การตรวจวัดฟีนอลและอนุพันธ์ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า โดยใช้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วยพอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน)

DETERMINATION OF PHENOL AND DERIVATIVES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY/ELECTROCHEMICAL WITH POLY(3-METHYLTHIOPHENE) MODIFIED ELECTRODE

เกษศิรินทร์ สนอ่วม

KESSIRIN SONOUM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-9708-67-9

การตรวจวัดฟีนอลและอนุพันธ์ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า โดยใช้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วยพอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน)

DETERMINATION OF PHENOL AND DERIVATIVES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY/ELECTROCHEMICAL WITH POLY(3-METHYLTHIOPHENE) MODIFIED ELECTRODE

เกษศิรินทร์ สนอ่วม

KESSIRIN SONOUM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-9708-67-9

DETERMINATION OF PHENOL AND DERIVATIVES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY/ELECTROCHEMICAL WITH POLY(3-METHYLTHIOPHENE) MODIFIED ELECTRODE

KESSIRIN SONOUM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2004

ISBN 974-9708-67-9

COPYRIGHT 2004

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจวัดฟีนอลและอนุพันธ์ด้วยเทคนิค ลิควิดโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน)
นักศึกษา	นางสาวเกษศิรินทร์ สนอ่วม
รหัสประจำตัว	42065504
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมี (เคมีวิเคราะห์)
พ.ศ.	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร.วีระศักดิ์ สุระเรืองชัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการวิเคราะห์ฟีนอลและอนุพันธ์ โดยนำขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนปรับปรุงด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) มาใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดในระบบโครมาโทกราฟีของเหลว ฟีนอลและอนุพันธ์แยกชะด้วยคอลัมน์ ODS-C_{18} เฟสเคลื่อนที่คือสารละลายเมทานอล: น้ำ อัตราส่วน45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3 มี KNO_3 2 กรัม/ลิตร และ KCl 0.05 กรัม/ลิตร เป็นอิเล็กโทรไลต์) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตร/นาที วิเคราะห์ด้วยเทคนิค แอมเพอโรเมทรี ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE) ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ของฟีนอล 4-ไนโทรฟีนอล 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล 2-คลอโรฟีนอล 2-ไนโทรฟีนอล 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล คือ 16.06 16.99 16.60 10.96 13.90 14.80 15.35 21.85 18.99 10.41 และ 17.43 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ พิสัยเชิงเส้นทำการตรวจวัดในช่วง 10-800 ไมโครโมลาร์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่ามากกว่า 0.9924

Thesis Title	Determination of Phenol and Derivatives by Liquid Chromatography/Electrochemical with Poly(3methylthiophene) Modified Electrode
Student	Ms. Kessirin Sonoum
Student ID.	42065504
Degree	Master of Science
Programme	Chemistry (Analytical Chemistry)
Year	2004
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Arunee Kongsakpaisal
Thesis Co-advisor	Asst. Prof. Dr. Weerasak Suraroungchai

ABSTRACT

This work is a studying phenol and derivatives by using poly(3-methylthiophene) (PMeT) modified glassy carbon electrode as detector in high performance liquid chromatographic system. The separation was accomplished by using ODS-C_{18} column with mobile phase of methanol:water 45:55 v/v (pH3, KNO_3 2 g/l and KCl 0.05 g/l were electrolytes) and flow rate was 1.0 ml/min. Amperometric detection functioned at a potential of +0.9 V vs SCE. Limit of quantitation (LOQ) for phenol, 4-nitrophenol, 2-4-dinitrophenol, 2-methylphenol, 2-chlorophenol, 2-methyl-4-6-dinitrophenol, 2,4-dichlorophenol, 4-chloro-3-methylphenol, 2-nitrophenol, 2-4-dimethylphenol, 2,4,6-trichlorophenol was 16.06, 16.99, 16.60, 10.96, 13.90, 14.80, 15.35, 21.85, 18.99, 10.41 and 17.43 μM, respectively. Dynamic rang measurement between 10 and 800 μM, with correlation coefficient > 0.9924.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดี ด้วยคำแนะนำ และคำปรึกษา รวมถึงแนวทางในการแก้ปัญหาที่ดีจาก รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล และ ผศ.ดร. วีระศักดิ์ สุระเรืองชัย ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยซาบซึ้งในความอนุเคราะห์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ผศ. คณิตา ตังคณานุรักษ์ ประธานกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ. ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ และ ผศ.ดร. วินัย นุตมากุล ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ายิ่งในการเป็นกรรมการพิจารณาวิทยานิพนธ์ พร้อมกับให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะ ตลอดจนช่วยตรวจรายละเอียดต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เป็นไปอย่างถูกต้อง

ขอขอบพระคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และห้องปฏิบัติการไบโอเซนเซอร์ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี เครื่องมือและสถานที่สำหรับการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนและรุ่นน้องนักศึกษาปริญญาโทสาขาเคมีวิเคราะห์ทุกคนที่คอยช่วยเหลือตลอดช่วงที่ทำวิจัย ขอขอบคุณ คุณวินัย เรือนคำ ที่ให้กำลังใจตลอดจนความช่วยเหลือจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณย่าที่เคารพรักยิ่ง ที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนผู้วิจัยตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

เกษศิรินทร์ สนอ่วม

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย....................I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ....................II
กิตติกรรมประกาศ....................III
สารบัญ....................IV
สารบัญตาราง....................VIII
สารบัญรูป....................IX
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ....................X
บทที่ 1 บทนำ....................1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย....................1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย....................2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย....................2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ....................3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....................4
2.1 หลักการทางเคมีไฟฟ้าโดยทั่วไป....................4
2. 2 เทคนิควิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า....................9
2.3 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลที่ขั้วไฟฟ้า....................13
2.4 พอลิเมอร์ Poly(3-methylthiophene)....................14
2.5 โครมาโทกราฟี....................18
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....................20

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย....................24
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย....................24
3.2 วิธีการวิจัย....................26
3.2.1 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง....................26
3.2.1.1 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ ฟีนอล....................26
3.2.1.2 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ ฟีนอล....................27
3.2.1.3 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 4-ไนโทรฟีนอล....................28

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.1.4 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 4-ไนโทรฟีนอล......27

3.2.1.5 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์
2,4-ไดไนโทรฟีนอล......27

3.2.1.6 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์
2,4-ไดไนโทรฟีนอล......27

3.2.1.7 การเตรียมstocksolutionของสารละลาย0.025โมลาร์2-เมทิลฟีนอล......28

3.2.1.8 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2-เมทิลฟีนอล......28

3.2.1.9 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล......28

3.2.1.10 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล......28

3.2.1.11 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์
2-ไนโทรฟีนอล......28

3.2.1.12 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์
2-ไนโทรฟีนอล......28

3.2.1.13 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์
2,4-ไดเมทิลฟีนอล...... 29

3.2.1.14 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์
2,4-ไดเมทิลฟีนอล......29

3.2.1.15 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทร ฟีนอล......29

3.2.1.16 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล......29

3.2.1.17 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล......29

3.2.1.18 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล......30

3.2.1.19 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์
2,4-ไดคลอโรฟีนอล......30

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.1.20 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล....................30

3.2.1.21 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล....................30

3.2.1.22 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล....................30

3.2.1.23 การเตรียมสารละลายที่เตรียมขั้วไฟฟ้า....................31

3.2.1.24 การเตรียมสารละลายเมทานอล:น้ำ เพื่อใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่สำหรับ ยูวี ดีเทคเตอร์....................31

3.2.1.25 การเตรียมสารละลายเมทานอล:น้ำ เพื่อใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ สำหรับเทคนิค HPLC /เคมีไฟฟ้า....................31

3.2.2 การสร้างขั้วไฟฟ้างาน....................31

3.2.2.1 การทำความสะอาดขั้วไฟฟ้าใช้งาน....................32

3.2.2.2 การทำพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) บนขั้วไฟฟ้าทำงาน....................32

3.2.3 การสร้างเซลล์บางแบบฉีดไหล....................33

3.2.4 การศึกษาด้วย HPLC ตรวจวัดด้วย ยูวีดีเทคเตอร์....................34

3.2.5 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารประกอบฟีนอลด้วย HPLC โดยใช้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงเป็นตัวตรวจวัด....................34

บทที่ 4 ผลการวิจัย....................36

4.1 การแยกสารประกอบฟีนอลโดยระบบ HPLC....................36

4.1.1 ศึกษาความอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่....................36

4.1.2 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่และเวลารีเทนชัน (retention time)....................38

4.2 การศึกษาสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด โดยระบบโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า....................40

4.2.1 การสร้างฟิล์มพอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน) บนขั้วไฟฟ้าทำงาน....................40

4.2.2 การศึกษาไซคลิกโวลแทมเมทรีของสารประกอบฟีนอล ในสารละลายที่เลือกใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่....................41

4.2.3 ศักย์ไฟฟ้าที่ทำให้ได้กระแสออกซิเดชันสูงสุด....................44

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.4 การศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม 45

4.2.5 การสร้างกราฟมาตรฐานของฟีนอลและอนุพันธ์...47

4.2.6 การศึกษาเพื่อยืนยันตำแหน่งพีกที่แน่นอนของสารประกอบ
ฟีนอลทั้ง 11 ชนิด (spiking) 49

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 51

5.1 สรุปผลการวิจัย..51

5.2 ข้อเสนอแนะ..52

เอกสารอ้างอิง...53

ภาคผนวก ก..56

ตัวอย่างโครมาโทแกรมและโวลแทมโมแกรม...56

ภาคผนวก ข...79

การคำนวณขีดจำกัดการตรวจหา..79

ภาคผนวก ค...118

ข้อมูลดิบ..118

ประวัติผู้เขียน...120

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 แสดงความสามารถในการแยกชะสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด
ของเฟสเคลื่อนที่ในอัตราส่วนต่าง ๆ 38

4.2 แสดงค่าเวลารีเทนชัน (retention time) ของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด
ที่ได้จากการใช้อัตราการไหลเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆ กัน 39

4.3 ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาและกระแสออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด
ที่ได้จากการทำไซคลิกโวลแทมเมทรี.. 43

4.5 กระแสออกซิเดชันที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆ 46

4.6 ค่ากระแสที่เพิ่มขึ้นจากการ spike..50

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ภาพรวมของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าอิเล็กโทรด 5
2.2 การเคลื่อนที่ของไอออนแบบไมเกรชัน..6
2.3 การนำพามวลจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าอิเล็กโทรดด้วยการแพร่..7
2.4 การนำพามวลจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการพา.. 7
2.5 รูปแบบแสดงกระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า..8
2.6 แสดงภาพรวมของการใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี..10
2.7 โวลแทมโมแกรมที่เกิดขึ้นเมื่อเปลี่ยนแปลงอัตราศักย์..12
2.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับเวลาที่ได้จากเทคนิคแอมเพอโรเมทรี..13
2.9 แสดงโครงสร้างสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด..17
2.10 ตัวอย่างโครงสร้างของ amperometric detection cell 19
3.1 แสดงแผนภาพของระบบ HPLC-EC 26
3.2 ส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าใช้งาน..32
3.3 แสดงส่วนประกอบของเซลล์บางแบบฉีดไหล..34
4.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด 37
4.2 การตอบสนองสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าของ 3- เมทิลไทโอฟีน..40
4.3 แสดงความสัมพันธ์ของกระแสกับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่
เมื่อป้อนศักย์ไฟฟ้า + 0.9 โวลต์ 42
4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด 44
4.5 ความสัมพันธ์ของกระแสกับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่
เมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ให้ +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE.. 45

รายการคำย่อและสัญลักษณ์

A	แอมแปร์
Ag/AgCl	ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์
C	คูลอมบ์
C_A	ความเข้มของของสาร A ในสารละลายทั้งหมด (mol cm^{-3})
C_O	ความเข้มข้นของตัวออกซิไดซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (mol l^{-1})
C_R	ความเข้มข้นของตัวรีดิวซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (mol l^{-1})
E	ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐาน (V)
E_{app}	ศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนแก่เซลล์ (V)
E_{eq}	ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ที่สมดุล (V)
E^0	ศักย์ไฟฟ้าฟอร์มอล (V)
I	กระแสสูงสุดที่วัดได้ของสาร (A)
i_p	กระแส ณ ตำแหน่งที่เกิดพีก
k	ค่าคงที่อัตรา
n	จำนวนอิเล็กตรอนของปฏิกิริยา
O	สารออกซิไดซ์
R	สารรีดิวซ์
P	สารผลิตภัณฑ์
PMeT	พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน)
R	ค่าคงที่ของก๊าซ (8.314 J mol^{-1} K^{-1})
Rh	โรเดียม
S	ซับเสตรท
SCE	ขั้วไฟฟ้าคาโลเมลอิ่มตัว
t	เวลา (s)
T	อุณหภูมิเคลวิน (K)
V	โวลต์
δ	ระยะของ Nernst diffution layer (cm)
Rh/PMeT	ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วยฟิล์มพอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน) ร่วมกับการตรึงโรเดียม

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ปัจจุบันนี้มีการใช้สารประกอบฟีนอลในอุตสาหกรรมทั้งหมดทั่วโลกอย่างแพร่หลาย เช่น ในอุตสาหกรรมพลาสติก สี ยา และโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมกระดาษ เมื่อสารประกอบฟีนอลถูกนำมาใช้ในกระบวนการทางอุตสาหกรรมต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก ส่งผลให้พบสารประกอบฟีนอลปนเปื้อนในน้ำทิ้งจากแหล่งอุตสาหกรรมเหล่านั้นมากตามไปด้วย สารประกอบเหล่านี้มีความเป็นพิษ (Toxicity) ค่อนข้างสูง จึงก่อให้เกิดปัญหากับสิ่งแวดล้อมได้ เช่น เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ พืชน้ำ และคุณภาพของน้ำในบริเวณนั้น องค์กรพิทักษ์สิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (United States Environmental Protection Agency, US-EPA) ได้ออกข้อกำหนดปริมาณสารประกอบฟีนอลในสิ่งแวดล้อมตามมาตรฐานบัญชีสารมลพิษ (Priority Pollutant Lists) ให้ปริมาณความเข้มข้นสูงสุดที่ยอมรับได้ในการปนเปื้อนในน้ำดื่มได้ไม่เกิน 0.5 ไมโครกรัมต่อลิตร [1] เมื่อคำนึงถึงผลกระทบดังกล่าวที่อาจเกิดขึ้นจากความเป็นพิษของสารประกอบฟีนอล การตรวจวิเคราะห์สารประกอบเหล่านี้ จึงต้องการวิธีตรวจวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูง

วิธีการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลในตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี เช่น แก๊ส-โครมาโทกราฟี แมสสเปกโทรเมทรี หรือวิธีทางสเปกโทรโฟโทเมทรี โดยใช้ 4-อะมิโนแอนทิไพรีน (4-amino antipyrine) ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสี เป็นวิธีที่มีความสะดวกและไม่ซับซ้อนนัก แต่ข้อจำกัดของการใช้วิธีนี้คือไม่สามารถตรวจหาสารประกอบฟีนอลที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่งพารา ที่เป็นหมู่อัลคิล (Alkyl), เอริล (Ary), ไนโทร (Nitro), เบนโซอิล (Benzoeyl), ไนโทรซอล (Nitrosol) หรือ อัลดีไฮด์ (Aldehyde) ได้ [2] สำหรับการใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดี แต่ตัวอย่างที่นำมาศึกษามักต้องผ่านขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงหมู่อนุพันธ์ (Derivatization) เสียก่อน [3] ซึ่งมีความยุ่งยากในขั้นตอนการวิเคราะห์และเครื่องมือมีราคาแพง

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบฟีนอล การมีหมู่ไฮดรอกซีอยู่บนวงเบนซีนทำให้ สามารถใช้วิธีทางเคมีไฟฟ้าตรวจวัดได้โดยตรงบนขั้วไฟฟ้าโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าเป็นบวก แต่การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าอาจต้องใช้ศักย์ไฟฟ้าสูง (1.2 โวลต์) และก่อให้เกิด ปฏิกิริยาอิเล็กโทรพอลิเมอไรเซชัน (Electropolymerization) ของสารประกอบฟีนอลเองที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเกิดเป็นฟิล์มบางเคลือบผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (Passivation) ซึ่งจะส่งผลให้การตอบสนองสัญญาณทางไฟฟ้าลด

ลงเมื่อทำการวัดซ้ำ ปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (Surface Modification) สำหรับการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า พบว่าการปรับปรุงด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) (PMeT) สามารถลดการเกิด Passivation ได้ และยังช่วยยืดอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าให้นานขึ้นได้อีกด้วย [4]

ในงานวิจัยนี้ได้นำความสามารถในการแยกของระบบโครมาโทกราฟีมาใช้ร่วมกับการตรวจวัดทางเคมี ไฟฟ้าด้วยขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วยพอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลและอนุพันธ์

1.2 จุดประสงค์ของการงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาการสร้างขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนที่มีฟิล์มพอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) และเซลล์บางแบบฉีดไหล (thin-layer flow cell) เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดในระบบโครมาโทกราฟีของเหลว

1.2.2 ตรวจวัดปริมาณฟีนอลและอนุพันธุ์ 10 ชนิด ในระบบโครมาโทกราฟีของเหลวที่มีขั้วไฟฟ้า ปรับปรุงเป็นอุปกรณ์ตรวจวัด

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 เตรียมขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนที่มีฟิล์ม พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) และศึกษาการตอบสนองสัญญาณทางไฟฟ้าของฟีนอลและอนุพันธุ์ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี

1.3.2 สร้างเซลล์บางแบบฉีดไหล (thin-layer flow cell) ที่มีขั้วไฟฟ้าปรับปรุงสำหรับใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัด

1.3.3 ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (Detection Limit) สภาพไว (sensitivity) ของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยฟิล์ม พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) เมื่อใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดในระบบโครมาโทกราฟีของเหลว

1.3.4 ศึกษาเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าด้วยขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุง และด้วย ยูวี วิสิเบิล ดีเทคเตอร์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) เป็นตัวตรวจวัดในระบบโครมาโทกราฟีของเหลว สำหรับวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลได้

1.4.2 สามารถพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดและระบบโครมาโทกราฟีของเหลว เพื่อการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลและอนุพันธ์ต่าง ๆ ให้มีสภาพไวและขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำ

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หลักการทางเคมีไฟฟ้าโดยทั่วไป [5]

เคมีไฟฟ้าเป็นความสัมพันธ์ระหว่างไฟฟ้ากับการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เซลล์เคมีไฟฟ้าจะต้องประกอบด้วย 3 องค์ประกอบหลักที่สำคัญ ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าอย่างน้อย 2 ขั้ว คือขั้วไฟฟ้าทำงาน (Working Electrode) และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference Electrode) ซึ่งปริมาณทางไฟฟ้ามีการส่งผ่านจากปฏิกิริยาเคมีที่ขั้วไฟฟ้าทำงานเทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ส่วนที่สองคืออุปกรณ์ทางเคมีไฟฟ้าทำหน้าที่ตรวจรับหรือให้สัญญาณปริมาณทางไฟฟ้า และส่วนที่สามคือ สารละลายที่มีเกลืออิเล็กโทรไลต์ละลายอยู่เพื่อการนำไฟฟ้าในสารละลาย

โดยทั่วไปหัววัดเคมีไฟฟ้าเป็นอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้าด้วยสมบัติดังต่อไปนี้

1. ปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox Reaction) คือ ปฏิกิริยาที่มีการถ่ายทอดอิเล็กตรอนด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชัน ตัวอย่างเช่น สมการที่ (2.1) เป็นสมการแสดงปฏิกิริยารีดักชัน

$$O + ne^- \rightleftharpoons R \qquad (2.1)$$

โดย O เป็นสารออกซิไดซ์เกิดปฏิกิริยารีดักชัน และ R เป็นสารรีดิวซ์เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

2. ปฏิกิริยา heterogeneous คือ ปฏิกิริยาเกิดขึ้นระหว่างผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากับสารละลายด้วยกระบวนการถ่ายเทมวลและอิเล็กตรอน ดังสมการที่ (2.2) ถึง (2.4)

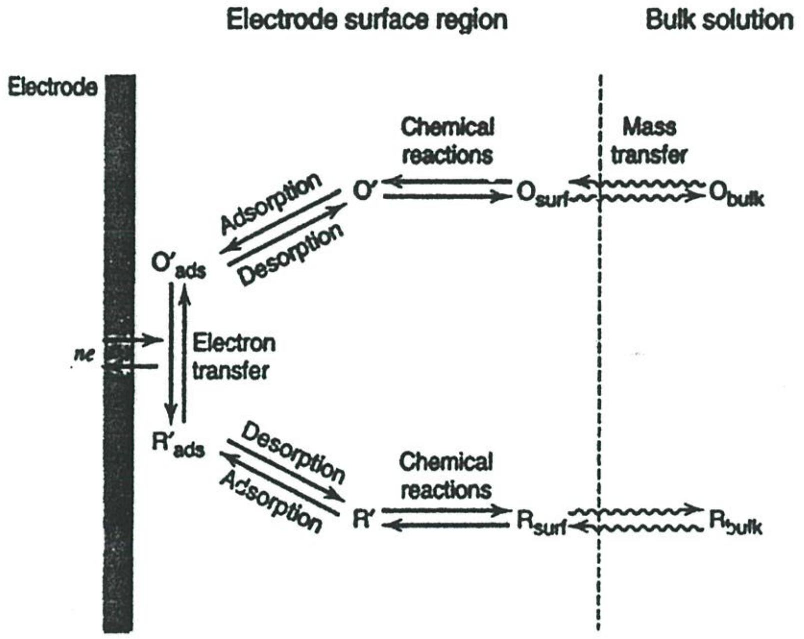
$$O_{bulk} \longrightarrow O_{electrode} \qquad (2.2)$$

$$O_{electrode} + ne^- \longrightarrow R_{electrode} \qquad (2.3)$$

$$R_{electrode} \longrightarrow R_{bulk} \qquad (2.4)$$

3. กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาดังกล่าว หรือกระแสไฟฟ้าที่ให้เพื่อเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว จะมีการส่งผ่านสู่เซลล์เคมีไฟฟ้า

4. ปริมาณกระแสไฟฟ้าจะถูกควบคุมด้วยกระบวนการถ่ายเทมวล ซึ่งมีด้วยกัน 3 ลักษณะคือ ไมเกรชัน (migration) การแพร่ (diffusion) และการพา (convection) รวมถึงจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาการถ่ายทอดอิเล็กตรอน



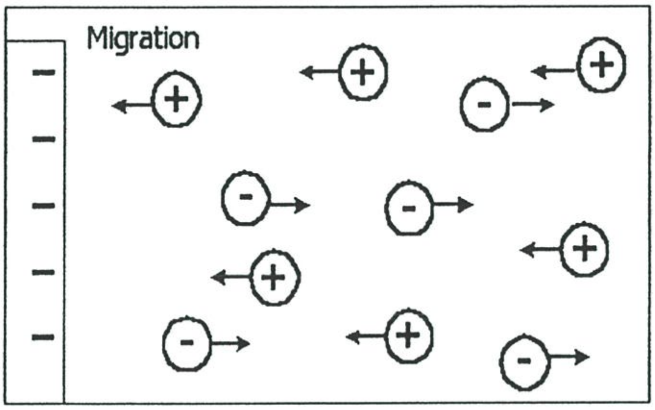
รูปที่ 2.1 ภาพรวมของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าอิเล็กโทรด [6]

2.1.1 การถ่ายเทมวลในสารละลาย (mass transfer) [5]

มวลในสารละลายซึ่งอาจเป็นไอออนหรือโมเลกุลถูกพาไปยังผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าได้ด้วย 3 กลไกด้วยกัน คือ ไมเกรชัน การแพร่ และการพา กระบวนการถ่ายเทมวลทั้ง 3 กลไกนี้ เกิดขึ้นกับขั้วแอโนดและขั้วแคโทด ตัวอย่างต่าง ๆ ที่ใช้อธิบายต่อไปนี้จะแสดงเฉพาะขั้วแคโทดเท่านั้น

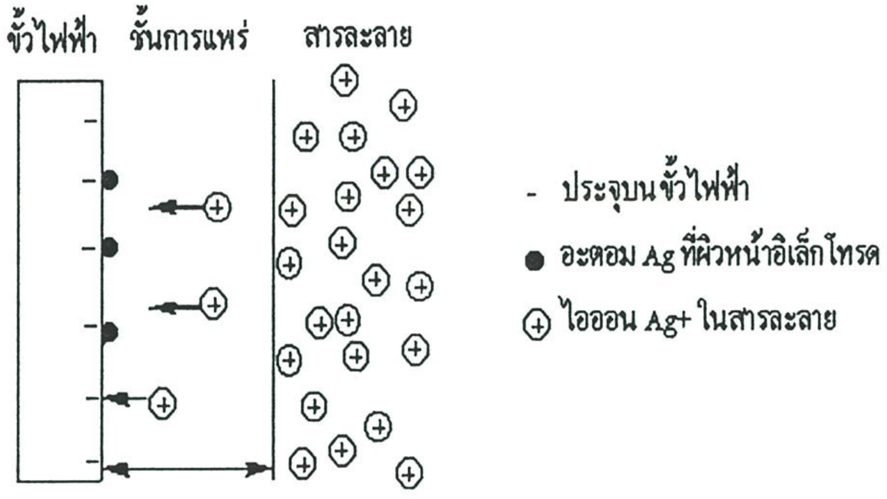
2.1.1.1 ไมเกรชัน (migration) เป็นการเคลื่อนที่ของไอออนภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในสารละลายนั้น โดยไอออนบวกเคลื่อนเข้าหาขั้วลบ และไอออนลบเคลื่อนไปทางขั้วบวก ดังรูปที่ 2.2 ความเร็วของการที่ไอออนเคลื่อนเข้าหา หรือเคลื่อนออกจากผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า อาจ

เพิ่มขึ้นหรือลดลงตามแต่ศักย์ที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้านั้น ซึ่งมีผลทำให้การไหลของกระแสในวงจรอันเนื่องจากไอออนที่ต้องการลดลงไปด้วย ในเชิงวิเคราะห์สามารถอาศัยธรรมชาติของการแย่งการเคลื่อนที่แบบไมเกรชันนี้ในการควบคุมการเคลื่อนที่ของไอออนสารวิเคราะห์ให้เป็นไปตามกลไกที่ต้องการเท่านั้น



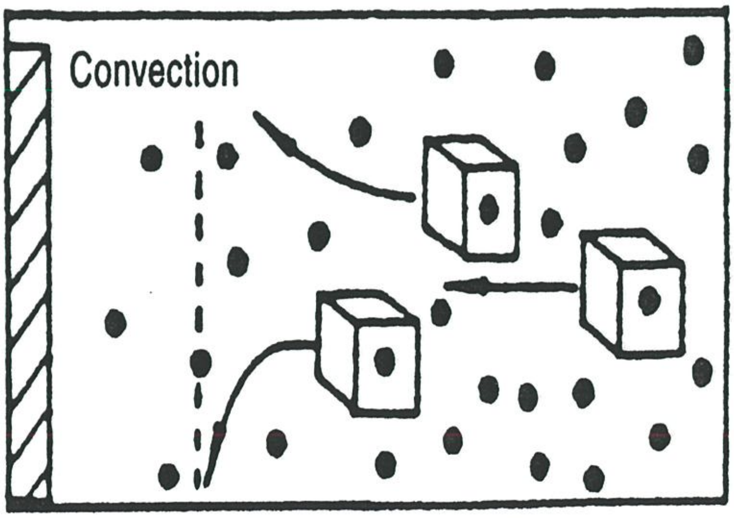
รูปที่ 2.2 การเคลื่อนที่ของไอออนแบบไมเกรชัน [7]

2.1.1.2 การแพร่ (diffusion) เป็นการเคลื่อนที่ของไอออนหรือโมเลกุลในสารละลายจากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงกว่าไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า จนกว่าไม่เกิดความแตกต่างของความเข้มข้น อัตราความเร็วของการแพร่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นที่ต่างกัน ตัวอย่างเช่นในรูปที่ 2.3 ในสารละลายซึ่งประกอบด้วย Ag^+ ในความเข้มข้นที่มากกว่าที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า จึงเกิดการแพร่ของ Ag^+ ไปยังผิวหน้าของอิเล็กโทรดยิ่งความเข้มข้นของ Ag^+ ในสารละลายและที่ผิวหน้าอิเล็กโทรดต่างกันมาก การแพร่ก็ยิ่งเกิดอย่างรวดเร็ว



รูปที่ 2.3 การนำพามวลจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าอิเล็กโทรดด้วยการแพร่

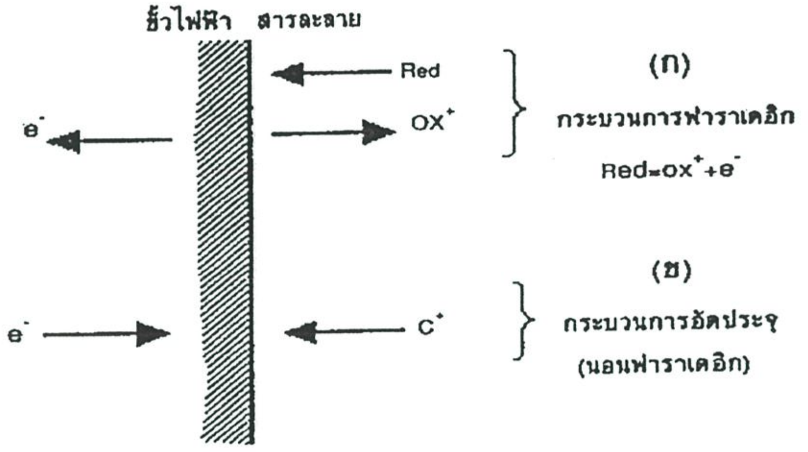
2.1.1.3 การพา (convection) การที่ไอออนหรือโมเลกุลในสารละลายถูกพาเข้าหา หรือออกจากผิวหน้าขั้วไฟฟ้า อันเป็นผลจากความแตกต่างของอุณหภูมิหรือความหนาแน่นของสารละลายหรือด้วยกลไกภายนอก เช่น โดยการคน หรือกวนสารละลาย ซึ่งเป็นการเร่งการเคลื่อนตัวของไอออนหรือโมเลกุล ภายในสารละลาย



รูปที่ 2.4 การนำพามวลจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการพา [7]

2.1.2 กระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

เมื่อไอออนของสารอิเล็กโทรไลต์ ถูกนำพาจากสารละลายมายังผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าไม่ว่าจะด้วยกลไกใดก็ตาม กระบวนการที่เกิดขึ้นตรงผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า ซึ่งเป็นรอยต่อระหว่างขั้วไฟฟ้ากับสารละลายอิเล็กโทรไลต์ เป็นไปได้อย่างใดอย่างหนึ่ง ดังแสดงในรูปที่ 2.5 ดังนี้คือ



รูปที่ 2.5 รูปแบบแสดงกระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

ถ้าไอออนหรือประจุที่ตรงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า สามารถข้ามรอยต่อระหว่างสารละลาย กับผิวหน้าขั้วไฟฟ้านั้น และมีปฏิกิริยาของการรับและคายอิเล็กตรอนเกิดขึ้น (ปฏิกิริยารีดอกซ์) ซึ่งเป็นไปตามกฎของฟาราเดย์ เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่า "กระบวนการฟาราเดอิก (Faradaic process)" ผลลัพธ์ของการเกิดกระบวนการฟาราเดอิกที่อิเล็กโทรด ทำให้เกิดการไหลของกระแสในวงจรของเซลล์เคมีไฟฟ้านั้นได้ เรียกว่าเกิด กระแสฟาราเดอิก (Faradaic current)

ถ้าไอออนหรือประจุที่ถูกพาไปที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เพียงแต่ถูกดูดซับไว้ที่บริเวณรอยต่อของสารละลายกับขั้วไฟฟ้า ไม่มีปฏิกิริยารีดอกซ์เกิดขึ้น โดยประจุที่ถูกดูดซับไว้มีการเรียงตัวตรงบริเวณรอยต่อนั้น ในระหว่างการเกิดการเรียงตัวมีการเปลี่ยนแปลงของกระแสหรือศักย์ไฟฟ้าขึ้นแต่ก็เป็นเพียงชั่วขณะที่การเรียงตัวยังไม่ยุติ เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่า "กระบวนการนอนฟาราเดอิก (Nonfaradaic process)" กระแสชั่วขณะที่เกิดขึ้นเรียกว่า กระแสนอนฟาราเดอิก (Nonfaradaic current)

สำหรับเซลล์เคมีไฟฟ้าหนึ่ง ๆ กระบวนการที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้าจะเป็นฟาราเดอิก หรือ นอน ฟาราเดอิก ไม่ได้ขึ้นกับการจัดเซลล์หรือชนิดของเซลล์เคมีไฟฟ้า แต่ขึ้นกับสภาวะของการวิเคราะห์ว่า มีเทอร์

โมไดนามิกส์หรือจลน์ศาสตร์ที่เหมาะสมกับการที่จะเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นตรงผิวหน้าขั้วไฟฟ้านั้นได้หรือไม่เพียงใด

2. 2 เทคนิควิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า

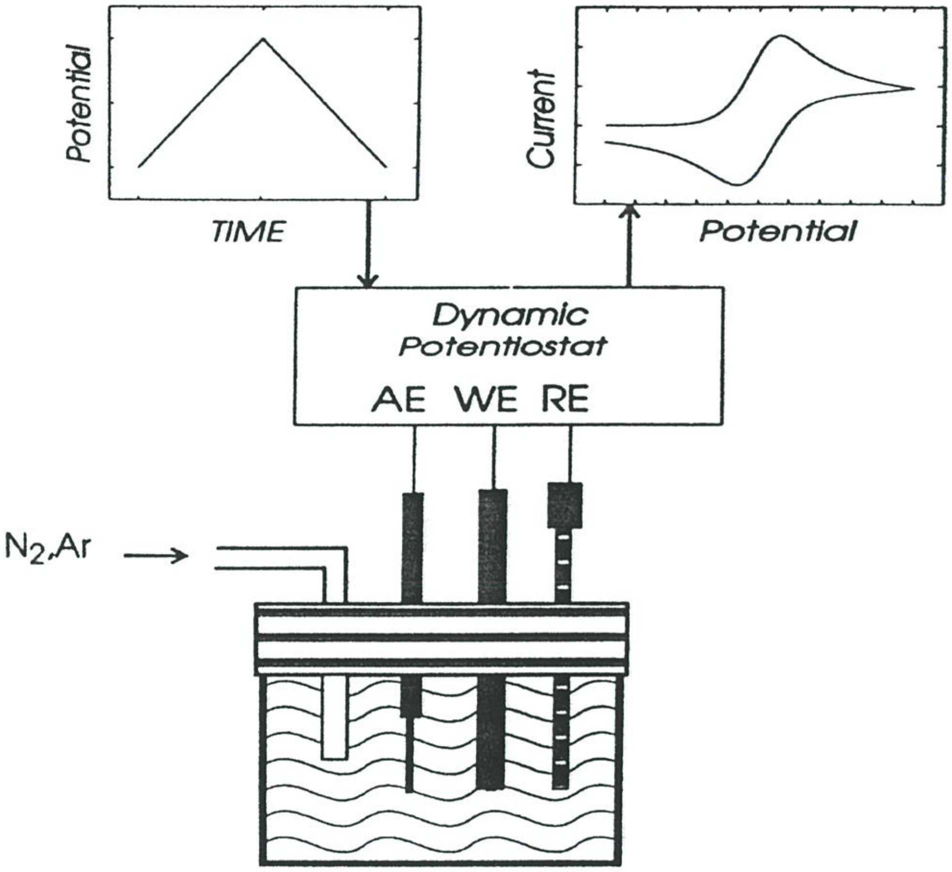
เคมีวิเคราะห์เชิงไฟฟ้าเป็นความสัมพันธ์ระหว่างปฏิกิริยาเคมีและผลของสมบัติทางไฟฟ้า [9] สามารถนำมาใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ (Qquantitative Analysis) โดยวัดสมบัติทางไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยารีดอกซ์ภายในเซลล์เคมีไฟฟ้า (Electrochemical Cell) ค่าทางไฟฟ้าที่วัดได้ ได้แก่ กระแส (Current) ศักย์ไฟฟ้า (Voltage) และความต้านทาน (Resistance) ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์

ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะวิธีไซคลิกโวลแทมเมทรี (cyclic voltammetry) และแอมเพอโรเมทรี (amperometry) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในงานวิจัย

2.2.1 เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี [10]

การใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีเพื่อใช้ในการศึกษานั้นสามารถใช้ได้ทั้งการวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพและปริมาณ กล่าวคือเทคนิคนี้สามารถบอกได้ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพจาก โวลแทมโมแกรม เมื่อกำหนดช่วงศักย์ไฟฟ้าและอัตราการสแกน (Scan Rate) โวลแทมโมแกรมที่ได้จะทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าในช่วงศักย์ที่กำหนด พีกที่เกิดขึ้นสามารถบอกถึงการดำเนินไปของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน

เมื่อพิจารณาโวลแทมโมแกรม จำเป็นต้องทราบปฏิกิริยารีดอกซ์ดังสมการที่ (2.1) ลักษณะการป้อนศักย์ให้แก่เซลล์ขั้วไฟฟ้าจะเป็นสามเหลี่ยม โดยศักย์ไฟฟ้าที่ให้จะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนถึงศักย์หนึ่ง แล้วจะค่อย ๆ ลดลงเท่ากับศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นด้วยอัตราเร็วที่เท่ากัน เมื่อเริ่มป้อนศักย์ก็จะมีกระแสเนื่องจากเกิดปฏิกิริยารีดักชันเกิดขึ้น มีลักษณะเป็นพีกและเมื่อลดศักย์ด้วยอัตราเร็วเท่าเดิมกระแสจะค่อย ๆ ลดลงจนถึงต่ำสุดเพราะเกิดปฏิกิริยาในทิศทางตรงกันข้าม (ผันกลับได้) มีลักษณะเป็นพีกในทิศทางกลับกันกับพีกแรก ซึ่งมีลักษณะสมมาตรกัน ภาพรวมของเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีแสดงได้ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แสดงภาพรวมของการใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

เมื่อป้อนอัตราศักย์ที่มีค่าต่ำหรือป้อนศักย์ให้กับเซลล์อิเล็กโทรดอย่างช้า ๆ จะปรากฏโวลแทมโมแกรมในลักษณะที่กระแสเข้าสู่สมดุล (steady state voltammogram) และเมื่อเพิ่มอัตราศักย์โวลแทมโมแกรมจะมีลักษณะที่เป็นพีกและมีความสูงเพิ่มขึ้น ทั้งโวลแทมโมแกรมที่มีกระแสเข้าสู่สมดุลซึ่งป้อนอัตราศักย์อย่างช้า ๆ และ โวลแทมโมแกรมที่เป็นพีกซึ่งป้อนอัตราศักย์ที่มีค่าสูงนั้น สารที่ต้องการวัดในสารละลายจะเคลื่อนที่เข้าหาอิเล็กโทรดเพื่อเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวหน้าอิเล็กโทรด ความแตกต่างของความเข้มข้นของสารบนผิวหน้าอิเล็กโทรดจะเกิดขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของสารตั้งต้นจะเริ่มลดลงและความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้น ผลที่ได้คือการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของกระแสที่เกิดจากปฏิกิริยาซึ่งขึ้นอยู่กับว่าปฏิกิริยานั้นเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชัน ถ้าหากการป้อนอัตราศักย์เป็นไปอย่างช้า ๆ จะทำให้การเคลื่อนที่ด้วยการแพร่ของสารที่ต้องการวัดเคลื่อนที่เข้าสู่สมดุลทันศักย์ที่ถูกป้อนให้กับอิเล็กโทรด โวลแทมโมแกรมจึงมีลักษณะที่กระแสคงที่ในช่วงหลัง แต่เมื่อใดก็ตามที่มีการป้อนอัตราศักย์ให้อิเล็กโทรดอย่างรวดเร็ว จะทำให้โวลแทมโมแกรมที่ได้มีลักษณะเป็นพีก

เนื่องจากช่วงหลังมีการลดลงของกระแส ด้วยเหตุผลที่สารที่ต้องการวัดไม่สามารถแพร่ไปที่ผิวหน้าอิเล็กโทรดได้ทันศักย์ที่ป้อนให้อิเล็กโทรด

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_R}{C_o} \quad (2.5)$$

โดย E_p คือ ศักย์ขั้วไฟฟ้าของเซลล์ (V)

E^0 คือ ศักย์ขั้วไฟฟ้ามาตรฐาน (V)

R คือ ค่าคงที่ของก๊าซ (8.314 $mol^{-1}K^{-1}$)

T คือ อุณหภูมิเคลวิน (K)

F คือ ค่าคงที่ฟาราเดย์ = 96500 C mol^{-1}

n คือ จำนวนอิเล็กตรอนของปฏิกิริยา

O คือ สารออกซิไดซ์

R คือ สารรีดิวซ์

C_O คือ ความเข้มข้นของตัวออกซิไดซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (mol/l)

C_R คือ ความเข้มข้นของตัวรีดิวซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (mol/l)

2.1.2 แอมเพอโรเมทรี (amperometry) [12]

แอมเพอโรเมทรีเป็นวิธีวิเคราะห์กลุ่มหนึ่งของเทคนิคโวลแทมเมทรี มีหลักการตรวจวัดคือการให้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ และบันทึกกระแสเป็นฟังก์ชันกับเวลา เมื่อสารละลายถูกกวนตลอดเวลา กระแสจะเพิ่มขึ้นจนเข้าสู่ steady state กระแสนี้จะเป็นฟังก์ชันโดยตรงกับปริมาณความเข้มข้นของสารที่หาได้จากสมการ (2.6)

$$I = \frac{nFAD_A C_A}{\delta} \quad (2.6)$$

โดย I คือ กระแสสูงสุดที่วัดได้ของสาร (A)

n คือ จำนวนโมลของอิเล็กตรอนต่อโมลของสารที่วัดได้

F คือ ค่าคงที่ของฟาราเดย์ (96500 C mol^{-1})

D_A คือ สัมประสิทธิ์การแพร่ของสาร (cm^2S^{-1})

A คือ พื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (cm^2)

