีขั้ว 20 ตลอดการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่าพีคของสารผสมแต่ละตัวออกหมดภายในเวลา 30 นาที แต่สารแต่ละตัวแยกกันไม่ชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

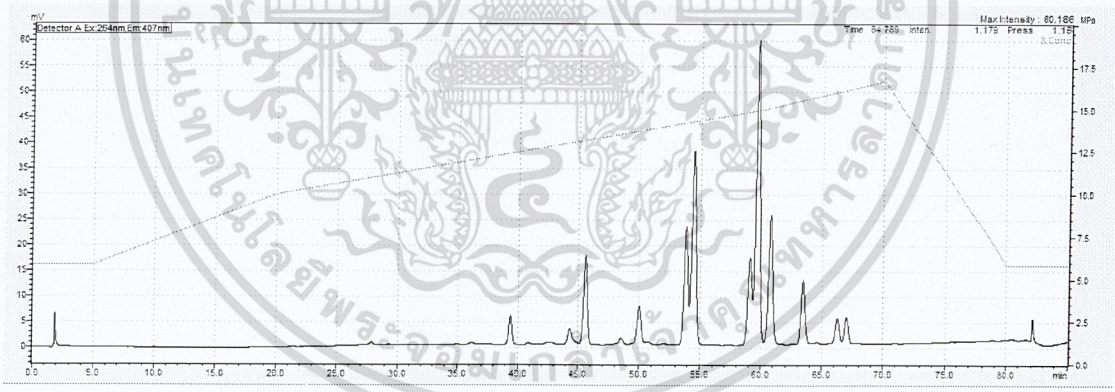


รูปที่ 4.2 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 2 (ACN: Water, 60:40)

จากรูปที่ 4.2 (ตารางที่ 3.2) ได้ทำการเพิ่มสภาพขั้วเป็น 40 ตลอดการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่าพีคแต่ละตัวแยกกันได้ชัดเจนขึ้น แต่ใช้เวลานานถึง 90 นาทีจึงจะจบการวิเคราะห์

4.1.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารมาตรฐาน B(a)P จากสารมาตรฐาน PAHs-24 ด้วยการปรับสัดส่วน Mobile phase แบบ Gradient elution

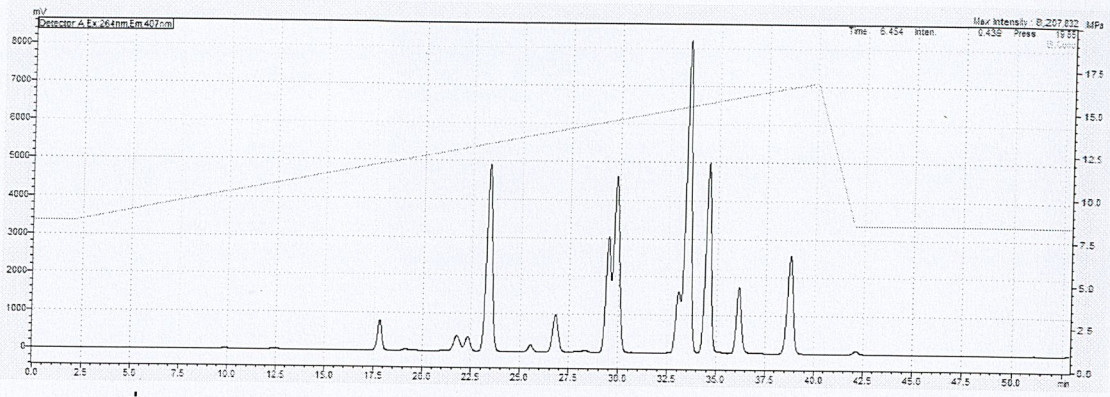
ในการทดลองนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-FLD โดยใช้สภาวะที่แตกต่างกันในการการวิเคราะห์ ได้แก่ การปรับปริมาณ Mobile phase, flow rate โดยการใช้สัดส่วนของ MP ที่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการวิเคราะห์ โดยจำนวนพีคสูงสุดที่วัดได้คือ 14 พีค (เส้นสีส้มแสดงดังการเปลี่ยนแปลงของ MP) แสดงดังรูปที่ 4.3-4.11



รูปที่ 4.3 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 3 (ตารางที่ 3.3)

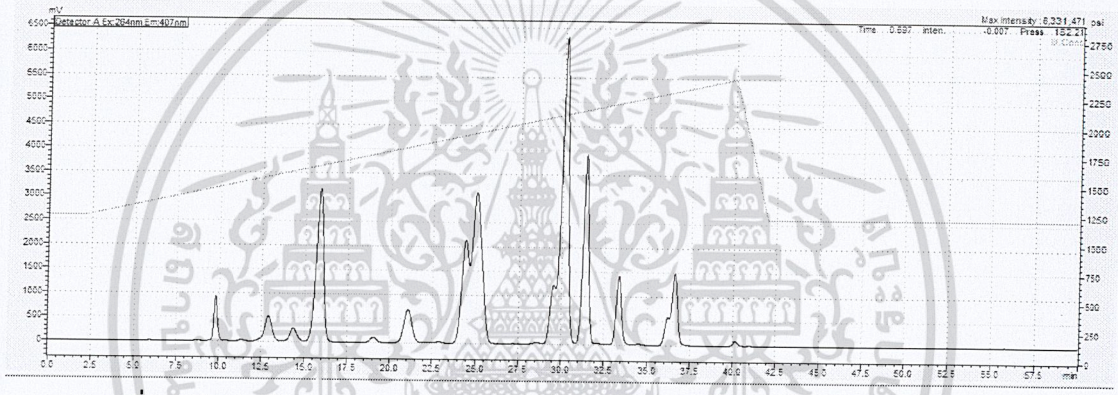
จากรูปที่ 4.3 เป็นการปรับ Gradient โดยอ้างอิงจากงานวิจัยของ “โครงการพอลิไซคลิกแอโรแมติกไฮโดรคาร์บอนในก๊าซที่เกิดจากเครื่องยนต์ดีเซลที่ใช้น้ำมันไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิง” พบว่าพีคแต่ละตัวแยกกันได้ค่อนข้างดี แต่ใช้เวลานานถึง 85 นาที โดยใช้ flow rate 0.6 ml/min