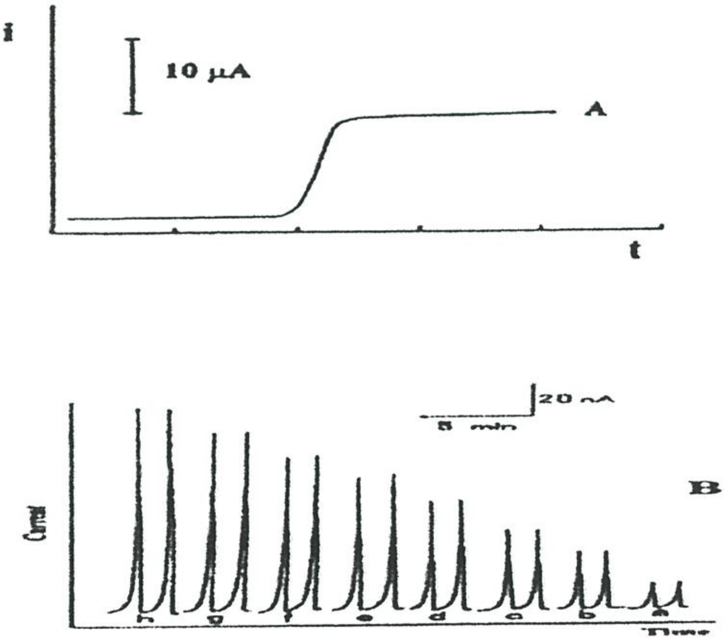
C_A คือ ความเข้มข้นของสารA ที่ต้องการหาในสารละลายทั้งหมด (mol/cm^{-3})

δ คือ ระยะของ Nernst diffusion layer (cm)

โดยส่วนมากแล้วอุปกรณ์ที่ใช้ในเทคนิคแอมเพอโรเมทรีใช้หลักการเดียวกันกับ thin-layer hydrodynamic chronoamperometry ที่ใส่ขั้วไฟฟ้าไว้ใน flow cell เมื่อขั้วไฟฟ้าทำงานอยู่ในระบบการไหล (flow system ซึ่งสารละลายถูกกวน (stirring) ตลอดเวลา) จะทำให้เกิดชั้นฟิล์มบางที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ความหนาของฟิล์มจะอยู่ในช่วง 15-125 ไมโครเมตร

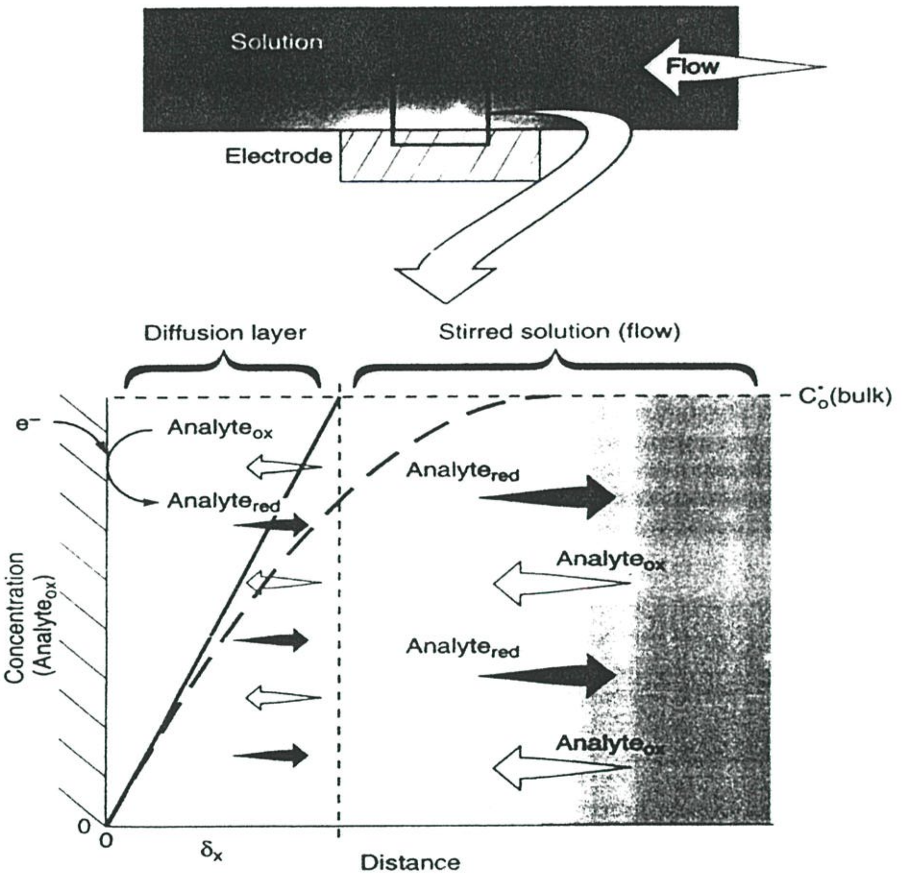
ศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับเซลล์ไฟฟ้าเคมี เป็นแรงขับดันให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์เกิดขึ้นในสารละลาย ซึ่งมีความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสม ศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนจะผ่านบริเวณที่บางมากๆ ของรอยต่อระหว่างผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานและสารละลาย (bulk solution) สนามไฟฟ้าบริเวณนี้จะมีค่ามาก อยู่ระหว่าง 10^5 ถึง 10^6 V cm^{-1}

ลักษณะของการตรวจวัดโดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมทรีใน thin-layer flow cell สารที่ต้องการวัด $Analyte_{ox}$ จะถูกพามาด้วยการไหลของสารละลาย ไปยังบริเวณ diffusion layer ซึ่งอยู่ใกล้กับผิวหน้าขั้วไฟฟ้า $Analyte_{ox}$ จะแพร่เข้าสู่ขั้วไฟฟ้าและเกิดปฏิกิริยารีดักชัน ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ$Analyte_{red}$ จะแพร่กลับเข้าสู่ diffusion flow และถูกพาออกไปด้วยการไหลของสารละลาย ศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วไฟฟ้ามีค่ามากพอที่จะทำให้สารที่ต้องการวัดทั้งหมดไปถึงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพื่อเกิดปฏิกิริยา [13] กระแสที่วัดได้มีลักษณะดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับเวลาที่ได้จากเทคนิคแอมเพอโรเมทรี

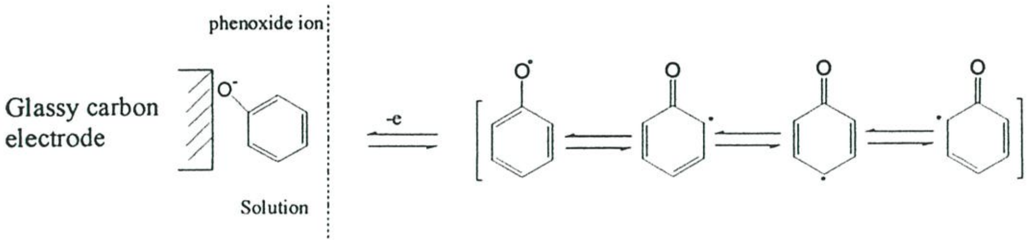
(A) แบบธรรมดา (B) แบบโฟลอินเจคชัน



รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะการตรวจวัดโดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมทรีใน thin-layer flow cell (แสดงบริเวณใกล้ขั้วไฟฟ้าภายใต้สภาวะที่เป็น hydrodynamic) เส้นทึบแสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า เส้นประแสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นที่เกิดขึ้นจริงในทางปฏิบัติ [13]

2.3 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลที่ขั้วไฟฟ้า

การเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอลบนขั้วไฟฟ้า [14] จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยตรงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าภายในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย โดยขั้นแรกสารประกอบฟีนอลจะถูกทำให้เกิดประจุเป็นฟีนอกไซด์ ไอออน (phenoxide ion) ในสารละลายที่เป็นเบส จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าดังสมการ (2.7)



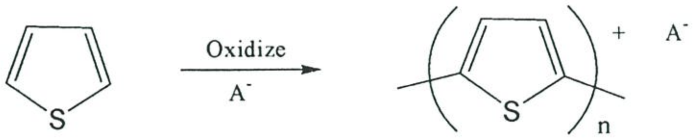
Electrode Reaction (2.7)

เมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ขั้วไฟฟ้าจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระฟีนอริก (phenolic radical) ที่ว่องไว และสามารถก่อตัวเป็นฟิล์มพอลิเมอร์บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า เรียกปรากฏการณ์เช่นนี้ว่า passivation ซึ่งเป็นสาเหตุให้การตอบสนองสัญญาณทางไฟฟ้าลดลงเมื่อทำการวัดซ้ำ

2.4 พอลิเมอร์ Poly(3-methylthiophene)

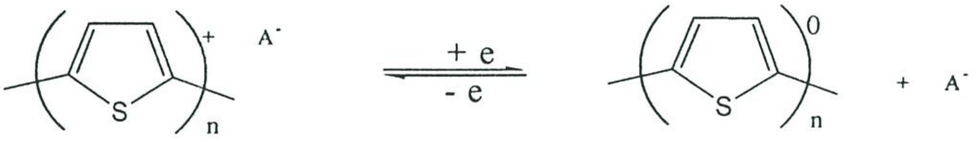
พอลิเมอร์นำไฟฟ้า [15] จะมีอิเล็กตรอนอยู่ในระบบ π ในโครงสร้าง ทำให้มีพลังงานสัมพรรคภาพอิเล็กตรอนสูง และพลังงานการเกิดไอออนต่ำ ซึ่งง่ายต่อการถูกออกซิไดซ์หรือถูกรีดิวซ์ เป็นผลให้เกิดการให้หรือรับอิเล็กตรอนภายในโครงสร้าง พอลิเมอร์นำไฟฟ้าสามารถเตรียมได้โดยใช้เทคนิคเคมีไฟฟ้า โดยเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมโนเมอร์ (เช่น pyrole, thiophene และ aniline) ในสารละลายที่เป็นน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ จากกระบวนการทำให้เกิดพอลิเมอร์เรียกระบวนการนี้ว่า electrochemical polymerization เนื่องจากฟิล์มพอลิเมอร์เหล่านี้ จะมีคุณสมบัติการแลกเปลี่ยนที่เรียกว่า redox switching ซึ่งจะทำให้มันเป็นทั้งตัวนำไฟฟ้า (conductive) หรือฉนวน (insulating) กลับไปกลับมา [16]

รูปแบบของการเกิดพอลิเมอไรเซชันของไทโอฟีน [17] สามารถแสดงได้ดังสมการ (2.8)



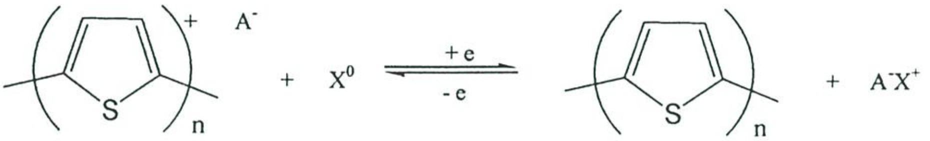
(2.8)

เมื่อ A^- คือ เคาน์เตอร์ไอออน (counter ion) กระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือปฏิกิริยารีดักชันเกิดได้ที่ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสม ซึ่งสามารถแสดงได้ดังสมการ (2.9)



(2.9)

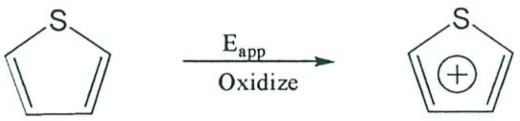
ซึ่งสามารถอธิบายได้โดยการแลกเปลี่ยนประจุที่เรียกว่า กระบวนการแลกเปลี่ยนประจุบวก (cation-exchange processes) ดังสมการ (2.10)



(2.10)

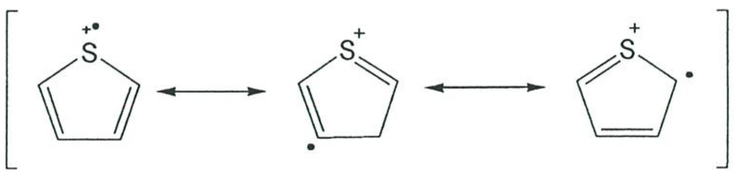
กลไกการเกิดกระบวนการพอลิเมอไรเซชัน โดยสารมอโนเมอร์ของ thiophene เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เกิดอนุมูลอิสระประจุบวกขึ้น เมื่อเกิดการรวมตัวจะทำให้ได้เป็นไดเมอร์ ผลจากการให้ศักย์ไฟฟ้าต่อเนื่องทำให้ไดเมอร์เกิดการแตกตัวและเกิดการรวมตัวใหม่ตามลำดับ ทำให้ได้พอลิเมอร์เกิดขึ้น

Monomer oxidation



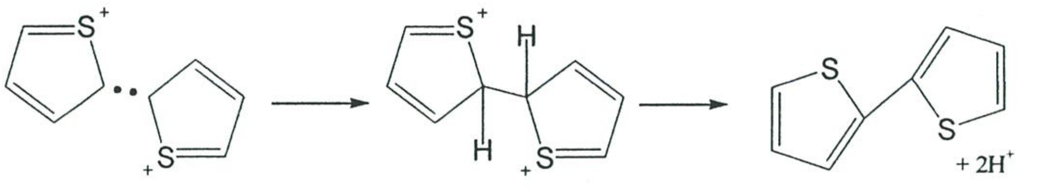
(2.11)

Resonance forms



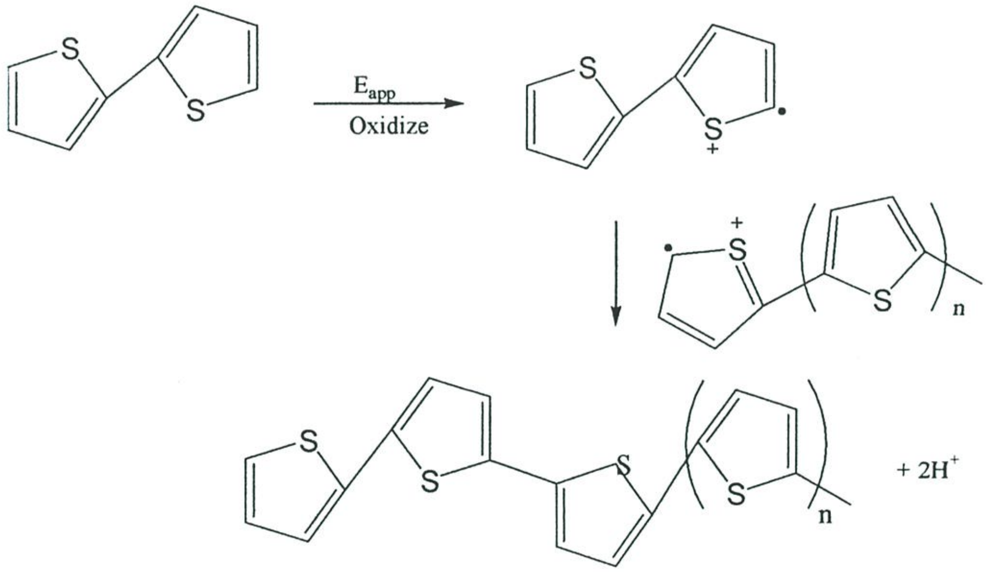
(2.12)

Radical-radical coupling



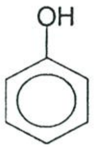
(2.13)

Chain propagation

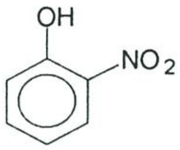


(2.14)

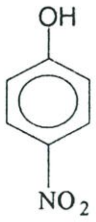
งานวิจัยนี้ทำการศึกษาสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด คือ ฟีนอล 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-ไนโทรฟีนอล 4-ไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 4,6-ไดไนโทร-2-เมทิลฟีนอล 2-คลอโรฟีนอล 2,4-ไดคลอโรฟีนอล 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล และ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.10



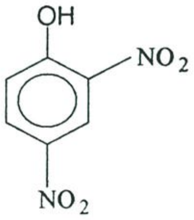
1



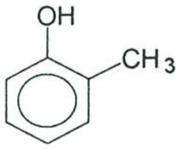
2



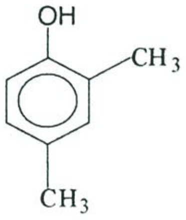
3



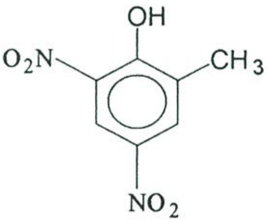
4



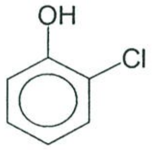
5



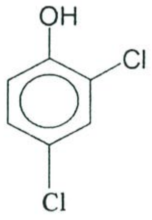
6



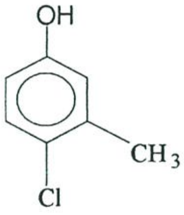
7



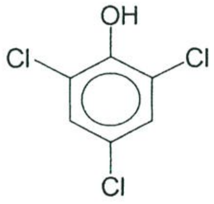
8



9



10



11

1. phenol
2. 2-nitrophenol
3. 4-nitrophenol
4. 2,4-dinitrophenol
5. 2-methylphenol
6. 2,4-dimethylphenol
7. 4,6-dinitro-2-methylphenol
8. 2-chlorophenol
9. 2,4-dichlorophenol
10. 4-chloro-3-methylphenol
11. 2,4,6-trichlorophenol

รูปที่ 2.9 แสดงโครงสร้างสารประกอบฟีนอลทั้ง **11** ชนิด

2.5 โครมาโทกราฟี (Chromatography) [18]

โครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ในของผสมที่อยู่ในภาวะสมดุลระหว่างเฟส 2 เฟสออกจากกัน โดยอาศัยความแตกต่างของการกระจายตัว เทคนิคโครมาโทกราฟีได้ถูกนำมาใช้สำหรับการแยก การตรวจสอบ และวัดปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีของสารผสมต่าง ๆ โดยอาศัยหลักการกระจายตัวระหว่างเฟส 2 เฟส โดยเฟสหนึ่งอยู่กับที่ (stationary phase) และอีกเฟสหนึ่งเคลื่อนที่ (mobile phase) และถ้าหากใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นของเหลว เรียกว่า โครมาโทกราฟีแบบของเหลว

เทคนิคทางโครมาโทกราฟีแบบของเหลวมีอยู่ด้วยกันหลายเทคนิค ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะ Liquid-Liquid (Partition) Chromatography ซึ่งหลักการแยกสารโดยวิธีนี้อาศัยหลักการที่ว่า โมเลกุลของสารประกอบจะกระจายตัวของมันเองระหว่างเฟสทั้งสองที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน คือเฟสที่อยู่กับที่กับเฟสที่เคลื่อนที่ต่างกัน เฟสที่อยู่กับที่จะกระจายเป็นฟิล์มบางๆ บนผิวของ inert support แต่ในปัจจุบัน อนุภาคที่ใช้บรรจุในคอลัมน์ที่นิยมใช้ใน LLC จะเป็นการนำเอาเฟสอยู่กับที่ไปทำให้เกิดพันธะทางเคมีกับวัสดุหรืออนุภาคที่ใช้เป็นตัว support ซึ่งอนุภาคชนิดนี้เรียกว่า Bonded-Phase มากกว่าการใช้ของเหลวเคลือบบนผิวของ inert support วิธีการนี้เรียกว่า Bonded-Phase Chromatography (BPC) สำหรับกลไกในการแยกยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่อย่างไรก็ตามกลไกที่ใช้ในการแยกสารโดยวิธีการนี้ประกอบไปด้วยการดูดซับ และการ partition วิธีการแยกสารโดย BPC นี้นิยมใช้กันมากใน HPLC

Bonded Phase Chromatography แบ่งออกได้เป็น 2 เทคนิค ซึ่งขึ้นอยู่กับสภาพขั้วสัมพัทธ์ของเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่

Normal-phase BPC จะใช้เมื่อเฟสอยู่กับที่มีขั้ว (polar) มากกว่าเฟสเคลื่อนที่สารประกอบที่ไม่มีขั้วชอบที่จะละลายเฟสเคลื่อนที่มากกว่า ดังนั้นสารพวกนี้จะผ่านคอลัมน์ออกมาเป็นอันดับแรกๆ และสารประกอบที่มีขั้วจะถูกหน่วงเหนี่ยวให้อยู่ในคอลัมน์ได้นาน เนื่องจากเกิดอันตรกิริยากับเฟสอยู่กับที่ซึ่งมีสภาพมีขั้ว ทำให้มันถูกชะล้างออกมาจากคอลัมน์ทีหลัง

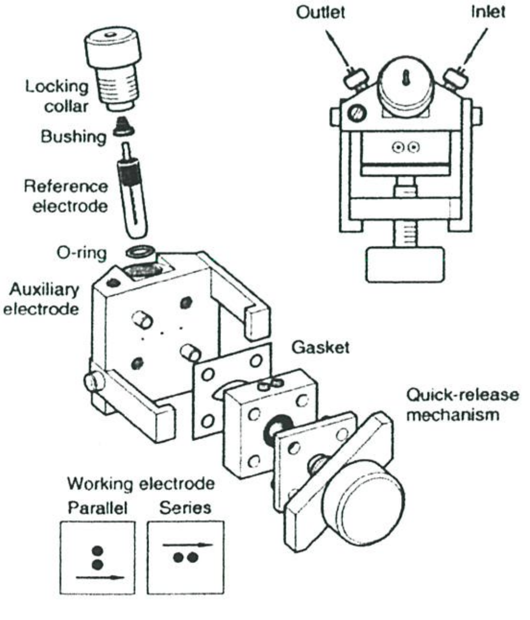
Revese-phase BPC จะใช้เมื่อเฟสคงที่เป็นพวกไม่มีขั้ว (non-polar) เช่น octadecylsilane และเฟสเคลื่อนที่เป็นพวกมีขั้ว เช่น น้ำ เมทานอล อะซิโทไนไทรล์ เป็นต้น ลำดับของการชะล้างตัวถูกละลายจะมีลักษณะตรงข้ามกับที่เกิดใน normal-phase ดังนั้นสารประกอบที่มีขั้วจะถูกชะล้างออกมาก่อนเนื่องจากมันชอบที่จะละลายในเฟสเคลื่อนที่ ส่วนสารประกอบที่ไม่มีขั้วจะถูกยึดไว้ในคอลัมน์ทำให้ถูกชะล้างออกมาทีหลัง เทคนิคนี้เหมาะสมอย่างมากกับสารที่ไม่ละลาย หรือละลายได้เล็กน้อยในน้ำ แต่ละลายได้ในแอลกอฮอล์หรือตัวทำละลายอินทรีย์ตัวอื่นๆ ที่ละลายน้ำได้ดี

เทคนิคทาง Reverse-phase (RP-BPC) อาศัยสมบัติของเฟสคงที่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โดยทั่วไป เฟสคงที่จะมีหมู่ octadecyl หรือ octyl silane functional group และเฟสเคลื่อนที่ใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำผสมกับตัวทำละลายอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ เช่น เมทานอล หรืออะซิโทไนไทรล์

Electrochemical detectors [18]

ในโครมาโทกราฟีของเหลว การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical detection) จะทำการวัดค่ากระแส ศักย์ไฟฟ้า หรือค่าความนำไฟฟ้าของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ในทุกกรณีสัญญาณที่วัดได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง กระแสสัญญาณที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีไฟฟ้า ซึ่งเกิดจากการออกซิเดชันหรือรีดักชันของสารตัวอย่างที่ขั้วไฟฟ้าทำงาน

แอมเพอโรเมทริก ดีเทคเตอร์ (amperometric detector) เป็นที่นิยมใช้กันมากที่สุดในบรรดาตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า ซึ่งให้การตรวจวัดที่มีสภาพไว และมีความเลือกจำเพาะที่ดีในระบบของ HPLC ในตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า สารตัวอย่างสามารถเคลื่อนที่ไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานโดยการแพร่ได้ดีเท่า ๆ กับการกวน สารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยให้เกิด ไมเกรชัน (migration) สารละลาย อิเล็กโทรไลต์ช่วยควรมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.01-0.1 โมลาร์ต่อลิตร ตัวอย่างโครงสร้างของเซลล์ที่ใช้แสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.10 ตัวอย่างโครงสร้างของ amperometric detection cell

การที่จะได้ผลการวิเคราะห์ที่มีความเลือกจำเพาะที่ดี สารประกอบจะต้องมีหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดออกซิเดชัน หรือรีดักชันได้ภายใต้ปฏิกิริยาที่ขั้วไฟฟ้า สำหรับศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาได้มาจาก ไซคลิกโวลแทมโมแกรม (cyclic voltammogram) หรือ ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรม (hydrodynamic voltammogram) ของสารตัวอย่าง

แอมเพอโรเมทริก ดีเทคเตอร์ เมื่ออยู่ในระบบของ HPLC มักจะใช้ตรวจวัดสารที่สามารถออกซิไดซ์ได้ง่าย เช่น สารประกอบฟีนอล (phenols), อะโรมาติกเอมีน (aromatic amine), อินดอล(indoles), ฟีโนไทอาซีน (phenothiazines), ไทออล (thiols) และ โพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (polyaromatic hydrocarbon) และองค์ประกอบของสารละลายควรจะคงที่ (isocratic elution) ถ้าเป็น gradient elution เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์จะสั้นลงแต่จะเกิด base line drift ทำให้สูญเสียสภาพไวไป

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับการศึกษาสารประกอบฟีนอลและอนุพันธ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวนั้น มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องอยู่มากมาย แต่ละงานวิจัยได้นำเสนอการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการตรวจวัดที่ดียิ่งขึ้น แต่ทั้งนี้ก็ยังมีข้อจำกัดบางประการในแต่ละงานวิจัยนั้น ๆ

Ronald [19] ศึกษาสารประกอบฟีนอลในตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำต่างๆ โดยนำมาสกัดด้วยเทคนิคการสกัดหลาย ๆ แบบ จากนั้นจึงแยกวิเคราะห์ด้วย ODS C_{18} Column ตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า detector ที่ใช้เป็นชนิด Dual electrode (ขั้วไฟฟ้าทำงานคือขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอน) มี 0.2 โมลาร์ โซเดียมเพอคลอเรต และ 5.0×10^{-3} ไทรโซเดียมซิเทรต เป็นเฟสเคลื่อนที่ จากการวิเคราะห์น้ำเสียพบว่ามีขีดจำกัดการตรวจวัด 20 ppb แต่จะเห็นได้ว่าต้องมีการนำตัวอย่างน้ำมาทำการสกัดเสียก่อนและยังใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานเป็นระบบ Dual electrode ซึ่งต้องใช้ขั้วไฟฟ้าทำงานถึงสองตัวด้วยกัน

เช่นเดียวกันกับ Ruana และ Urbe [20] ที่ศึกษาสารประกอบฟีนอลด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ด้วย UV detector หลังจากนำตัวอย่างน้ำมาการสกัดด้วยเทคนิค solid phase extraction แล้วทำการแยกวิเคราะห์ด้วย ODS C-2 column มีสารละลายเมทานอล:น้ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ใช้ระบบการชะ gradient elution สำหรับ UV detector และ isocratic elution สำหรับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า แบบ Dual electrode (ขั้วไฟฟ้าทำงานคือขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอน ที่ศักย์ไฟฟ้า +1.0 โวลต์ เทียบกับ Ag/AgCl) ผลการวิเคราะห์พบว่าวิธีทางเคมีไฟฟ้าสามารถตรวจวัดปริมาณของสารประกอบฟีนอลได้ในระดับที่ต่ำกว่ายูวี วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ (อยู่ในช่วง 40-600 นาโนกรัมต่อลิตร) แต่การใช้การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าจำเป็นต้องทำความสะอาดขั้วไฟฟ้าทุกครั้งก่อนการใช้งาน

เนื่องจากปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอลทำให้เกิดฟิล์มที่เป็นฉนวนติดที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำให้กระแสที่วัดได้ต่ำลง

Realini [2] ได้นำตัวอย่างน้ำมาสกัดด้วยเมทิลีนคลอไรด์ 2 ครั้ง ก่อนนำไปฉีดวิเคราะห์ด้วยระบบ HPLC โดยใช้ ODS-C_{18} และตรวจวัดด้วย Dual UV detector พบว่าสามารถตรวจวัดสารประกอบฟีนอลที่มีความเข้มข้นในระดับนาโนกรัมต่อลิตร

Pocurull และคณะ [21] ทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอล 11 ชนิดในน้ำประปาและน้ำธรรมชาติ (แม่น้ำ) โดยนำมาสกัดแบบ solid phase extraction ที่เติมสารคู่ไอออน (ion pair reagent) ลงไปด้วย และแยกด้วย ODS C_{18} คอลัมน์ ใช้สารละลายเมทานอล-น้ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ ระบบการชะเป็นแบบ isocratic elution ตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าซึ่งมีกลาสสิคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน และ Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ที่ศักย์ไฟฟ้า +1.1 โวลต์ พบว่าขีดจำกัดในการตรวจวัดของน้ำประปาและน้ำธรรมชาติ (แม่น้ำ) อยู่ในช่วง 1 - 10 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ยกเว้น 2,4-ไดไนโทรฟีนอล และ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล ที่มีขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำกว่าอนุพันธ์ชนิดอื่นเนื่องจากศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ไม่เหมาะสมกับสารดังกล่าว)

Puig และ Barcelo′ [22] ใช้ solid phase extraction ในการเตรียมตัวอย่างน้ำเพื่อวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลและอนุพันธ์ 16 ชนิด ด้วยเทคนิค HPLC ที่ตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า และยูวี วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ พบว่าการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าให้ผลการตรวจวัดที่มีขีดจำกัดการตรวจวัดถึง 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร และมีสภาพไวและความเลือกจำเพาะที่สูงกว่าการวิเคราะห์ด้วยยูวี วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ แต่จะต้องมีการขัดขั้วไฟฟ้าเพื่อทำความสะอาดบ่อยครั้งเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความแม่นยำ

Pocurull และคณะ [23] ทำการศึกษาสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด ในน้ำธรรมชาติ (แม่น้ำ) โดยทำการศึกษาผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการใช้เทคนิค HPLC-UV/detector โดยการต่อกันเป็นอนุกรม ใช้เมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ทำการชะแบบ gradient elution การตรวจวัดด้วย UV-detector ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร สำหรับพวกไนโทรฟีนอลตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร การตรวจวัดแบบเคมีไฟฟ้าใช้เทคนิคแอมเพอโรเมทรี ตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้า 1.0 โวลต์ ใช้กลาสสิคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน และ Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ซึ่งจะต้องทำความสะอาดขั้วด้วยการป้อนศักย์ไฟฟ้าวัดซ้ำครบ 20 ครั้ง และนำขั้วไฟฟ้ามาขัดเมื่อวัดซ้ำครบ 60 ครั้ง

จากงานวิจัยข้างต้น ปัญหาหนึ่งที่เกิดขึ้นในการศึกษาสารประกอบฟีนอลที่ใช้การตรวจวัดแบบเคมีไฟฟ้านั้น ผลของปฏิกิริยาสารประกอบฟีนอลทำให้เกิด passivation ซึ่งจะทำให้ความสามารถในการวัดลดลง ในการแก้ปัญหาดังกล่าวมีหลายเทคนิคเช่น เทคนิค lasser activation [22], flame treatment และ anodic polarizeation [24] Wang และ Slin [25] ได้เสนอถึงวิธีการเตรียมผิวหน้าขั้วไฟฟ้าให้พร้อม

ใช้งานใหม่ โดยการป้อนศักย์แบบ square-wave ให้กับขั้วไฟฟ้าก่อนและหลังการใช้งานสามารถลดการเกิด passivation ได้ อีกวิธีการหนึ่งที่สามารถลดปัญหาการเกิด passivation ได้ คือการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วยฟิล์มพอลิเมอร์บางชนิด

Viviana [26] ใช้เทคนิค LCEC ตรวจวัดสารประกอบฟีนอลโดยใช้ Poly(Ni-(Protoporphyrin IX) ปรับปรุงบนกลาสสิคาร์บอนว่าสามารถตรวจวัดสารประกอบชนิดต่าง ๆ ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วเปลือยพบว่ายังสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของสารประกอบพวกมีขั้ว เช่น กรดแอสคอบิก และ โพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอเรต (II) และยังช่วยเพิ่มสภาพไวและความเลือกจำเพาะของเทคนิคนี้ แต่ฟิล์มชนิดนี้จะมีประสิทธิภาพน้อยหากใช้ในสารละลายน้ำ (วัดที่ 1.42 โวลต์ vs SCE) ซึ่งใช้ (Ni-(Protoporphyrin IX)) dimethyl ether มาทำการปรับปรุงขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอน เพื่อใช้ในการตรวจวัดและหาปริมาณด้วยวิธี LCEC ผลจากการใช้ขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้นแสดงถึงว่ามันช่วยเพิ่มสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าของสารประกอบฟีนอลขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นมันยังสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารอื่น เช่น กรดแอสคอบิก แต่ฟิล์มชนิดนี้จะเสื่อมสภาพในสภาวะที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ

Atta และคณะ [27] ศึกษาการใช้ poly[3-methylthiophene] ในการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าสำหรับวัดสารอินทรีย์บางชนิด พบว่าฟิล์ม poly[3-methylthiophene] ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพอลิเมอร์นำไฟฟ้าสามารถเร่งปฏิกิริยาของสารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบได้

Wang และ Li [4] ได้ศึกษาการวัดฟีนอลและอนุพันธ์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ซึ่งใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนทั้งที่ไม่มีการปรับปรุงและที่ปรับปรุงด้วย poly[3-methylthiophene] หลังจากที่ทำการวัดซ้ำหลายๆ ครั้ง พบว่าขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนที่ไม่มีการปรับปรุงใดๆ จะได้พีกของการวัดที่ลดลง เนื่องมาจากการเกิดชั้นฟิล์มบางออกไซด์ของสารประกอบฟีนอล (passivation) และเมื่อใช้ขั้วไฟฟ้า ปรับปรุงด้วย Poly[3-methylthiophene] พบว่าสามารถลดการเกิดชั้นฟิล์มบางออกไซด์ของสารประกอบฟีนอลได้

การพัฒนาขั้วไฟฟ้าโดยการปรับปรุงด้วยฟิล์ม Poly[3-methylthiophene] ที่สามารถลดการเกิด passivation ได้ ต่อมามีการพัฒนาขั้วไฟฟ้าดังกล่าวให้สามารถทำงานได้ที่ศักย์ไฟฟ้าที่ต่ำลง โดยการใช้อนุภาคโลหะทรานสิชัน เช่น แพลทินัม [28] โรเดียม [29] เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่การใช้โลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยานี้กลับทำให้เสถียรภาพของขั้วไฟฟ้าลดลง จากการศึกษาผลของอนุภาคโรเดียมต่อการเกิด passivation ของฟีนอลที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าของกุลรดา [30] เมื่อเปรียบเทียบการใช้ขั้วไฟฟ้าเปลือย (กลาสสิคาร์บอน) ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย Poly[3-methylthiophene] และขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย Rh/Poly[3-methylthiophene] เมื่อนำไปตรวจวัดฟีนอล 100 ไมโครโมลาร์ พบว่าขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย Rh/Poly[3-methylthiophene] จะให้สัญญาณการตอบสนองสูงกว่าขั้วไฟฟ้าอีกสองชนิด เมื่อทดสอบ

อายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าพบว่าขั้วไฟฟ้า Rh/PMeT สามารถวัดสารละลายฟีนอลได้ในช่วง 29-38 ซ้ำ แล้วทำให้สัญญาณกระแสที่วัดได้ลดลงครึ่งหนึ่งจากสัญญาณที่ได้การวัดในครั้งแรก แต่ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย Poly[3-methylthiophene] สามารถวัดสารละลายฟีนอลได้ถึง 57 ซ้ำ ซึ่งแสดงถึงการมีอายุการใช้งานนานกว่า

เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีสารตัวอย่างมักเป็นสารละลายผสมที่ประกอบด้วยสารหลายชนิด เมื่อสารแต่ละชนิดแยกออกมาจากคอลัมน์เข้าสู่ตัวตรวจวัด การตรวจวัดการขึ้นอย่างต่อเนื่องไปจนกระทั่งสารตัวสุดท้ายที่ถูกชะออกมา สถานการณ์เช่นนี้คล้ายกับการวัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง ดังนั้นขั้วไฟฟ้าที่มีเสถียรภาพสูง จึงเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เป็นตัวตรวจวัดในระบบโครมาโทกราฟี จากงานวิจัยที่ผ่านมายังไม่มีการนำขั้วไฟฟ้าปรับปรุงด้วย Poly[3-methylthiophene] มาใช้เป็นตัวตรวจวัดในระบบโครมาโทกราฟี ในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำมาขั้วไฟฟ้าดังกล่าวมาทำการศึกษาฟีนอลและอนุพันธ์

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 สารเคมี

1. สารประกอบฟีนอลที่มีในบัญชีสารพิษที่ใช้ศึกษา (priority pollutants lists) ของ US-EPA (EPA 604) มีทั้งหมด 11 สาร เป็นชนิด A.R. grade ทั้งหมดดังรายการต่อไปนี้
   1) ฟีนอล (phenol, C_6H_5OH), A.R. grade ของบริษัท Fluka
   2) 2-คลอโรฟีนอล (2-chlorophenol, C_6H_5ClO), A.R.grade ของบริษัท Fluka
   3) 2-ไนโทรฟีนอล (2-nitrophenol, $C_6H_5NO_3$), A.R. grade ของบริษัท Fluka
   4) 2,4-ไดเมทิลฟีนอล (2,4-dimethylphylphenol, $C_8H_{10}O$) , A.R. grade ของบริษัท Fluka
   5) 2,4-ไดคลอโรฟีนอล (2,4-dichlorophenol, $C_6H_4Cl_2O$), A.R.ของบริษัท Fluka
   6) 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล (4-chloro-3-methylphenol, C_7H_7ClO), A.R. grade ของบริษัท Fluka
   7) 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล (2,4,6-trichlorophenol, $C_6H_4Cl_3O$), A.R. grade ของบริษัท Fluka
   8) 2,4-ไดไนโทรฟีนอล (2,4-dinitrophenol, $C_6H_4N_2O_5$), A.R. grade ของบริษัท Fluka
   9) 4-ไนโทรฟีนอล (4-nitrophenol, $C_6H_5NO_3$), A.R. grade ของบริษัท Fluka
   10) 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล (2-methy-4,6-dinitrophenol, $C_7H_6N_2O_5$), A.R. grade ของบริษัท Fluka
   11) 2-เมทิลฟีนอล (2-methylphenol, cresol, C_7H_8O), A.R. grade ของบริษัท Fluka

2. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl), A.R. grade ของบริษัท Merck
3. แอซิโทไนไทรล์ (C_2H_3N), HPLC grade ของบริษัท Merck
4. 3-เมทิลไทโอฟีน (3-methylthiophene, C_5H_6S), A.R. grade ของบริษัท Fluka
5. เททระบิวทิวแอมโมเนียมเททระฟลูออโรบอเรต (TBATFB,$C_{16}H_{36}BF_4N$), A.R. grade ของบริษัท Sigma

6. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl), A.R. grade ของบริษัท Sigma
7. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH), A.R. grade ของบริษัท Merck
8. กรดซัลฟุริก (H_2SO_4), A.R. grade ของบริษัท BDH
9. โพแทสเซียมไนเทรต (KNO_3)A.R. grade ของบริษัท Sigma
10. เมทานอล (CH_3OH),HPLC grade ของบริษัท Merck
11. เอทานอล (CH_3CH_2OH),HPLC grade ของบริษัท Merck

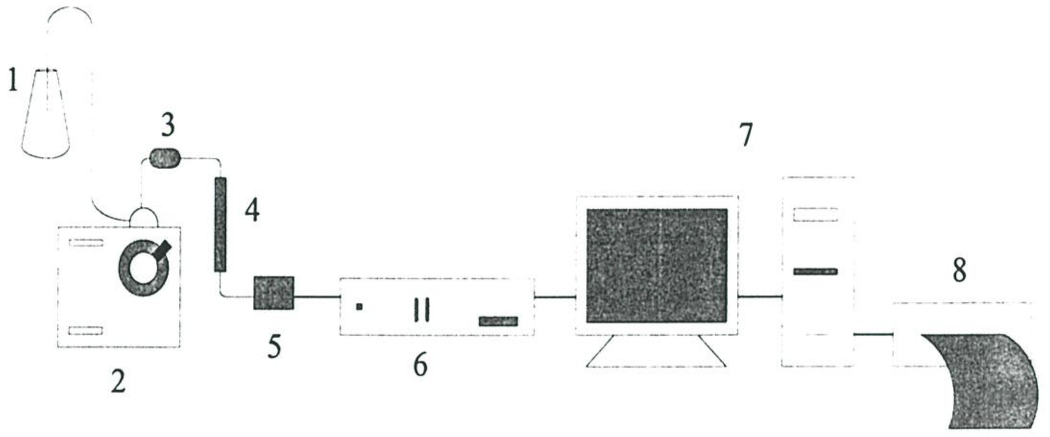
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ชุดควบคุมศักย์ไฟฟ้า (Potentiostat/galvanostat) AutoLab (ประเทศเนเธอร์แลนด์), รุ่น PGSTAT20 ควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ และเครื่องพิมพ์ผล
2. ขั้วไฟฟ้า (electrode) เป็นระบบ 3 ขั้วไฟฟ้า

- ขั้วคาโลเมลอิ่มตัว (satulated calomel electrode, SCE) เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode)
- ขั้วกลาสสิคาร์บอนที่ปรับปรุงขึ้น (รายละเอียดอยู่ในหัวข้อที่ 3.2.1 และ3.2.4) เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode)
- ขั้วแพลทินัมแผ่นบาง (platinum disk auxiliary electrode) ที่ทำขึ้นเป็นขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode)

3. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) Metromh รุ่น 713 pH meter
4. เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance) Precisa 205 A
5. เตาแผ่นความร้อน (hot plate)
6. ไมโครปิเปต (Micropipets) ขนาด 20 ถึง 500 μL ของ Grilson
7. ปั๊มของระบบลิควิดโครมาโทกราฟี (รุ่น Water 510) ของบริษัท Millipore
8. HIQ Sil C_{18} column ขนาด 4.6 ม.ม. × 150 ม.ม. ของบริษัท KYA TECH Corporation
9. Guard column Nova-Pak C_{18} ของบริษัท Millipore
10. UV detectorของเครื่อง HPLC รุ่น Water 486 ของบริษัท Waters
11. เซลล์บางแบบฉีดไหลที่สร้างขึ้น
12. กระดาษกรองเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน ของบริษัท Millipore
13. Ultrasonic bath
14. เครื่องกรองแบบสุญญากาศ

การจัดวางอุปกรณ์การวัดในระบบ HPLC-EC แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนภาพของระบบ HPLC-EC

1 = Mobile phase reservoir

2 = HPLC pump

3 = Guard columns

4 = Column

5 = Thin-layer flow cell

6 = Potentiostat PG 20

7 = Computer

8 = Recorder

3.2 วิธีวิจัย

3.2.1 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1.1 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ ฟีนอล

ชั่งฟีนอลมา 0.2352 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.2 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ ฟีนอล

ชั่งฟีนอลมา 1.1764 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย ฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.3 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 4-ไนโทรฟีนอล

ชั่ง 4-ไนโทรฟีนอล มา 0.3478 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.4 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 4-ไนโทรฟีนอล

ชั่ง 4-ไนโทรฟีนอล มา 1.7389 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 4-ไนโทรฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1 5 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล

ชั่ง 2,4-ไดไนโทรฟีนอล มา 0.4603 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.6 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล

ชั่ง 2,4-ไดไนโทรฟีนอล มา 2.3014 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 2,4-ไดไนโทรฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.7 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2-เมทิลฟีนอล

ชั่ง 2-เมทิลฟีนอล มา 0.2704 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.8 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2-เมทิลฟีนอล

ชั่ง 2-เมทิลฟีนอล มา 1.3518 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 2-เมทิลฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.9 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล

ชั่ง 2-คลอโรฟีนอล มา 0.3214 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.10 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล

ชั่ง 2-คลอโรฟีนอล มา 1.6070 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 2-คลอโรฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.11 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2-ไนโทรฟีนอล

ชั่ง 2-ไนโทรฟีนอล มา 0.3478 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.12 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2-ไนโทรฟีนอล

ชั่ง 2-ไนโทรฟีนอล มา 1.7389 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 2-ไนโทรฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.13 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล

ชั่ง 2,4-ไดเมทิลฟีนอล มา 0.3054 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.14 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล

ชั่ง 2,4-ไดเมทิลฟีนอล มา 1.5269 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 2,4-ไดเมทิลฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.15 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล

ชั่ง 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล มา 0.4954 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.16 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล

ชั่ง 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล มา 2.4768 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.17 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล

ชั่ง 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล มา 0.3565 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.18 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล

ชั่ง 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล มา 1.7824 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.19 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล

ชั่ง 2,4 –ไดคลอโรฟีนอล มา 0.4075 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.20 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล

ชั่ง 2,4-ไดคลอโรฟีนอลมา 2.0375 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 2,4-ไดคลอโรฟีนอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3.2.1.21 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.025 โมลาร์ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล

ชั่ง 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอลมา 0.4936 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.2.1.22 การเตรียม stock solution ของสารละลาย 0.5 โมลาร์ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล

ชั่ง 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอลมา 1.1764 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร) เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

เมื่อต้องการเตรียมสารละลาย 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปิเปต stock solution ที่เตรียมไว้ เจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

สำหรับ stock solution ของสารประกอบฟีนอลเตรียมใหม่ทุก 2 เดือน ส่วนสารละลายที่ทำการเจือจางจาก stock solution เตรียมใหม่ทุกวัน

3.2.1.23 การเตรียมสารละลายที่ใช้เตรียมขั้วไฟฟ้า

เตรียมความเข้มข้นของ 3-เมทิลไทโอฟีน โดยปิเปต 3-เมทิลไทโอฟีนมา 49 ไมโครลิตร ละลายในแอซิโทไนไทรล์ จำนวน 10 มิลลิลิตร โดยเติม TBATFB ลงไป 0.329 กรัม เป็นสารอิเล็กโทรไลต์ ทำให้ได้ความเข้มข้นของ 3-เมทิลไทโอฟีนเป็น 0.05 โมลาร์ และ TBATFB เป็น 0.1 โมลาร์

3.2.1.24 การเตรียมสารละลายเมทานอล:น้ำ เพื่อใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่สำหรับยูวี ดีเทคเตอร์

กรองเมทานอลและน้ำปราศจากไอออนด้วยเครื่องกรองสุญญากาศแล้วนำไปเตรียมสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 20:80 40:60 45:55 50:50 55:45 60:40 80:20 และ 100:0 ปริมาตรโดยปริมาตร

3.2.1.25 การเตรียมสารละลายเมทานอล:น้ำ เพื่อใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่สำหรับเทคนิค HPLC /เคมีไฟฟ้า

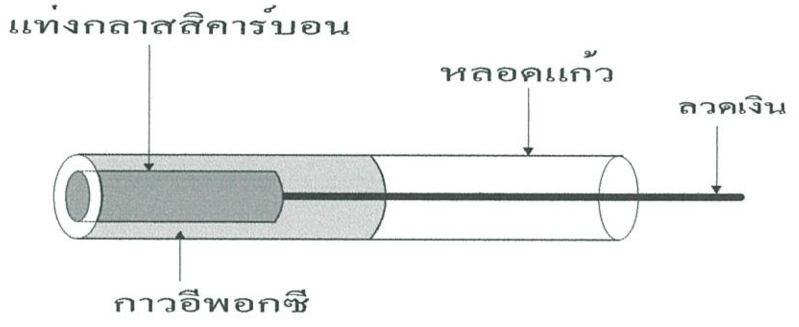
กรองเมทานอลและน้ำปราศจากไอออนด้วยเครื่องกรองสุญญากาศแล้วนำไปเตรียมสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 20:80 40:60 45:55 50:50 55:45 60:40 80:20 และ 100:0 ปริมาตรโดยปริมาตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 3 ด้วยกรดซัลฟุริกเข้มข้น แล้วเติมโพแทสเซียมไนเทรต 2 กรัมต่อลิตร และโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.05 กรัมต่อลิตร เป็นอิเล็กโทรไลต์

สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ นำไป degassing ใน Ultrasonic bath ก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง

3.2.2 การสร้างขั้วไฟฟ้าทำงาน

การสร้างขั้วไฟฟ้าใช้งานทำได้โดยใช้ใบมีดหัวเพชรตัดแท่งกลาสสิคาร์บอน (glassy carbon) เส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ให้มีความยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปแช่ในเอทานอลเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาล้างด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ให้แห้งในบรรยากาศ ที่อุณหภูมิห้อง นำลวดเงินมาพันไว้บริเวณส่วนหลังของแท่งกลาสสิคาร์บอน ติดด้วยกาวนำไฟฟ้า (conductive adhesive) นำไปอบที่ 120°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้กาวแห้ง นำออกมาจากตู้อบทิ้งให้เย็น แล้วนำมาใส่ในหลอดแก้ว โดยให้แท่งกลาสสิคาร์บอนอยู่ตรงกลางของหลอดแก้ว นำกาวอีพอกซีที่ผสมแล้วมาใส่จนท่วมกลาสสิคาร์บอนทิ้งไว้ให้แข็งตัว จากนั้นนำมาขัดกับกระดาษทรายน้ำ (เบอร์ 600 และ 1000 ตามลำดับ) โดยโครงสร้างของขั้วไฟฟ้าใช้งานและภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าใช้งานที่สร้างขึ้นแสดงดังรูปที่ 3.2

ก.



ข.

รูปที่ 3.2 ขั้วไฟฟ้าใช้งาน

ก. โครงสร้างและส่วนประกอบของขั้วไฟฟ้าใช้งาน

ข. ภาพถ่ายขั้วไฟฟ้าใช้งานที่สร้างขึ้น

3.2.2.1 การทำความสะอาดขั้วไฟฟ้าก่อนการใช้งาน

นำขั้วกลาสสิคาร์บอนมาขัดกับอลูมิเนียมออกไซด์ (Al_2O_3) ขนาดอนุภาค 0.3 และ 0.018 ไมโครเมตร นำขั้วที่ขัดแล้วล้างด้วยน้ำกลั่น นำไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที และล้างด้วยเอทา-นอลเล็กน้อย ใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีทำความสะอาดขั้วไฟฟ้าทุกครั้งก่อนการใช้งานโดยจุ่มขั้วไฟฟ้าในสารละลายกรดซัลฟุริก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สแกนที่ช่วงศักย์ไฟฟ้า –0.2 ถึง +1.6 โวลต์ ที่อัตราศักย์ 0.1 โวลต์ต่อวินาที ทั้งหมด 15 รอบเพื่อกำจัดสารอินทรีย์อื่น ๆ ที่จะรบกวนต่อการวิเคราะห์

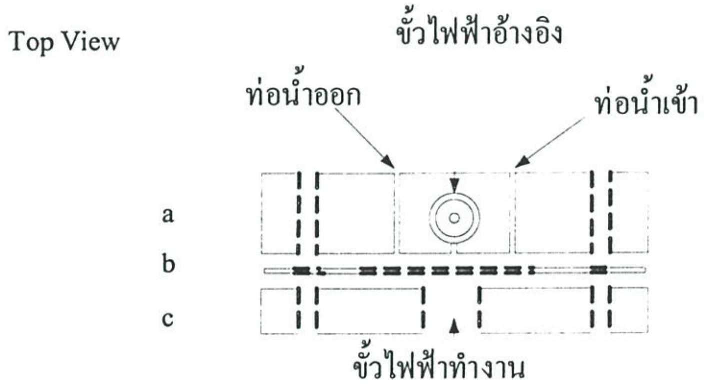
3.2.2.2 การทำพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) บนขั้วไฟฟ้าทำงาน

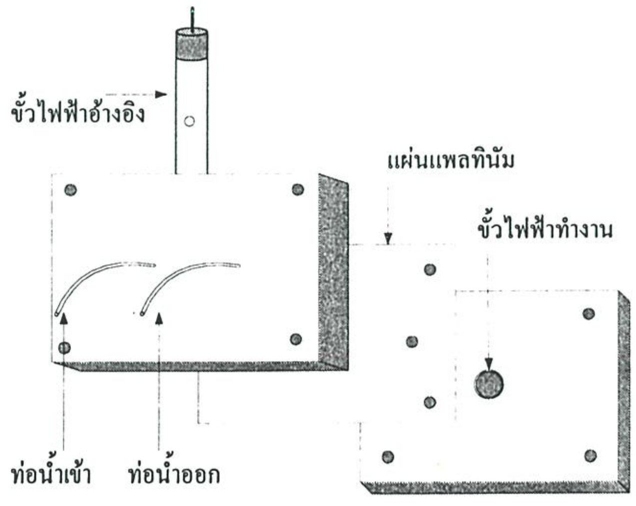
ในการทำพอลิเมอไรเซชันบนอิเล็กโทรดใช้สาร 3-เมทิลไทโอฟีน ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ละลายในแอซิโทไนไทรล์ 5 มิลลิลิตร โดยใช้ TBATFB ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นสาร

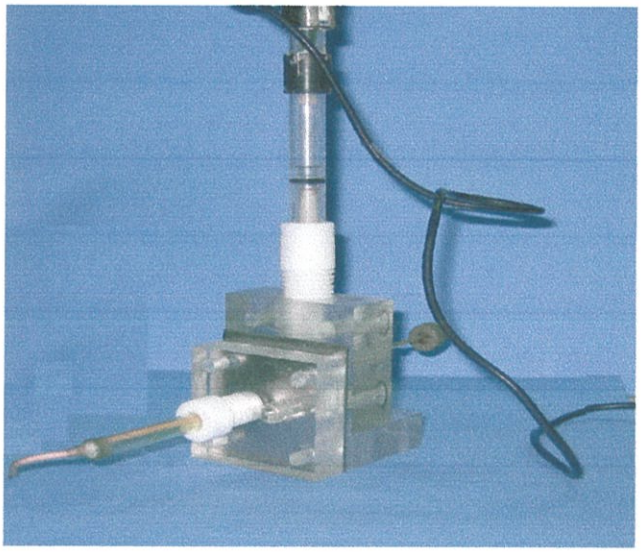
เล็กโทรไลต์ ในการเตรียมฟิล์มพอลิเมอร์ให้ศักย์ไฟฟ้า +1.9 โวลต์ เทียบกับ SCE เป็นเวลา 11 วินาที โดยไม่กวนสารละลาย [24]

3.2.3 การสร้างเซลล์บางแบบฉีดไหล

นำอะคลิริกใสขนาด 5x5 เซนติเมตร หนา 2.5 และ 2 เซนติเมตร มาเจาะรูให้ได้ขนาดพอดีสำหรับใส่ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าทำงาน ท่อน้ำเข้า ท่อน้ำออกเจาะรูให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร สำหรับแผ่นแพลทินัมนอกจากจะใช้เป็นขั้วไฟฟ้าช่วยแล้ว จะใช้ทำหน้าที่เป็น gasget ซึ่งเจาะรู 3 รู ให้ตรงกับท่อน้ำเข้า ท่อน้ำออกและช่องสำหรับให้สารละลายสัมผัสกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าทำงานได้ โดยช่องว่างภายในมีปริมาตร 15 ไมโครลิตร ผิวหน้าของเซลล์ด้านที่ต้องสัมผัสกับสารละลายต้องเรียบและสม่ำเสมอกันตลอดทั้งเซลล์เพื่อให้สารละลายไหลผ่านได้อย่างต่อเนื่องและเพื่อป้องกันไม่ให้สารละลายรั่วไหลออกมาได้ขณะใช้งาน







รูปที่ 3.3 แสดงส่วนประกอบของเซลล์บางแบบฉีดไหล

3.2.4 การศึกษาด้วย HPLC ตรวจวัดด้วย ยูวี วิสิเบิล ดีเทคเตอร์

3.2.4.1 ทดสอบหาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่

ทดสอบอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่คือ สารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 0:100 20:80 40:60 45:55 50:50 55:45 60:40 80:20 และ 100:0 ปริมาตรโดยปริมาตร วิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ความเข้มข้น 1 ppm ด้วยคอลัมน์ ODS-C_{18} โดยใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

3.2.4.2 ทดสอบอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

นำสารละลายเมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วนที่ได้จากการทดสอบข้างต้นมาทดสอบหาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม โดยทดสอบอัตราการไหลที่ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ปริมาตรฉีดวิเคราะห์เท่ากับ 5 ไมโครลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร การทดสอบในขั้นนี้ยังบอกถึงเวลารีเทนชันของสารประกอบฟีนอลแต่ละชนิดอีกด้วย

นำสภาวะที่ให้การแยกวิเคราะห์สารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ที่ดีที่สุดมาทดสอบสารละลายมาตรฐานผสมของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ความเข้มข้น 1 ppm (ยกเว้น 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล 3 ppm) และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันที่ได้กับความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล นำช่วง linearity ของกราฟแต่ละกราฟมาใช้คำนวณหาขีดจำกัดการตรวจวัด

3.2.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารประกอบฟีนอลด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงเป็นตัวตรวจวัด

3.2.5.1 ไซคลิกโวลแทรมเมทรีของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด

ทดสอบหาอัตราส่วนสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่ช่วยให้ได้กระแสออกซิเดชันสูงสุด โดยเตรียมสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 0:100 20:80 40:60 :45:55 50:50 55:45 60:40 80:20 และ 100:0 ปริมาตรโดยปริมาตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 3 ด้วยกรดซัลฟุริกเข้มข้น แล้วเติมโพแทสเซียมไนเทรต 2 กรัมต่อลิตร และโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.05 กรัมต่อลิตร เป็นอิเล็กโทรไลต์ แล้วทดสอบสารประกอบฟีนอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีที่อัตราศักย์ 0.02 โวลต์ ต่อวินาที ช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ –0.2 ถึง +1.0 โวลต์ เทียบกับ SCE บันทึกศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและกระแสที่ได้

3.2.5.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด

เลือกใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วนที่ได้จากข้อ 3.2.4.1 ในการแยกสารละลายมาตรฐานผสมของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ทดสอบอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ที่ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที และทดสอบศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด โดยใช้การตรวจวัดแบบแอมเพอโรเมทรี ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ทดสอบคือ 0.8 0.9 และ 1.0 โวลต์ (ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ทดสอบนี้ พิจารณาจาก ช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ครอบคลุมการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด ที่ทราบจากการทดสอบไซคลิก โวลแทมเมทรีในข้อ 3.2.4.1) นำสภาวะที่ได้จากการทดสอบข้างต้นมาศึกษา

3.2.5.3 ทดสอบเพื่อยืนยันตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยา (การทำ spiking) และการหาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ(% recovery)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด สองชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองแรกเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ และชุดการทดลองที่สองเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารประกอบฟีนอลความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ ยกเว้นสารประกอบฟีนอลตัวที่ต้องการทดสอบให้เตรียมความเข้มข้นเป็น 40 ไมโครโมลาร์ ฉีดวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า ตามสภาวะที่ได้จากการทดสอบข้างต้น

3.2.5.4 สภาพเชิงเส้น (linearity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานสารประกอบฟีนอลแต่ละชนิด ความเข้มข้น 10-2000 ไมโครโมลาร์ ฉีดวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันที่ได้กับความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล นำช่วง linearity ของกราฟแต่ละกราฟมาใช้คำนวณหาขีดจำกัดการตรวจวัด

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาการแยกสารประกอบฟีนอลโดยระบบ HPLC

4.1.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกวิเคราะห์สารประกอบฟีนอล 11 ชนิด

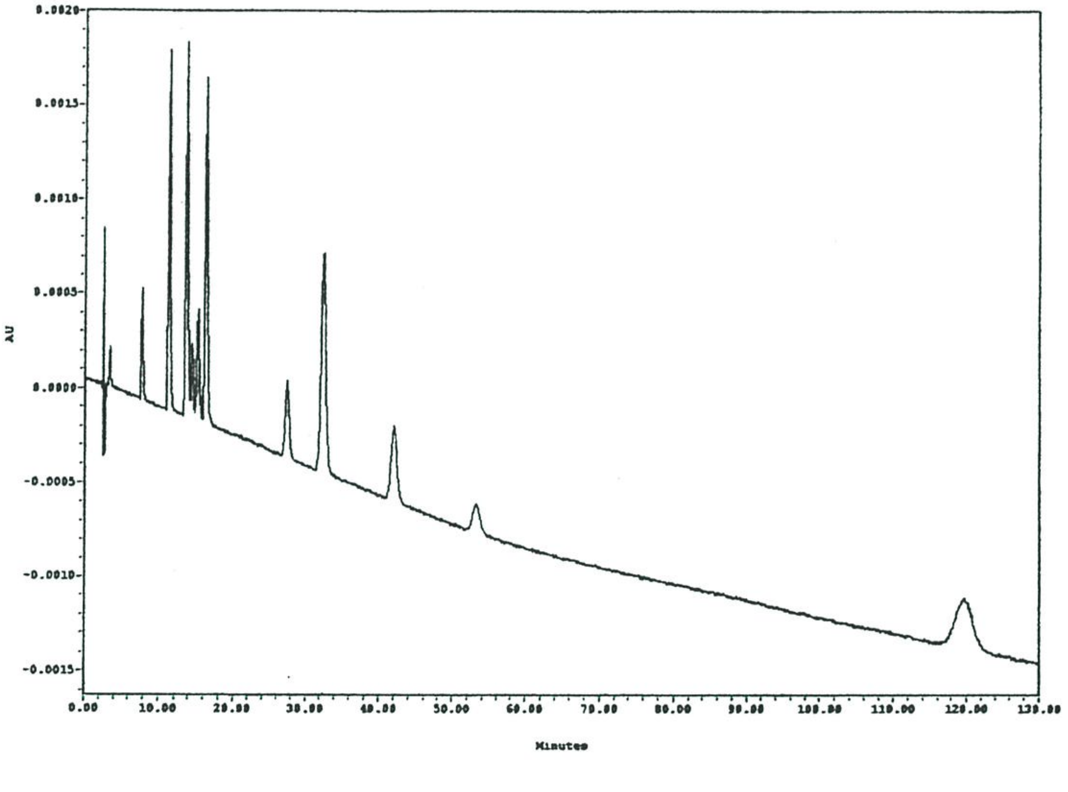
4.1.1.1 ศึกษาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่

การทดสอบใช้สารละลายมาตรฐานสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ความเข้มข้น 1 ppm ยกเว้น 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอลใช้ความเข้มข้น 3 ppm วิเคราะห์ด้วย KYA TECH ODS-C_{18} column ขนาด 4.6x150 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 5 ไมครอน โดยให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาตรในการฉีดวิเคราะห์คือ 5 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 20:80, 40:60, 60:40, 80:20 และ 100:0 ปริมาตร/ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

จากการทดสอบพบว่า เมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่สารละลายเมทานอล:น้ำที่อัตราส่วน 20:80 และ 80:20 ปริมาตร/ปริมาตร แยกสารประกอบฟีนอลออกจากกันได้ไม่ดี ทำให้เห็นยอดพีกปรากฏหลายพีกอยู่บนฐานพีกเดียวกัน ลักษณะดังกล่าวเกิดจากการที่สารประกอบฟีนอลชนิดที่มีสภาพขั้วใกล้เคียงกันมาก ๆ แต่ความแรงของเฟสเคลื่อนที่ยังไม่เหมาะสมเพียงพอทำให้เกิดการแยกที่ไม่สมบูรณ์ เมื่อทดสอบเฟสเคลื่อนที่ ที่เป็นสารละลายเมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 40:60 ปริมาตร/ปริมาตร ให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าพอใจ ซึ่งสามารถแยกได้ถึง 10 พีก สำหรับพีกที่ขาดหายไปหนึ่งพีกนั้น เนื่องจาก 2-คลอโรฟีนอลและ2-ไนโทรฟีนอลไม่สามารถแยกออกจากกันได้ จึงทำให้มองเห็นเป็นพีกเดียว (เห็นยอดพีก 2 ยอด แต่ยังมีฐานพีกร่วมกัน) ส่วนการใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 60:40 ปริมาตร/ปริมาตร ปรากฏพีกจำนวน 9 พีก สาเหตุที่ขาดหายไปสองพีกนั้น เนื่องจากมีสารประกอบที่ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ 2 กลุ่ม กลุ่มแรก คือ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล และ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล และอีกหนึ่งกลุ่ม คือ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอลกับ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล ในกลุ่มที่สองนี้ปรากฏยอดพีก 2 ยอด บนฐานพีกเดียวกัน ซึ่งเป็นลักษณะของการแยกที่ไม่สมบูรณ์ ขณะที่กลุ่มแรกไม่สามารถแยกได้เลย จึงเห็นเป็นพีกเดียว สำหรับการใช้สารละลายที่อัตราส่วน 100:0 ปริมาตร/ปริมาตร ไม่สามารถแยกพีกออกจากกันได้

สืบเนื่องจากงานวิจัยของ Runa และ Urbe [20] ที่พบว่า เมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร สามารถแยกสารประกอบฟีนอลออกจากกันได้ ในงานวิจัยนี้จึงได้ทดสอบสารละลายที่อัตราส่วนดังกล่าวเพิ่มเติม พบว่าการใช้สารละลายที่อัตราส่วนดังกล่าวให้ผลแยกสารประกอบฟีนอลคล้ายคลึงกับการใช้สารละลายที่

อัตราส่วน 40:60 ปริมาตร/ปริมาตร (ปรากฏพีกจำนวน 10 พีก สำหรับสารประกอบที่แยกไม่ได้คือ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล และ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล เช่นเดียวกัน) ดังนั้นจึงเพิ่มความถี่ในการทดสอบในช่วงอัตราส่วนดังกล่าวเพิ่มอีก คือที่อัตราส่วน 45:55 และ 55:45 ปริมาตร/ปริมาตร ปรากฏว่าสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 55:45 ปริมาตร/ปริมาตรให้ผลแยกสารประกอบฟีนอลเช่นเดียวกันกับการใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 40:60 ปริมาตร/ปริมาตร แต่เมื่อใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าสามารถแยกสารประกอบฟีนอลออกจากกันได้ครบทั้ง 11 ชนิด โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่4.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ความเข้มข้น 1 ppm (ยกเว้น 2,4,6- ไทรคลอโรฟีนอล 3 ppm) เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเฟสเคลื่อนที่ สำหรับใช้การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ที่เหมาะสมที่สุด คือสารละลายเมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ซึ่ง สามารถแยกสารประกอบฟีนอลได้ครบทั้ง 11 ชนิด เนื่องจากมีความแรงของตัวทำละลายสำหรับการ

แยกชะที่เหมาะสมที่สุด แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ถึง 126 นาที ประสิทธิภาพในการแยกชะของเฟสเคลื่อนที่สรุปได้ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ความสามารถในการแยกชะสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด ของเฟสเคลื่อนที่ในอัตราส่วนต่าง ๆ

อัตราส่วนของ เมทานอล:น้ำ (ปริมาตร/ปริมาตร)	อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	จำนวนพีกที่ปรากฏ (พีก)
20:80	0.7	5
40:60	0.7	10
45:55	0.7	11
50:50	0.7	9
55:45	0.7	9
60:40	0.7	8
80:20	0.7	4
100:0	0.7	1

4.1.1.2 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่และเวลารีเทนชัน (retention time)

ทดสอบหาอัตราการไหลที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดการแยกสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด โดยใช้ ODS-C_{18} column และใช้เฟสเคลื่อนที่ที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้นนั่นคือ สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร สำหรับอัตราการไหลที่ใช้ศึกษาคือ 0.8 1.0 และ1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.2

จากการทดสอบพบว่าเมื่อใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ทำให้สารประกอบฟีนอลทุกตัวรวมทั้งเฟสเคลื่อนที่ มีเวลาอยู่ในคอลัมน์นานเพียงพอที่จะทำให้การแยกของสารประกอบเหล่านี้เกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ ขณะที่การใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาทีนั้น ไม่สามารถแยก 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล และ 2,4-ไดคลอโรฟีนอลออกจากกันได้ เนื่องจากสารประกอบทั้งสามมีเวลารีเทนชัน (retention time) ที่ใกล้เคียงกันมาก ๆ ดังนั้นถ้าเฟสเคลื่อนที่และสารประกอบใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์สั้นเกินไปทำให้สารประกอบฟีนอลในกลุ่มดังกล่าวยังไม่เกิดการแยกที่สมบูรณ์ สรุปได้ว่าอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมคือ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งสามารถช่วยให้เกิดการแยกสารประกอบฟีนอลได้ครบทั้ง 11 ชนิด แม้จะใช้เวลาในการวิเคราะห์ถึง 126 นาที

เวลารีเทนชัน (retention time) ของสารประกอบฟีนอล จากการใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.8 1.0 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเวลารีเทนชัน (retention time) ของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ที่ได้จากการใช้อัตราการไหลเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆ กัน และเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร

สารประกอบฟีนอล	เวลารีเทนชัน (นาที)		
	อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตร/นาที	อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที	อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตร/นาที
ฟีนอล	7.52	6.97	4.70
4-ไนโทรฟีนอล	11.33	9.38	6.65
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	13.50	9.79	*8.05
2-เมทิลฟีนอล	14.87	*10.22	*8.48
2-คลอโรฟีนอล	15.27	10.65	8.87
2-ไนโทรฟีนอล	16.22	11.68	9.66
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	26.39	19.30	16.16
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	31.48	23.15	19.28
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	42.97	29.55	24.80
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	55.81	38.42	32.21
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	126.65	89.48	75.01

* หมายถึง ไม่สามารถแยกออกจากกันได้

เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์นี้เป็นคอลัมน์ชนิด reversed phase เป็นคอลัมน์ที่มีเฟสคงที่ไม่มีขั้ว (non-polar) และเฟสเคลื่อนที่(สารละลายเมทานอล:น้ำ) เป็นพวกที่มีขั้ว (polar) ดังนั้นสารประกอบที่มีขั้วจะถูกชะล้างออกมาก่อน เนื่องจากมันชอบที่จะละลายในเฟสเคลื่อนที่ ส่วนสารประกอบที่ไม่มีขั้วจะถูกยึดอยู่ในคอลัมน์ทำให้ถูกชะล้างออกมาทีหลัง เมื่อพิจารณาสภาพขั้วของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด จะสามารถแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มจากความต่างกันของสภาพขั้ว กลุ่มแรกจะแสดงสภาพขั้วที่สูงกว่า (more polar) กลุ่มที่สอง (less polar) ดังนี้

กลุ่มที่หนึ่ง ได้แก่ ฟีนอล 4-ไนโทรฟีนอล 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล 2-คลอโรฟีนอล 2-ไนโทรฟีนอล 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล และ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล

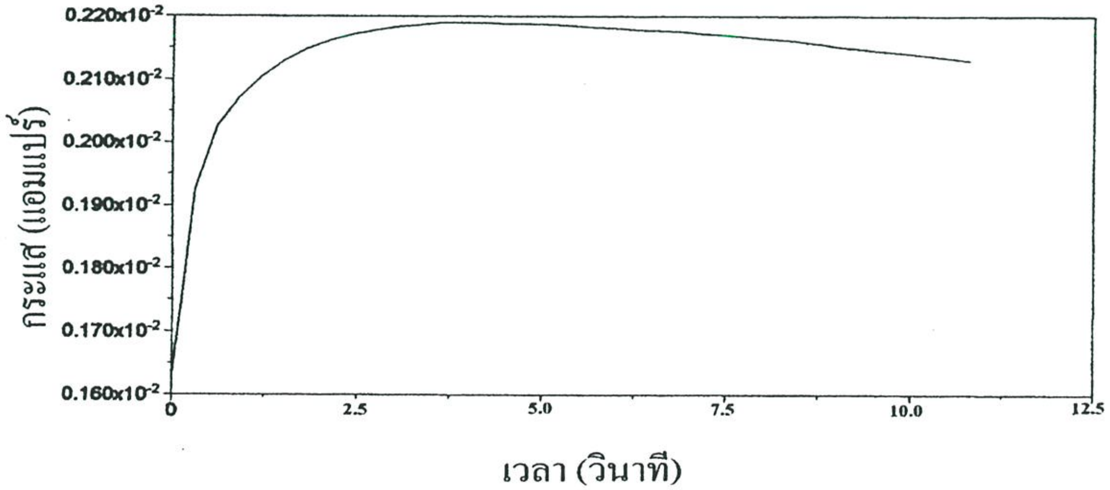
กลุ่มที่สอง ได้แก่ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล (พิจารณาได้จากโครงสร้างของมันที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่คลอโร เกาะอยู่ในตำแหน่งสมมาตรกันถึงสามตำแหน่งทำให้ความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมีน้อย จึงมีสภาพขั้วต่ำ)

ดังนั้นจึงอธิบายได้ว่าการที่ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล ถูกยึดไว้ในคอลัมน์เป็นเวลานานกว่าสารประกอบฟีนอลชนิดอื่น เนื่องจากมันมีสภาพขั้วที่ต่ำกว่าสารประกอบตัวอื่น ๆ อย่างชัดเจน และเนื่องจากการใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์ที่นาน ส่งผลให้พีกของ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล มีลักษณะไม่สมมาตร ขณะเดียวกัน base line ไม่คงที่นัก ทำให้อ่านค่าความสูงพีกของ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอลได้ยากหากใช้ความเข้มข้นในการฉีดวิเคราะห์เท่ากับสารประกอบฟีนอลอีก 10 ตัว ในงานวิจัยจึงใช้ความเข้มข้นของ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล สูงกว่าสารประกอบฟีนอลชนิดอื่น

4.2 การศึกษาสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด โดยระบบโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า

4.2.1 การสร้างฟิล์มพอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน) บนขั้วไฟฟ้าทำงาน

การปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนด้วยการสร้างฟิล์ม พอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน) โดยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรี ได้อ้างอิงมาจากขั้นตอนการสร้างฟิล์มพอลิเมอร์บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ในงานวิจัยของ Somasundrum และคณะ [29] รูปที่ 4.2 แสดงผลที่ได้จากการทำอิเล็กโทรพอลิเมอไรเซชันของ 3-เมทิลไทโอฟีนในสารละลาย CH_3CN (HPLC grade) ซึ่งมี 0.1 โมลาร์ TBATFB เป็นอิเล็กโทรไลต์ช่วย ป้อนศักย์ไฟฟ้า +1.9 โวลต์ เทียบกับ SCE เป็นเวลา 11 วินาที พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นกระแสออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย จนกระทั่งกระแสคงที่ซึ่งแสดงถึงสภาวะสมดุล การเพิ่มขึ้นของกระแสออกซิเดชันเป็นผลมาจากการสร้างชั้นของฟิล์ม พอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน) บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า



รูปที่ 4.2 การตอบสนองสัญญาณทางเคมีไฟฟ้าของ 3- เมทิลไทโอฟีน เมื่อป้อนศักย์ไฟฟ้า +1.9 โวลต์ เป็นเวลา 11 วินาที ใน CH_3CN ที่มี TBATFB เข้มข้น 0.1 โมลาร์เป็นอิเล็กโทรไลต์

ความหนาของฟิล์มพอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน) สามารถคำนวณหาได้ดังนี้

จาก

$$Q = nFAc_iL \qquad (4.1)$$

ดังนั้น

$$L = \frac{Q}{nFAc_i} \qquad (4.2)$$

เมื่อ Q คือ ประจุไฟฟ้า (C) หาได้จากพื้นที่ใต้กราฟ ($Q(t) = \int_0^t idt = 20.4$ mC)

F คือ ค่าคงที่ฟาราเดย์ (96,500 C mol^{-1})

A คือ พื้นที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (0.0706 cm^2)

c_i คือ ความเข้มข้นเชิง uniform ของพอลิเมอร์ (0.018 mol cm^{-3})

n คือ จำนวนอิเล็กตรอนที่ใช้ไปต่อหนึ่งหน่วยมอโนเมอร์ ในขณะเกิดเป็นฟิล์มพอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน) (≈ 0.13)

L คือ ความหนาของฟิล์ม (cm)

สำหรับ c_i คือ ความเข้มข้นเชิง uniform ของพอลิเมอร์ คำนวณได้จาก

$$c_i = \frac{d}{w} \qquad (4.3)$$

เมื่อ d คือ ความหนาแน่นของพอลิเมอร์ (1.5 g cm^{-3})

w คือ molar mass ของ มอโนเมอร์ (82 g mol^{-1})

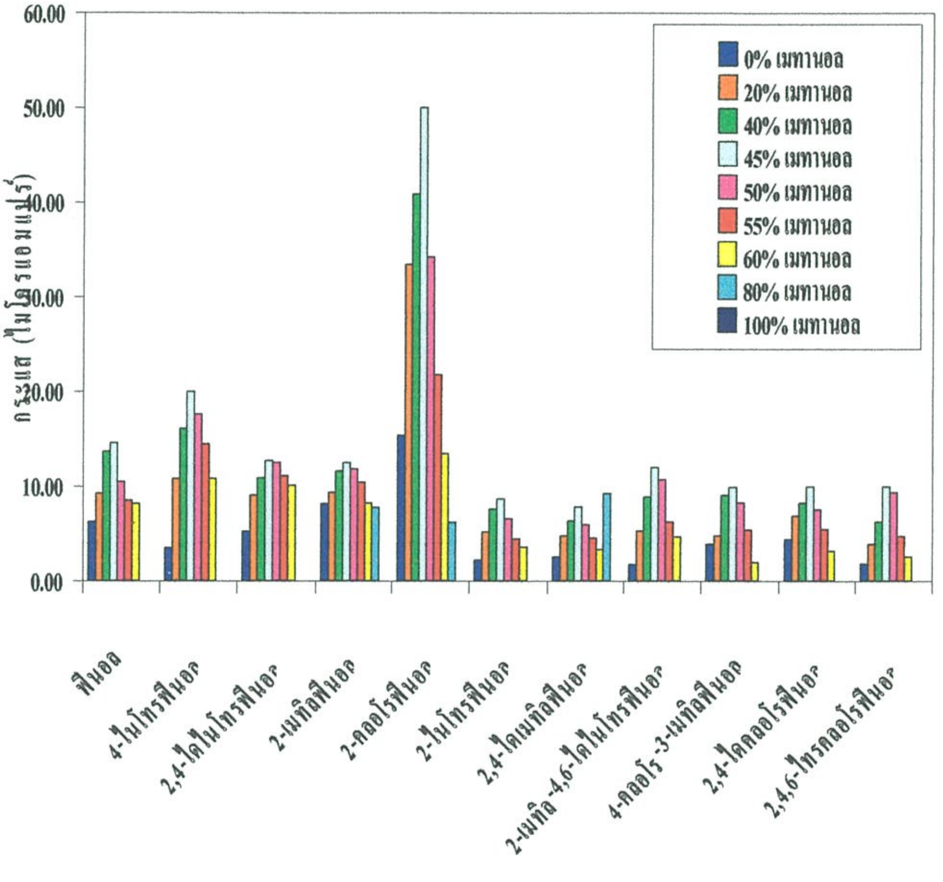
เมื่อแทนค่าตัวแปรต่าง ๆ ลงในสมการข้างต้น สามารถคำนวณความหนาของฟิล์มพอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน) ได้ 12.80 ไมโครเมตร

4.2.2 การศึกษาไซคลิกโวลแทมเมทรีของสารประกอบฟีนอลในสารละลายที่เลือกใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่

ในงานวิจัยนี้ใช้สารละลายผสมสองชนิดระหว่างเมทานอลและน้ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ การศึกษาโวลแทมเมทรีของสารประกอบฟีนอลในสารละลายดังกล่าวที่อัตราส่วนต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่า สารละลายในอัตราส่วนใดที่สารประกอบฟีนอลเกิดกระแสออกซิเดชันสูงสุด และเกิดออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าเท่าใด

จากการศึกษาไซคลิกโวลแทมเมทรีของสารประกอบฟีนอลแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 0:100 20:80 40:60 45:55 55:45 60:40 80:20 และ 100:0 ปริมาตร/ปริมาตร ปรับ pH เท่ากับ 3 ด้วยกรดซัลฟุริกเข้มข้น โดยมีสารละลาย

ไลต์ช่วย โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีที่อัตราศักย์ 0.02 โวลต์ ต่อวินาที ช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ – 0.2 ถึง +1.2 โวลต์ เทียบกับ SCE โดยมีขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยฟิล์ม พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน รูปที่ 4.3 แสดงกระแสออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ในสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วนต่าง ๆ (ค่ากระแสออกซิเดชันของกระแสออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลในสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วนต่าง ๆ แสดงไว้ในตาราง ค1 ในภาคผนวก ค)



ปที่ 4.3 กระแสกับอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ เมื่อป้อนศักย์ไฟฟ้า + 0.9 โวลต์

ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด เกิดกระแสออกซิเดชันสูงสุด เมื่อทดสอบในสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร และค่าศักย์ไฟฟ้าที่เกิดออกซิเดชัน ของสารประกอบฟีนอลแต่ละชนิดในสารละลายดังกล่าว แสดงในตารางที่ 4.4 ศักย์ไฟฟ้าที่ได้นี้บอกถึงศักย์ที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งนำไปใช้เป็นค่าศักย์ที่ให้กับขั้วไฟฟ้าสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีต่อไป

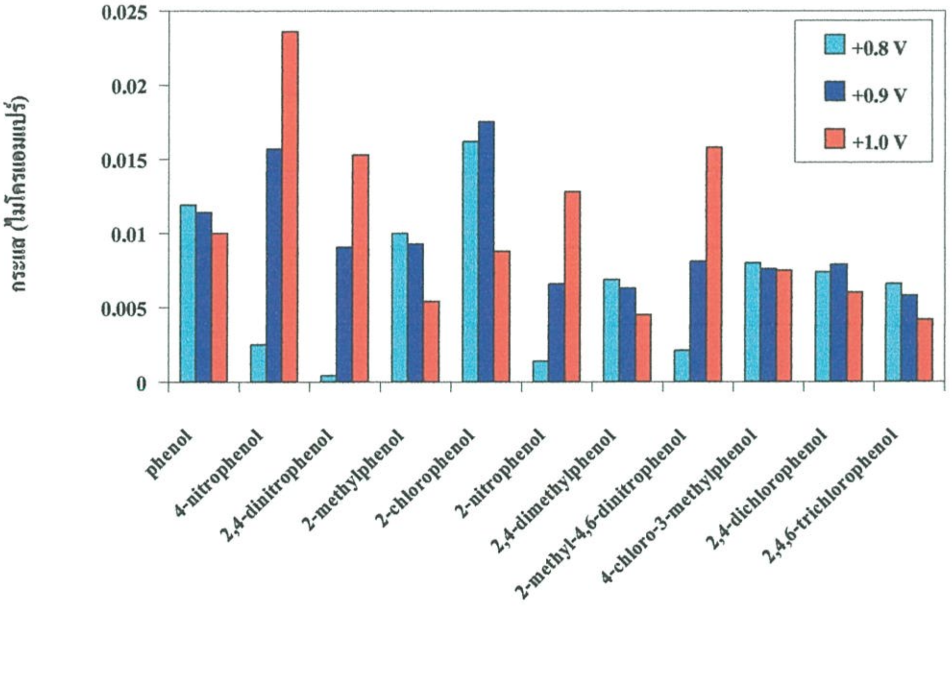
ศักย์ไฟฟ้าที่ได้นี้บอกถึงศักย์ที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งนำไปใช้เป็นค่าศักย์ที่ให้กับขั้วไฟฟ้าสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีต่อไป

จากการศึกษาข้างต้น ทำให้สามารถเลือกสารละลายตัวที่เหมาะสมสำหรับที่จะใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไป ซึ่งพิจารณาจากสารละลายตัวที่ทำให้เกิดกระแสออกซิเดชันสูงสุด นั่นคือ สารละลายเมทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร และยังทราบถึงศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมด้วย นอกจากนั้นการที่สามารถมองเห็นพีกของการเกิดออกซิเดชันสารประกอบฟีนอล แสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยฟิล์ม พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) สามารถใช้ตรวจวัดในสารละลายนั้น ๆ ได้

ตารางที่ 4.3 ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาและกระแสออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิดที่ได้จากการทำไซคลิกโวลแทมเมทรี ช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ –0.2 ถึง +1.2 โวลต์ เทียบกับ SCE ในสารละลายเมทานอล:น้ำในอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร

ชนิดของฟีนอล	ศักย์ไฟฟ้า (โวลต์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์)
ฟีนอล	0.72	13.50
4-ไนโทรฟีนอล	0.98	20.00
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	0.92	12.70
2-เมทิลฟีนอล	0.82	12.49
2-คลอโรฟีนอล	0.78	50.00
2-ไนโทรฟีนอล	1.10	8.60
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	0.88	7.80
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	0.90	12.49
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	0.86	9.95
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	0.84	10.00
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	0.81	10.00