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



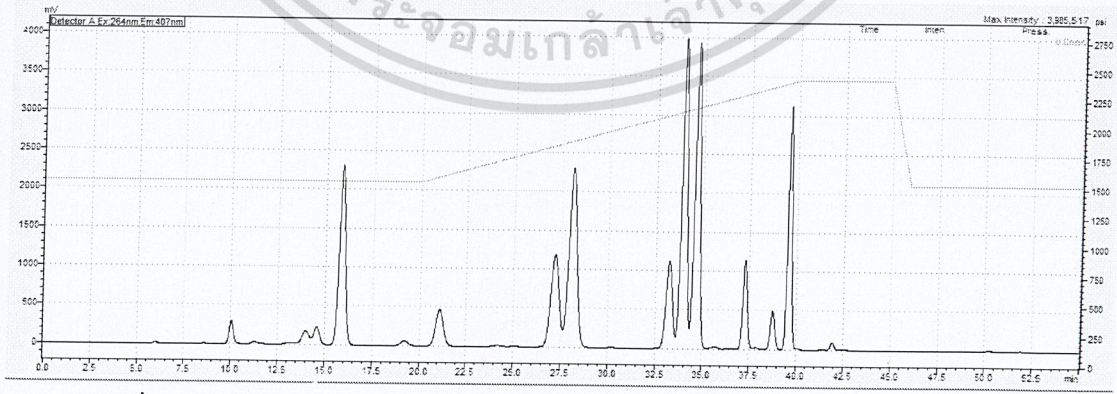
รูปที่ 4.4 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 4 (ตารางที่ 3.4)

จากรูปที่ 4.4 ได้ทำการปรับลดสภาพไม่มีขั้วลงเหลือ 50% ACN พบว่าพีคแต่ละตัวแยกกันได้ดีขึ้นและใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยลง ที่ flow rate 0.6 ml/min



รูปที่ 4.5 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 5 (ตารางที่ 3.5)

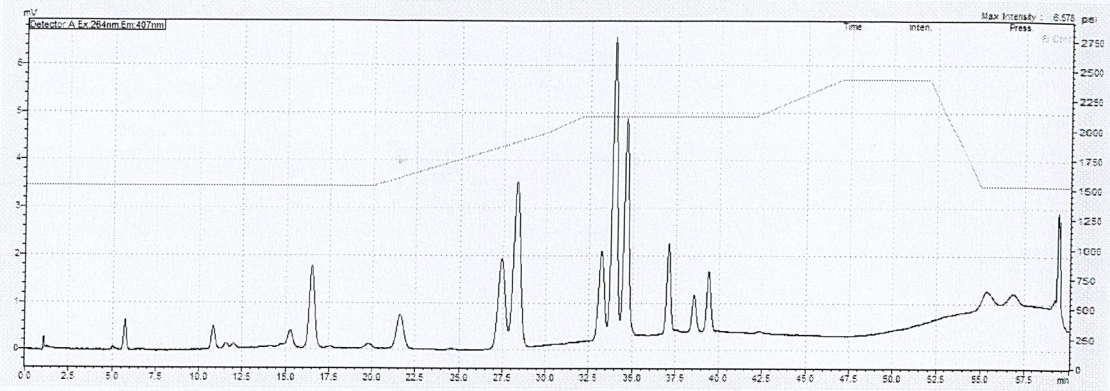
จากรูปที่ 4.5 ใช้เงื่อนไขของตารางที่ 3.4 (รูปที่ 4.4) โดยได้ทำการปรับ flow rate จาก 0.6 เป็น 1.0 ml/min พบว่าอัตราการไหลของสารไม่มีค่อยมีผลต่อการแยกออกจากกันของแต่ละพีค พบว่าที่เวลา 45 นาที พีคก็หมดแล้ว ซึ่งเร็วกว่าเงื่อนไขที่ 4



รูปที่ 4.6 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 6 (ตารางที่ 3.6)

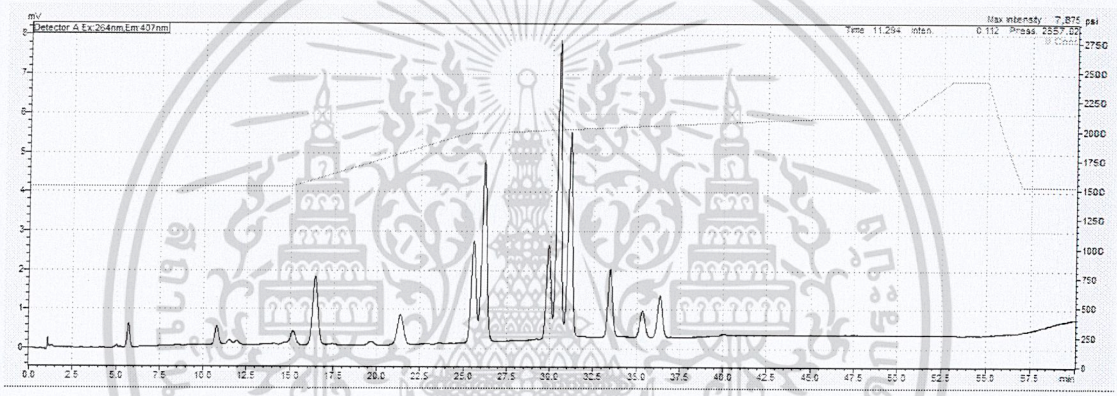
จากรูปที่ 4.6 (ตารางที่ 3.6) ได้ทำการปรับเพิ่มสภาพไม่มีขั้วพบว่าพีคแยกออกจากกันได้ชัดเจนขึ้น แต่ใช้เวลานานกว่าเงื่อนไขที่ 5 (ตารางที่ 3.5, รูปที่ 4.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



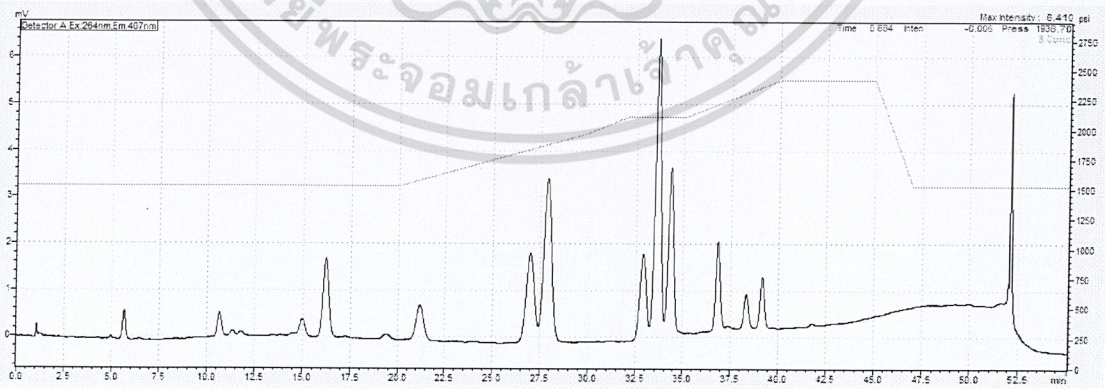
รูปที่ 4.7 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 7 (ตารางที่ 3.7)