การทดสอบในขั้นตอนนี้ใช้เฟสเคลื่อนที่ที่ได้จากการศึกษาโวลแทมเมทรีของสารประกอบฟีนอลในขั้นตอนที่ผ่านมา นั่นคือสารลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (ปรับ pH เป็น 3 ด้วยกรดซัลฟุริกเข้มข้น มีสารละลายโพแทสเซียมไนเทรต 2 กรัมต่อลิตร และโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.05 กรัมต่อลิตร เป็นสารอิเล็กโทรไลต์ช่วย) สารละลายมาตรฐานผสมของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด แยกผ่าน ODS- C_{18} column ขนาด เนื่องจากขั้นตอนนี้ยังไม่ทราบถึงอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ที่เหมาะสม ดังนั้นจึงกำหนดให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ต่ออุปกรณ์ตรวจวัดที่เป็นเซลล์บางแบบฉีดไหลกับระบบ HPLC โดยมีขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยพอลิ (3-เมทิลไทโอฟีน)เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี ซึ่งต้องกำหนดศักย์ไฟฟ้าค่าหนึ่ง แต่เนื่องจากการศึกษาโวลแทมเมทรีของสารประกอบฟีนอลข้างต้นพบว่าสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าในช่วง +0.7 ถึง +1.0 โวลต์ (แต่ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.7 โวลต์ ใช้ได้กับสารประกอบฟีนอลเพียง 3 ชนิด ไม่ครอบคลุมถึงสารประกอบฟีนอลส่วนใหญ่จึงไม่นำมาใช้ทดสอบ) ดังนั้นศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ทดสอบคือที่ +0.8 +0.9 และ +1.0 โวลต์ เทียบกับ SCE ความสัมพันธ์ระหว่าง กระแสออกซิเดชันกับศักย์ไฟฟ้าแสดงดังรูปที่ 4.4



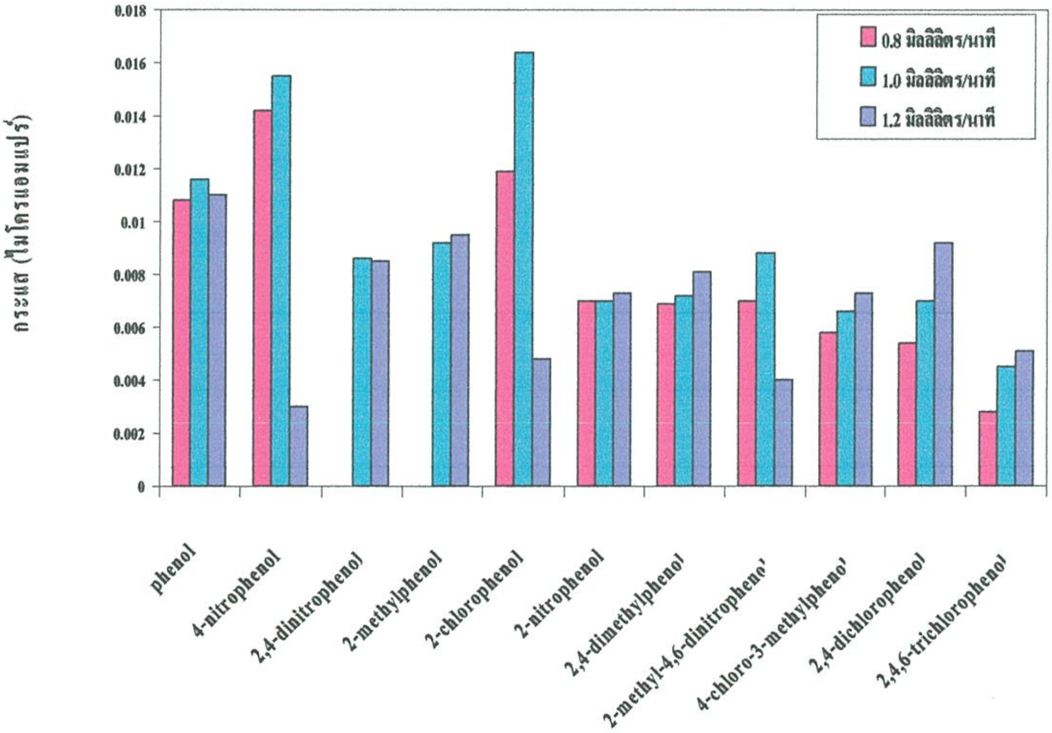
รูปที่ 4.4 กระแสออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด กับศักย์ไฟฟ้าที่ 0.8 0.9 และ 1.0 โวลต์ (เทียบกับ SCE) เมื่อใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

จากรูปที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ศักย์ไฟฟ้า 0.8 โวลต์ สารประกอบฟีนอลทุกตัวสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ พิจารณาเปรียบเทียบกับการใช้ศักย์ไฟฟ้า 0.9 โวลต์ แล้วพบว่ากระแสออกซิเดชันที่เกิดขึ้นมีค่าใกล้เคียงกัน ยกเว้น 4-ไนโทรฟีนอล 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-ไนโทรฟี

นอล และ2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล ที่มีกระแสออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้น ทั้งนี้จะสังเกตได้ว่าสารประกอบที่กล่าวมาล้วนมีหมู่แทนที่เป็นไนโทรทั้งหมด ซึ่งอธิบายได้จากการที่มันมีหมู่แทนที่ ที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนมีผลให้ความหนาแน่นในวงเบนซีนลดลง จึงเกิดปฏิกิริยาได้ช้า (เกิดที่ศักย์ไฟฟ้าสูงกว่าอนุพันธ์อื่น) การใช้ศักย์ไฟฟ้าสูงมาก ๆ อาจส่งผลให้กระแส background เพิ่มขึ้นตามไปด้วยและอาจเกิดการรบกวนจากสารอื่นที่ปนอยู่ในสารละลายได้เพราะสารอินทรีย์ต่าง ๆ อาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าดังกล่าวได้ด้วยเพื่อให้สารประกอบฟีนอลสามารถเกิดออกซิเดชันได้ทุกตัว จึงเลือกศึกษาที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์

4.2.4 การศึกษาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

ทดสอบหาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ที่จะช่วยให้เกิดการแยกที่เหมาะสม ณ ศักย์ไฟฟ้าที่เลือกได้แล้วคือ +0.9 โวลต์ ในการศึกษาใช้สารละลายและสภาวะเดียวกันกับการทดสอบหาศักย์ไฟฟ้าข้างต้น เพียงแต่เปลี่ยนเป็นการกำหนดให้ศักย์ไฟฟ้าเป็น 0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE) และทดสอบอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที กระแสออกซิเดชันที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆแสดงดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 กระแสกับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ให้ +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ตารางที่ 4.4 กระแสออกซิเดชันที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆ

ชนิดของฟีนอล	กระแส (ไมโครแอมแปร์)		
	0.8 มล./นาที	1.0 มล./นาที	1.2 มล./นาที
ฟีนอล	0.0108	0.0116	0.0110
4-ไนโตรฟีนอล	ND	0.0155	0.0142
2,4-ไดไนโตรฟีนอล	ND	0.0086	0.0085
2-เมทิลฟีนอล	0.0081	0.0092	0.0095
2-คลอโรฟีนอล	0.0119	0.0164	0.0048
2-ไนโตรฟีนอล	0.0070	0.0070	0.0073
2,4-ไดเมทิลโทรฟีนอล	0.0069	0.0072	0.0081
2-เมทิล-4,6-ไดไนโตรฟีนอล	0.0070	0.0088	0.0040
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	0.0058	0.0066	0.0073
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	0.0054	0.0070	0.0092
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	0.0028	0.0045	0.0051

ND หมายถึง ไม่สามารถวัดได้

จากผลที่ได้พบว่าเมื่อใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆ กันแล้ว กระแสออกซิเดชันที่วัดได้ไม่แตกต่างกันมากนัก (โดยที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที มีแนวโน้มที่ฟีนอลและอนุพันธ์มีกระแสเกิดขึ้นสูงกว่า) และเมื่อใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ไม่สามารถมองเห็นพีกการเกิดออกซิเดชันของ 4-ไนโตรฟีนอล และ 2,4-ไดไนโตรฟีนอลทำให้ไม่สามารถวัดกระแสได้ ทั้งนี้อาจอธิบายได้ด้วยการถ่ายเทมวลในสารละลาย กลไกแบบการพา (convection) การใช้อัตราการไหลที่เร็วกว่าเป็นการช่วยนำพาให้โมเลกุลของสารเคลื่อนที่เข้าใกล้ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้เร็วขึ้น จึงช่วยให้เกิดปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วฟ้าได้เร็วขึ้นด้วย สรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ด้วยระบบโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า คือใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายเมทานอล:น้ำในอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ปรับ pH เป็น 3 ด้วยกรดซัลฟุริกเข้มข้น มีสารละลายโพแทสเซียมไนเทรต 2 กรัมต่อลิตร และโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.05 กรัมต่อลิตร เป็นสารอิเล็กโทรไลต์ช่วย โดยให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)

4.2.5 การสร้างกราฟมาตรฐานของฟีนอลและอนุพันธ์

4.2.5.1 สร้างกราฟมาตรฐานของฟีนอลและอนุพันธ์ โดยการตรวจวัดด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า

นำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดสอบข้างต้นมาสร้างกราฟมาตรฐานของฟีนอลและอนุพันธ์ โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 10-1000 ไมโครโมลาร์ ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล อัตราส่วน 45:55ปริมาตร/ปริมาตร (pH3) โดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมทรี ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE กระแสออกซิเดชันและกราฟมาตรฐานแสดงในภาคผนวก ข.

ผลจากการสร้างกราฟมาตรฐานทำให้ทราบถึงพิสัยเชิงเส้น สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของฟีนอลและอนุพันธ์ดังนี้

	พิสัยเชิงเส้น (ไมโครโมลาร์)	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
ฟีนอล	10-800	0.9976
4-ไนโทรฟีนอล	20-800	0.9924
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	20-600	0.9951
2-เมทิลฟีนอล	20-400	0.9937
2-คลอโรฟีนอล	10-800	0.9940
2-ไนโทรฟีนอล	10-800	0.9968
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	20-400	0.9943
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	10-400	0.9950
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	20-600	0.9983
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	10-600	0.9970
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	10-600	0.9984

ผลที่ได้พบว่าอนุพันธ์ชนิดที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน (activating group) (หมู่เมทิล) ส่งผลให้อนุพันธ์ชนิดนั้น มีพิสัยเชิงเส้นแคบกว่าอนุพันธ์อื่น ทั้งนี้อธิบายได้ว่า การมีหมู่แทนที่บนวงเบนซีนทำให้มีอิเล็กตรอนหนาแน่นกว่าปกติทำให้ศักย์ไฟฟ้าในการเกิดปฏิกิริยาต่ำกว่า ดังนั้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่าจึงเกิด passivation ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ามากกว่าด้วย พิสัยเชิงเส้นจึงแคบ

ผลจากกราฟมาตรฐานยังบอกถึงความไวของสารต่อขั้วไฟฟ้าอีกด้วยโดยพิจารณาได้จากความชันของกราฟ ถ้าความชันมากสารนั้นก็มีความไวต่อขั้วไฟฟ้ามากด้วย สามารถเรียงลำดับความไวของสารต่อขั้วได้ดังนี้

2-คลอโรฟีนอล>ฟีนอล>2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล>2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล>2,4-ไดคลอโรฟีนอล>2-เมทิลฟีนอล>(2,4-ไดไนโทรฟีนอล=4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล)>2,4-ไดเมทิลฟีนอล>4-ไนโทรฟีนอล

การตรวจวัดฟีนอลและอนุพันธ์ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า พบว่ามีขีดจำกัดการตรวจวัดดังนี้ ฟีนอล 11.73 ไมโครโมลาร์ 4-ไนโทรฟีนอล 40.67 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 22.59 ไมโครโมลาร์ 2-เมทิลฟีนอล 21.03 ไมโครโมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล 10.17 ไมโครโมลาร์ 2-ไนโทรฟีนอล 14.52 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 23.46 ไมโครโมลาร์ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล 16.05 ไมโครโมลาร์ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล 22.59 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล 19.68 ไมโครโมลาร์ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล 19.06 ไมโครโมลาร์ การคำนวณขีดจำกัดการตรวจวัดแสดงในภาคผนวก ข

4.2.5.2 สร้างกราฟมาตรฐานของฟีนอลและอนุพันธ์ โดยการตรวจวัดด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี – ยูวี ดีเคเตอร์

นำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดสอบข้างต้นมาสร้างกราฟมาตรฐานของฟีนอลและอนุพันธ์ โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 10-1000 ไมโครโมลาร์ ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล อัตราส่วน 45:55ปริมาตร/ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

กราฟมาตรฐานที่ได้แสดงในภาคผนวก ข พบว่ามีขีดจำกัดการตรวจวัดดังนี้ ฟีนอล 16.06 ไมโครโมลาร์ 4-ไนโทรฟีนอล 16.99 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 16.60 ไมโครโมลาร์ 2-เมทิลฟีนอล 10.96 ไมโครโมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล 13.90 ไมโครโมลาร์ 2-ไนโทรฟีนอล 14.80 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 15.35 ไมโครโมลาร์ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล 21.85 ไมโครโมลาร์ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล 18.99 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล 10.41ไมโครโมลาร์ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล 17.43 ไมโครโมลาร์ การคำนวณขีดจำกัดการตรวจวัดแสดงในภาคผนวก ข

เมื่อเปรียบเทียบขีดจำกัดการตรวจวัดทั้งสองเทคนิคแล้วพบว่า การตรวจวัดฟีนอล 2-คลอโรฟีนอล และ2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า มีขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำกว่าการตรวจวัดด้วยยูวี ดีเทคเตอร์ แต่การตรวจวัด 4-ไนโทรฟีนอล 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล 2,4-ไดคลอโรฟีนอล 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล การตรวจวัดด้วยยูวี ดีเทคเตอร์ ให้ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำกว่า ส่วน 2-ไนโทรฟีนอล มีขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากันจากทั้งสองเทคนิค

จากผลการวิเคราะห์ที่ได้พบว่าขีดจำกัดการตรวจวัดที่ได้ยังมีค่าสูงอยู่มากเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา สาเหตุอาจเนื่องมาจาก

1. ในขั้นตอนการทดลองไม่มีขั้นตอนของการสกัดตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์

2. สภาวะทางโครมาโทกราฟีบางอย่างแตกต่างจากงานวิจัยอื่นอยู่บ้าง เช่น งานวิจัยอื่นมีการควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ (40°C) แต่ในงานวิจัยนี้ทำการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง

3. การเตรียมสารละลายเฟสเคลื่อนที่ นำไป degas ใน ultrasonic bath ซึ่งอาจยังไม่เพียงพอ ควรมีการกำจัดแก๊สออกซิเจนด้วยแก๊สฮีเลียมเพิ่มเติม

4.2.6 การศึกษาเพื่อยืนยันตำแหน่งพีกที่แน่นอนของสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด (spiking)

สำหรับการบ่งชี้ตำแหน่งของพีกแต่ละพีกที่เกิดขึ้น ใช้วิธี spiking ในการทดสอบเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมของสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานของสารประกอบตัวที่ต้องการศึกษาให้มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่า นำสารละลายดังกล่าวทดสอบด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี/เคมีไฟฟ้า โดยใช้สภาวะที่ได้จากการทดสอบข้างต้นใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตร/นาที มีขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงด้วยฟิล์มพอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้า 0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE นำค่ากระแสออกซิเดชันที่ได้จากการทำ spike ของสารประกอบฟีนอลแต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่ากระแสที่จากการ spike และ % recovery

สารประกอบฟีนอล	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			% recovery
	ก่อน spike	หลัง spike	ผลต่าง	
ฟีนอล	0.0114	0.0235	0.0121	106.14
4-ไนโทรฟีนอล	0.0151	0.0317	0.0166	109.93
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	0.0926	0.1894	0.0968	104.54
2-เมทิลฟีนอล	0.0930	0.1940	0.1010	108.60
2-คลอโรฟีนอล	0.1697	0.3571	0.1874	110.43
2-ไนโทรฟีนอล	0.0640	0.1380	0.0740	115.63
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	0.0602	0.1196	0.0594	98.67
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	0.0841	0.1714	0.0873	103.80
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	0.0742	0.1473	0.0731	98.52
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	0.0780	0.1610	0.0830	106.41
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	0.0461	0.0840	0.0379	82.21

จากตารางที่ 4.5 ทำให้สามารถคำนวณ % recovery ได้อยู่ในช่วง 82.21 -115.63 แสดงให้เห็นว่าการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้มีความแม่นยำที่ดี

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกวิเคราะห์สารประกอบฟีนอล 11 ชนิด เมื่อใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าสามารถแยกสารประกอบฟีนอลออกจากกันได้ครบทั้ง 11 ชนิด เนื่องจากมีความแรงของตัวทำละลายสำหรับการแยกชะที่เหมาะสมที่สุด แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ถึง 126 นาทีขณะที่สารละลายเมทานอล:น้ำ ในอัตราส่วนอื่น ๆแยกสารประกอบฟีนอลออกจากกันได้ไม่ครบ

จากการเปรียบเทียบผลการแยกเมื่อใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาทีนั้น พบว่าการใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 มิลลิลิตรต่อนาทีนั้น ทำให้สารประกอบฟีนอล มีเวลาอยู่ในคอลัมน์นานเพียงพอที่จะทำให้การแยกเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ ขณะที่การใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาทีนั้น เฟสเคลื่อนที่และสารประกอบใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์สั้นเกินไปยังไม่เกิดการแยกที่สมบูรณ์ ทำให้ไม่สามารถแยก 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล และ 2,4-ไดคลอโรฟีนอลซึ่งมีเวลารีเทนชัน (retention time) ที่ใกล้เคียงกันมาก ๆ ออกจากกันได้

การแยกสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ด้วยคอลัมน์ชนิด reversed phase ทำให้เห็นถึงความต่างกันของสภาพขั้วของสารประกอบฟีนอลทั้ง 11 ชนิด อย่างชัดเจน สามารถแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกจะแสดงสภาพขั้วที่สูงกว่า (more polar) กลุ่มที่สอง (less polar) ได้แก่ ฟีนอล 4-ไนโทรฟีนอล 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 2-เมทิลฟีนอล 2-คลอโรฟีนอล 2-ไนโทรฟีนอล 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล ซึ่งทั้ง 10 ชนิดนี้มีสภาพขั้วสูงกว่า 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล ที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่คลอโรเกาะอยู่ในตำแหน่งสมมาตรกันถึงสามตำแหน่ง ทำให้ความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมีน้อย จึงมีสภาพขั้วต่ำจึงถูกยึดอยู่ในคอลัมน์เป็นเวลานานกว่าสารชนิดอื่น

การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลและอนุพันธ์ 11 ชนิด ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าอาจต้องใช้ศักย์ไฟฟ้าสูงเพื่อให้สารประกอบกลุ่มที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไนโทรเกิดออกซิเดชันได้ แต่การใช้ศักย์ไฟฟ้าสูงๆ อาจส่งผลให้กระแส background เพิ่มขึ้นตามไปด้วยและอาจเกิดการรบกวนจากสารอื่นที่ปนอยู่ในสารละลายได้เพราะสารอินทรีย์ต่าง ๆ อาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าดังกล่าวได้ด้วย ในงานวิจัยนี้นำขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนปรับปรุงด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ พอลิ(3-เมทิล

ไทโอฟีน) มาใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัด ทำให้สารประกอบฟีนอลสามารถเกิดออกซิเดชัน ได้ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์

การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลและอนุพันธ์ 11 ชนิด โดยนำขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนปรับปรุงด้วยฟิล์มพอลิเมอร์ พอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน) มาใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดในระบบโครมาโทกราฟีของเหลว สารประกอบฟีนอลแยกชะผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} โดยใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3 และมี KNO_3 2 กรัม/ลิตร KCl 0.05 กรัม/ลิตร เป็นอิเล็กโทรไลต์) เป็นเฟสเคลื่อนที่และใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีโดยให้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ 0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE) พบว่าสามารถตรวจวัดสารประกอบฟีนอลได้ทั้ง 11 ชนิด ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ของฟีนอล 16.06 ไมโครโมลาร์ 4-ไนโทรฟีนอล 16.99 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล 16.60 ไมโครโมลาร์ 2-เมทิลฟีนอล 10.96 ไมโครโมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล 13.90 ไมโครโมลาร์ 2-ไนโทรฟีนอล 14.80 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล 15.35 ไมโครโมลาร์ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล 21.85 ไมโครโมลาร์ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล 18.99 ไมโครโมลาร์ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล 10.41ไมโครโมลาร์ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล 17.43 ไมโครโมลาร์ และมีพิสัยเชิงเส้น 10-800 20-800 20-600 20-400 10-800 10-800 10-800 20-400 10-400 20-600 10-600 10-600 10-600 10-600 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้จากกราฟมาตรฐานและสมการเส้นตรงของสารประกอบฟีนอลและอนุพันธ์มีค่ามากกว่า 0.9924

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาขั้วไฟฟ้าให้มีอายุการใช้งานที่ยาวนานขึ้น
2. ควรทำการทดลองตรวจวัดปริมาณฟีนอลและอนุพันธ์ในตัวอย่างจริง เช่น ในน้ำเสีย
3. ควรทำการศึกษาระบบการตรวจวัดให้มีขีดจำกัดการตรวจวัดที่ต่ำลง
4. ควรศึกษาหาสภาวะที่ช่วยลดเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ให้สั้นลงกว่านี้

เอกสารอ้างอิง

[1] United State Environmental Protection Authority. Toxic Substance Control Act(TSCA). USEPA.washington DC. 1979.

[2] Realini P.A.,“ Determination of Priority Pollutant Phenols in Water by HPLC. ” **J.Chromatogr.Sci.**, vol. 19, 1981, pp. 124.

[3] Philip N. B. ,Peter T. and Claire H. T. “ Electrochemical Immobilization of Enzymes.3. Immobilization of Glucose Oxidase in Thin Films of Electrochemically Polymerized Phenols. ” **Anal.Chem.**, vol. 64, no. 2. January 1992. pp.138-142.

[4] Wang J. and Li R. “ Highly Stable Voltammetric Measurements of Phenolic Compounds at Poly[3-methylthiophene] Coated Glassy Carbon Electrode. ” **Anal.Chem.**, vol. 61, no. 24, December 1989. pp. 2809-2811.

[5] เพ็ญศรี ทองนพเนื้อ, **เคมีวิเคราะห์เชิงไฟฟ้า.** กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2539.

[6] Allen J. Brad and Larry R. Faulkner. **Electrochemical Methods:Fundamentals and Application.** 2nd ed. New york : John Wiley & Sons, Inc. 2001. pp. 608-609.

[7] Wang J. **Analytical Electrochemistry.** 2nd ed New York : Wiley – VCH. 2000. pp. 1-99.

[8] Brett C.M.A. and Brett A.M.O. **Electrochemistry (Principles Methods and Applications).** Oxford : Oxford University Press. 1993. pp. 82-218.

[9] David K. and Gosser Jr. **Cyclic Voltammetry Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms.** New York : VCH Publishers Inc. 1993. pp. 1-30.

[10] Rieger P.H. Electrochemistry. 2nded. NewYork :Chapman and Hall. 1993. pp. 15-208.

[11] Frank Settle. Editor. **Handbook of Industrial Techniques for Analytical Chemistry.** Newjersey: Princtice-Hall Inc. 1997. pp. 691-697.

[12] Kroschwitz S.I. **Concise : Encyclopedia of Polymer Science and Engineering.** New York : John Wiley & Son, 1986. pp. 172-173.

[13] Bach, C.M.G. and Reynolds, J.R., “ Rapid Ion Exchange During Redox Switching of Poly (3-methylthiophene) Study by X-Ray Photoelectron Spectroscopy ”, **J. Phys.Chem.**, vol. 98, no. 51, 1994. pp. 13636-13642.

[14] Imisides MD., John R. and Wallace G.G. “ Microsensors Based on Conducting Polymers ” **CHEMTECH,** May 1996. pp. 19.

[15] แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. **หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ.** กรุงเทพมหานคร: กรุงเทพชวนพิมพ์. 2539. pp. 714-789.

[16] วัชรี ชาตกิตติคุณวงษ์. **เคมีวิเคราะห์ 2 เรื่อง โครมาโทรกราฟีของเหลวที่มีสมรรถนะสูง.** กรุงเทพมหานคร. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง. 2542.

[17] Meyer, and Veronika. **" Practical High-performance Liquid Chromatography ".** 3rd ed. England: John Wiley& Son. 1998.

[18] Kissinger T. and Heineman R. Editor. " **Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry** ". 2nd ed. Marel Dekker, Inc.:New York, 1996. pp 826.

[19] Ronald E.and Mayer S., " Determination of Environmental Phenols by Liquid Chromatography/Electrochemistry ." **Anal.Chem.**, vol 54, 1982. pp. 1164-1169.

[20] Ruana J. and Urbe I., " Determination of Phenols at The ng/l Level in Drinking and River Water by Liquid Chromatography with UV and Electrochemical Detection ", **J.Chromatogr.A.**, 655, 1993. 217.

[21] Pocurull E., Marcé R.M.,Borrull F., " Determination of Phenolic Compounds in Natural Waters by Liquid Chromatography with Ultraviolet and Electrochemical Detection after on-line Trace Enrichment ", **J.Chromatogr.A**, 738, 1996. 1.

[22] Puig D., Barceló D., " Comparative Study of On-line Solid Phase Extraction Followed by UV and Electrochemical Detection in Liquid Chromatography for the Determination of Priority Phenols in River Water Samples ", **Anal.Chim.Acta.**, 311, 1995. 63.

[23] Pocuruull E., Sa′nchez G., Borrull F., Marc′e R.M., " Automated on-line Trace Enrichment and Determination of Phenolic Compounds in Environmental Waters by High-Performance Liquid Chromatography **". J.Chromatogr.A.**, 696, 1995, 31-39.

[24] Qui F. and Compton R.G. " Laser-Activated Voltammetry :Measurement of Diffuusion Coefficient of Electropassivating Species. Application to Pyrole andPhenol in Aqueous Solution." **Anal. Chem.**, vol 72. no. 8, April 2000. pp. 1830-1834.

[25] Poon M. and McGreery R.L. " Repetitive in situ Renewal and Activation of Carbon and Platinum Electrode:Aplication to Pulse Voltammetry. " Anal.Chem., vol. 59, no. 13, July 1987. pp. 1615-1620.

[26] Koile R.C. and Johnson D.C. "Electrochemical Removal of Phenolic Film from a Platinum Anode." Anal.Chem., vol. 60, no. 5 March 1988. pp. 499-502.

[27] Wang J. and Lin M.S. " In Situ Electrochemical Renewal of Glassy Carbon Electrodes." **Anal.Chem.**, vol 60, no. 5, March 1988. pp. 499-502.

[28] Viviana C., and Claudia D., " Liquid Chromatography/Electrochemical Detection of Phenol at a Poly[Ni-(Protoporphyrin IX)] Chemically Modified electrode. " **Anal.Chim.Acta.** vol. 336, 1996, pp. 195-199.

[29] Atta N.F., Galal A., Karagozler A.E., Russell G.C. and Zimmer H. " Electrochemistry and Detection of Some Organic and Biological Molecules at Conducting Poly(3-methyl thiophene) Electrodes. " **Biosens. Bioelectron.**, vol. 6, 1999. pp. 333.

[30] Wieck H.J. " Electrochemical Platinization of Reticulated Vitreous Carbon Electrodes to Increase Biosensor Response." **Anal.Chem.**, vol. 62, no. 11, June 1990. pp. 325-322.

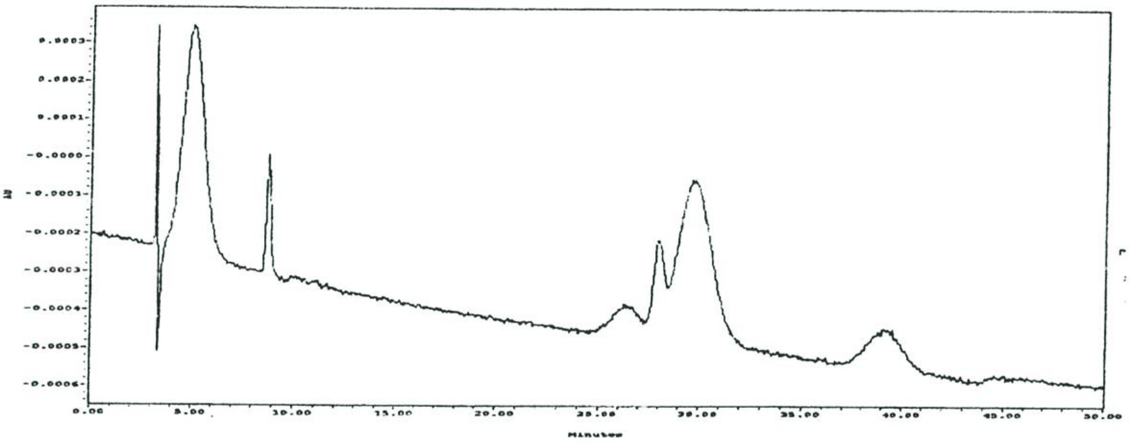
[31] Wang J. and Angnes L. " Miniaturized Glucose Sensors Based on Electrochemical Codeposition of Rhodium and Glucose Oxidase onto Carbon-Fiber Electrodes. " **Anal.Chem.**, vol. 64, no. 4, Febuary 1992. pp. 456-459.

[32] กุลรดา บัวอินทร์. " ผลกระทบของอนุภาคโรเดียมในพอลิ(3-เมทิลไทโอฟีน)โมดิฟายด์กลาสสิคาร์บอนอิเล็กโทรดต่อการคะตะไลส์ฟีนอล. " วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2546.

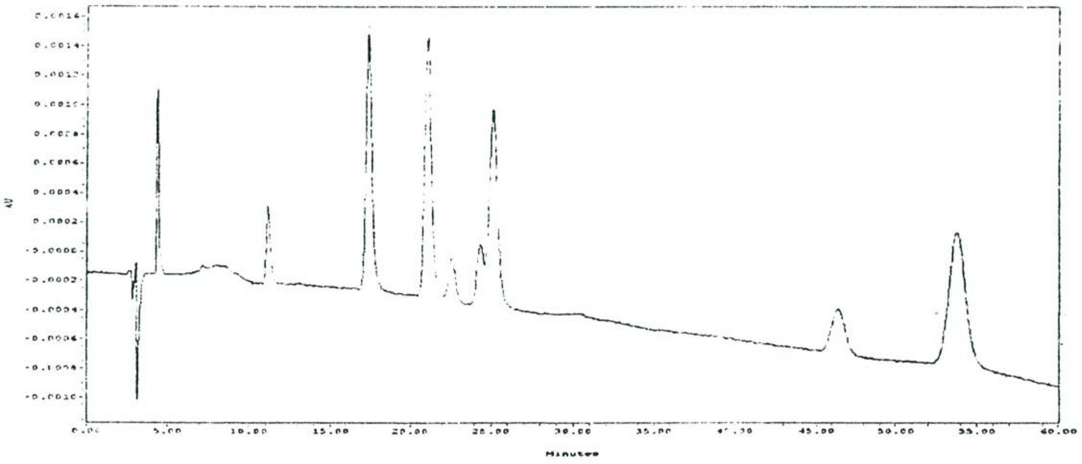
ภาคผนวก ก.

ตัวอย่างโครมาโทแกรมและโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการทดลอง

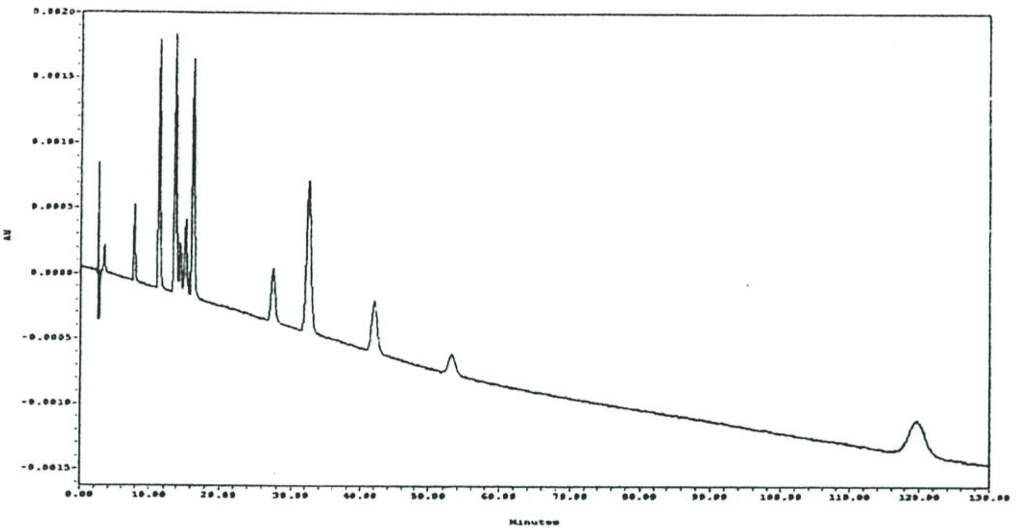
โครมาโทรแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์ จากการทดสอบหาอัตราส่วนของสารละลายเมทานอล:น้ำ ที่เหมาะสมสำหรับการแยกวิเคราะห์ แสดงดังรูปที่ ก1 – ก8



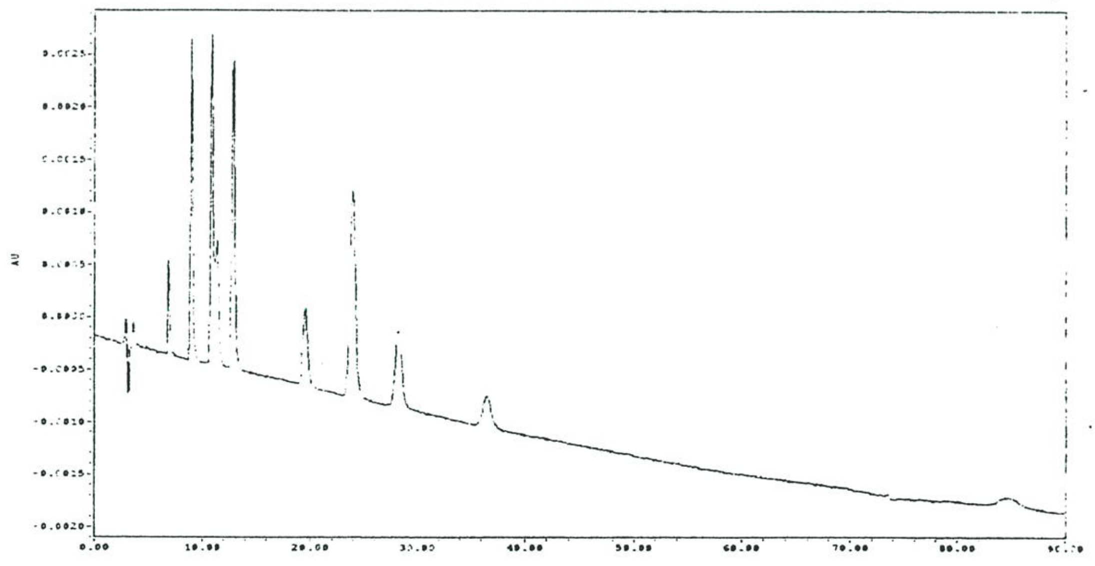
รูปที่ ก1 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์จากการใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 20:80 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



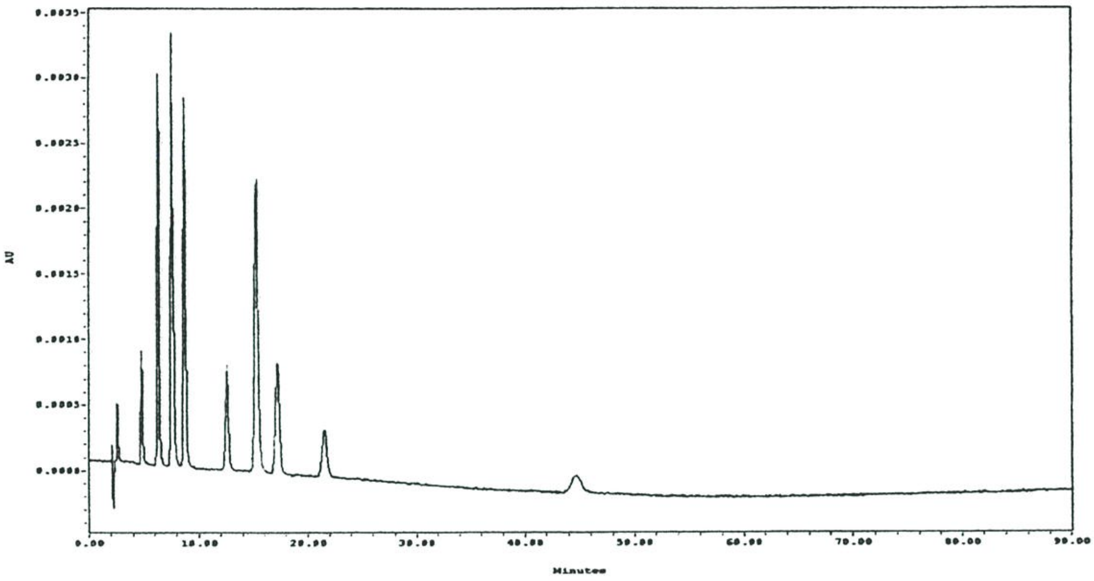
รูปที่ ก2 โครมาโทแกรมฟีนอลและอนุพันธ์จากการใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 40:20 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



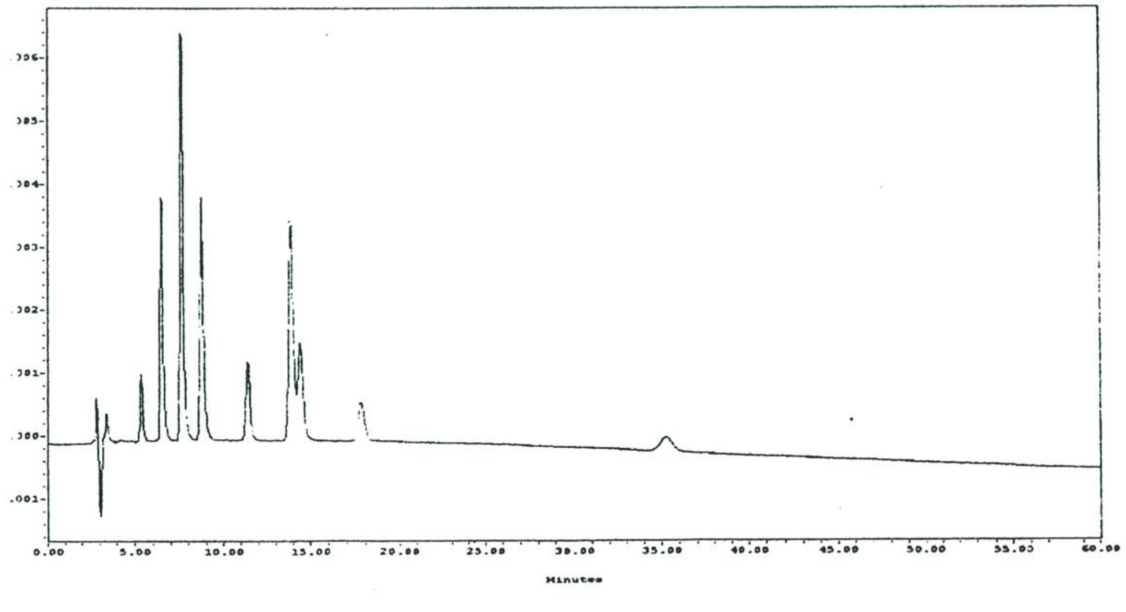
รูปที่ ก3 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์จากการใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



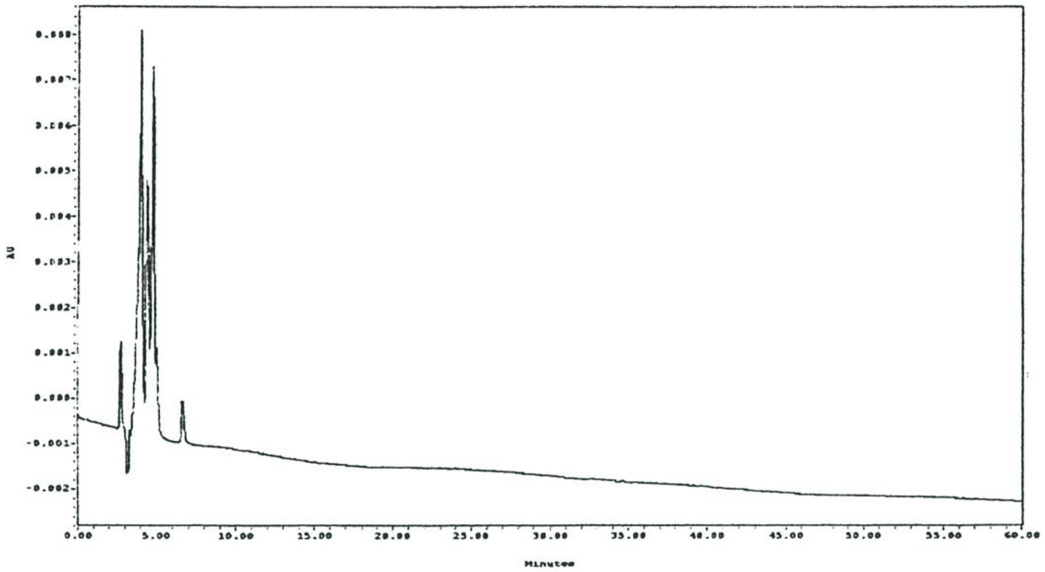
รูปที่ ก4 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์จากการใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



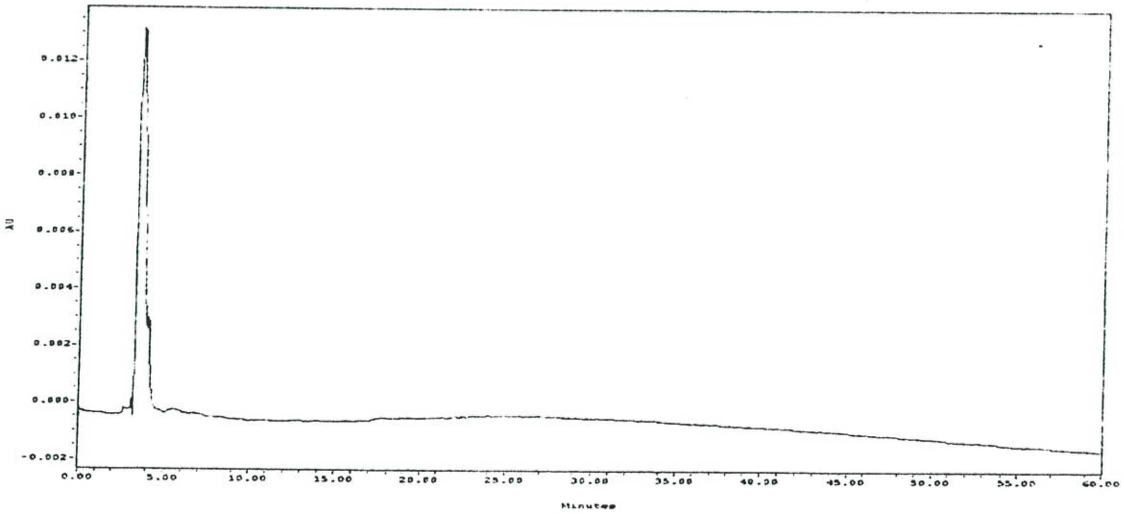
รูปที่ ก5 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์จากการใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 55:45 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



รูปที่ ก6 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์จากการใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 60:40 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



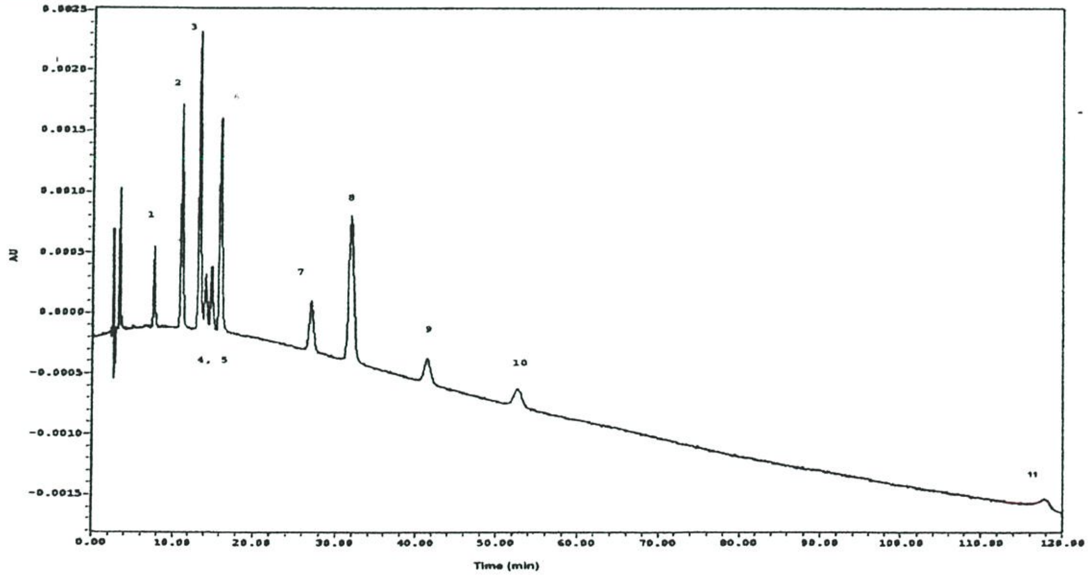
รูปที่ ก7 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์จากการใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 80:20 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตรา การไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาว คลื่น 280 นาโนเมตร



รูปที่ ก8 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์จากการใช้สารละลายเมทานอล เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตรา การไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาว คลื่น 280 นาโนเมตร

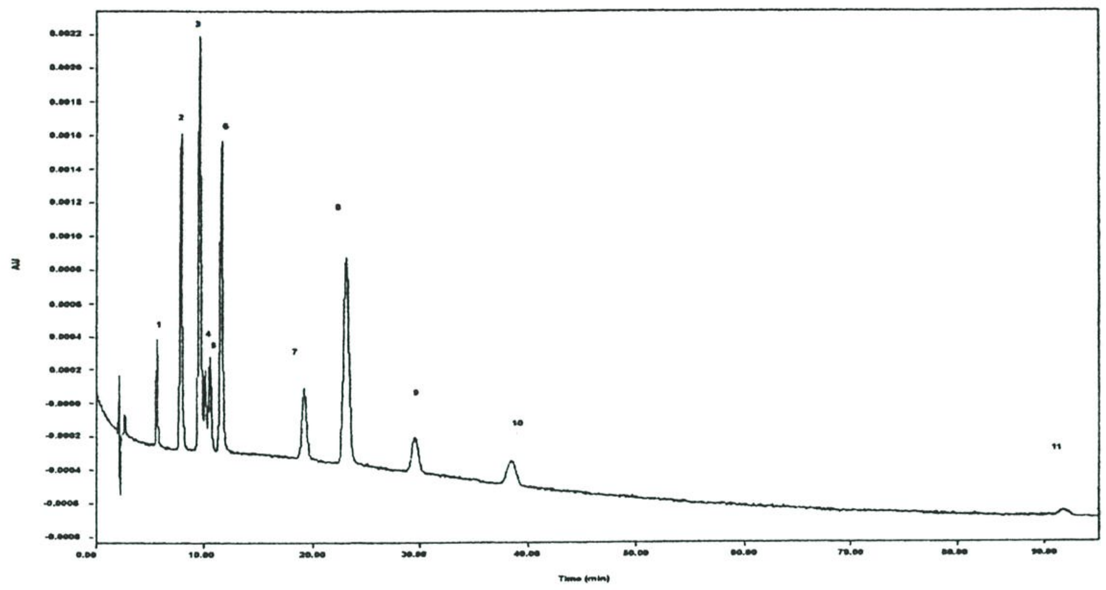
โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์จากการทดสอบอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆ เมื่อใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร แสดงดังรูปที่ ก9-ก11 โดยลำดับการชะและretention timeสรุปได้ดังตาราง

ลำดับที่	ชนิดฟีนอล	retention time (min) ที่อัตราการไหล		
		0.8 ml/min	1.0 ml/min	1.2 ml/min
1	ฟีนอล	7.52	6.97	4.70
2	4-ไนโทรฟีนอล	11.33	9.38	6.65
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	13.50	9.79	*8.05
4	2-เมทิลฟีนอล	14.87	*10.22	*8.48
5	2-คลอโรฟีนอล	15.27	10.65	8.87
6	2-ไนโทรฟีนอล	16.22	11.68	9.66
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	26.39	19.30	16.16
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	31.48	23.15	19.28
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	42.97	29.55	24.80
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	55.81	38.42	32.21
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	126.65	89.48	75.01

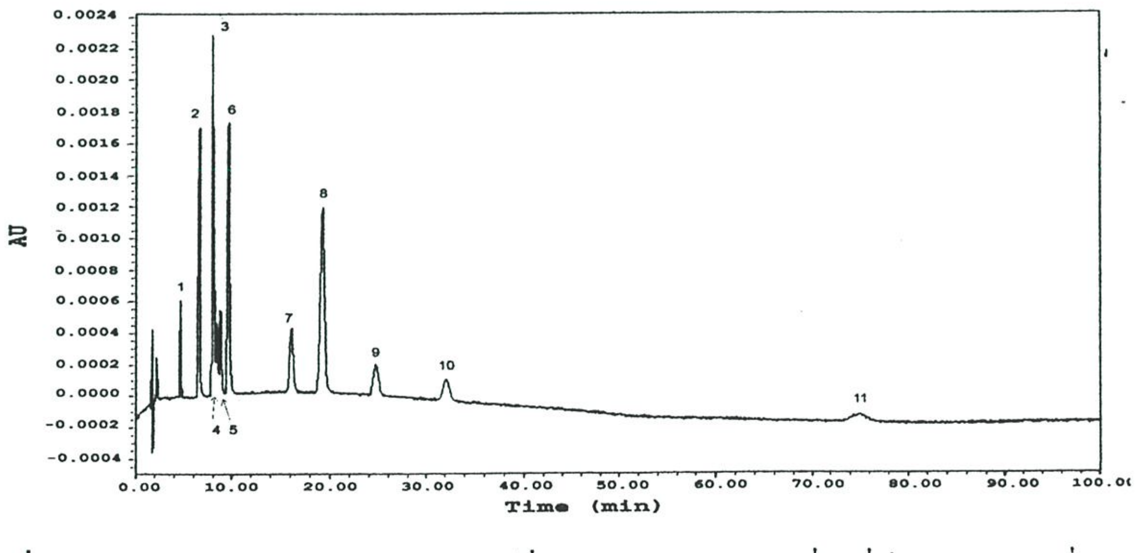


รูปที่ ก9 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 ml/min เมื่อ

ใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

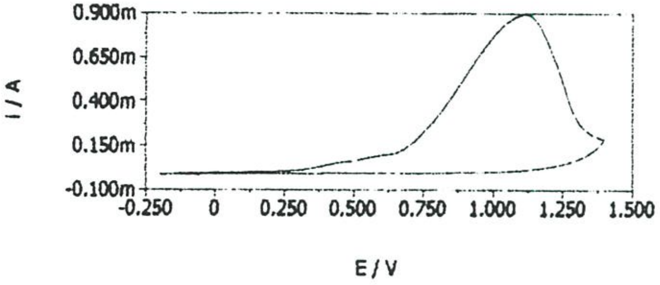


รูปที่ ก10 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 ml/min เมื่อใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

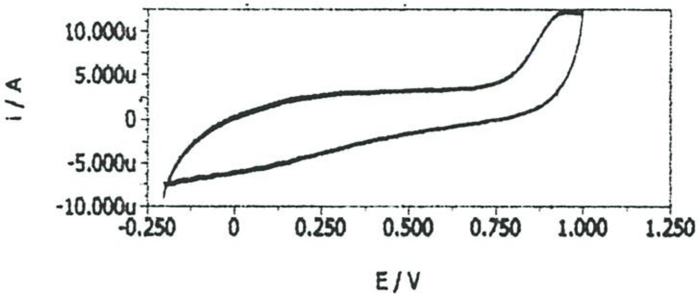


รูปที่ ก11 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.2 ml/min เมื่อใช้สารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

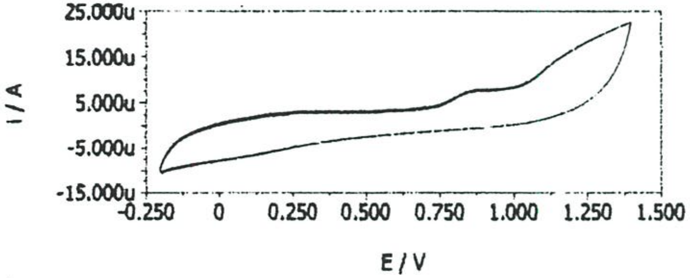
ไซคลิกโวลแทมโมแกรมจากการศึกษาอนุพันธ์ฟีนอลเพื่อหาศักย์ไฟฟ้าที่เกิดออกซิเดชัน ในสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ใช้ขั้วไฟฟ้า PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน แสดงดังรูปที่ ก21 – ก30



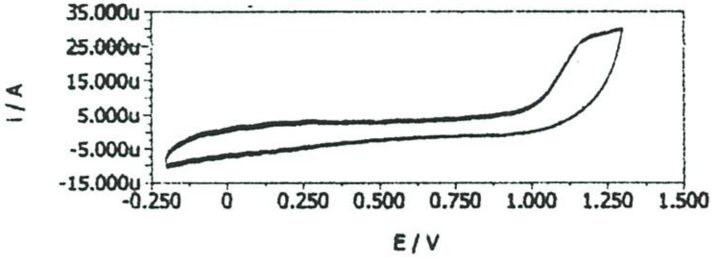
รูปที่ ก21 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล



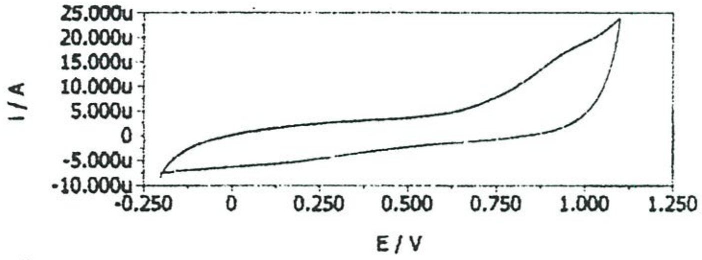
รูปที่ก22 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล



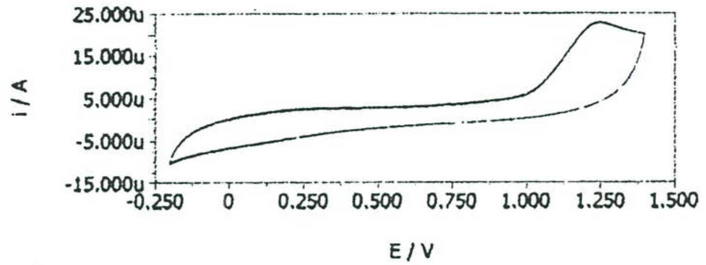
รูปที่ ก23 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2-เมทิลฟีนอล



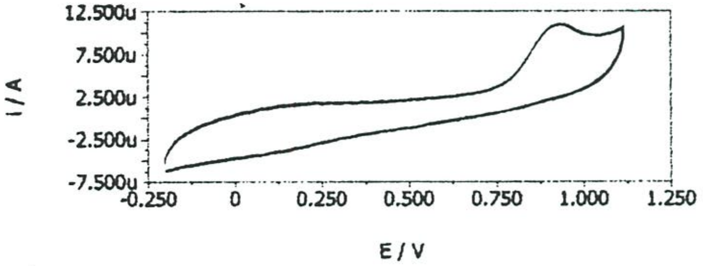
รูปที่ ก24 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2-ไนโทรฟีนอล



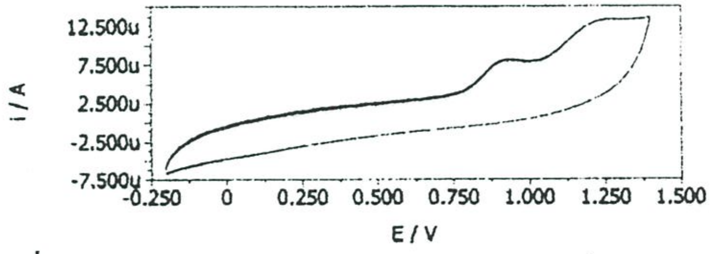
รูปที่ ก25 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล



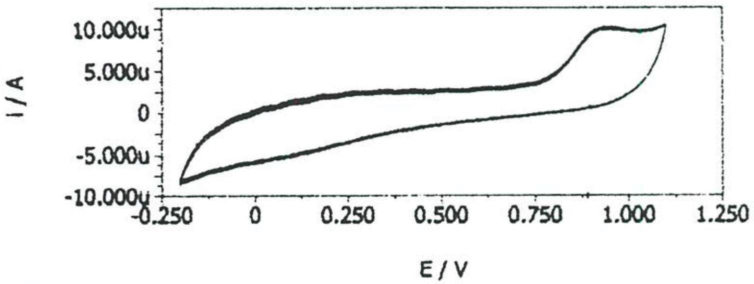
รูปที่ ก26 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2-ไนโทรฟีนอล



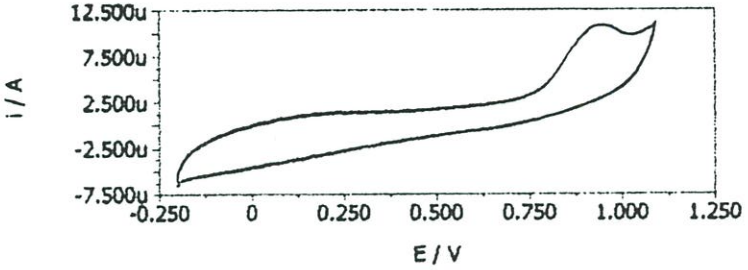
รูปที่ ก27 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล



รูปที่ ก28 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2-คลอโรฟีนอล

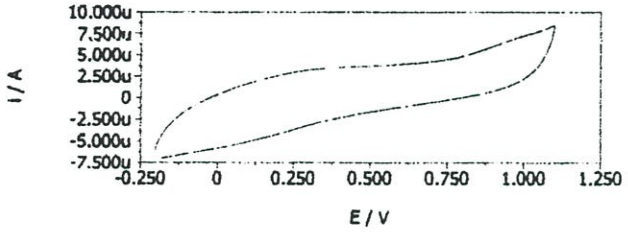


รูปที่ ก29 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล

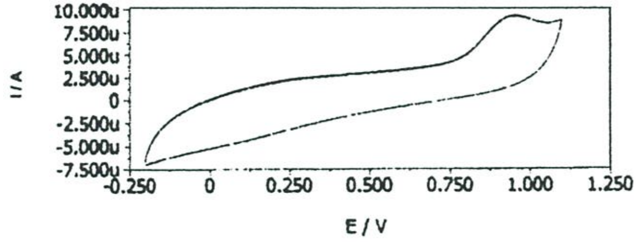


รูปที่ ก30 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล

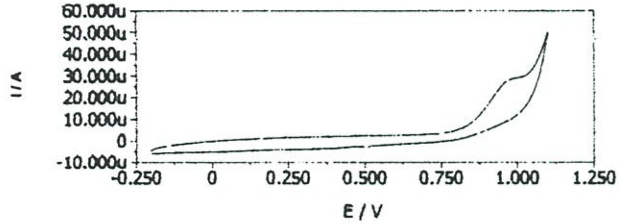
ไซคลิกโวลแทมโมแกรมจากการศึกษาฟีนอล 1 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายเมทานอล:น้ำที่อัตราส่วนต่างๆ เพื่อหาสารละลายที่ทำให้ได้กระแสออกซิเดชันสูงสุด มีขั้วไฟฟ้า PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน แสดงดังรูปที่ ก12 – ก20



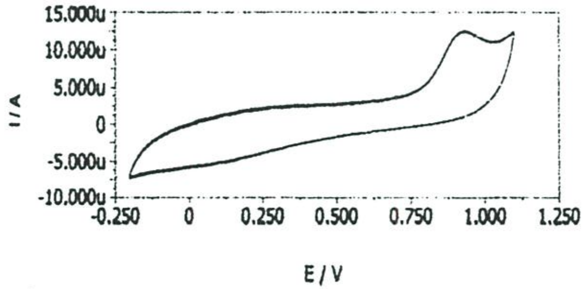
รูปที่ ก12 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอล ในน้ำ



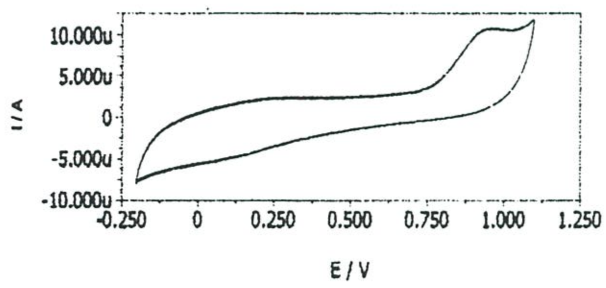
รูปที่ ก13 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอลในสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 20:80 ปริมาตร/ปริมาตร



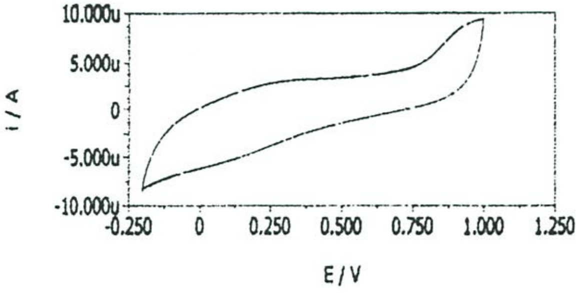
รูปที่ ก14 ไซคลิกโวลแทมโมแกรม 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอล ในสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 40:60 ปริมาตร/ปริมาตร



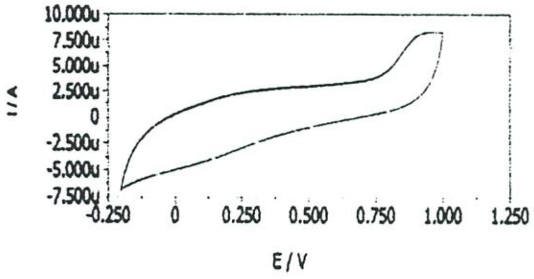
รูปที่ ก15 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอลในสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร



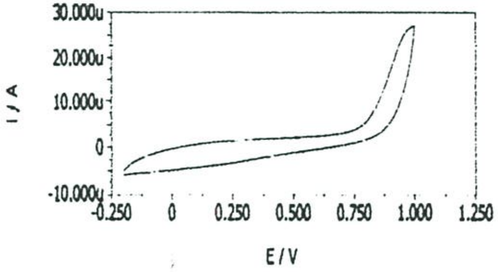
รูปที่ ก16 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอลในสารละลายเมทานอล:น้ำอัตราส่วน 50:50 ปริมาตร/ปริมาตร



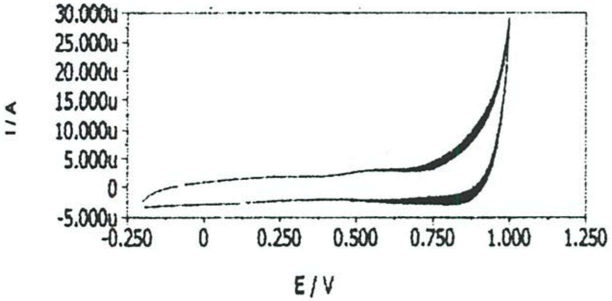
รูปที่ ก17 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอลในสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 55:55 ปริมาตร/ปริมาตร



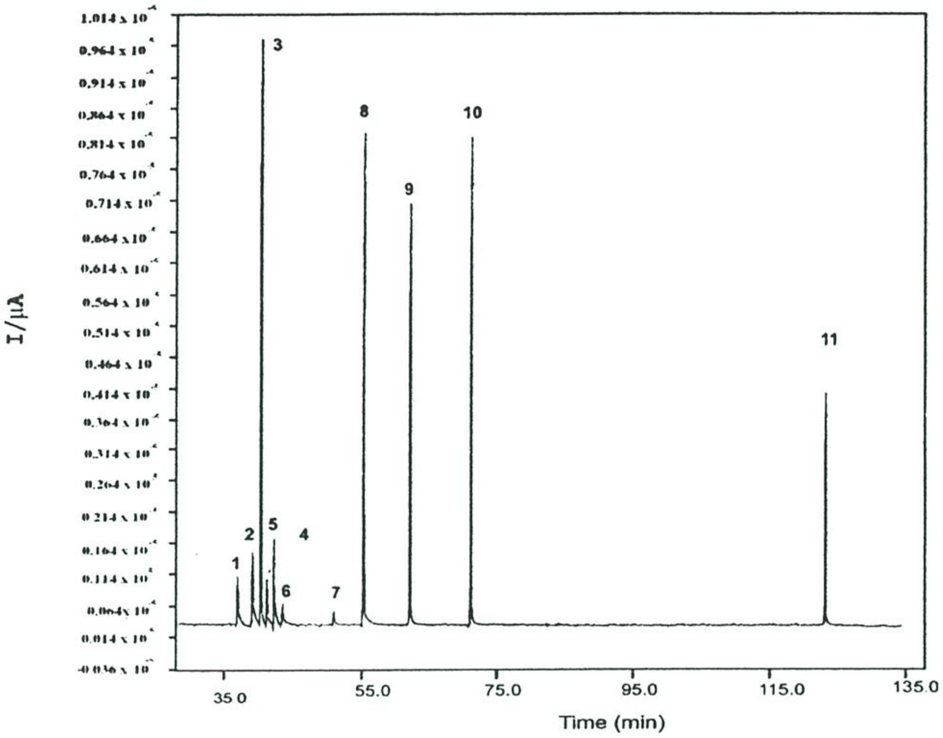
รูปที่ ก18 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอลในสารละลายเมทานอล:น้ำอัตราส่วน 60:80 ปริมาตร/ปริมาตร



รูปที่ ก19 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอลในสารละลายเมทานอล:น้ำอัตราส่วน 80:20 ปริมาตร/ปริมาตร

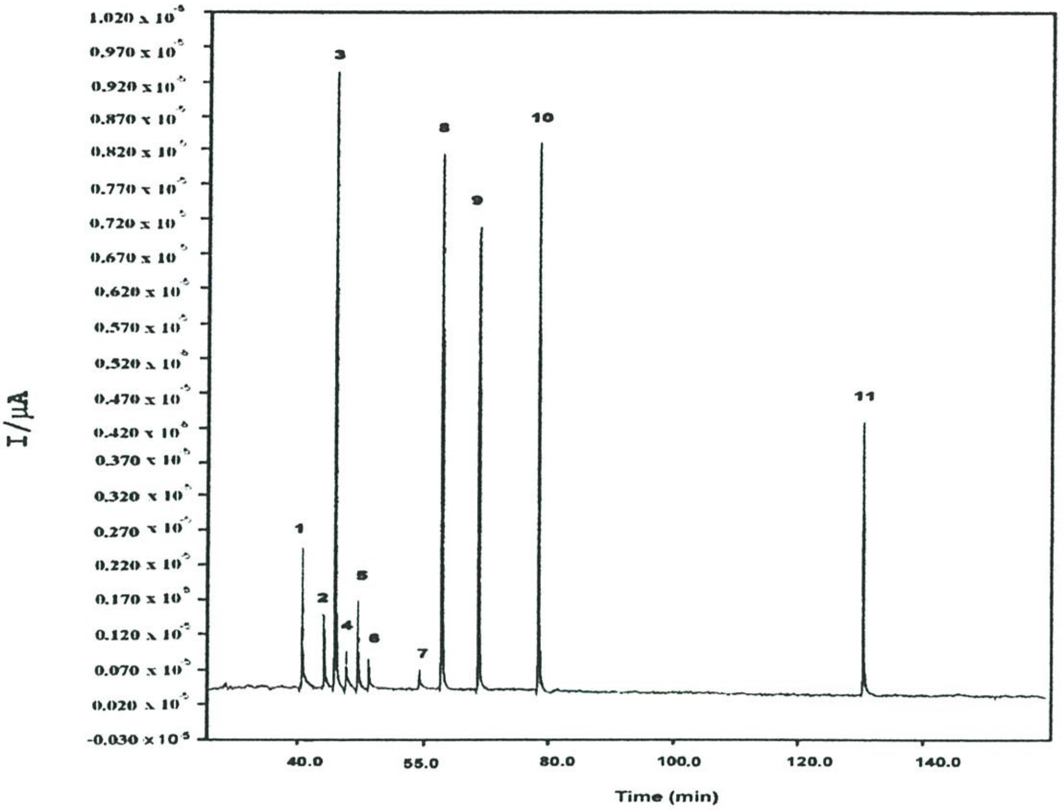


รูปที่ ก20 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนอล ใน สารละลายเมทานอล



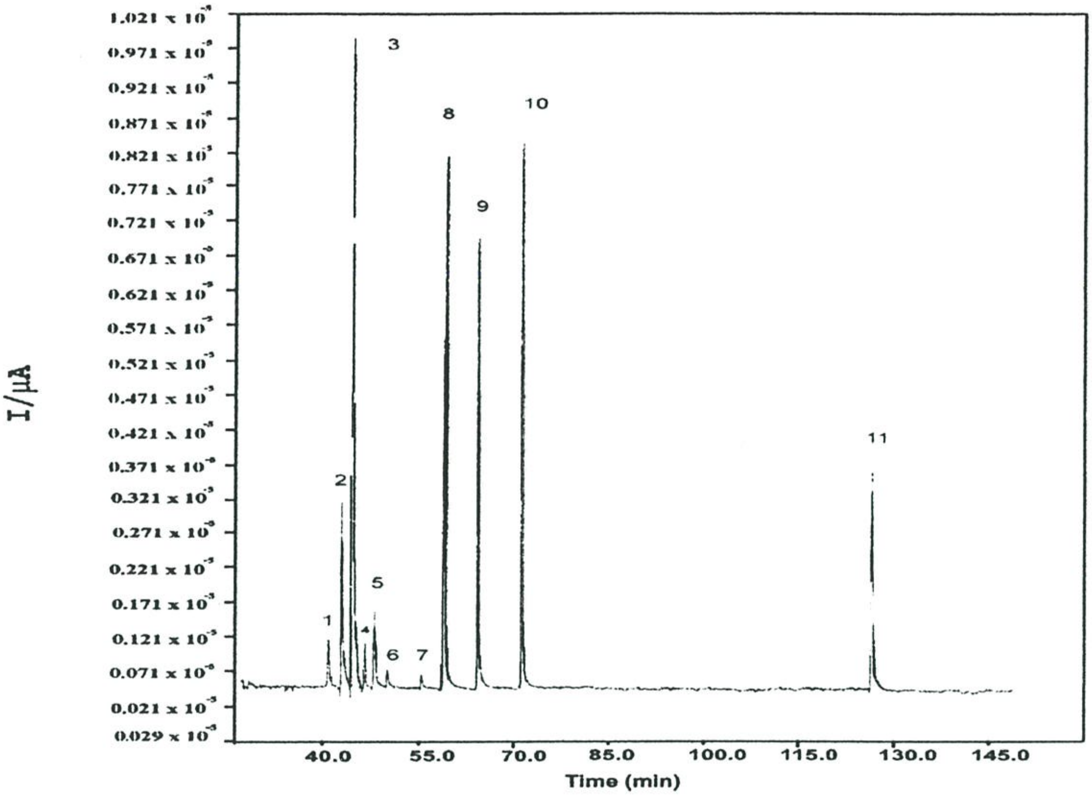
รูปที่ ก31 โครมาโทแกรมของฟีนอลและอนุพันธ์ ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ เมื่อเฟสเคลื่อนที่คือสารละลายเมทานอล:น้ำ (pH 3) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีมีขั้วไฟฟ้า PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	37.50	0.0114
2	4-ไนโทรฟีนอล	39.91	0.0151
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	40.32	0.0926
4	2-เมทิลฟีนอล	40.75	0.0930
5	2-คลอโรฟีนอล	41.18	0.1697
6	2-ไนโทรฟีนอล	42.21	0.0640
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	49.83	0.0602
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	53.68	0.0841
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	60.08	0.0742
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	68.90	0.0780
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	120.01	0.0461



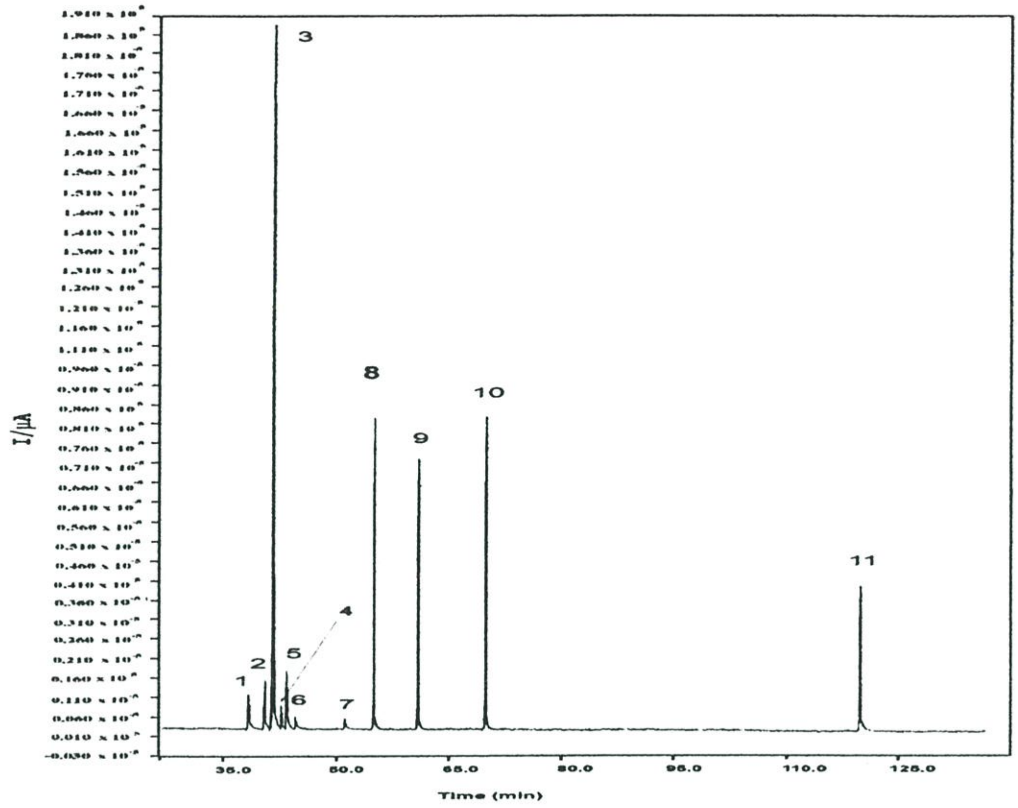
รูปที่ ก32 โครมาโทแกรมการทำ spike ฟีนอล โดยมีสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	41.68	0.0235
2	4-ไนโทรฟีนอล	44.09	0.0153
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	44.50	0.0915
4	2-เมทิลฟีนอล	44.93	0.0937
5	2-คลอโรฟีนอล	45.36	0.1681
6	2-ไนโทรฟีนอล	46.39	0.0649
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	54.01	0.0596
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	57.86	0.0842
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	64.26	0.0749
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	73.13	0.0815
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	124.19	0.0471



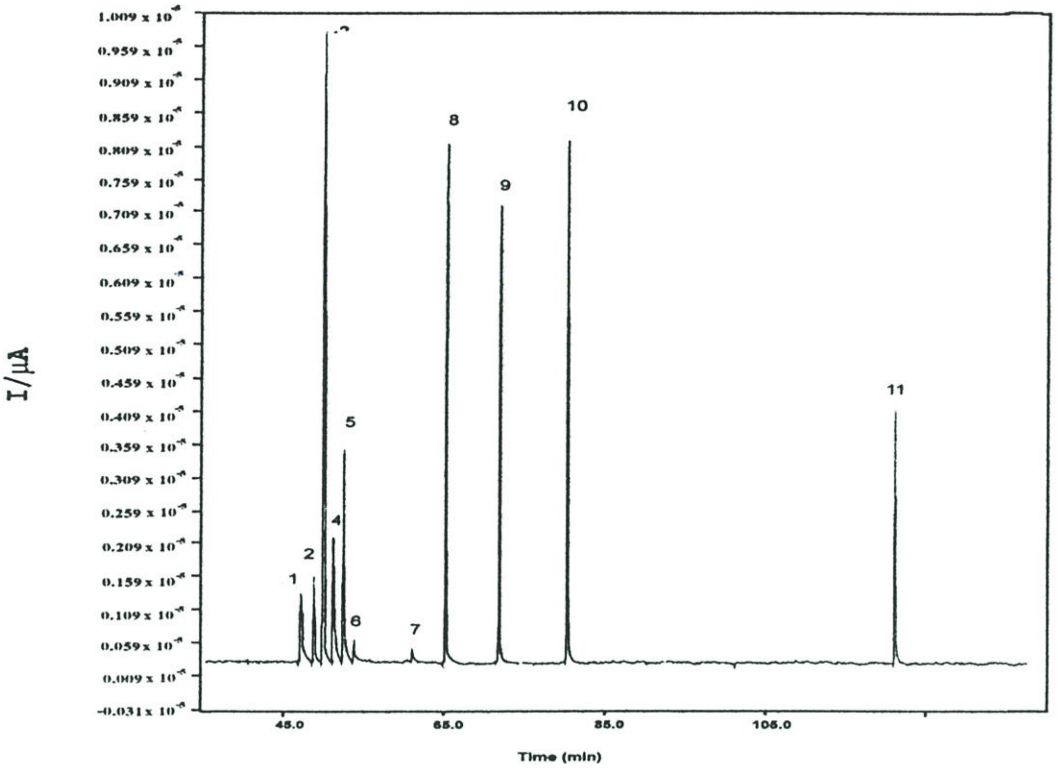
รูปที่ ก33 โครมาโทแกรมการทำ spike 4-ไนโทรฟีนอล โดยมีสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (µA)
1	ฟีนอล	41.65	0.01183
2	4-ไนโทรฟีนอล	44.06	0.0317
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	44.45	0.0918
4	2-เมทิลฟีนอล	44.90	0.0936
5	2-คลอโรฟีนอล	45.33	0.0911
6	2-ไนโทรฟีนอล	46.39	0.0613
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	54.02	0.0618
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	57.83	0.0850
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	64.23	0.0744
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	73.10	0.0768
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	124.16	0.0471



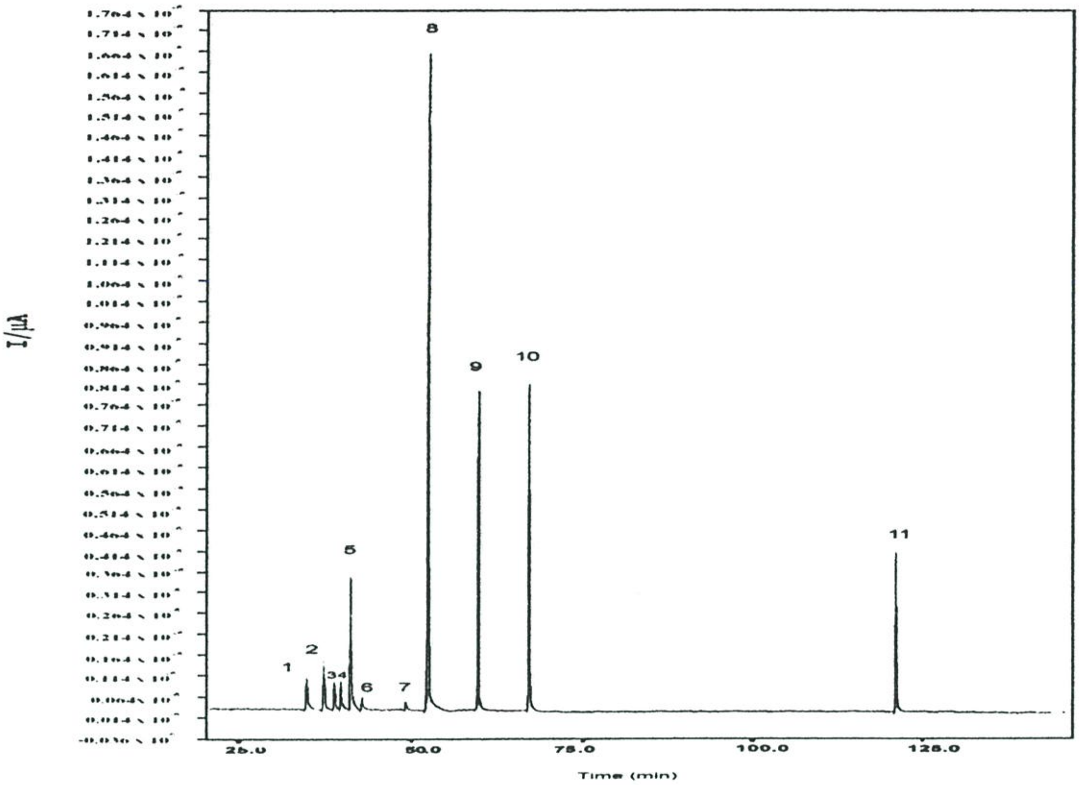
รูปที่ ก34 โครมาโทแกรมการทำ spike 2,4-ไดไนโทรฟีนอล โดยมีสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	38.34	0.0113
2	4-ไนโทรฟีนอล	40.75	0.0154
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	41.16	0.1894
4	2-เมทิลฟีนอล	41.59	0.0903
5	2-คลอโรฟีนอล	42.02	0.1657
6	2-ไนโทรฟีนอล	43.05	0.0667
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	50.67	0.0620
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	54.52	0.0844
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	60.92	0.0740
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	69.79	0.0798
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	120.85	0.0457



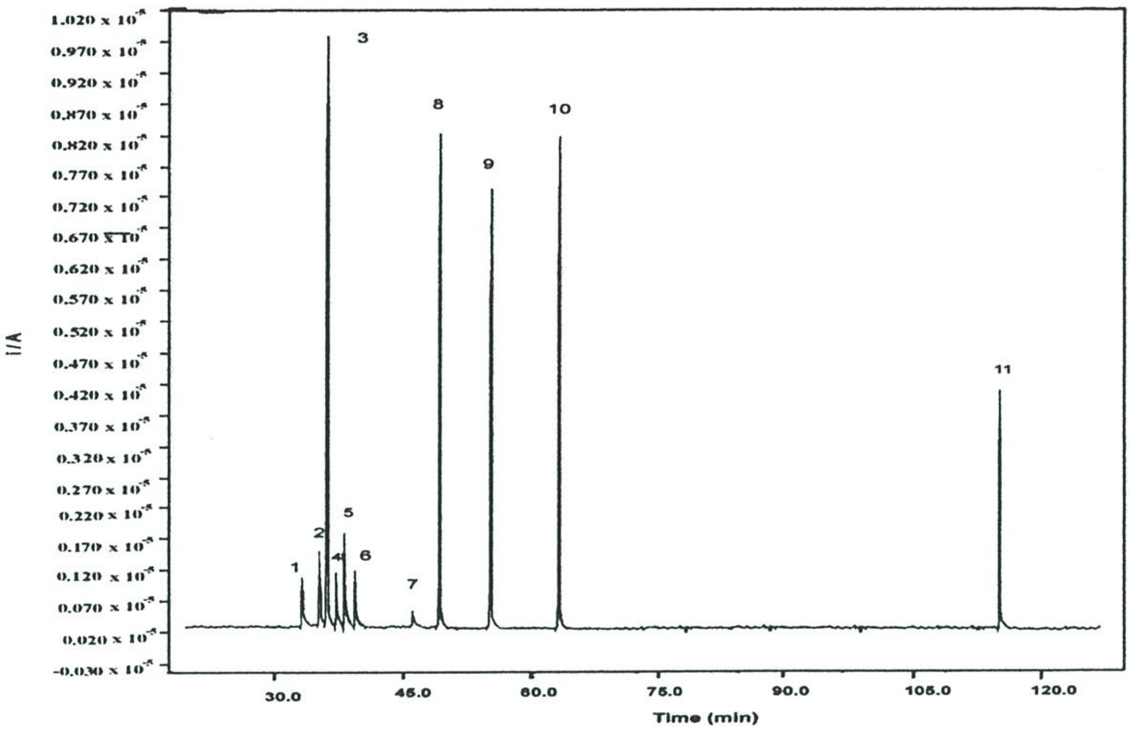
รูปที่ ก35 โครมาโทแกรมการทำ spike 2-เมทิลฟีนอล โดยมีสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (mA)
1	ฟีนอล	49.17	0.0111
2	4-ไนโทรฟีนอล	51.17	0.0149
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	54.17	0.0921
4	2-เมทิลฟีนอล	58.17	0.1940
5	2-คลอโรฟีนอล	63.17	0.0929
6	2-ไนโทรฟีนอล	69.17	0.0661
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	76.17	0.0590
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	84.17	0.0833
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	93.17	0.0731
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	103.17	0.0786
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	114.17	0.0476