จากรูป 4.7 (ตารางที่ 3.7) ได้ทำการปรับเวลาการคงสภาพขั้วที่เวลาตั้งแต่ 30-42 นาทีไว้เพื่อให้พีคแยกออกจากกัน



รูปที่ 4.8 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 8 (ตารางที่ 3.8)

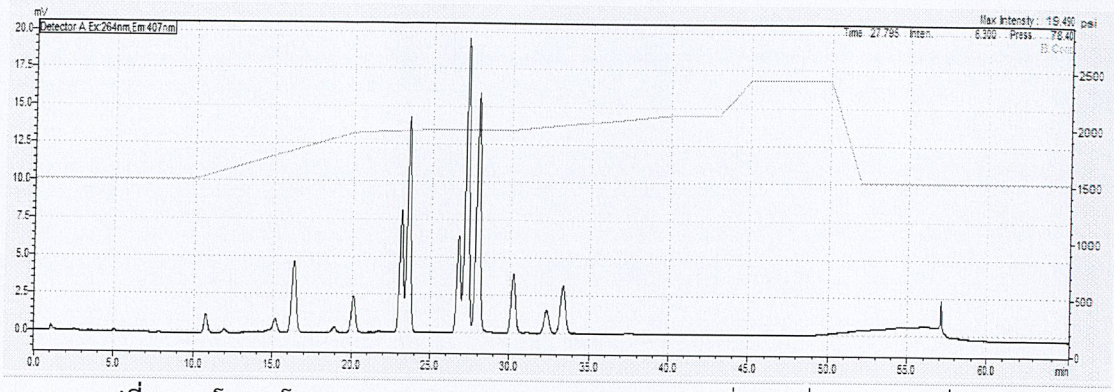
จากรูป 4.8 (ตารางที่ 3.8) ได้ทำการลดเวลาวิเคราะห์ช่วง 15 นาทีแรก แล้วเพิ่มเวลาช่วง 25-50 นาที เพื่อแยกพีคให้ออกจากกัน



รูปที่ 4.9 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 9 (ตารางที่ 3.9)

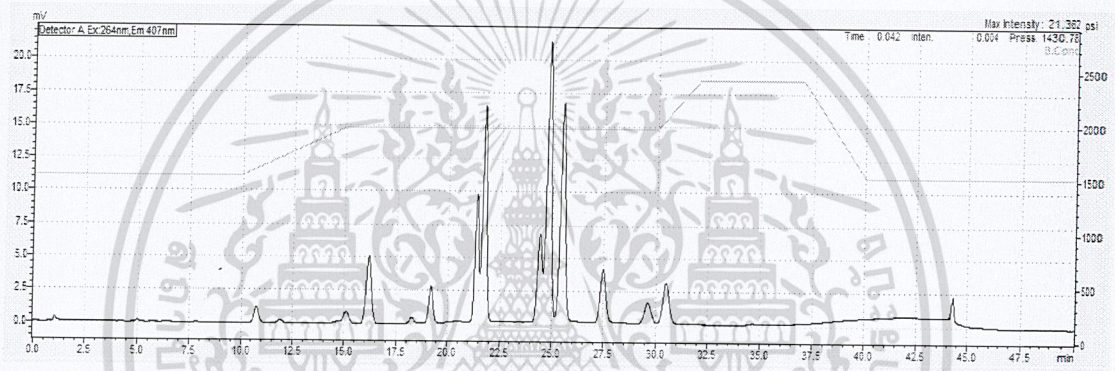
จากรูป 4.9 (ตารางที่ 3.9) ได้ทำการเพิ่มเวลาการใช้สัดส่วน MP คงที่ 63% ACN เป็น 20 นาที แล้วลดเวลาการคงที่ MP 87% ACN เหลือ 2 นาที เพื่อลดเวลาในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 10 (ตารางที่ 3.10)

จากรูป 4.10 (ตารางที่ 3.10) ได้ใช้สัดส่วน MP คงที่ที่ 81.5% ACN เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้พีค แยกกันได้



รูปที่ 4.11 โครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 ในเงื่อนไขที่ 11 (ตารางที่ 3.11)

จากรูป 4.11 (ตารางที่ 3.11) ได้ใช้สัดส่วน MP คงที่ที่ 81.5% ACN เป็นเวลา 15 นาที พบว่าพีคแยกออกจากกันได้มากขึ้น และใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 50 นาที

ตารางที่ 4.1 สภาวะและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

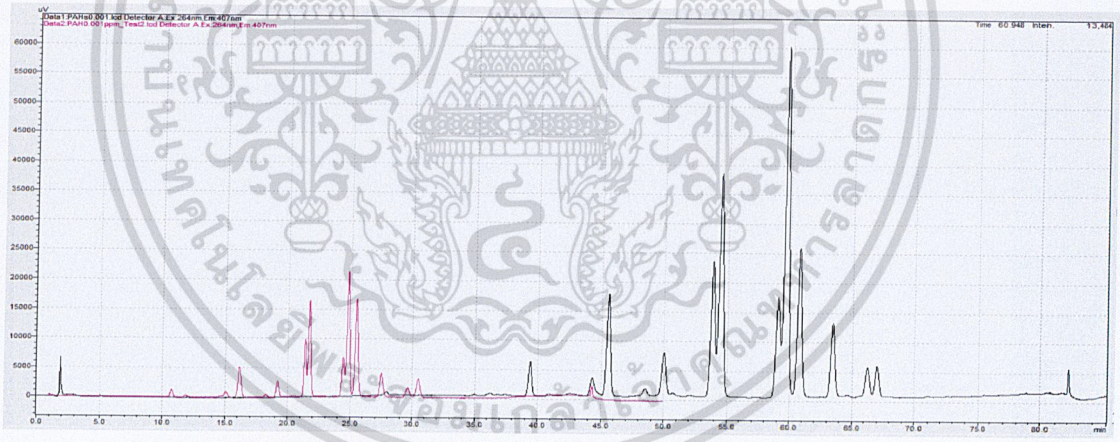
เงื่อนไข	ปริมาณ ACN ที่ใช้ทั้งหมด (mL)	ปริมาณ H_2O ที่ใช้ทั้งหมด (mL)	เวลาที่ใช้ทั้งหมด (min)	ประสิทธิภาพในการแยกสาร B(a)P
1	48.00	12.00	60	ปานกลาง
2	54.00	36.00	90	ไม่ดี
3	37.20	13.80	85	ดี
4	29.40	6.60	60	ดี
5	49.00	11.00	60	ดี
6	43.90	11.10	55	ไม่ดี
7	46.23	13.77	60	ไม่ดี
8	47.50	12.50	60	ไม่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เงื่อนไข	ปริมาณ ACN ที่ใช้ทั้งหมด (mL)	ปริมาณ H_2O ที่ใช้ทั้งหมด (mL)	เวลาที่ใช้ทั้งหมด (min)	ประสิทธิภาพในการแยกสาร B(a)P
9	41.40	13.60	55	ไม่ดี
10	50.21	14.79	65	ดี
11	37.79	12.21	50	ดี

4.1.3 การเปรียบเทียบการหาสภาวะของสารมาตรฐาน PAHs จากงานวิจัยของ "โครงการพอลิไซคลิกแอโรแมติกไฮโดรคาร์บอนในก๊าซที่เกิดจากเครื่องยนต์ดีเซลที่ใช้น้ำมันไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิง" และงานวิจัยเล่มนี้

ในการทดลองการใช้สภาวะจากงานวิจัยแก๊สเพื่อมาปรับปรุงหาสภาวะที่ดีขึ้น ประหยัดสารเคมีมากขึ้น และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยลง รูปที่ 4.12 (ข) มาจากเงื่อนไขที่ 3 (ตารางที่ 3.3) ซึ่งอ้างอิงมาจากงานวิจัยของ "โครงการพอลิไซคลิกแอโรแมติกไฮโดรคาร์บอนในก๊าซที่เกิดจากเครื่องยนต์ดีเซลที่ใช้น้ำมันไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิง" โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์ 85 นาที ส่วนรูปที่ 4.12 (ก) มาจากเงื่อนไขที่ 11 (ตารางที่ 3.11) คือเงื่อนไขที่ดีที่สุด ที่ผู้วิจัยได้ทำการปรับลดปริมาณการใช้ MP และทำการวิเคราะห์เสร็จโดยใช้เวลา 50 นาที



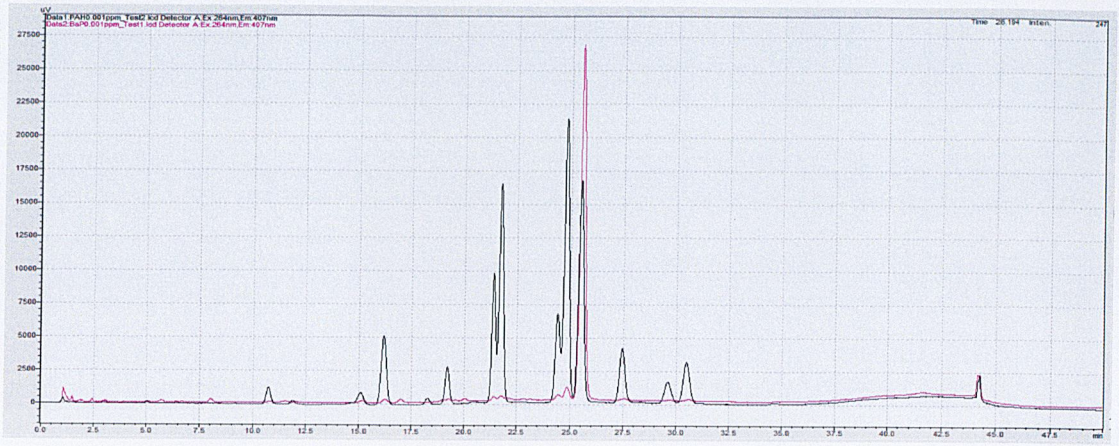
(ก) โครมาโตรแกรมสีชมพู (0.001 ppm) **(ข)** โครมาโตรแกรมสีดำ (1 ppm)

รูปที่ 4.12 การเปรียบเทียบโครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24

4.1.4 การเปรียบเทียบโครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 และ B(a)P

จากการนำสภาวะในเงื่อนไขที่ 11 (ตารางที่ 3.11) มาวิเคราะห์สารมาตรฐาน PAHs-24 และ B(a)P โดยนำโครมาโตรแกรมมาซ้อนทับกันเพื่อดูว่าพีคไหนคือ B(a)P พบว่าพีคที่เวลาที่ 25.493 ของโครมาโตรแกรมสีดำ (รูป 4.13ก) คือ สาร B(a)P ซึ่งใกล้เคียงกับโครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน B(a)P ที่ปรากฏที่เวลา 25.554 (รูปที่ 4.13ข)

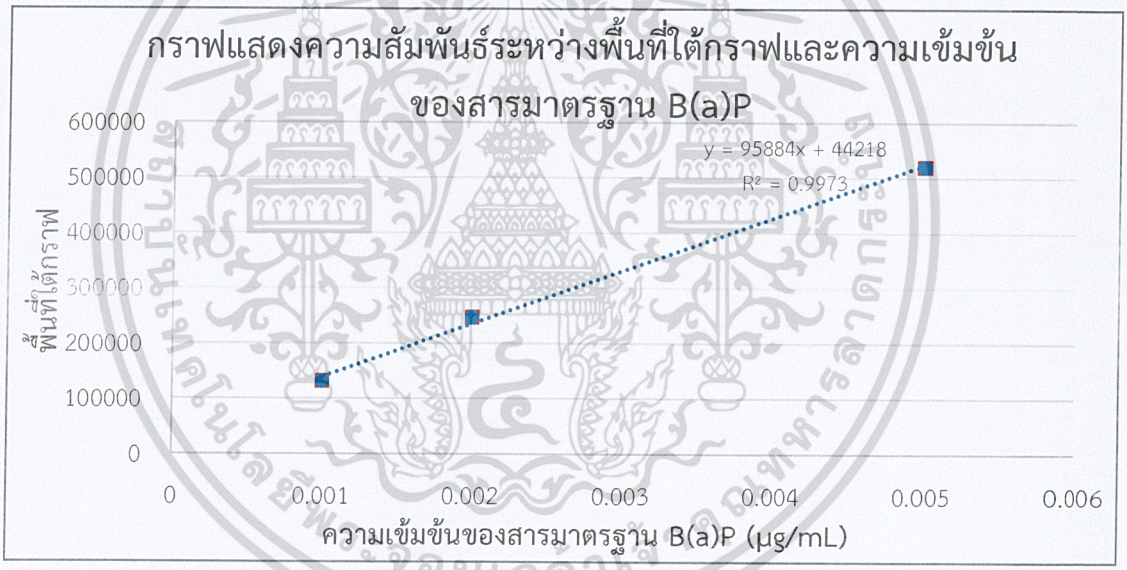
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) โครมาโตรแกรมสีดำ (PAHs-24) **(ข)** โครมาโตรแกรมชมพู (B(a)P)