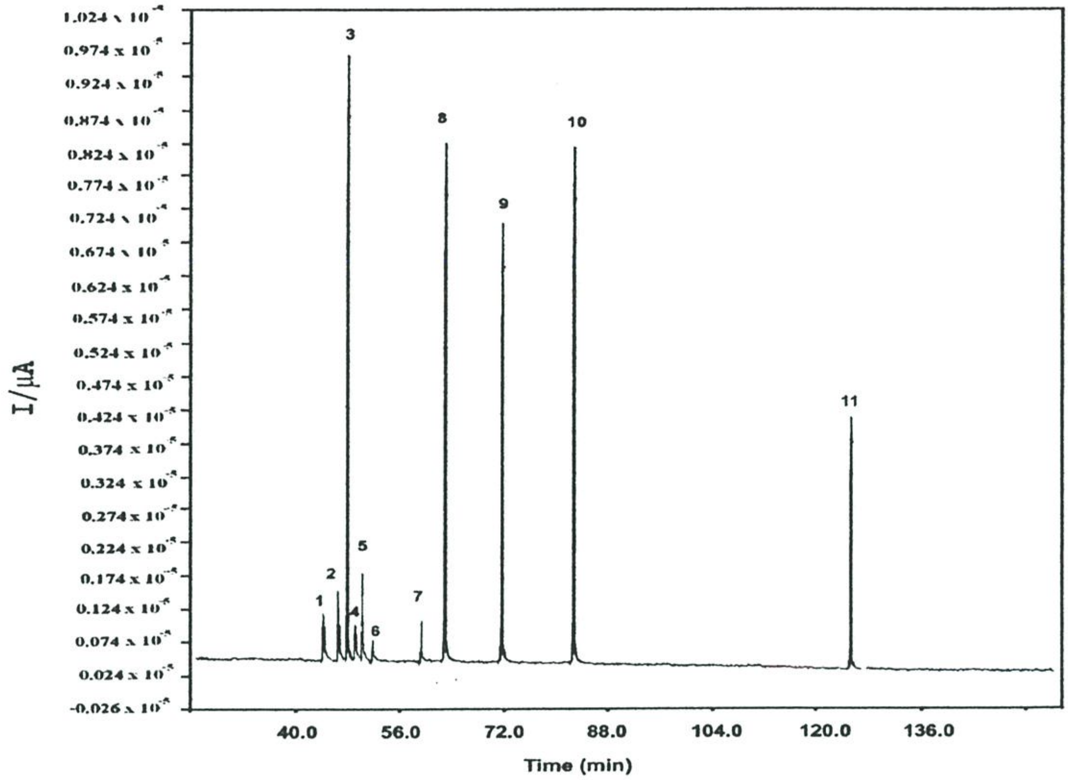
รูปที่ ก36 โครมาโทแกรมการทำ spike 2-คลอโรฟีนอลโดยมีสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (µA)
1	ฟีนอล	36.50	0.0119
2	4-ไนโทรฟีนอล	38.91	0.0164
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	39.32	0.0928
4	2-เมทิลฟีนอล	39.75	0.0929
5	2-คลอโรฟีนอล	40.18	0.3571
6	2-ไนโทรฟีนอล	41.21	0.069
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	48.83	0.0599
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	52.68	0.0838
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	59.08	0.0749
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	67.95	0.0784
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	119.01	0.0460



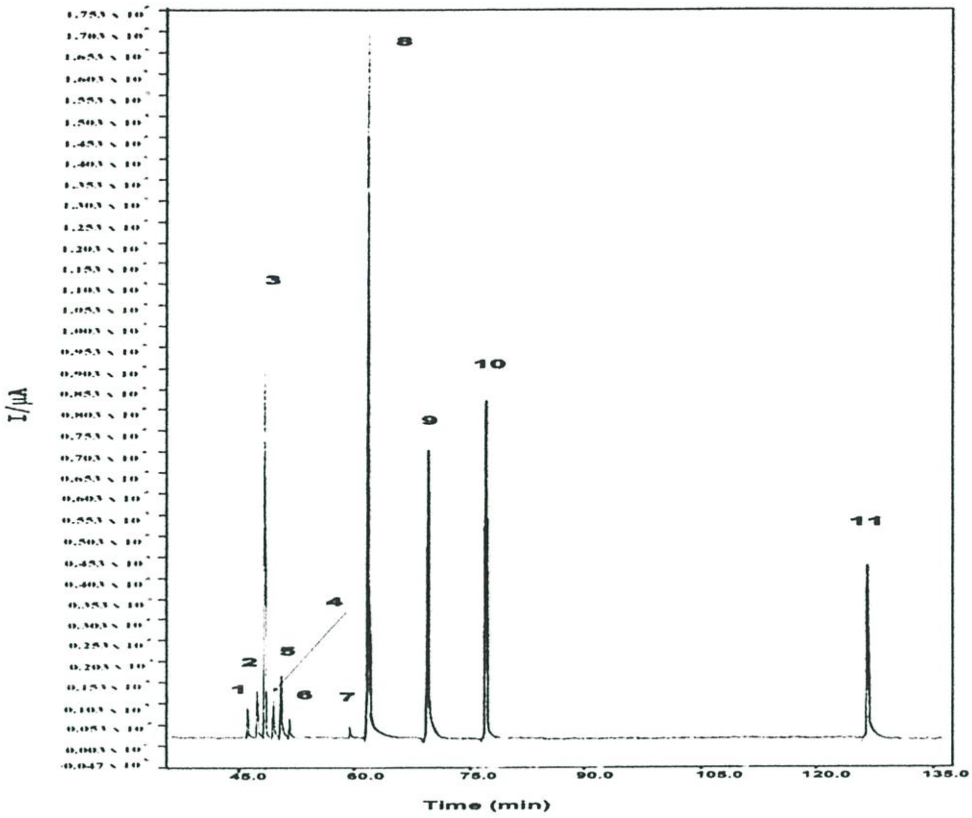
รูปที่ ก37 โครมาโทแกรมการทำ spike 2-ไนโทรฟีนอลโดยมีสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	33.34	0.0109
2	4-ไนโทรฟีนอล	35.34	0.0159
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	38.34	0.0933
4	2-เมทิลฟีนอล	42.34	0.0929
5	2-คลอโรฟีนอล	47.34	0.0908
6	2-ไนโทรฟีนอล	53.34	0.138
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	60.34	0.0612
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	68.34	0.0854
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	77.34	0.0735
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	87.34	0.0800
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	98.34	0.0470



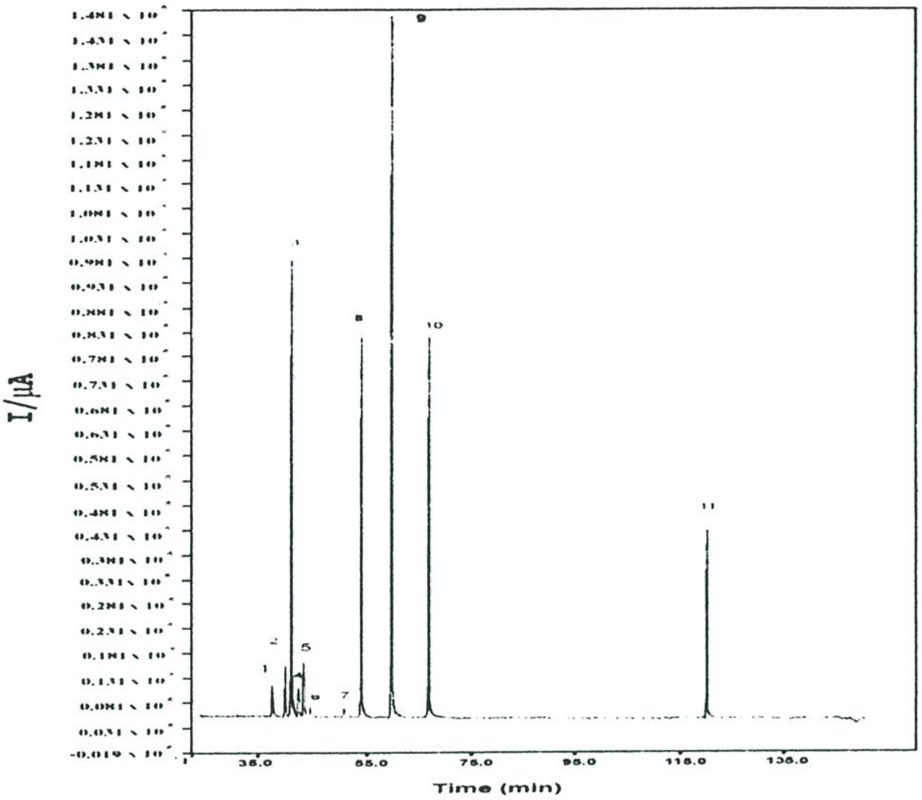
รูปที่ ก38 โครมาโทแกรมการทำ spike 2,4-ไดเมทิลฟีนอล โดยมีสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	43.35	0.0110
2	4-ไนโทรฟีนอล	45.76	0.0149
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	46.17	0.0913
4	2-เมทิลฟีนอล	46.60	0.0937
5	2-คลอโรฟีนอล	47.03	0.1660
6	2-ไนโทรฟีนอล	48.06	0.0655
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	55.68	0.1196
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	59.53	0.0758
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	65.93	0.0740
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	74.80	0.0798
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	125.86	0.0450



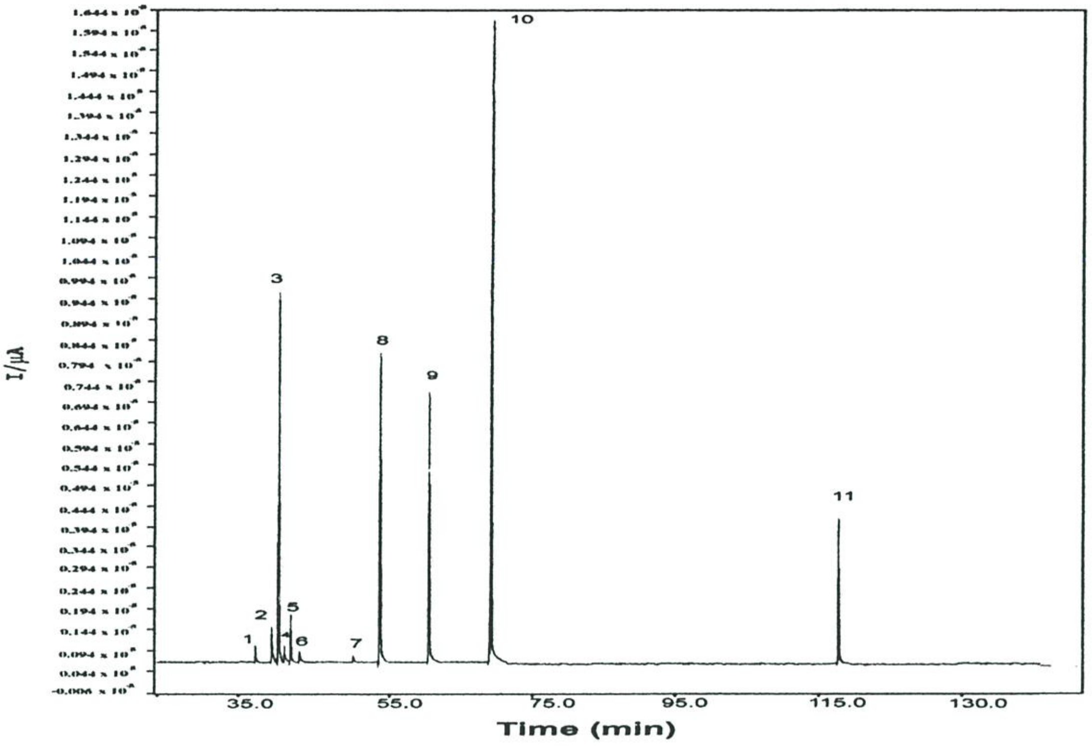
รูปที่ ก39 โครมาโทแกรมการทำ spike 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล โดยมีสารละลายเมทานอล: น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	47.18	0.0118
2	4-ไนโทรฟีนอล	49.59	0.0164
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	50.00	0.0929
4	2-เมทิลฟีนอล	50.43	0.0941
5	2-คลอโรฟีนอล	50.86	0.093
6	2-ไนโทรฟีนอล	51.89	0.1637
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	59.51	0.067
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	63.36	0.1714
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	69.76	0.0729
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	78.63	0.0801
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	129.69	0.0463



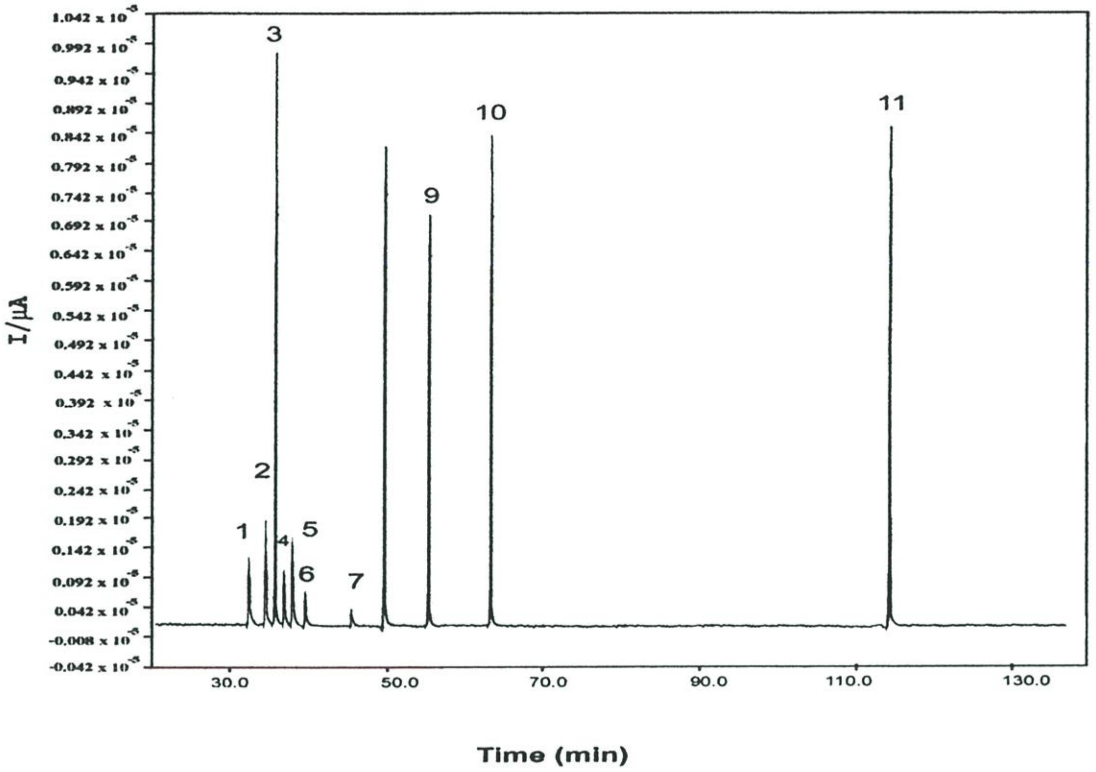
รูปที่ ก40 โครมาโทแกรมการทำ spike 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล โดยมีสารละลายเมทานอล: น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	38.01	0.0105
2	4-ไนโทรฟีนอล	38.03	0.0143
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	38.12	0.0908
4	2-เมทิลฟีนอล	38.21	0.0948
5	2-คลอโรฟีนอล	38.38	0.1693
6	2-ไนโทรฟีนอล	38.44	0.0635
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	38.51	0.0614
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	38.59	0.084
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	38.66	0.1473
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	38.82	0.0811
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	38.87	0.0455



รูปที่ ก41 โครมาโทแกรมการทำ spike 2,4-ไดคลอโรฟีนอลโดยมีสารละลายเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	37.34	0.0122
2	4-ไนโทรฟีนอล	39.75	0.0159
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	40.16	0.0915
4	2-เมทิลฟีนอล	40.59	0.0930
5	2-คลอโรฟีนอล	41.02	0.1697
6	2-ไนโทรฟีนอล	42.05	0.0640
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	49.67	0.0602
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	53.52	0.0841
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	59.92	0.0742
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	68.79	0.1610
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	119.85	0.0480



รูปที่ ก42 โครมาโทแกรมการทำ spike 2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอลโดยมีสารละลายเมทานอล: น้ำ อัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร (pH 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ PMeT เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ให้ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ เทียบกับ SCE

ลำดับที่	ชนิดของฟีนอล	retention time (min)	กระแส (μA)
1	ฟีนอล	33.35	0.0120
2	4-ไนโทรฟีนอล	35.76	0.0150
3	2,4-ไดไนโทรฟีนอล	36.17	0.0937
4	2-เมทิลฟีนอล	36.60	0.0903
5	2-คลอโรฟีนอล	37.03	0.1667
6	2-ไนโทรฟีนอล	38.06	0.0670
7	2,4-ไดเมทิลฟีนอล	45.68	0.0592
8	2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	49.53	0.0828
9	4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	55.93	0.0719
10	2,4-ไดคลอโรฟีนอล	64.80	0.0803
11	2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	115.86	0.0840

ภาคผนวก ข.

การคำนวณขีดจำกัดการตรวจหา

การทดสอบและการคำนวณเพื่อหาขีดจำกัดการตรวจหา ทำการทดสอบและคำนวณตามวิธีของ International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

สูตรการคำนวณและวิธีทดสอบ

1. เตรียมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นที่แน่นอนต่าง ๆ กัน แล้วนำไปทำการทดลอง นำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับกระแสที่วัดได้ จะได้กราฟเส้นตรง สามารถหาความชันของกราฟได้จากสมการ

$$Y = aX + b$$

เมื่อ a คือ ความชันของกราฟ

b คือ จุดตัดแกน Y

2. เมื่อหาความชันของกราฟได้แล้ว นำสารละลายที่ปราศจากสารประกอบฟีนอล (blank solution) นำไปทำการทดลองเช่นเดียวกัน (เป็นจำนวนอย่างน้อย 20 ครั้ง) แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ย blank $(\overline{Y_B}) = \dfrac{\sum_{j=1}^{n_B} Y_{B_j}}{n_B}$

Standard Deviation of blank $(S_B) = \sqrt{\dfrac{\sum_{j=1}^{n_B} (Y_{B_j} - \overline{Y_B})^2}{(n_B - 1)}}$

3. นำค่าที่ได้ทั้งหมดมาคำนวณหาค่าสัญญาณต่ำสุดที่สามารถวัดได้ และค่าขีดจำกัดการตรวจหา

สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้ $(Y_L) = \overline{Y_B} + 3(S_B)$

(เมื่อ 3 คือค่า k = confidence Level of 99.86 % เมื่อ $Y_L \geq \overline{Y_B} + 3(S_B)$)

$$\text{Detection Limit } (C_L) = \frac{(Y_L - \overline{Y_B})}{a}$$

หรือ

$$C_L = \frac{3(S_B)}{a}$$

เมื่อ

Y_L คือ สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้

$\overline{Y_B}$ คือ ค่าเฉลี่ยของสัญญาณจาก Blank

S_B คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Blank

C_L คือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้

a คือ ความชันของกราฟ (สภาพไว)

การคำนวณขีดจำกัดการตรวจหาสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟฟี/เคมีไฟฟ้า เมื่อทำการวัดสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด วัดสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นในช่วง 10-1000 ไมโครโมลาร์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ ข.1

ตารางที่ ข.1 ผลการทดลองการทำกราฟมาตรฐาน ของสารประกอบฟีนอล 11ชนิด ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟฟี/เคมีไฟฟ้า

ฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส(ไมโครแอมแปร์)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.024	0.005	0.013	0.014 ± 0.010
	20	0.011	0.021	0.018	0.017 ± 0.005
	40	0.257	0.214	0.192	0.221 ± 0.033
	60	0.301	0.364	0.320	0.328 ± 0.032
	80	0.446	0.412	0.498	0.452 ± 0.043
	100	0.457	0.452	0.472	0.460 ± 0.010
	200	1.087	1.056	1.131	1.092 ± 0.038
	400	2.196	2.145	2.217	2.186 ± 0.037
	600	3.010	2.945	3.020	2.992 ± 0.041
	800	4.186	4.126	4.097	4.136 ± 0.045
	1000	4.388	4.232	4.284	4.301 ± 0.079

4-ไนโทรฟีนอล	ความเข้มข้น	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			
	(ไมโครโมลาร์)	ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.010	0.001	0.005	0.005 ± 0.005
	20	0.016	0.026	0.009	0.017 ± 0.009
	40	0.031	0.016	0.027	0.025 ± 0.008
	60	0.063	0.048	0.027	0.046 ± 0.018
	80	0.082	0.094	0.104	0.093 ± 0.011
	100	0.163	0.156	0.199	0.173 ± 0.023
	200	0.274	0.323	0.318	0.305 ± 0.027
	400	0.654	0.664	0.595	0.638 ± 0.037
	600	0.963	0.908	0.840	0.904 ± 0.062
	800	1.186	1.290	1.250	1.242 ± 0.052
	1000	1.291	1.306	1.219	1.272 ± 0.047

2,4-ไดไนโทรฟีนอล	ความเข้มข้น	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			
	(ไมโครโมลาร์)	ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.023	0.012	0.010	0.015 ± 0.007
	20	0.089	0.113	0.074	0.092 ± 0.020
	40	0.143	0.182	0.117	0.147 ± 0.033
	60	0.189	0.208	0.196	0.198 ± 0.010
	80	0.214	0.242	0.238	0.231 ± 0.015
	100	0.251	0.274	0.278	0.268 ± 0.015
	200	0.510	0.538	0.497	0.515 ± 0.021
	400	1.024	0.978	1.005	1.002 ± 0.023
	600	1.681	1.629	1.571	1.627 ± 0.055
	800	1.644	1.698	1.657	1.666 ± 0.028
	1000	1.818	1.944	1.830	1.864 ± 0.069

2-เมทิลฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.070	0.044	0.052	0.055 ± 0.013
	20	0.032	0.038	0.051	0.040 ± 0.010
	40	0.084	0.109	0.078	0.090 ± 0.016
	60	0.200	0.176	0.218	0.198 ± 0.021
	80	0.371	0.414	0.349	0.378 ± 0.033
	100	0.435	0.406	0.440	0.427 ± 0.018
	200	0.791	0.799	0.776	0.789 ± 0.012
	400	1.835	1.731	1.850	1.805 ± 0.065
	600	2.529	2.638	2.598	2.588 ± 0.055
	800	3.360	3.317	3.208	3.295 ± 0.078
	1000	3.364	3.411	3.453	3.409 ± 0.045
2-คลอโรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.118	0.129	0.108	0.118 ± 0.010
	20	0.133	0.164	0.167	0.155 ± 0.019
	40	0.310	0.318	0.277	0.302 ± 0.022
	60	0.440	0.409	0.436	0.428 ± 0.017
	80	0.602	0.620	0.591	0.604 ± 0.015
	100	0.762	0.788	0.756	0.769 ± 0.017
	200	1.458	1.421	1.336	1.405 ± 0.063
	400	2.545	2.700	2.632	2.626 ± 0.078
	600	3.625	3.531	3.125	3.427 ± 0.266
	800	4.710	4.605	4.688	4.668 ± 0.055
	1000	4.925	4.916	4.900	4.914 ± 0.013

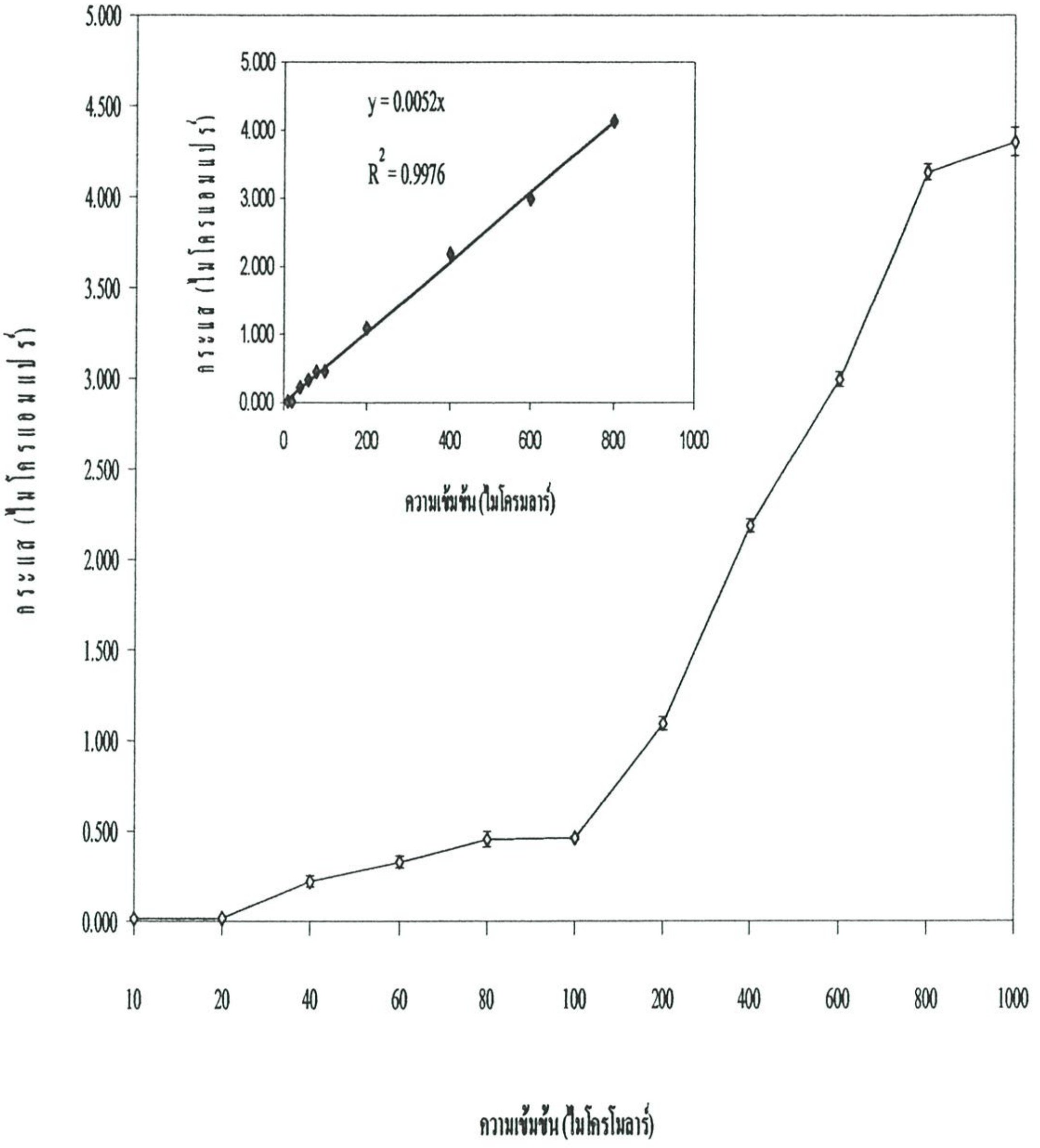
2-ไนโทรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์) ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.055	0.043	0.066	0.055 ± 0.012
	20	0.048	0.059	0.063	0.057 ± 0.008
	40	0.129	0.141	0.152	0.141 ± 0.012
	60	0.199	0.158	0.169	0.175 ± 0.021
	80	0.252	0.260	0.285	0.266 ± 0.017
	100	0.338	0.329	0.346	0.338 ± 0.009
	200	0.652	0.583	0.608	0.614 ± 0.035
	400	1.268	1.152	1.187	1.202 ± 0.059
	600	1.630	1.613	1.701	1.648 ± 0.047
	800	1.649	1.726	1.628	1.667 ± 0.051
	1000	1.584	1.639	1.568	1.597 ± 0.037

2,4-ไดเมทิลฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์) ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.049	0.048	0.052	0.050 ± 0.002
	20	0.054	0.061	0.033	0.049 ± 0.015
	40	0.076	0.097	0.110	0.094 ± 0.017
	60	0.171	0.154	0.178	0.168 ± 0.012
	80	0.286	0.240	0.248	0.258 ± 0.025
	100	0.336	0.354	0.313	0.334 ± 0.021
	200	0.658	0.670	0.693	0.674 ± 0.018
	400	1.298	1.260	1.294	1.284 ± 0.021
	600	1.894	1.797	1.919	1.870 ± 0.064
	800	1.868	1.924	1.901	1.898 ± 0.028
	1000	2.013	2.032	2.112	2.052 ± 0.053

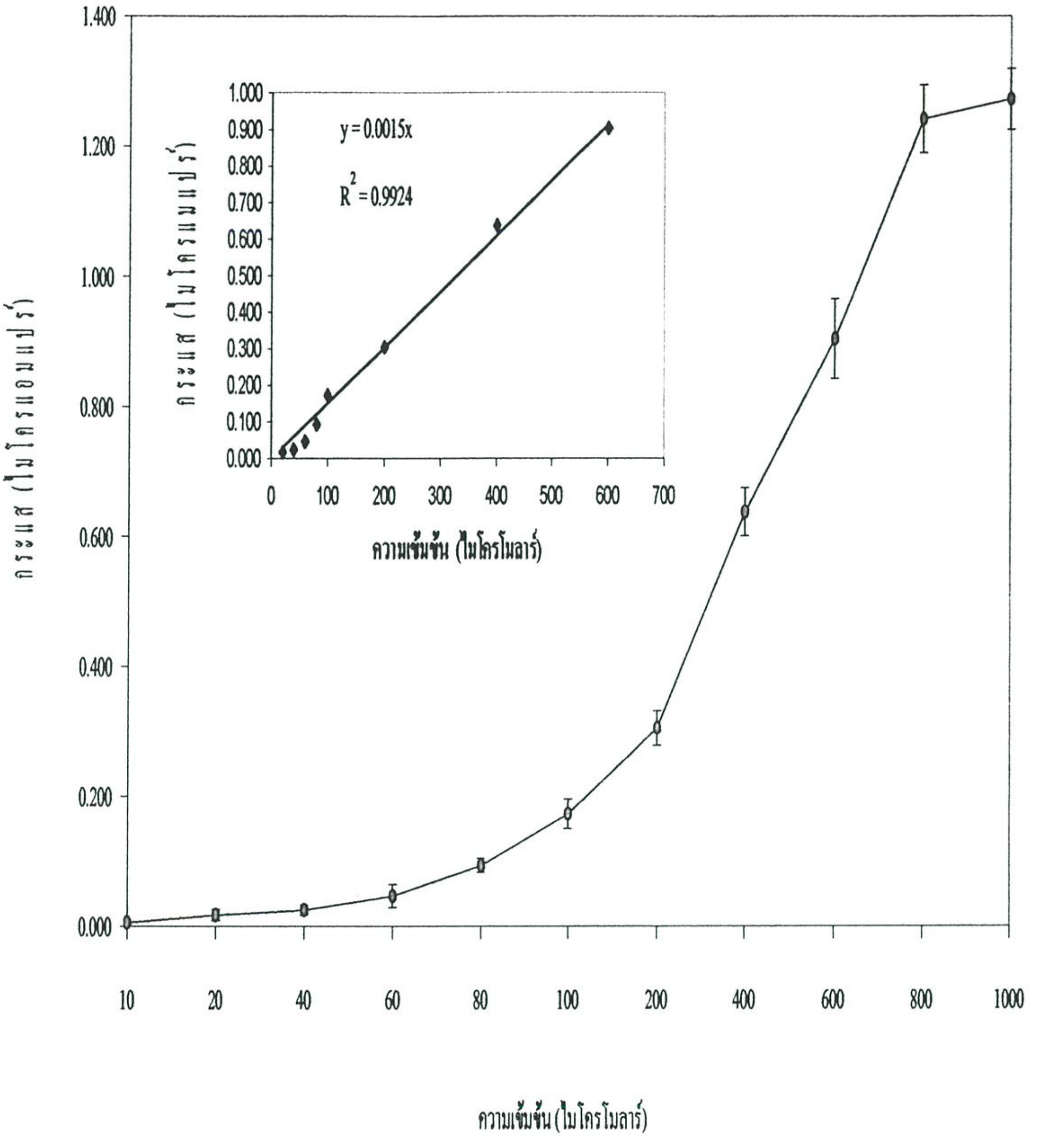
2-เมทิล-4,6-ไดไนโตรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.064	0.069	0.085	0.073 ± 0.011
	20	0.079	0.054	0.088	0.074 ± 0.018
	40	0.154	0.146	0.163	0.154 ± 0.009
	60	0.274	0.289	0.245	0.269 ± 0.022
	80	0.320	0.346	0.335	0.334 ± 0.013
	100	0.428	0.403	0.397	0.409 ± 0.016
	200	0.741	0.802	0.798	0.780 ± 0.034
	400	1.429	1.486	1.476	1.464 ± 0.030
	600	1.587	1.552	1.687	1.609 ± 0.070
	800	1.867	1.958	1.997	1.941 ± 0.067
	1000	1.961	1.880	1.912	1.918 ± 0.041
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.001	0.002	0.001	0.001 ± 0.001
	20	0.074	0.047	0.091	0.071 ± 0.022
	40	0.082	0.077	0.126	0.095 ± 0.027
	60	0.167	0.148	0.112	0.142 ± 0.028
	80	0.158	0.195	0.218	0.190 ± 0.030
	100	0.286	0.291	0.247	0.275 ± 0.024
	200	0.588	0.553	0.590	0.577 ± 0.021
	400	1.088	1.052	1.105	1.082 ± 0.027
	600	1.587	1.611	1.565	1.588 ± 0.023
	800	1.602	1.520	1.488	1.537 ± 0.059
	1000	1.645	1.659	1.703	1.669 ± 0.030

2,4-ไดคลอโรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.004	0.003	0.003	0.003 ± 0.001
	20	0.090	0.076	0.097	0.088 ± 0.011
	40	0.109	0.137	0.130	0.125 ± 0.015
	60	0.241	0.213	0.233	0.229 ± 0.014
	80	0.231	0.254	0.269	0.251 ± 0.019
	100	0.318	0.301	0.340	0.320 ± 0.020
	200	0.679	0.682	0.643	0.668 ± 0.022
	400	1.286	1.390	1.521	1.399 ± 0.118
	600	1.586	1.626	1.658	1.623 ± 0.036
	800	1.766	1.703	1.694	1.721 ± 0.039
	1000	2.301	2.285	2.391	2.326 ± 0.057
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	กระแส (ไมโครแอมแปร์)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	0.004	0.001	0.008	0.004 ± 0.004
	20	0.061	0.050	0.033	0.048 ± 0.014
	40	0.157	0.113	0.141	0.137 ± 0.022
	60	0.130	0.162	0.155	0.149 ± 0.017
	80	0.204	0.252	0.247	0.234 ± 0.026
	100	0.274	0.313	0.309	0.299 ± 0.021
	200	0.558	0.522	0.564	0.548 ± 0.023
	400	1.026	1.015	1.047	1.029 ± 0.016
	600	1.192	1.280	1.239	1.237 ± 0.044
	800	1.262	1.343	1.273	1.293 ± 0.044
	1000	1.250	1.159	1.144	1.184 ± 0.057

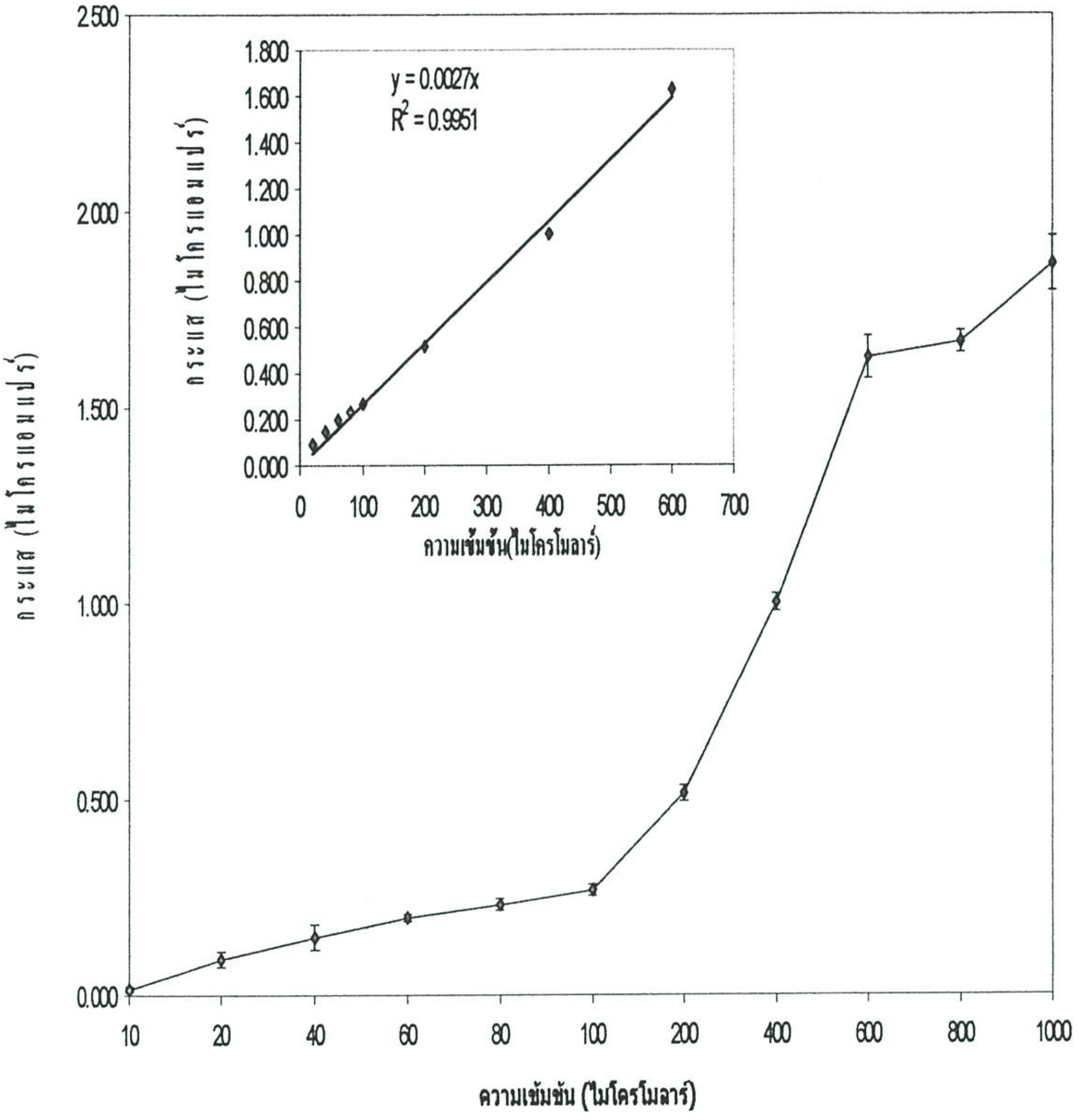
1. นำผลการทดลองมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับกระแสที่วัดได้จะทราบถึงความชันและจุดตัดแกน



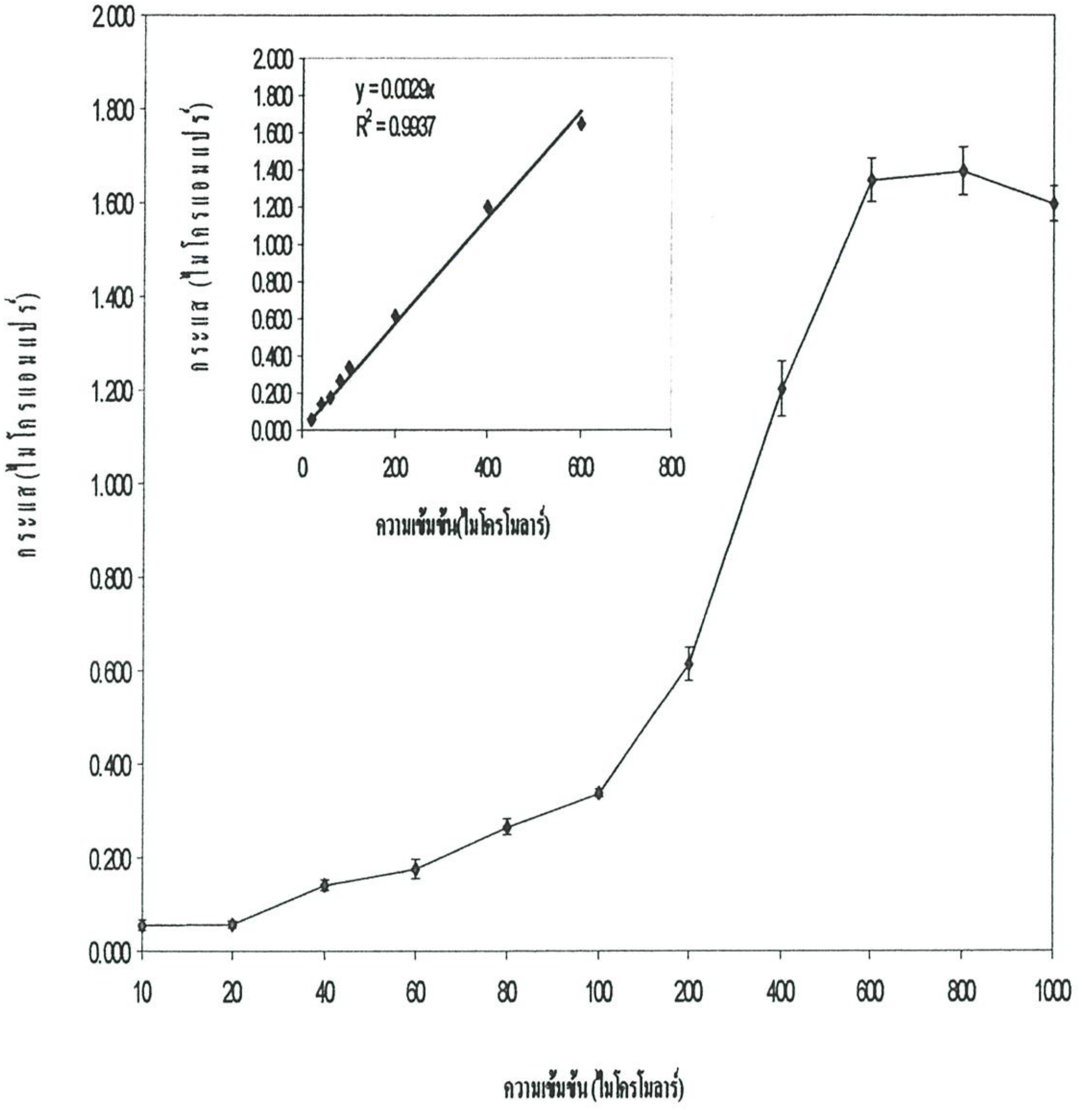
รูปที่ ข1 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