รูปที่ 4.13 การเปรียบเทียบโครมาโตรแกรมของสารมาตรฐาน PAHs-24 และ B(a)P

4.2 การทดลองส่วนที่ 2 การสร้างกราฟสารมาตรฐาน B(a)P



รูปที่ 4.14 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและ
ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน B(a)P

จากผลการทดลองนี้จะได้ค่าเส้นแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงซึ่งแสดงด้วยสมการ $y = 95884x + 44218$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9973

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมของ B(a)P โดยทดสอบกับสารมาตรฐาน PAHs-24 ด้วยเครื่อง HPLC-FLD โดยใช้ ACN และ น้ำ DI เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) จากการเปรียบเทียบสภาวะและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์พบว่า เงื่อนไขที่ 11 มีการใช้เวลา, ปริมาณสารน้อยลง และมีการแยกของพีค B(a)P ออกจากสารตัวอื่นชัดเจน จึงเหมาะสมสำหรับใช้วิเคราะห์ B(a)P

จากการศึกษาการใช้เครื่อง HPLC-FLD พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการวิเคราะห์ของเครื่อง ดังนี้

1. เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่พิจารณาจากสมบัติตัวทำละลาย (สภาพขั้วที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์)
2. อุณหภูมิ (Temperature) ซึ่งมีผลมากต่อคอลัมน์ในการวิเคราะห์ ถ้าอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงจะทำให้การแยกของพีคแตกต่างกัน ที่สภาวะเดียวกัน
3. ความดัน (Pressure) ในการแยกของพีคจะมีผลการวิเคราะห์ที่น่าพึงพอใจควรซึ่งความดันของปั๊มควรคงที่ ± ไม่เกิน 30 PSI หากความดันไม่คงที่การวิเคราะห์นั้น ๆอาจไม่สามารถเชื่อถือได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรจะแปรความยาวคลื่น (λ) สำหรับกระตุ้น (excite) และสำหรับตรวจวัด (emit) ให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ (ตารางที่ ค-1)
2. เนื่องจากตัวคอลัมน์จะอยู่นอกเครื่อง HPLC จึงต้องทำการควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ให้คงที่โดยการใช้โฟม EPE พันรอบคอลัมน์เพื่อเป็นการควบคุมอุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ เชี่ยงใช่, กัลยพัชร ศรีเจษฐานนท์ และไพลิน หงส์เวียงจันทร์. 2557. **การศึกษาปริมาณเบนโซ(เอ) ไพรีนในหมูปิ้ง**. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คณวัฒน์ วิวัฒน์ชัยทวี.2558. "**Troubleshooting in High performance liquid Chromatography**"[ออนไลน์].สืบค้นเมื่อ 3 มีนาคม 2562 เข้าถึงได้จาก www.gpo.or.th/Portals/6/Newsletter/RDINewsYr22No1-3.

จิตผกา สันทัดรบ ทองสุข ปายะนันทน์ และกนกพร อธิสุข. "**การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ Benzo(a)pyrene ในเนื้อสัตว์ปิ้งย่าง**" วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ .51(3-4).177-186

จิตผกา สันทัดรบ และกนกพร อธิสุข "**การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ Benzo (a) pyreneในน้ำมันบริโภค**"วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.263-274

นิรมล สิงห์ทองรัตน์, สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และจิรดา สิงขรรัตน์ "**การวิเคราะห์หาองค์ประกอบสำคัญเชิงเคมีในสารสกัดจากใบพลูสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรม**"วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.1(2).109-120

พงศ์เทพ วิวรรธนะเดช.2015. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)**. [ออนไลน์]สืบค้นเมื่อ 27 มกราคม เข้าถึงได้จาก www.med.cmu.ac.th/dept/commed/2015/.../7Polycyclic_Aromatic_Hydrocarbons

พัฒนา เหล่าไพบูลย์. 2547. **โครมาโตกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง: หลักการและการประยุกต์ใช้**. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น

มนฤดี วรรณะเอี่ยมพิกุล และนาย วีระโชติ ลาภผลอำไพ. 2549. **การพัฒนาวิธีวิเคราะห์อีเทมบูทอลโดยไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิด โครมาโทรกราฟี ตรวจวัดโดยยูวี**. วิทยานิพนธ์ปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

วราภรณ์ ฉุยฉาย.2554.**การแพร่กระจายและความเป็นพิษต่อพืชของโพลีคลิกอะโรมาติก.** [ออนไลน์].สืบค้นเมื่อ 22 กุมภาพันธ์ 2562 เข้าถึงได้จาก https://www.tcithaijo.org/index.php/RMUTP/article/view/4548

วิฒิณี คงสุข และเยาวลักษณ์ วรรธนะพิศิษฏ์ "**การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ร็อกซิโทรมัยซินในรูปแบบยาเม็ด ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)** วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 54(3-4): 140-154

ศุภลักษณ์ ศรีจารนัย. 2552. **โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง.** ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สุรพล ขุมทรัพย์.2550.**เบนโซ(เอ)ไพรีน**.[ออนไลน์].สืบค้นเมื่อ 4 กุมภาพันธ์ 25562 เข้าถึงได้จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1989/benzo-a-pyrene-9

สุดารัตน์ หอมหวน.2010.**การดูแลรักษาเครื่อง HPLC ปัญหาที่พบบ่อย และแนวทางการแก้ไข**. [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อ 1 มีนาคม 2562 เข้าถึงได้จาก http://www.phar.ubu.ac.th/km

สุรจิตร ทีฆสกุล พีระพงศ์ ทีฆสกุล กำพล ประทีปชัยกูร. 2556. **พอลิไซคลิกะอโรมาติก ไฮโดรคาร์บอนในก๊าซที่เกิดจากเครื่องยนต์ดีเซลที่ใช้น้ำมันไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิง.** มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สามารถ ประเสริฐศิล. 2557. **สถานการณ์ของสารโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (PAHs) บนอนุภาคPM10 ในเขตเมือง กึ่งเมือง และชนบท ของอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น.** วิทยานิพนธ์ปริญญาสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Access European Union law (EUR-Lex). 2005. **Commission Regulation (EC) No 208/2005 4 February 2005: Anneling Regulation (EC) N 466/2001 as regards polycyclic Aromatic hydrocarbon** .Official Journal of the European Union. [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อ 16 มีนาคม 2562 .เข้าถึงได้จาก : http://eur-lex.europa.eu: LexUniServ/LeXUriServlLcxUriSery. do?uri=OJ:L 2005: 034.0003:0005: IEN. PDF

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1995. **Toxicological profile for poly aromatic hydrocarbons.** Atlanta, GA: U. S. Department of Health and Human Service, Public Health Service. [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อ 5 มีนาคม 2562. เข้าถึงได้จาก: http: / / www. atdr. cdc. toy/toxprofiles/ip69. pdf

Alicja Zachara a, b, Dorota Gałkowska a, Lesław Juszczak. 2017. **Contamination of smoked meat and fish products from Polish market with polycyclic aromatic hydrocarbons.** Poland. Department of Food Analysis and Evaluation of Food Quality. 80(1): 45-51

Ananthy Retnam , Mohamad Pauzi Zakariab, Hafizan, Juahirbc Ahmad Zaharin Arisbc Munirah Abdul Zaliac Mohd, Fadhil Kasimd. 2013 **"Chemometric techniques in distribution, characterization and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) in aquaculture sediments in Malaysia."**69(1): 55-66

Anna Meudec, Nathalie Poupart, Jacques Dussauze, Eric Deslandes.2007. **Relationship between heavy fuel oil phytotoxicity and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in Salicornia fragilis.** Science of The Total Environment. 381(1): 146-156

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ames, BN., McCann, J. and Yamasaki, E. 1975. **Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test.** Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects. 31(1): 347-363.

A.R. Lea-Langton a, D.V. Spracklen b, S.R. Arnold b, L.A. Conibear c, J. Chan c, E.J.S. Mitchell c, J. M. Jones c, A. Williams. 2018. **Environmental pollution of soil with PAHs in energy producing plants zone.** Science of the Total Environment. 655(1): 232-241

Baek, S., Goldstone, M., Kirk, P., Lester, J., Perry, R., 1991. **Phase distribution and particle size dependency of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere.** Chemosphere 22(1): 503–520.

Beata Janoszka.2011. **HPLC-fluorescence analysis of polycyclic aromatic Hydrocarbons (PAHs) in pork meat and its gravy fried without additives and in the presence of onion and garlic.** Food Chemistry. 126(1): 1344-1353

Budzinski H., Bellocq, J., Pierard C.and Garriques P. 1997. **Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbon in the Gironde estuary.** Mar. Chem.58(1):85-97

Burczynski M. E., Lin H. K.,and Penning T. M.1999. **Isoform- specific induction of a human aldo-keto reductase by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), electrophile, and oxidative stress: implications for the alternative pathway of PAH activation catalyzed by human dihydrodiol dehydrogenese.** Cancer Research.59(1):607-614

Brian J Reid, Terry R Fermor, Kirk T Semple.2002. **Induction of PAH-catabolism in mushroom compost and its use in the biodegradation of soil-associated phenanthrene.** Environmental Pollution.118(1):65-73

Cheol-Joong Kim, Dong-Bok Won, Kyu-JinHan, So-JinPark.2002. **Phase behavior and extraction characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures with hexane in sub- and supercritical state.** Fluid Phase Equilibria.198(1):51-65

Chetwittayachan, T., Shimazaki, D. and Yamamoto, K. 2002. **A comparison of temporal variation of particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons (pPAHs) concentration in different urban environments: Tokyo, Japan, and Bangkok, Thailand. Atmos.** Environ. 36(1): 2027- 2037.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chouychai, W., A. Thongkukiatkul, S. Upatham, H. Lee, P. Pokethitiyook, and M. Kruatrachue.2007. **Phytotoxicity assay of crop plants to phenanthrene and pyrene contaminants in acidic soil**. Environ Toxicol.22(1):597-604.

Davidson, C.I. and Wu, Y.L. 1989. **Dry Deposition of Trace Elements, in Control and Fate of Atmospheric Heavy Metals, J.M. Pacyna and B**. Ottar, editors, NATO ASI Series, Series C, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 268(1): 147-202.

Eva J. Hoffman, Gary L. Mills,T James S. Latimer, and James G. Quinn .1984. **Urban Runoff as a Source of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to Coastal Waters.** Environ. Sol. Technol.18(1): 580-587

Elizabeth H, Denisa, Jaime L, Toney Rafael TarozoaR, Scott Andersonb Lydia D. Roachc Yongsong Huang.2012. **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in lake sediments record historic fire events: Validation using HPLC-fluorescence detection**.Organic Geochemistry. 45(1): 7-17

Gocht, T., Moldenhauer, K.M. and Püttmann, W. 2001. **Historical record of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) and heavy metals in floodplain sediments from the Rhine River (Hessisches Ried, Germany)**. Appl. Geochem.16(1): 1707-17821.

Grariviat, H. 1999. **A study on air pollution by airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHS) in Bangkok urban atmosphere.** Doctoral dissertation. School of Environment, resource and development. Asian Institute of Technology

Hong Zhang, Ming Xue, Zhiyuan Dai .2010. **Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic products by HPLC-fluorescence**. Journal of Food Composition and Analysis. 23(1): 469-474

HuminZong, Xindong Ma, Guangshui Na, Chuanlin Huo, Xiutang Yuan, Zhifeng-Zhang.2013. **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the mariculture zones of China's northern Yellow Sea.** Marine Pollution Bulletin.85(1): 172-178

Imma Tolosa, Stephende de Mora, Mohammad Reza Sheikholeslami, Jean Pierre-Villeneuve' Jean Bartocci, Chantal Cattini.2004. **Aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal caspian Sea sediments.** Marine Pollution Bulletin.48(1): 44-60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

I.C. Eom C.Rast A.M.Veber P.Vasseur.2007. **Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil.** Ecotoxicology and Environmental Safety.68(1): 190-205

Jacob, J. 1996. **The significance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens. Pure & Appl.** Chern. 68(2): 301-308.