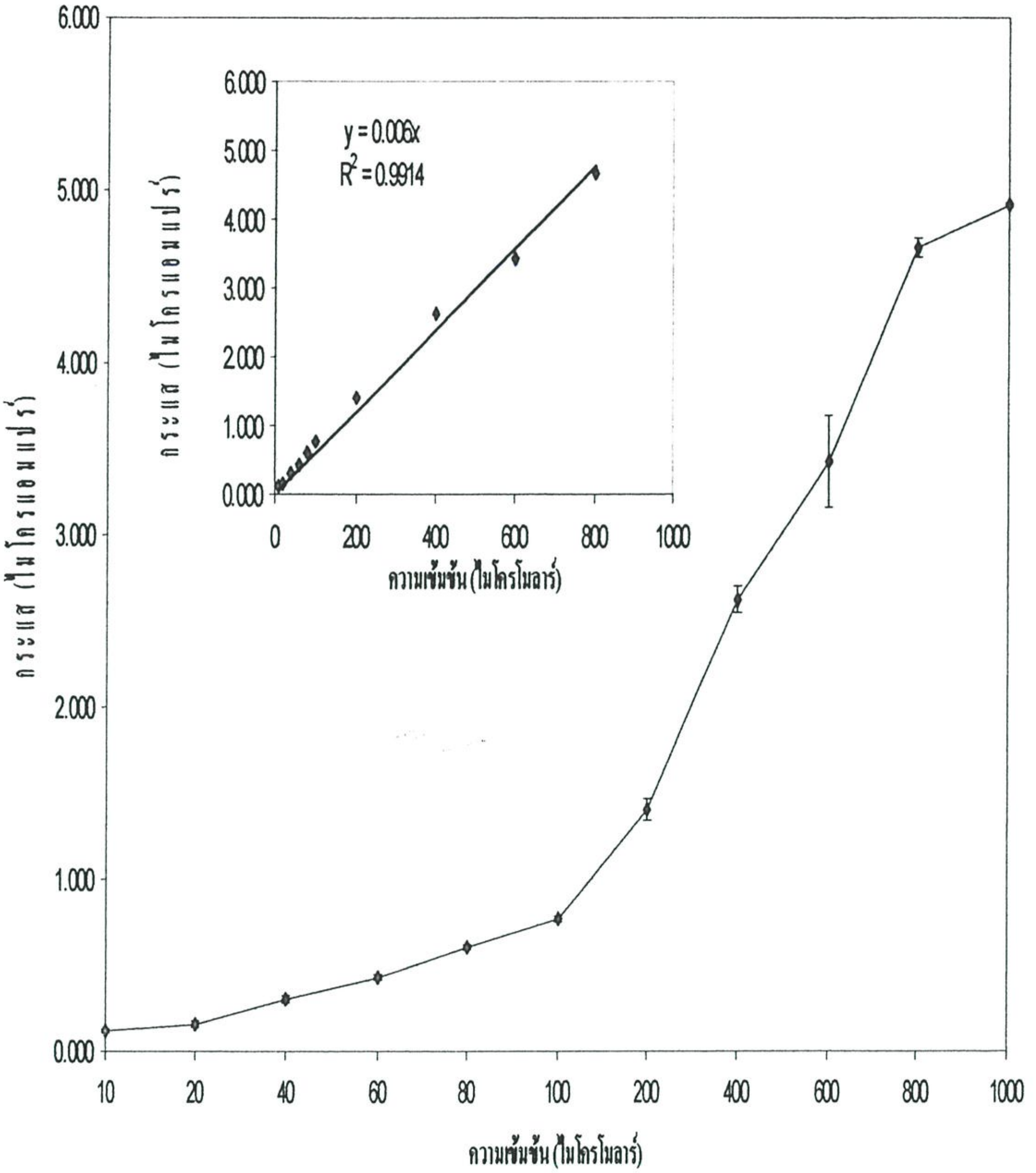
รูปที่ ข2 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 4-ไนโทรฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



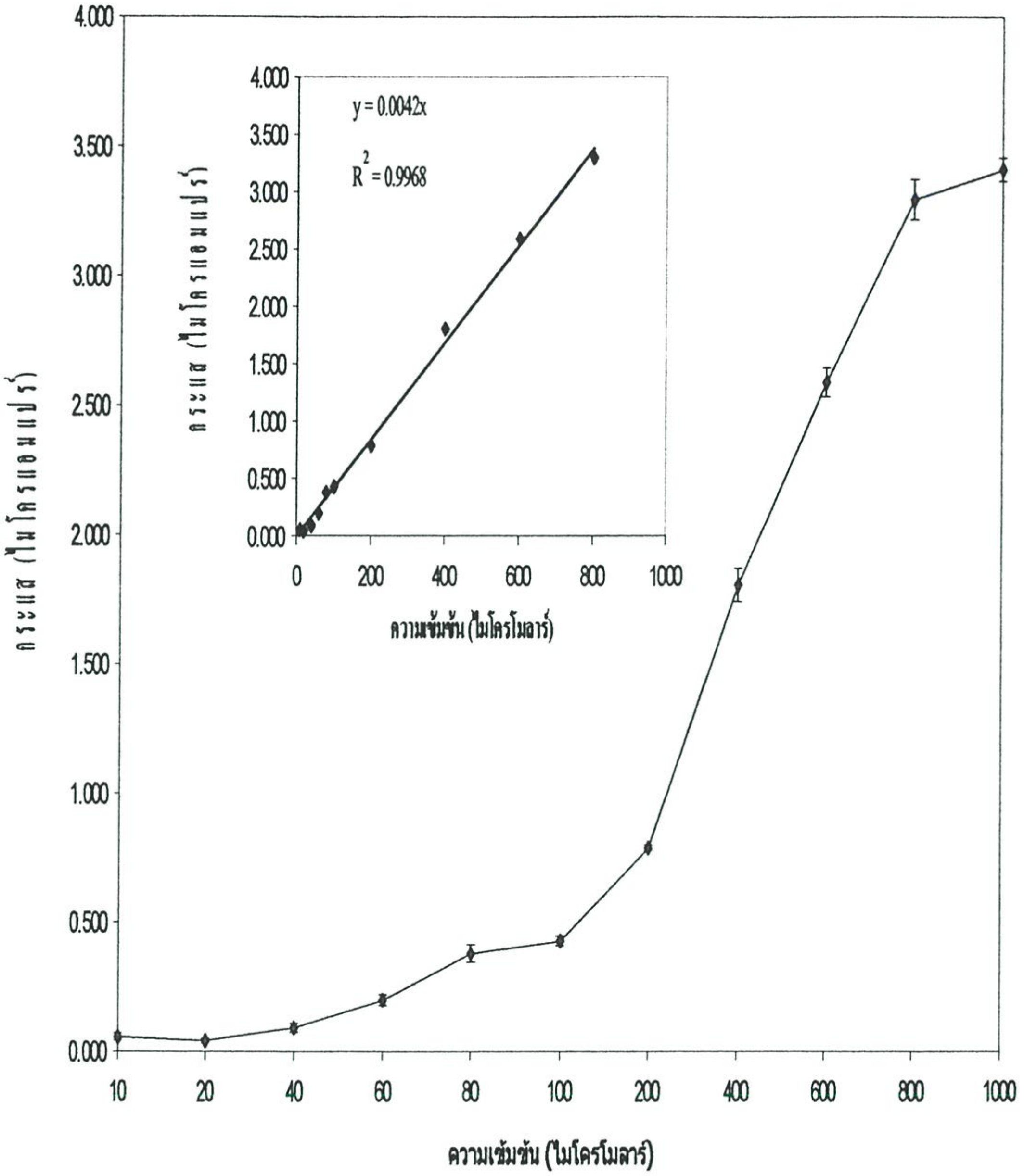
รูปที่ ข3 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



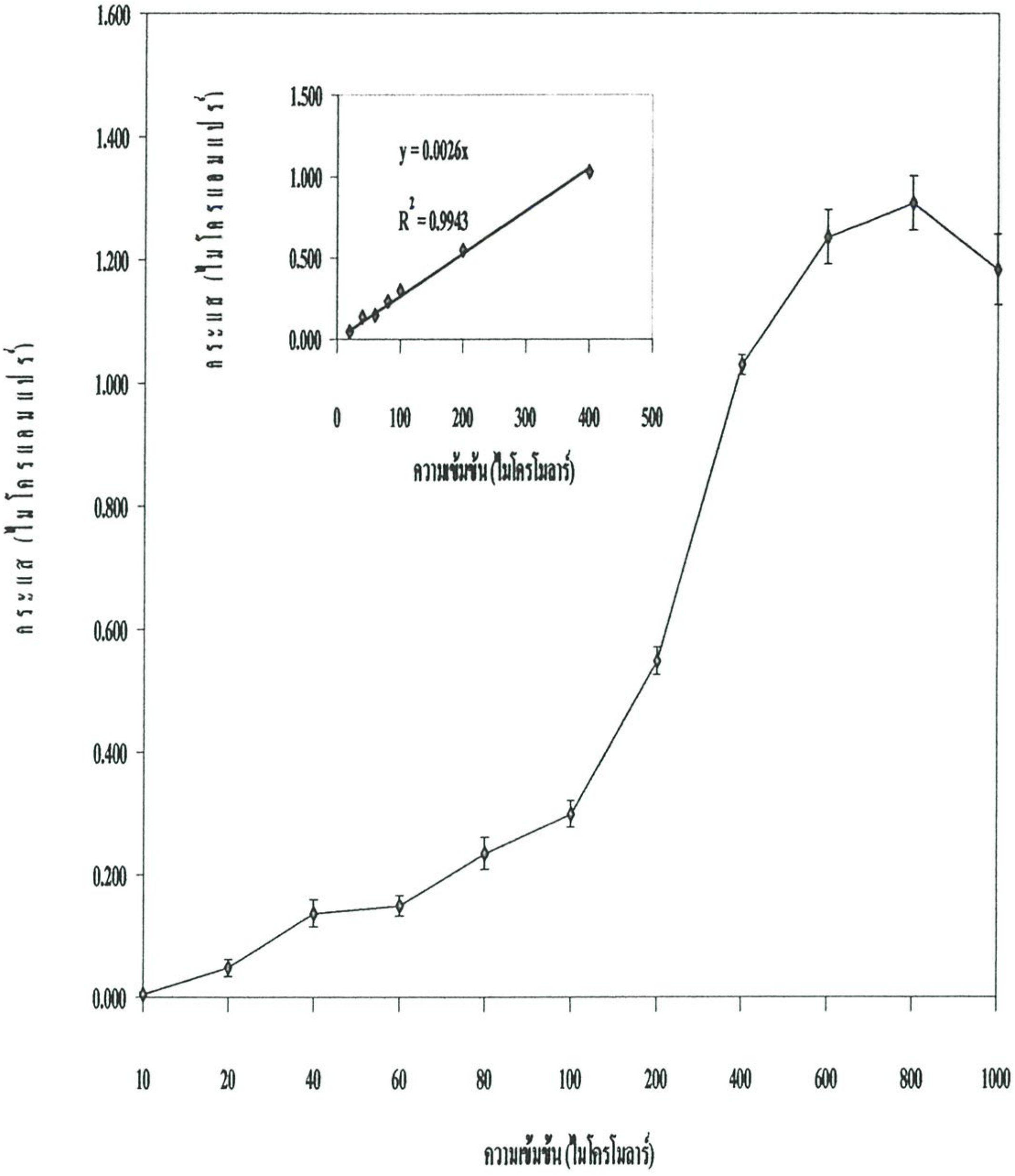
รูปที่ ข4 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 2-เมทิลฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



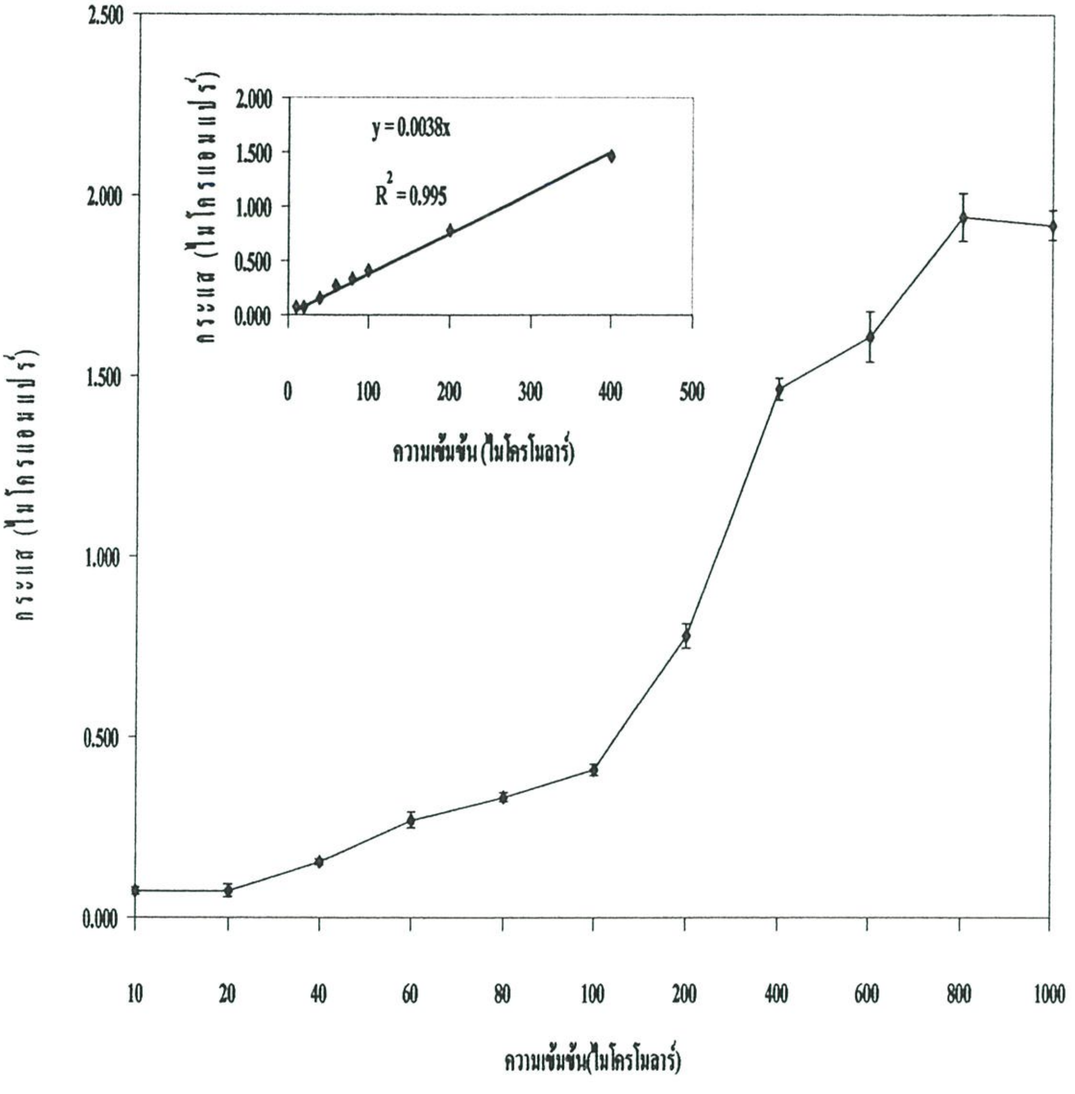
รูปที่ ข5 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 2-คลอโรฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



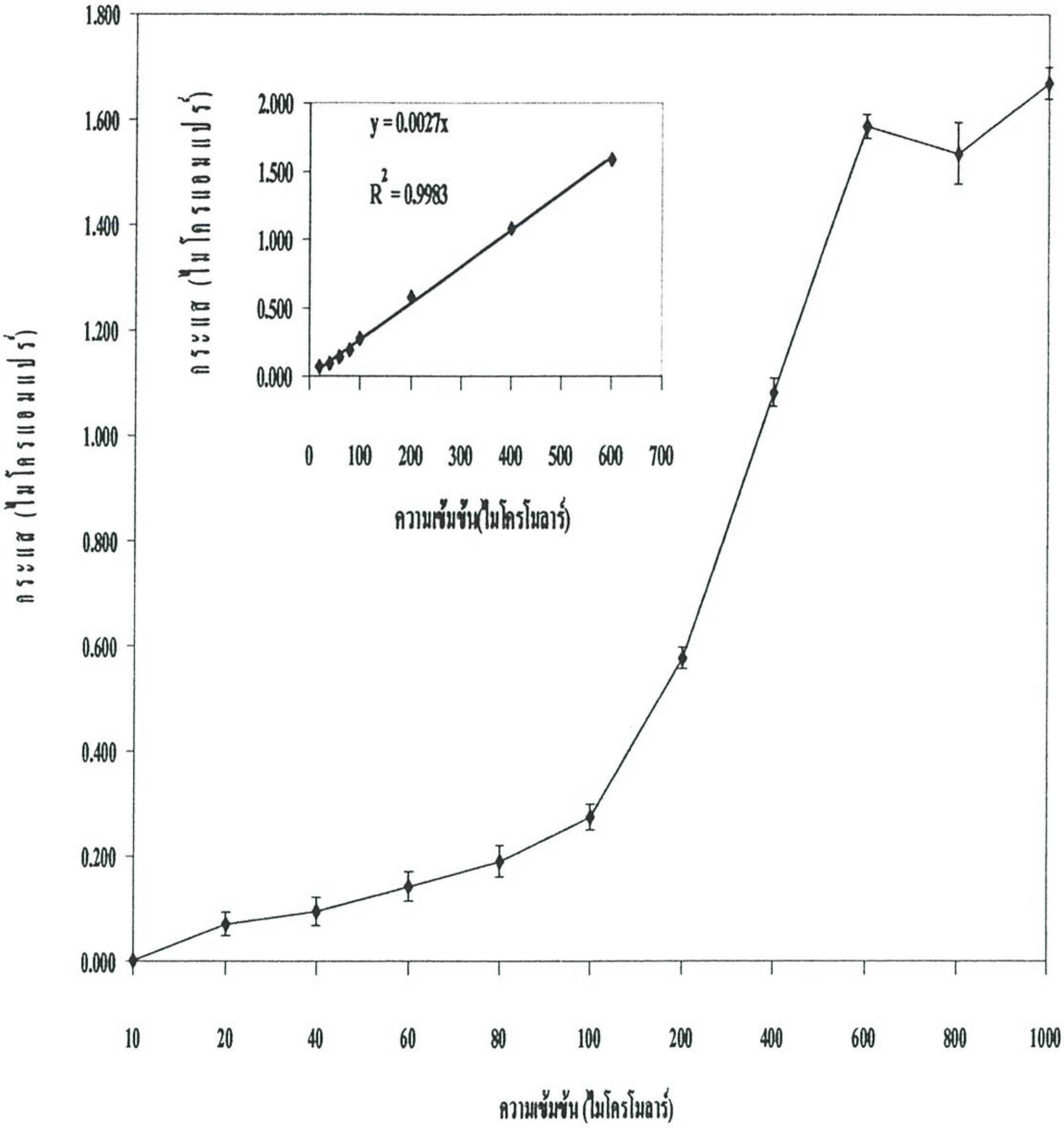
รูปที่ ข6 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 2-ไนโทรฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



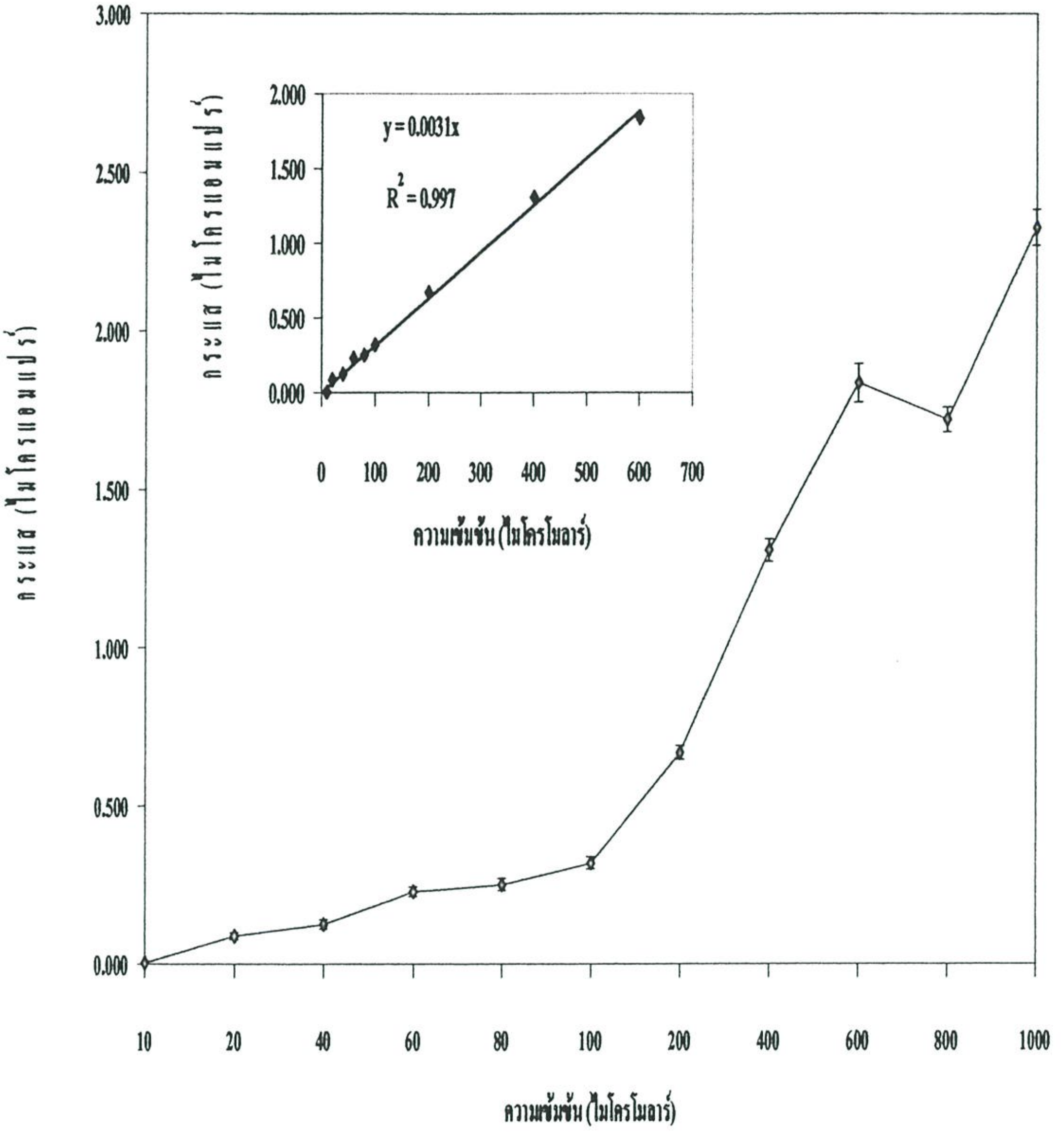
รูปที่ ข7 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



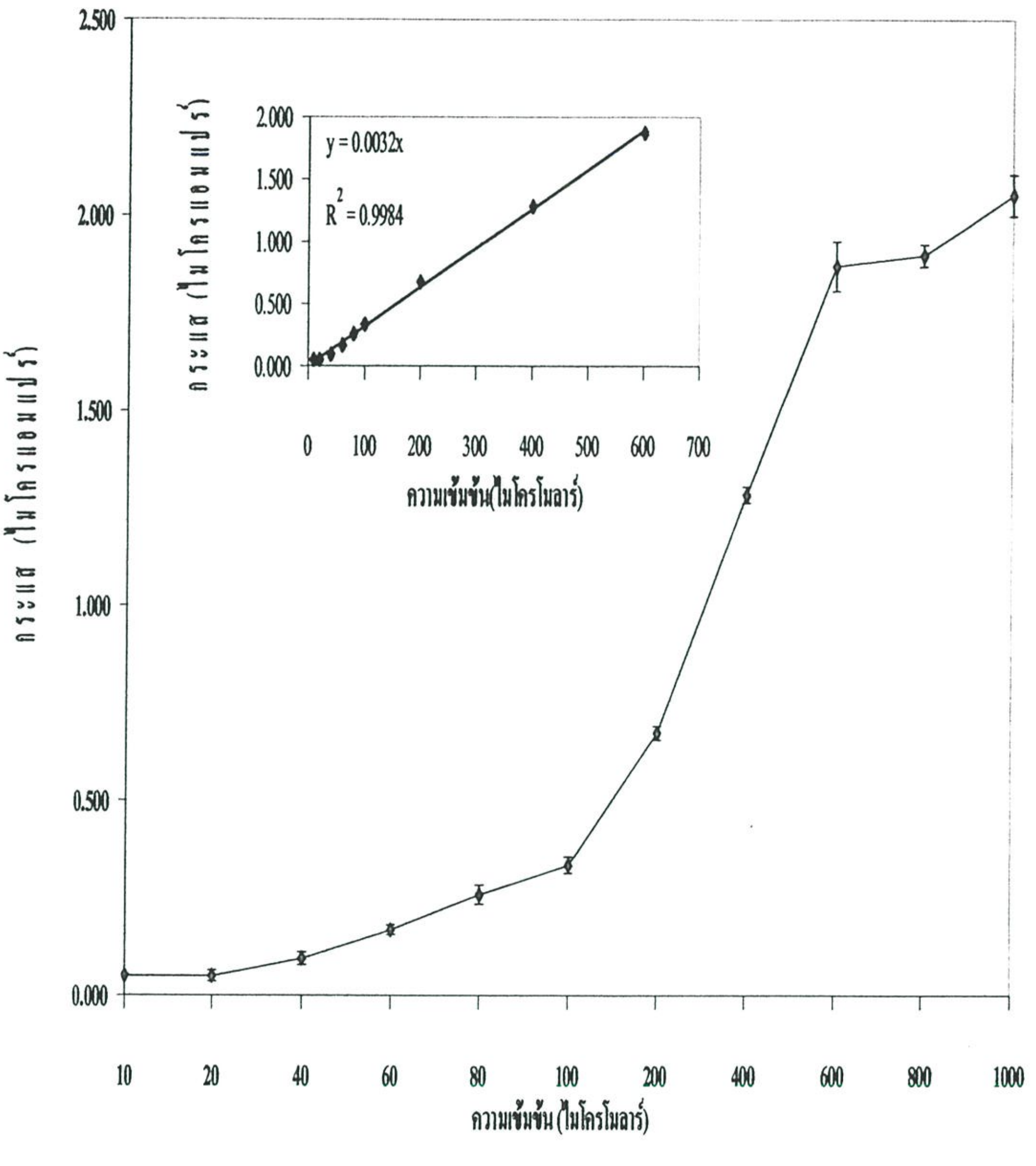
รูปที่ ข8 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



รูปที่ ข9 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



รูปที่ ข10 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)



รูปที่ ข11 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสออกซิเดชันกับความเข้มข้นของ 2,4,6- ไทรคลอโรฟีนอล วัดที่ศักย์ไฟฟ้า +0.9 โวลต์ (เทียบกับ SCE)

สามารถสรุปข้อมูลจากกราฟได้ดังนี้

ชนิดของฟีนอล	พิสัยเชิงเส้น (ไมโครโมลาร์)	ความชัน (ไมโครแอมแปร์/ไมโครโมลาร์)	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
ฟีนอล	10-800	0.0052	0.9976
4-ไนโทรฟีนอล	20-800	0.0015	0.9924
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	20-600	0.0027	0.9951
2-เมทิลฟีนอล	20-400	0.0029	0.9937
2-คลอโรฟีนอล	10-800	0.0060	0.9940
2-ไนโทรฟีนอล	10-800	0.0042	0.9968
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	20-400	0.0026	0.9943
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	10-400	0.0038	0.9950
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	20-600	0.0027	0.9983
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	10-600	0.0031	0.9970
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	10-600	0.0032	0.9984

2. หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ background current

ครั้งที่	กระแส (ไมโครแอมแปร์)	ครั้งที่	กระแส (ไมโครแอมแปร์)
1	0.0117	11	0.0164
2	0.0211	12	0.0034
3	0.0192	13	0.0228
4	0.0158	14	0.0122
5	0.0203	15	0.0137
6	0.0101	16	0.0200
7	0.0148	17	0.0190
8	0.0105	18	0.0312
9	0.0107	19	0.0207
10	0.0216	20	0.0134
SUM	**0.3286**		
EVG	**0.0164**		
STD	**0.0061**		

3. หาค่าสัญญาณต่ำสุดที่วัดได้ ขีดจำกัดการตรวจหา (Limit of Detection, LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ โดยที่มีความถูกต้องแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (Limit of quantitation, LOQ)

Limit of Detection $(Y_L) = \overline{Y_B} + 3(S_B)$

$= 0.0164 + 3\ (0.0061)$

$= 0.0347$ ไมโครแอมแปร์

ขีดจำกัดการตรวจหา $C_{LOD} = \dfrac{3(S_B)}{a}$

ดังนั้นปริมาณต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ที่สามารถตรวจพบได้มีค่าดังนี้

Limit of Quantitation $Y_{LOQ} = \overline{Y_B} + 10S_B$

$$C_{LOQ} = \frac{10(S_B)}{a}$$

ดังนั้นปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ โดยที่มีความถูกต้องแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้มีค่าดังนี้

ฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0052	=	11.73	ไมโครโมลาร์
4-ไนโทรฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0015	=	40.67	ไมโครโมลาร์
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0027	=	22.59	ไมโครโมลาร์
2-เมทิลฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0029	=	21.03	ไมโครโมลาร์
2-คลอโรฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.006	=	10.17	ไมโครโมลาร์
2-ไนโทรฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0042	=	14.52	ไมโครโมลาร์
2,4-ไดเมทิลโทรฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0026	=	23.46	ไมโครโมลาร์
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0038	=	16.05	ไมโครโมลาร์
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0027	=	22.59	ไมโครโมลาร์
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0031	=	19.68	ไมโครโมลาร์
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	= (10 × 0.0061) /	0.0032	=	19.06	ไมโครโมลาร์

การคำนวณขีดจำกัดการตรวจหาของเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีตรวจวัดด้วยยูวี ดีเทคเตอร์ เมื่อทำการวัดสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด วัดสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นในช่วง 10-1000 ไมโครโมลาร์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ ข.2

ตารางที่ ข.2 ผลการทดลองการทำกราฟมาตรฐาน ของสารประกอบฟีนอล 11ชนิด ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีตรวจวัดด้วยยูวี ดีเทคเตอร์

ฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU) ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย		
	10	853	684	955	831	±	137
	20	1607	1507	975	1363	±	340
	40	1403	1331	1114	1283	±	150
	60	2122	2069	2530	2240	±	252
	80	4073	2977	3499	3516	±	548
	100	5010	5971	5723	5568	±	499
	200	7477	8256	8738	8157	±	636
	400	13538	14356	14815	14236	±	647
	600	21709	21376	22015	21700	±	320
	800	27518	27760	29071	28116	±	836
	1000	31107	32815	31104	31675	±	987

4-ไนโทรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU) ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย		
	10	913	1146	875	978	±	147
	20	1187	1287	1055	1176	±	116
	40	1943	1331	1614	1629	±	306
	60	2728	1941	2253	2307	±	396
	80	2753	2107	2799	2553	±	387
	100	4813	5211	4033	4686	±	599
	200	7974	8566	6568	7703	±	1026

4-ไนโทรฟีนอล (ต่อ)	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	400	12389	13577	10995	12320 ± 1292
	600	19880	21976	21015	20957 ± 1049
	800	27998	27760	25011	26923 ± 1660
	1000	27485	32755	30184	30141 ± 2635

2,4-ไดไนโทร ฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	1078	815	712	868 ± 189
	20	1355	1521	1109	1328 ± 207
	40	1512	1407	2011	1643 ± 323
	60	1654	2387	2289	2110 ± 398
	80	2968	3259	3632	3286 ± 333
	100	3654	4787	4289	4243 ± 568
	200	7232	8264	7408	7635 ± 552
	400	13241	14288	14546	14025 ± 691
	600	19475	19684	21726	20295 ± 1244
	800	28546	27647	28692	28295 ± 566
	1000	29587	31453	26878	29306 ± 2300

2-เมทิลฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	1302	1122	958	1127 ± 172
	20	1872	1421	1451	1581 ± 252
	40	1961	2198	2090	2083 ± 119
	60	2761	2588	2930	2760 ± 171
	80	5302	5122	4958	5127 ± 172
	100	6542	6821	7451	6938 ± 466

2-เมทิลฟีนอล (ต่อ)	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	200	13684	11256	12675	12538 ± 1220
	400	21767	20182	21269	21073 ± 811
	600	28117	31864	30481	30154 ± 1895
	800	41422	44321	41451	42398 ± 1665
	1000	43065	41221	49581	44622 ± 4392

2-คลอโรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	1106	1217	1325	1216 ± 110
	20	1924	1588	1854	1789 ± 177
	40	3142	2354	2587	2694 ± 405
	60	4241	3789	3525	3852 ± 362
	80	4119	4023	3986	4043 ± 69
	100	4825	5709	5353	5296 ± 445
	200	9685	9957	9663	9768 ± 164
	400	16350	15241	17112	16234 ± 941
	600	26392	24738	23551	24894 ± 1427
	800	31283	33748	32776	32602 ± 1242
	1000	41577	43265	41992	42278 ± 880

2-ไนโทรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	913	846	1155	971 ± 163
	20	1685	1230	1355	1423 ± 235
	40	1443	1842	2615	1967 ± 596
	60	3227	3444	2756	3142 ± 352
	80	4253	3606	5294	4384 ± 852

2-ไนโทรฟีนอล (ต่อ)	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	100	5313	5515	4537	5122 ± 516
	200	8474	9066	7068	8203 ± 1026
	400	16389	18565	15994	16983 ± 1385
	600	23880	20976	22015	22290 ± i471
	800	29598	32760	30154	30837 ± 1688
	1000	44985	37755	40184	40975 ± 3679

2,4-ไดเมทิลฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	1061	1218	1590	1290 ± 272
	20	1764	1392	1539	1565 ± 187
	40	2235	1846	2437	2173 ± 300
	60	3487	2573	3284	3115 ± 480
	80	3716	3935	4334	3995 ± 313
	100	4137	4884	4662	4561 ± 384
	200	8410	8064	9031	8502 ± 490
	400	14795	13526	15352	14558 ± 936
	600	21554	21347	23118	22006 ± 968
	800	30218	31094	29101	30138 ± 999
	1000	48865	50746	49813	49808 ± 941

2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	778	915	1112	935 ± 168
	20	1355	1521	1109	1328 ± 207
	40	1812	1307	2011	1710 ± 363
	60	2228	1909	2143	2093 ± 165

2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล (ต่อ)	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	80	3553	2507	2299	2786 ± 672
	100	3054	3997	3138	3396 ± 522
	200	5354	5797	6253	5801 ± 450
	400	9587	9166	11068	9940 ± 999
	600	14968	15956	15295	15406 ± 503
	800	20709	21376	22015	21367 ± 653
	1000	23618	22160	22571	22783 ± 752

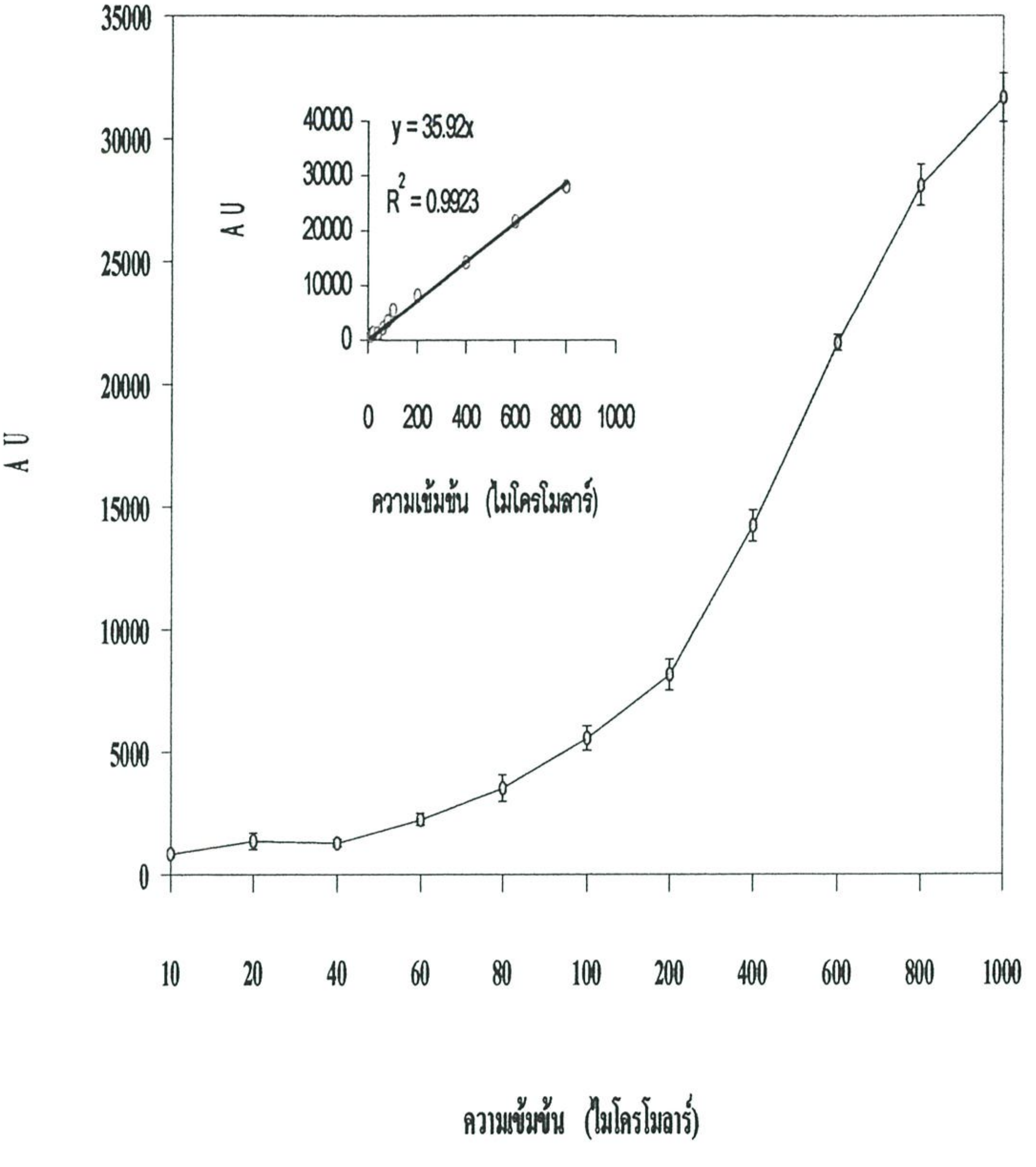
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	971	688	590	750 ± 198
	20	1038	1154	1328	1173 ± 146
	40	1686	1873	2121	1893 ± 218
	60	2041	1989	2725	2252 ± 411
	80	3022	2981	2551	2851 ± 261
	100	2627	3321	3998	3315 ± 686
	200	4987	5554	6694	5745 ± 869
	400	12323	11078	10477	11293 ± 942
	600	19854	18481	17729	18688 ± 1078
	800	31283	33748	32776	32602 ± 1242
	1000	60075	58886	57691	58884 ± 1192

2,4-ไดคลอโรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)			
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย
	10	1678	1365	1506	1516 ± 157
	20	1686	2873	1671	2077 ± 690

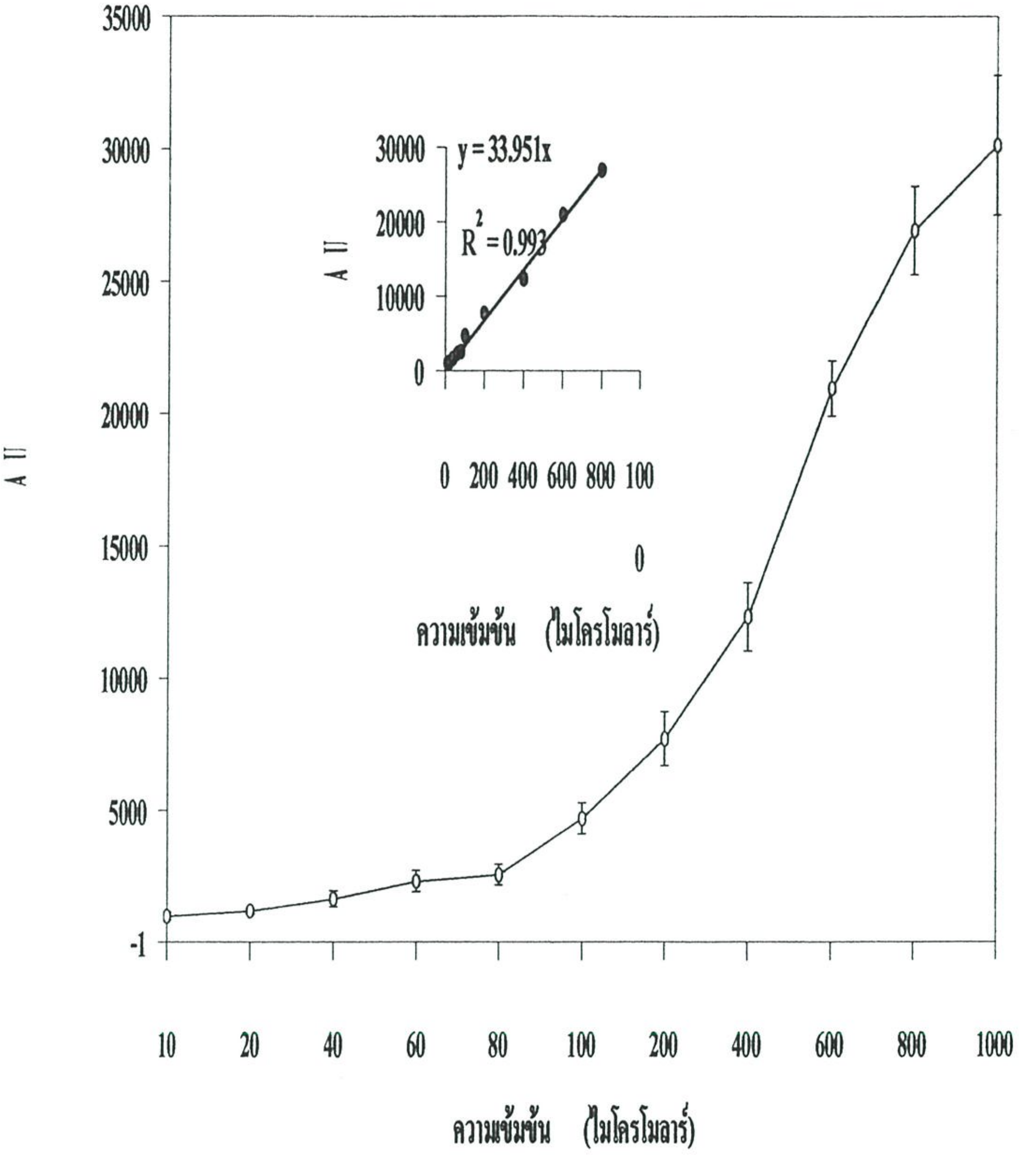
2,4-ไดคลอโรฟีนอล (ต่อ)	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)					
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย		
	40	2711	2880	2590	2727	±	146
	60	3422	4371	4581	4125	±	618
	80	4678	4965	4506	4716	±	232
	100	7822	6101	5751	6558	±	1109
	200	11068	12217	10075	11120	±	1072
	400	23392	21738	22551	22560	±	827
	600	31283	33748	32776	32602	±	1242
	800	28392	29738	27551	28560	±	1103
	1000	31283	33748	32776	32602	±	1242