Jaewook Lee, Jun-Hyun Jeong, Shinwoong Park, Kwang-GeunLee. 2018. **"Monitoring and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in processed foods and their raw materials"** 92(1): 286-292

Jian Wang, Xiaofang Zhang, Wanting Ling, Rui Liu, Juan Liu, Fuxing Kang, Yanzheng Ga. 2017. **"Contamination and health risk assessment of PAHs in soils and crops in industrial areas of the Yangtze River Delta region, China"**168(1): 976-987

Jian Xu, Yong Yu, Ping Wang, Wei feng, Guo Shugui, Dai Hongwen Sun.2007. **Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface sediments from Yellow River, China.** Chemosphere.67(1) :1408-1414

Kanaly RA, Bartha R, Fogel S, Findlay M. 1997. **Biodegradation of [^{14}C] benzo[a]pyrene added in crude oil to uncontaminated soil.** Appl Environ Microbiol. 63(1): 4511–4515

Kamens, R.M., Guo, Z., Fulcher, J.N., Bell, D.A., 1988.**Influence of humidity, sunlight and temperature in the daytime decay of polyaromatic hydrocarbons on atmospheric soot particles.** Environmental Science and Technology 22(1): 103–108.

Katz, M., Chan, C., Tosine, H., Sakuma, T., 1979. **In: Jones,P.W., Leber, P. (Eds.), Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. Ann Arbor Science Publs.,** Ann Arbor, MI.

Khesina AYa. 1994. **Urban air pollution by carcinogenic and genotoxic polyaromatic hydrocarbons in the former USSR.** Environ Health Perspect.10(4): 49-53.

LaRocca, C., Conti, R., Crochi, B., Iacovella, N. and Rodriguez, F. 1996. **PAH content and mutagenicity of marine sediments from the Venice Lagoon.** Ecotoxicol. Environ. Saf.33(1):236-45

Leister, D.L. and Baker, J.E. 1994. **Atmospheric deposition of organic contaminants to the Chesapeake Bay.** Atmos. Environ. 28(8): 1499-1520.

Lisha Ren, Lorelei F.Zeiler, D.George Dixon, Bruce M. Greenberg.1996. **Photoinduced Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Brassica napus (Canola)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

during Germination and Early Seedling Development. Ecotoxicology and Environmental Safety.33(1):73-80

Lars Herngren, Ashantha Goonetilleke, Godwin A. Ayoko,Maria M. M. Mostert. 2010. **"Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban storm water in Queensland, Australia."**158(1): 2848-2856

Mabey, W.R., Smith, J.H., Podoll, R.T., Johnson, H.L.,Mill,T.,Chou, T.-W., Gates,J., Partridge, I.W., Jaber, H. and Vandenberg,D. 1982. **Aquatic Fate Process Data for Organic Priority Pollutants. Washington, D. C.**, U.S. Environmental Protection Agency(EPA).440(1):4-81-014

Mai, B.X., Fu, J.M., Zhang, G., Lin, Z., Min, Y.S., Sheng, G.Y. and Wang, X.M. 2001. **Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Pearl river and estuary, China: spatial and temporal distribution and source**. Appl. Geochem. 16(1):1429-1445

Maliszewska- Kordybach, B. Smreczak, B. 2000. **Ecotoxicological activity of soils polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) - Effect on plants.** Environ. Technol. 21(1): 1099-1110.

Menzie CA, Potocki BB, Santo Donato J. 1992. **Ambient concentrations and exposure to carcinogenic PAHs in the environment**. Environ Sci Technol. 26:1278-1283.

M. J. Smith, T. H. Flowers, H. J. Duncan J. Alder.2006. **Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues.** Environmental Pollution.141(1):519-525

Møller, M., Alfheim, I., Larssen, S. and Mikalsen, A. 1982. **Mutagenicity of Airborne Particles in Relation to Traffic and Air Pollution Parameters**. Environ. Sci. Technol. 16(1): 221-225

Mustafa Odabasi, Nedim Vardar, Aysun Sofuoglu, Yucel Tasdemir, Thomas MHolsen.1999. **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Chicago air.** Science of The Total Environment.227(1): 57-67

Oanh N. T. K. Reutergardh L. B. Dung N. T. 1999. **Emission of polycyclic aromatic hydrocarbons and particulate matter from domestic combustion of selected fuels**. Environmental Science and Technology.33(1):2703-2709

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pankow, J.F., 1991. **Common y-intercept and single compound regressions of gas-particle partitioning data vs 1/T. Atmospheric Environment**. Part A: General Topics.25(1) :2229-2239

P.Chowdih, B.R.Misra, J.J.Kilbane, V.J.Srivastava, T.D.Hayes.1998. **Foam propagation through soils for enhanced in-situ remediation.** Journal of Hazardous Materials.62(1): 265-280

Ravindra, K., Mittal, A.K., Van Grieken, R., 2001. **Health risk assessment of urban suspended particulate matter with special reference to polycyclic aromatic hydrocarbons**. Environmental Health.16(1):169–189

Schwartz, J. 1994. **J. Air pollution and daily mortality: a review and meta-analysis.** Environ. Res. 64(1): 36-52

Sverdrup, E., Nielsen, T. and Krogh, P.H. 2002. **Soil ecotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in relation to soil sorption, lipophilicity, and water solubility.** Environ. Sci Technol. 36(1): 24-35.

Tai-An chiang wu pei-fen Liao su ying Li-Fang Wang yingchin ko.1999. **Mutagenicity and aromatic amine content of fumes from heated cooking oils produced in Taiwan.** Food and Chemical Toxicology.37(1): 125-134

Tham, Y.W.F., Ozaki, N. and Sakugawa, H. 2007. **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) in the aerosol of Higashi Hiroshima, Japan: pollution scenario and source identification**. Water Air Soil Pollute. 182(1): 235-243.

Tilman Goch, Klaus-Martin Moldenhauer, Wilhelm Püttmann. 2001. **"Historical record of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and heavy metals in floodplain sediments from the Rhine River (Hessisches Ried, Germany)."** 16(1):1707-1721

US-EPA. 1997. Deposition of air pollutants to the Great Waters. First Report to Congress, EPA- 453/R-93-055, Office of Air Quality Planning and Standards, Research Triangle Park, NC.

U. S. DHHS. 1995. **Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons**.US.Department of Health and Human Service

Wen-Jhy Lee, Ya-FenWang, Ta-Chang Lin, Ying-Yuan Chen, Weng-ChangLin, Chin-Chuen Ku Juei-Tang Cheng.1995. **PAH characteristics in the ambient air of traffic-source** .Science of The Total Environment.159(1):185-200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

WHO, 1987. **Air quality guideline for Europe**, Copenhagen, World Health Organization Regional Office for Europe. 105-117

WHO, 2000. **Air Quality Guidelines for Europe, 2 ed., WHO Regional Publication European Series No. 91**. World Health Organization (WHO), Regional Office for Europe, Copenhegen. 273.

Witt, G., Trost, E., 1999. **Distribution and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) in sediments and fluffy layer material from the Oder river estuary**. Acta Hydrochimica et Hydrobiologia 27(4): 308-317

Yang H. H. Hsieh L. T. Liu H. C. M. H. H. 2005. **Polycyclic aromatic hydrocarbon emissions from motorcycles**. Atmospheric Environment, 39(1):17-25

Yamasaki, H. Kuwata, K, Miyamoto, H. 1982. **Effects of ambient temperature on aspects of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons**. Env. Sci. Technol. 16(1): 189-194

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สมบัติของ Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

PAH Standard (QUEBEC MINISTRY OF ENVIRON.PAH MIX) 500 µg/mL in Dichloromethane: Benzene (50:50), บริษัท AccuStandard, Inc., ประเทศสหรัฐอเมริกา ประกอบด้วย PAHs 24 ชนิด ได้แก่

Acenaphthene	: 500 µg/mL
Acenaphthylene	: 500 µg/mL
Anthracene	: 500 µg/mL
Benz(a)anthracene	: 500 µg/mL
Benzo(b)fluoranthene	: 500 µg/mL
Benzo(j)fluoranthene	: 500 µg/mL
Benzo(k)fluoranthene	: 500 µg/mL
Benzo(g,h,i)perylene	: 500 µg/mL
Benzo(c)phenanthrene	: 500 µg/mL
Benz(a)pyrene	: 500 µg/mL
Benz(e)pyrene	: 500 µg/mL
Chrysene	: 500 µg/mL
Dibenz(a,h)anthracene	: 500 µg/mL
Dibenz(a,h)pyrene	: 500 µg/mL
Dibenz(a,i)pyrene	: 500 µg/mL
Dibenz(a,l)pyrene	: 500 µg/mL
7,12-Dimethylbenz(a)anthracene	: 500 µg/mL
Fluoranthene	: 500 µg/mL
Fluorene	: 500 µg/mL
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	: 500 µg/mL
3-Methylcholanthrene	: 500 µg/mL
Naphthalene	: 500 µg/mL
Phenanthrene	: 500 µg/mL
Pyrene	: 500 µg/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. การเตรียมสารมาตรฐานสำหรับฉีด HPLC-FLD

ตาราง ข-1 การเตรียมสารมาตรฐาน PAHs สำหรับใช้ในการวิเคราะห์

เตรียมจากสารละลาย PAHs-24 เข้มข้น (ppm)	PAHs ที่ต้องการ (ppm)	PAHs ที่ใช้ (µL)	Acetonitrile ที่ใช้ (µL)	ปริมาตรสุทธิ (mL)
500	30	600	9400	10
30	10	3333	6667	10
10	1	1000	9000	10
1	0.1	200	1800	2
0.1	0.01	200	1800	2
0.01	0.005	1000	1000	2
0.005	0.002	800	1200	2
0.002	0.001	1000	1000	2

ตาราง ข-2 การเตรียมสารมาตรฐาน B(a)P สำหรับใช้ในการวิเคราะห์

เตรียมจากสารละลาย B(a)P เข้มข้น (ppm)	B(a)P ที่ต้องการ (ppm)	B(a)P ที่ใช้ (µL)	Methanol ที่ใช้ (µL)	ปริมาตรสุทธิ (mL)
100	10	200	1800	2
10	1	200	1800	2
1	0.1	200	1800	2
0.1	0.01	200	1800	2
0.01	0.005	1000	1000	2
0.005	0.002	800	1200	2
0.002	0.001	1000	1000	2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมกับ Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

ตารางที่ ค-1 ความยาวคลื่น (λ) สำหรับ Excitation และ Emission ในการวิเคราะห์ด้วย HPLC-FLD

PAHs compounds	Excitation (nm)	Emission (nm)
Nap, Ace, Fo	280	340
Phe, An	250	400
Fluo	286	433
Pyr	331	392
B(aA), Chry, B(b)F, B(k)F, B(a)P, DBA, B(g,h,i)P	264	407

ที่มา: สุรจิต ทีฆสกุล และคณะ (2556)

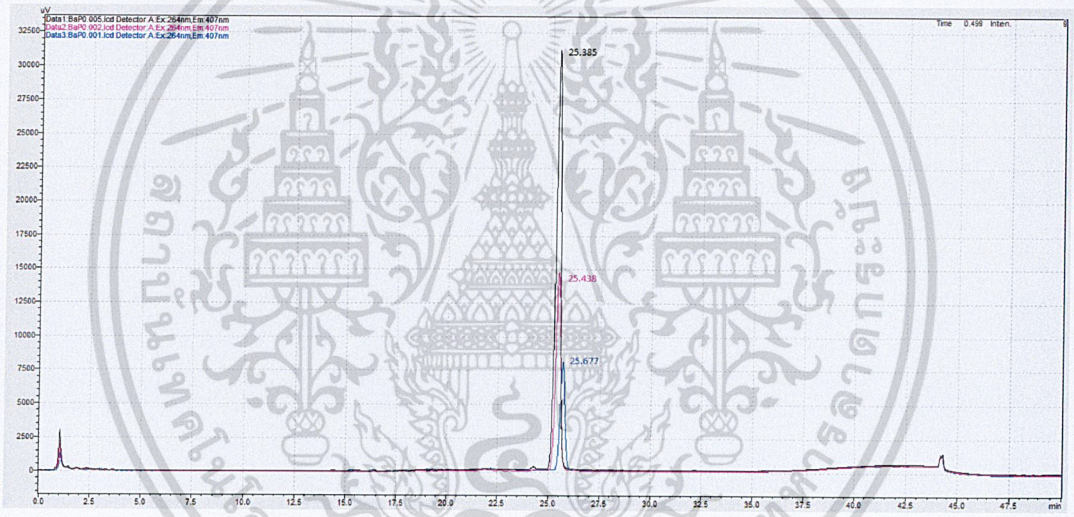
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
ข้อมูลจากการวิเคราะห์

1. ข้อมูลจากการฉีด HPLC-FLD

ตารางที่ ง-1 พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน B(a)P ที่ช่วงความเข้มข้น 0.001 – 0.005 µg/mL

ความเข้มข้น (µg/mL)	Retention time	Peak area
0.001	25.677	131467
0.002	25.438	247501
0.005	25.385	520761



(ก) โครมาโตรแกรมสีน้ำเงิน (0.001 µg/mL) **(ข)** โครมาโตรแกรมสีชมพู (0.002 µg/mL)
(ค) โครมาโตรแกรมสีดำ (0.005 µg/mL)

รูปที่ ง-1 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน B(a)P

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้