2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	ความเข้มข้น (ไมโครโมลาร์)	ความสูงพีก (AU)					
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่3	เฉลี่ย		
	10	651	497	717	622	±	113
	20	1257	1533	1023	1271	±	255
	40	1982	1198	1501	1560	±	395
	60	2521	2885	2114	2507	±	386
	80	3136	3582	3492	3403	±	236
	100	5465	4787	3629	4627	±	928
	200	7465	6787	6129	6794	±	668
	400	13867	14344	12795	13669	±	793
	600	21460	19772	20111	20448	±	893
	800	20132	21023	20181	20445	±	501
	1000	20547	21821	21215	21194	±	637

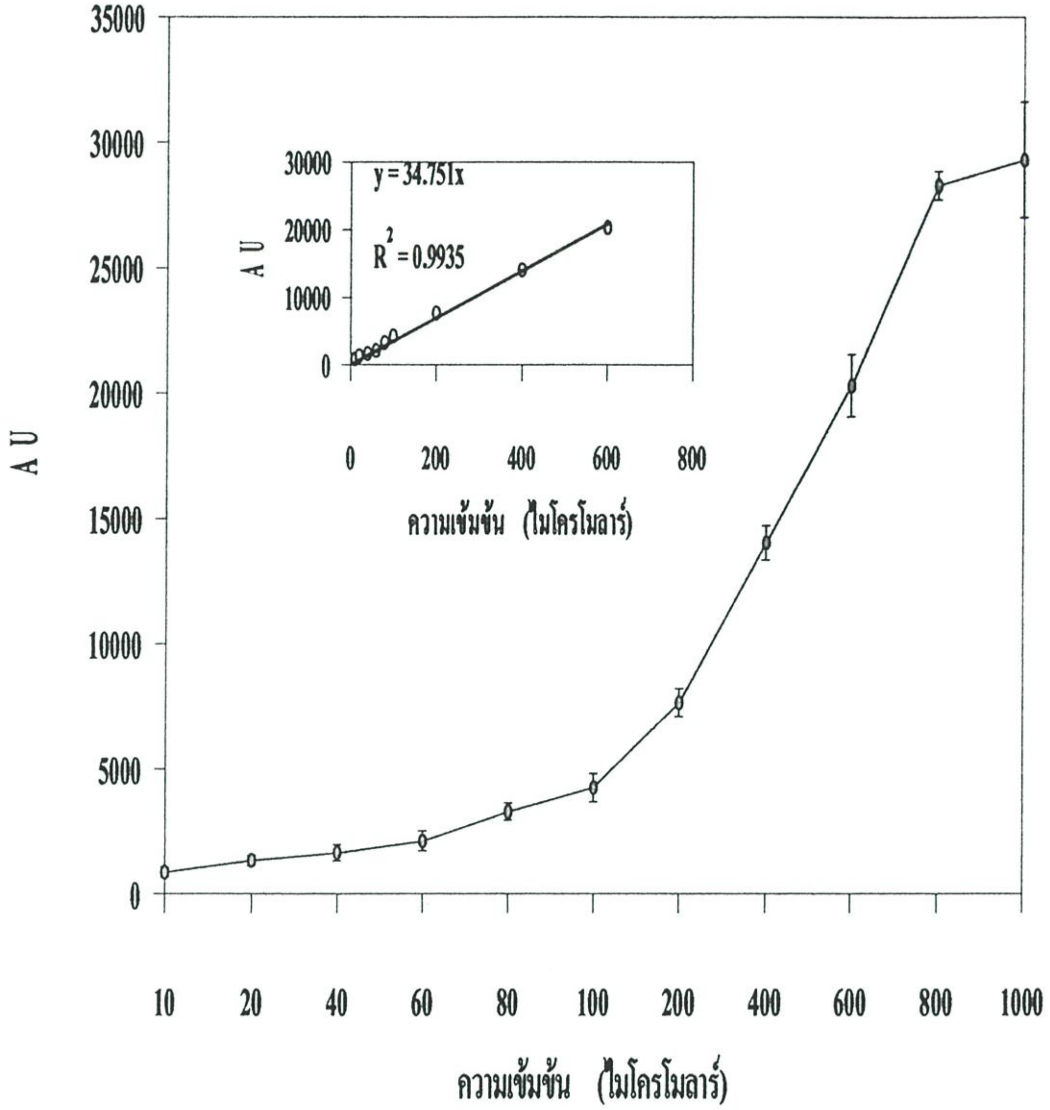
1. นำผลการทดลองมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับกระแสที่วัดได้จะทราบถึงความชันและจุดตัดแกน



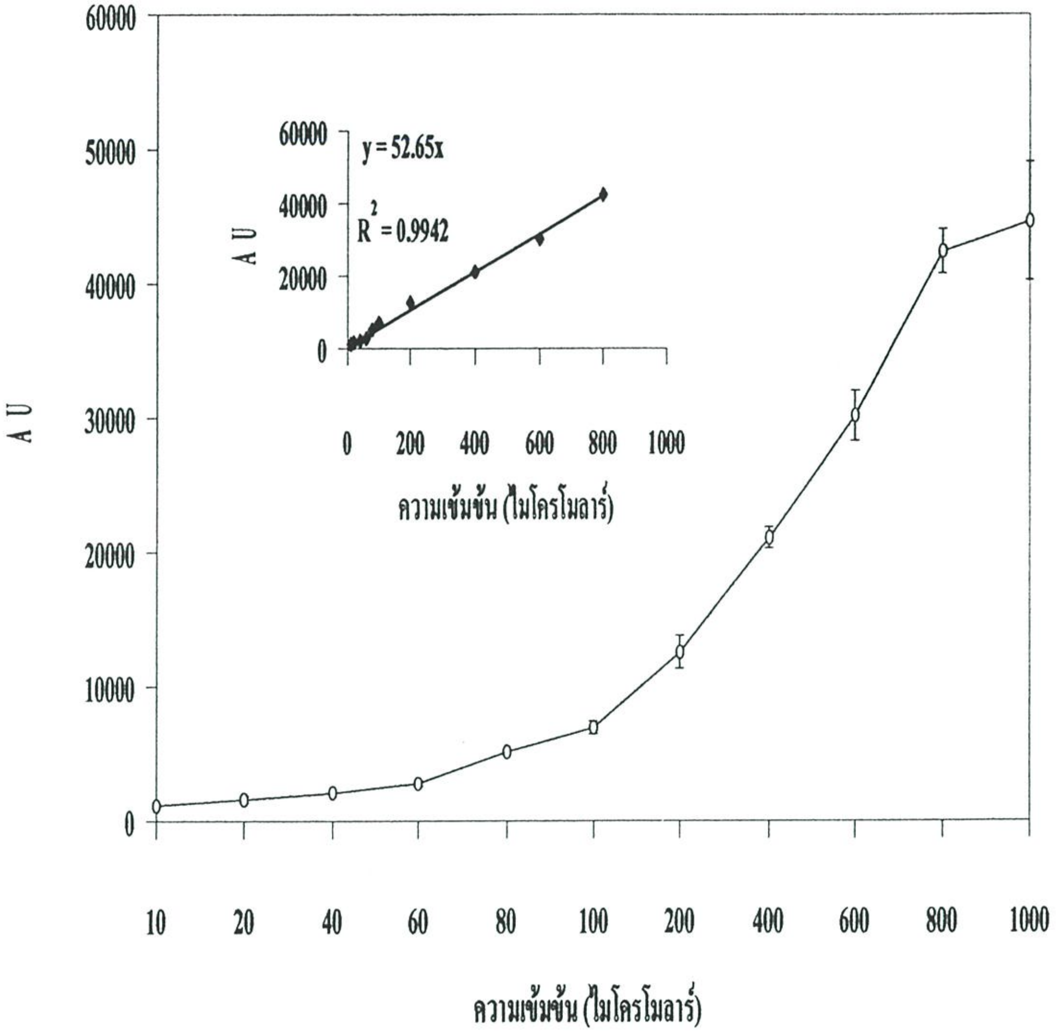
รูปที่ ข12 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



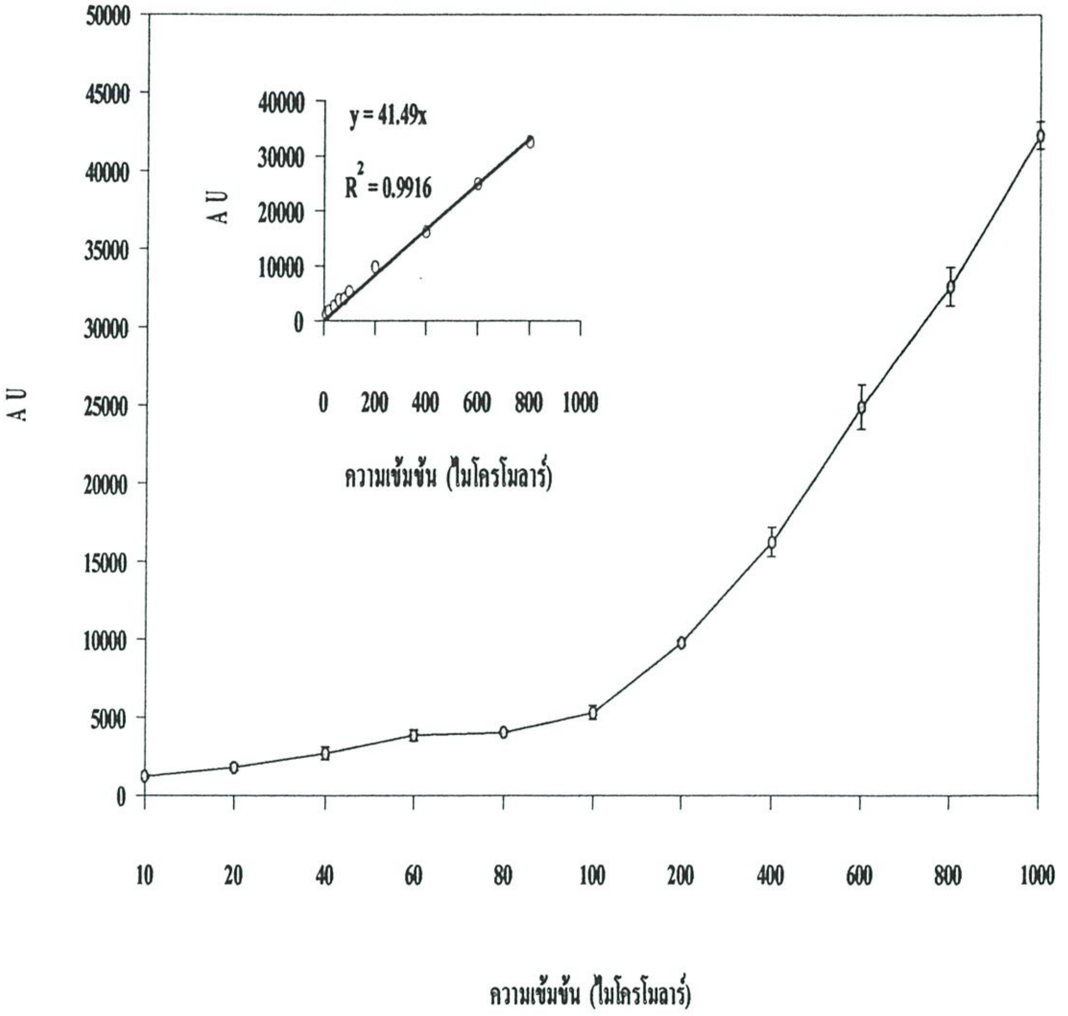
รูปที่ ข13 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ 4-ไนโทรฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



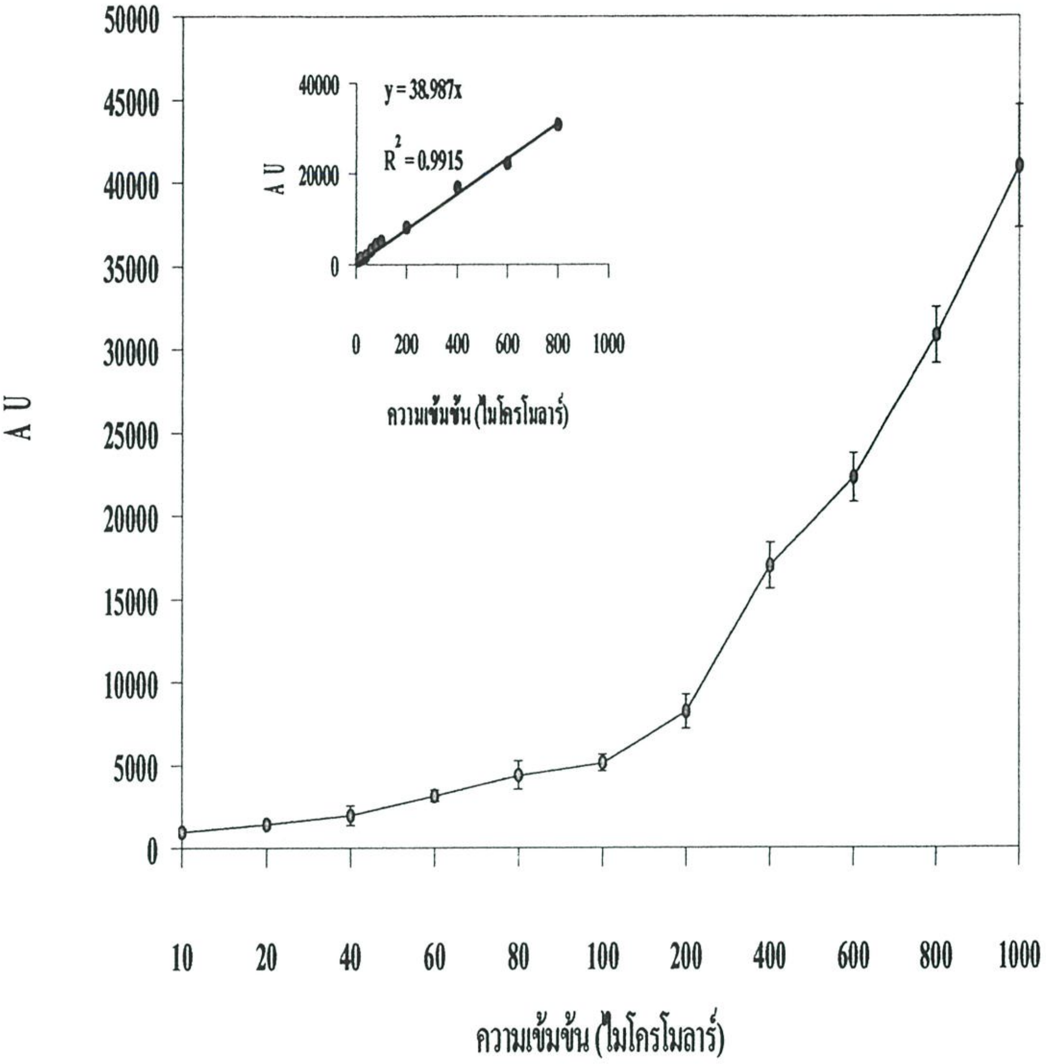
รูปที่ ข14 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ 2,4-ไดไนโทรฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



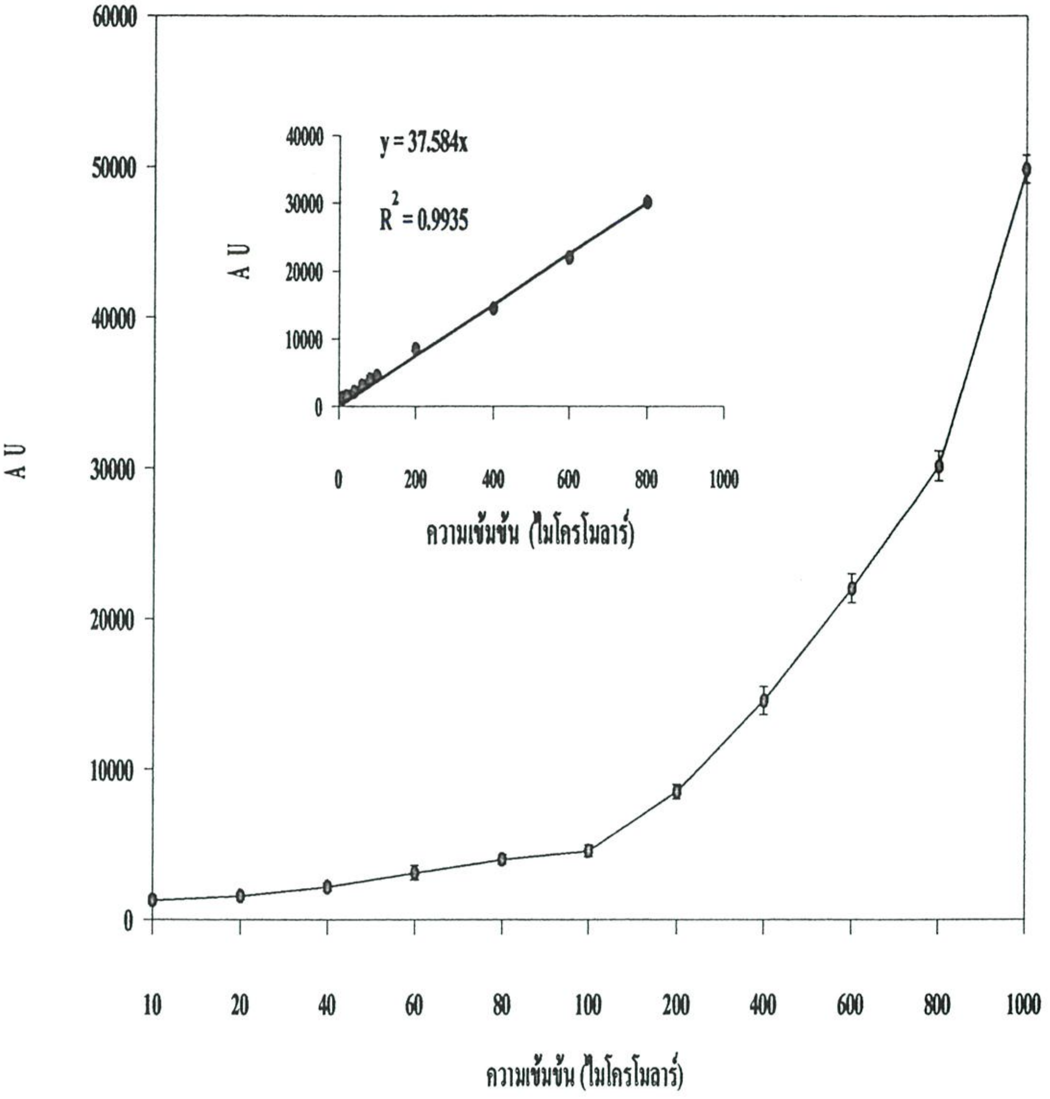
รูปที่ ข15 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ 2-เมทิลฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



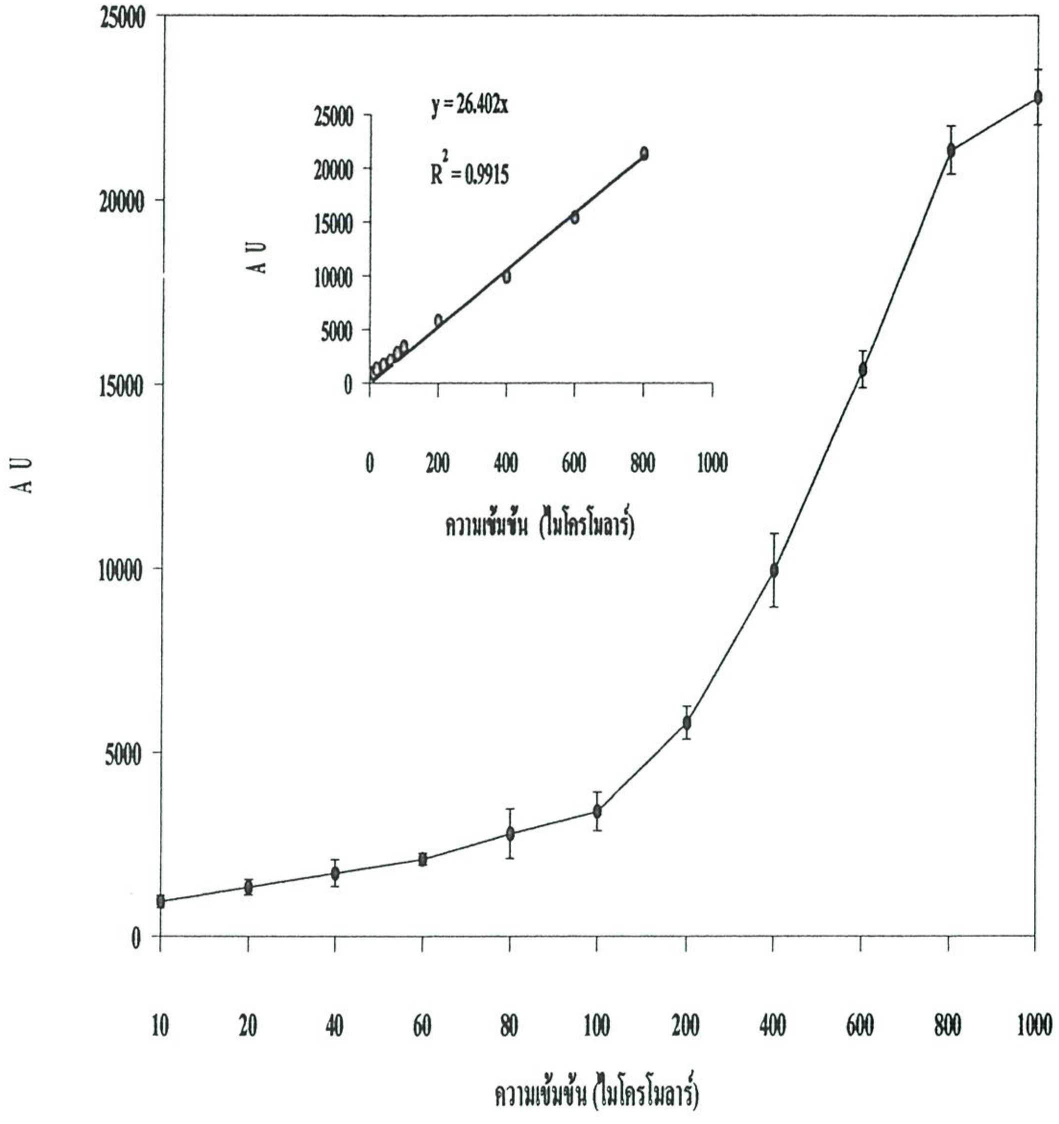
รูปที่ ข16 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ 2- คลอโรฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



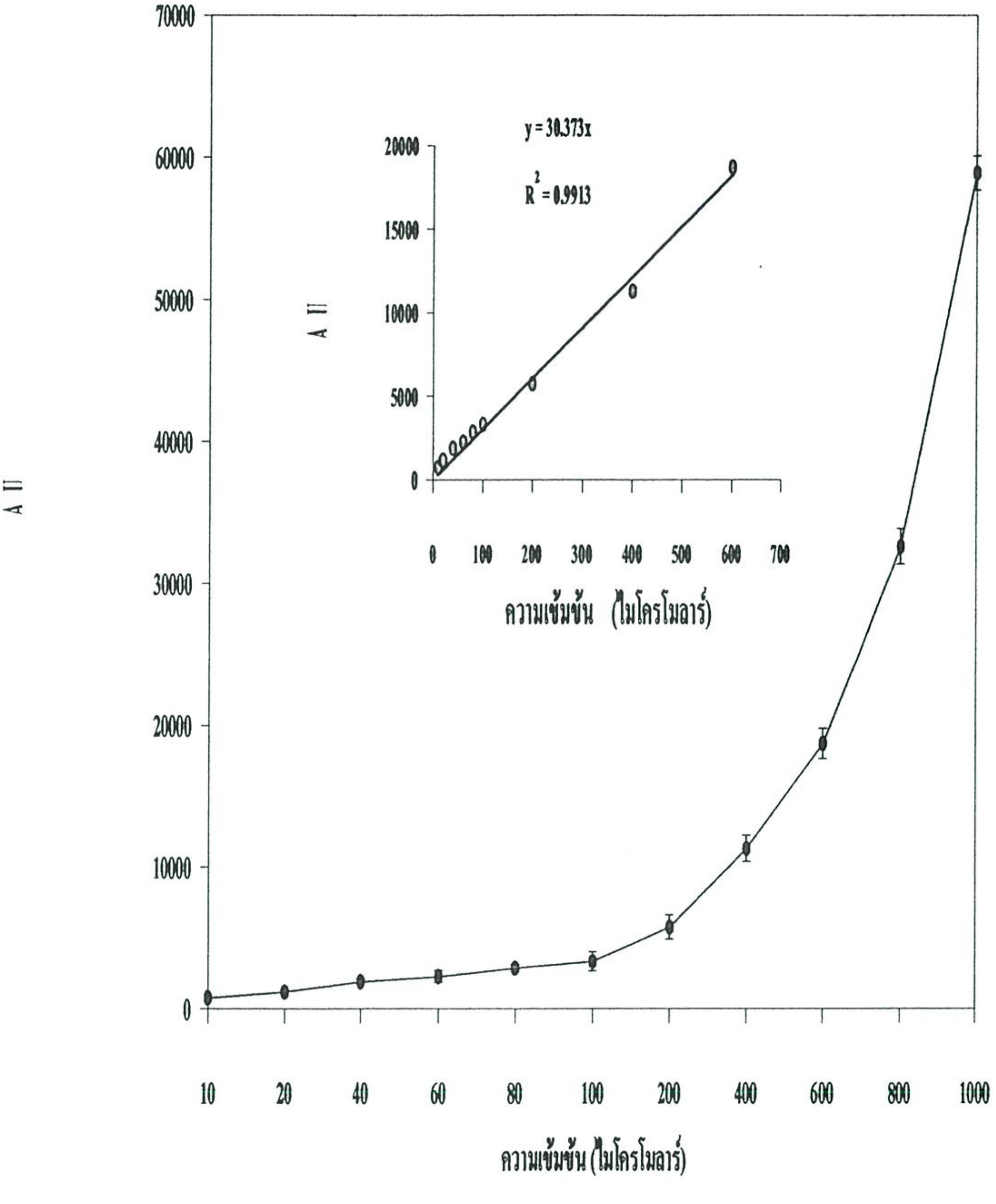
รูปที่ ข17 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ 2- ไนโทรฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



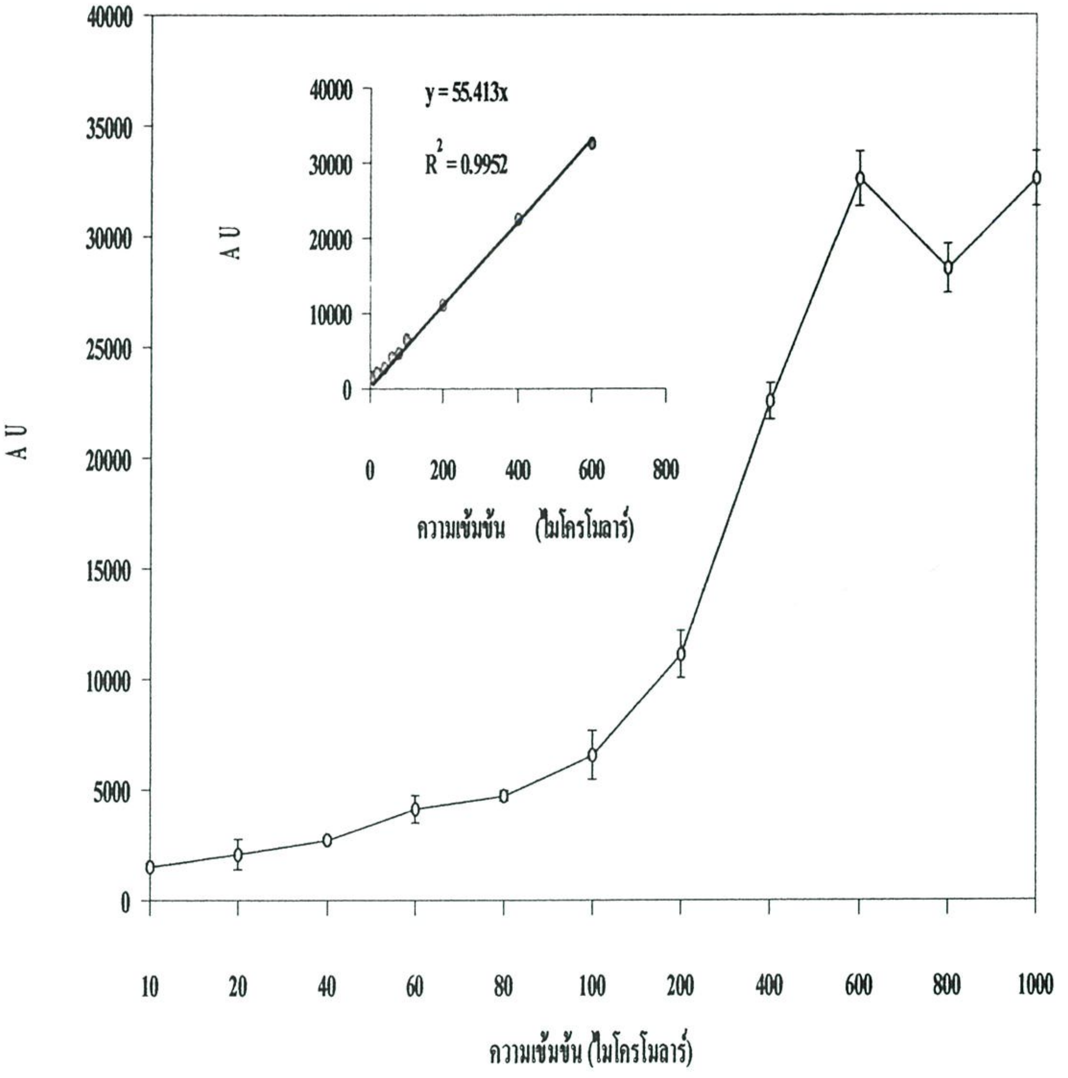
รูปที่ ข18 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ 2,4-ไดเมทิลฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น280 นาโนเมตร



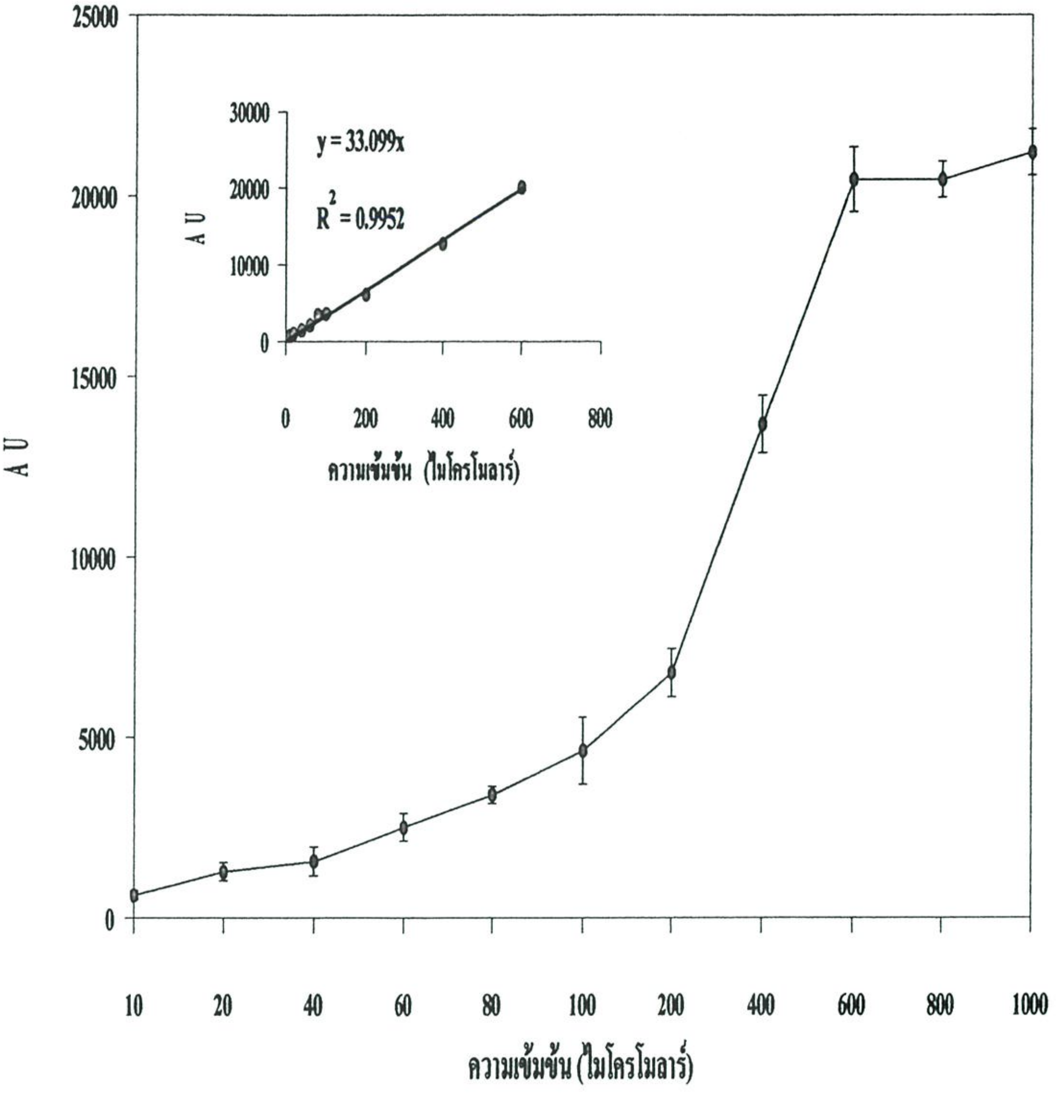
รูปที่ ข19 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



รูปที่ ข20 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ 4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



รูปที่ ข21 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



รูปที่ ข22 ความสัมพันธ์ระหว่าง Absorbance Unite กับความเข้มข้นของ2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล วิเคราะห์ผ่านคอลัมน์ ODS-C_{18} ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำอัตราส่วน 45:55 ปริมาตร/ ปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

สามารถสรุปข้อมูลจากกราฟได้ดังนี้

ชนิดฟีนอล	**พิสัยเชิงเส้น (ไมโครโมลาร์)**	**ความชัน AU/ไมโครโมลาร์**	**สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์**
ฟีนอล	10-800	35.92	0.9931
4-ไนโทรฟีนอล	10-800	33.95	0.9930
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	10-600	34.75	0.9935
2-เมทิลฟีนอล	10-800	52.65	0.9942
2-คลอโรฟีนอล	10-800	41.49	0.9916
2-ไนโทรฟีนอล	10-800	38.99	0.9915
2,4-ไดเมทิลโทรฟีนอล	10-800	37.58	0.9935
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	10-800	26.40	0.9915
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	10-600	30.37	0.9913
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	10-600	55.41	0.9952
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	10-600	33.10	0.9952

2. หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ background current

ครั้งที่	**AU**	**ครั้งที่**	**AU**
1	161.00	11	153.00
2	324.00	12	216.00
3	286.00	13	195.00
4	218.00	14	186.00
5	232.00	15	275.00
6	190.00	16	216.00
7	255.00	17	328.00
8	164.00	18	193.00
9	178.00	19	315.00
10	316.00	20	236.00
SUM	**4637.00**		
AVG	**231.85**		
STD	**57.69**		

3. หาค่าสัญญาณต่ำสุดที่วัดได้ ขีดจำกัดการตรวจหา (Limit of Detection, LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ โดยที่มีความถูกต้องแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (Limit of quantitation, LOQ) ของเทคนิค HPLC-UV detector $\overline{Y_B}$ คือ ค่าเฉลี่ยของสัญญาณจาก Blank = 231.85
S_B คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Blank = 57.69

Limit of Detection $(Y_L) = \overline{Y_B} + 3(S_B)$

$= 231.85 + 3\ (57.69)$

$= 404.92$ AU

ขีดจำกัดการตรวจหา $C_{LOD} = \dfrac{3(S_B)}{a}$

ดังนั้นปริมาณต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ที่สามารถตรวจพบได้มีค่าดังนี้

Limit of Quantitation $Y_{LOQ} = \overline{Y_B} + 10S_B$

$$C_{LOQ} = \frac{10(S_B)}{a}$$

ดังนั้นปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ โดยที่มีความถูกต้องแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้มีค่าดังนี้

ฟีนอล	(10 x 57.69)/ 35.92	=	16.06	AU
4-ไนโทรฟีนอล	(10 x 57.69)/ 33.95	=	16.99	AU
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	(10 x 57.69)/ 34.75	=	16.60	AU
2-เมทิลฟีนอล	(10 x 57.69)/ 52.65	=	10.96	AU
2-คลอโรฟีนอล	(10 x 57.69)/ 41.43	=	13.90	AU
2-ไนโทรฟีนอล	(10 x 57.69)/ 38.99	=	14.80	AU
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	(10 x 57.69)/ 37.58	=	15.35	AU
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	(10 x 57.69)/ 26.40	=	21.85	AU
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	(10 x 57.69)/ 30.37	=	18.99	AU
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	(10 x 57.69)/ 55.41	=	10.41	AU
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	(10 x 57.69)/ 33.10	=	17.43	AU

5 การคำนวณ percent recovery

percent recovery คำนวณจาก $\frac{(Y_i - Y_0) \times 100}{Y_0}$

เมื่อ Y_0 คือ กระแสที่เกิดก่อนการ spike

Y_i คือ กระแสที่เกิดหลังการ spike

ดังนั้น percent recovery ของฟีนอลและอนุพันธ์มีค่าดังนี้

สารประกอบฟีนอล	กระแสที่ได้ก่อน spike (ไมโครแอมแปร์)	กระแสที่ได้หลัง spike (ไมโครแอมแปร์)	กระแสที่เพิ่มขึ้น (ไมโครแอมแปร์)	% recovery
ฟีนอล	0.0114	0.0235	0.0121	106.14
4-ไนโทรฟีนอล	0.0151	0.0317	0.0166	109.93
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	0.0926	0.1894	0.0968	104.54
2-เมทิลฟีนอล	0.0930	0.1940	0.1010	108.60
2-คลอโรฟีนอล	0.1697	0.3571	0.1874	110.43
2-ไนโทรฟีนอล	0.0640	0.1380	0.0740	115.63
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	0.0602	0.1196	0.0594	98.67
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	0.0841	0.1714	0.0873	103.80
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	0.0742	0.1473	0.0731	98.52
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	0.0780	0.1610	0.0830	106.41
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	0.0461	0.0840	0.0379	82.21

ภาคผนวก ค.

แสดงผลการทดลอง

ตารางที่ ค1 กระแสออกซิเดชันจากโวลแทมโมแกรมของสารประกอบฟีนอล 11 ชนิด ในสารละลายเมทานอล:น้ำในอัตราส่วน 0:100 ถึง 100:0 ปริมาตร/ปริมาตร

กระแสออกซิเดชันจากไซคลิกโวลแทมโมแกรม	0% เมทานอล	20% เมทานอล	40% เมทานอล	45% เมทานอล	55% เมทานอล	60% เมทานอล	80% เมทานอล	100% เมทานอล
ฟีนอล	6.34 ± 0.26	9.28 ± 0.26	13.7 ± 0.17	14.6 ± 0.19	8.5 ± 0.32	8.17 ± 0.09	ND	ND
4-ไนโทรฟีนอล	3.49 ± 0.35	10.8 ± 0.14	16.1 ± 0.13	20.01 ± 0.12	14.5 ± 0.17	10.82 ± 0.18	ND	ND
2,4-ไดไนโทรฟีนอล	5.23 ± 0.15	9.09 ± 0.22	10.9 ± 0.3	12.7 ± 0.24	11.09 ± 0.27	10.1 ± 0.16	ND	ND
2-เมทิลฟีนอล	8.16 ± 0.28	9.37 ± 0.09	11.62 ± 0.33	12.49 ± 0.34	10.4 ± 0.2	8.23 ± 0.35	7.8 ± 0.22	ND
2-คลอโรฟีนอล	15.38 ± 0.21	33.45 ± 0.23	40.9 ± 0.72	50 ± 0.76	21.82 ± 0.36	13.5 ± 0.28	6.23 ± 0.17	ND
2-ไนโทรฟีนอล	2.2 ± 0.06	5.2 ± 0.3	7.6 ± 0.2	8.66 ± 0.12	4.47 ± 0.16	3.55 ± 0.18	ND	ND
2,4-ไดเมทิลฟีนอล	2.55 ± 0.23	4.81 ± 0.31	6.4 ± 0.25	7.85 ± 0.33	4.55 ± 0.28	3.32 ± 0.12	9.25 ± 0.2	ND
2-เมทิล-4,6-ไดไนโทรฟีนอล	1.8 ± 0.06	5.32 ± 0.17	8.9 ± 0.16	12.04 ± 0.14	6.28 ± 0.06	4.7 ± 0.26	ND	ND
4-คลอโร-3-เมทิลฟีนอล	3.9 ± 0.18	4.8 ± 0.36	9.05 ± 0.26	9.95 ± 0.15	5.45 ± 0.41	1.98 ± 0.16	ND	ND
2,4-ไดคลอโรฟีนอล	4.4 ± 0.07	6.85 ± 0.12	8.22 ± 0.13	10 ± 0.36	5.5 ± 0.15	3.17 ± 0.4	ND	ND
2,4,6-ไทรคลอโรฟีนอล	1.84 ± 0.03	3.9 ± 0.13	6.29 ± 0.21	10 ± 0.08	4.78 ± 0.01	2.54 ± 0.04	ND	ND

ND หมายถึง ไม่สามารถตรวจวัดได้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเกษศิรินทร์ สนอ่วม เกิดเมื่อวันที่ 3 ตุลาคม 2520 ที่จังหวัดชัยนาท สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี จากมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก ปีการศึกษา 2541 และในปีการศึกษา 2542 ได้เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี (เคมีวิเคราะห์) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง