

# การพัฒนาวิธีเตรียมตัวอย่างที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในน้ำ

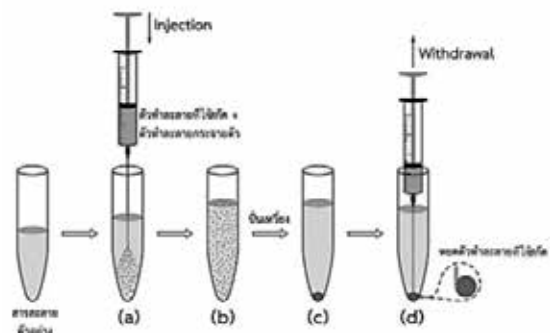
กรมวิทยาศาสตร์บริการ กองผลิตภัณฑ์อาหารและวัสดุสัมผัสอาหาร (อว.) กลุ่มน้ำอุปโภคและบริโภค (นบ.) ให้บริการทดสอบรายการฟีนอลในน้ำ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค (มอก.257-2549) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) และ ฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2534) เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท เพื่อตอบสนองความต้องการและคุ้มครองผู้บริโภค เนื่องจากน้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิตประชาชนจึงควรบริโภคน้ำที่สะอาด และได้มาตรฐาน การปนเปื้อนของฟีนอลสู่สิ่งแวดล้อมสาเหตุหนึ่งมาจากภาคอุตสาหกรรมที่อาจเกิดการแพร่ของสารพิษจากกระบวนการผลิต กระบวนการจัดเก็บ กระบวนการขนส่ง และกระบวนการกำจัดของเสีย หากมีการปนเปื้อนจะทำให้เกิดอันตรายต่อคน สัตว์ ระบบนิเวศ และสิ่งแวดล้อมได้ ความเป็นพิษของฟีนอลที่เกิดจากการสัมผัสทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง เยื่อบุตา เยื่อบุระบบทางเดินหายใจ มีอาการเวียนศีรษะ อาเจียน ท้องร่วง ถ้าได้รับฟีนอลเข้าทางปากเพียง 4.8 มิลลิกรัม จะทำให้เสียชีวิตได้ภายใน 15 นาที หรือหากได้รับฟีนอลเป็นเวลานานจนเกิดการสะสมในร่างกายระยะยาวอาจก่อให้เกิดโรคมะเร็งและโรคหัวใจได้ ดังนั้นในมาตรฐานดังกล่าวข้างต้นจึงกำหนดให้มีฟีนอลได้ไม่เกิน 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดสอบสารที่มีปริมาณน้อยมาก ๆ จำเป็นต้องมีวิธีการแยกสารที่ต้องการทดสอบออกจากสารตัวอย่างให้เหมาะสม เทคนิคการสกัดเป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถแยกสารและเตรียมตัวอย่างได้พร้อมกัน การสกัด (extraction) เป็นกระบวนการแยกองค์ประกอบที่มีในสาร โดยต้องมีตัวทำละลายที่สามารถพาสารที่ต้องการสกัดออกมา กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นได้เมื่อองค์ประกอบที่ต้องการแยกต้องละลายออกมาพร้อมกับตัวทำละลายขณะที่องค์ประกอบอื่น ๆ ยังคงเหลืออยู่ในเฟสเริ่มต้น กระบวนการนี้อาจเรียกได้ว่าเป็นกระบวนการแยกที่เกี่ยวข้องกับเฟส 2 เฟส นบ.อว. ได้พัฒนาวิธีเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดด้วยของเหลว-ของเหลว (liquid-liquid extraction) เป็นการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) เนื่องจากทำได้ง่าย ราคาถูก ลดปริมาณตัวอย่างทดสอบ ลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์จำนวนมาก แต่ให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดี และที่สำคัญใช้เวลาในการสกัดน้อยมาก ช่วยลดระยะเวลาทดสอบ ลดค่าใช้จ่าย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

## การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

อาศัยหลักการของระบบตัวทำละลาย 3 ส่วน (ternary

component solvent system) ซึ่งประกอบด้วยตัวทำละลายที่ใช้สกัด (extraction solvent) ตัวทำละลายกระจายตัว (dispersive หรือ disperser solvent) และสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (aqueous solution) กระบวนการสกัดด้วยเทคนิคนี้จะผสมตัวทำละลายที่ใช้สกัดในปริมาณน้อย ๆ (ไมโครลิตร) กับตัวทำละลายกระจายตัวที่ปริมาตรระดับมิลลิลิตรในอัตราส่วนที่เหมาะสม เมื่อฉีดสารละลายผสมดังกล่าวเข้าสู่สารละลายตัวอย่างอย่างรวดเร็วจะเกิดเป็นสารละลายขุ่นกระจายตัวไปทั่ว (cloudy solution) สารที่ต้องการสกัดจะเข้าไปในตัวทำละลายที่ใช้สกัดซึ่งกระจายตัวทั่วสารละลายตัวอย่าง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะเกิดการแยกชั้น 2 ชั้น นำชั้นล่าง (ส่วนที่สกัด) ไปทดสอบต่อไป



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการสกัดด้วยเทคนิค DLLME  
ที่มา : พิมพ์ สร้อยสูงเนิน, 2561

## ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ได้แก่

1. ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัด การเลือกตัวทำละลายที่ใช้สกัดให้เหมาะสมถือเป็นปัจจัยหลัก เนื่องจากมีผลต่อการดึงสารที่สนใจจากตัวอย่างเข้าสู่เฟสสกัด โดยทั่วไปตัวทำละลายที่ใช้สกัดที่เลือกใช้ควรมีค่าการละลายน้ำต่ำและมีความหนาแน่นมากกว่าน้ำ เพื่อให้สามารถแยกตัวทำละลายออกจากชั้นน้ำได้ง่ายโดยอาศัยการปั่นเหวี่ยง อีกทั้งตัวทำละลายควรมีคุณสมบัติในการสกัดสารที่สนใจได้ดีและสามารถนำไปใช้ทดสอบด้วยเทคนิคอื่น ๆ ต่อได้ง่าย ตัวทำละลายที่นิยมใช้ได้แก่ สารอินทรีย์ที่มีอนุพันธ์เป็นฮาโลเจน เช่น คลอโรเบนซีน คลอโรฟอร์ม คาร์บอนเตตระคลอไรด์ เป็นต้น
2. ชนิดของตัวทำละลายกระจายตัว ตัวทำละลายกระจายตัวที่ดีจะต้องละลายได้ทั้งในตัวทำละลายที่ใช้สกัดและในน้ำ ซึ่งจะมีผลทำให้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสามารถกระจายตัวเป็นหยดเล็ก ๆ อยู่ในน้ำและเกิดเป็นสารละลายขุ่นได้ ส่งผลให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างตัวทำละลายที่ใช้สกัดและสารละลายตัวอย่างเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการสกัดจึงเพิ่มขึ้นนั่นเอง โดยทั่วไปตัวทำละลายกระจายตัวที่นิยมใช้ได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซิโตน ไทโรล อะซิโตน เป็นต้น
3. ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้สกัด ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีผลอย่างมากต่อค่าการเพิ่มความเข้มข้น (enrichment factor, EF) เมื่อเพิ่มปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะทำให้ปริมาตรของเฟสสกัดที่ได้หลังจากการปั่นเหวี่ยงเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความเข้มข้นของสารที่สนใจในเฟสสกัดลดลงจึงทำให้ค่า EF ลดลงด้วย ดังนั้นปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้สกัดที่เหมาะสมจะต้องคำนึงถึงทั้งการได้ค่า EF ที่สูง และต้องมีปริมาณมากพอที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่นต่อหลังจากปั่นเหวี่ยง
4. ปริมาตรของตัวทำละลายกระจายตัว ปริมาตรของตัวทำละลายกระจายตัวส่งผลโดยตรงต่อการกระจายตัวของ

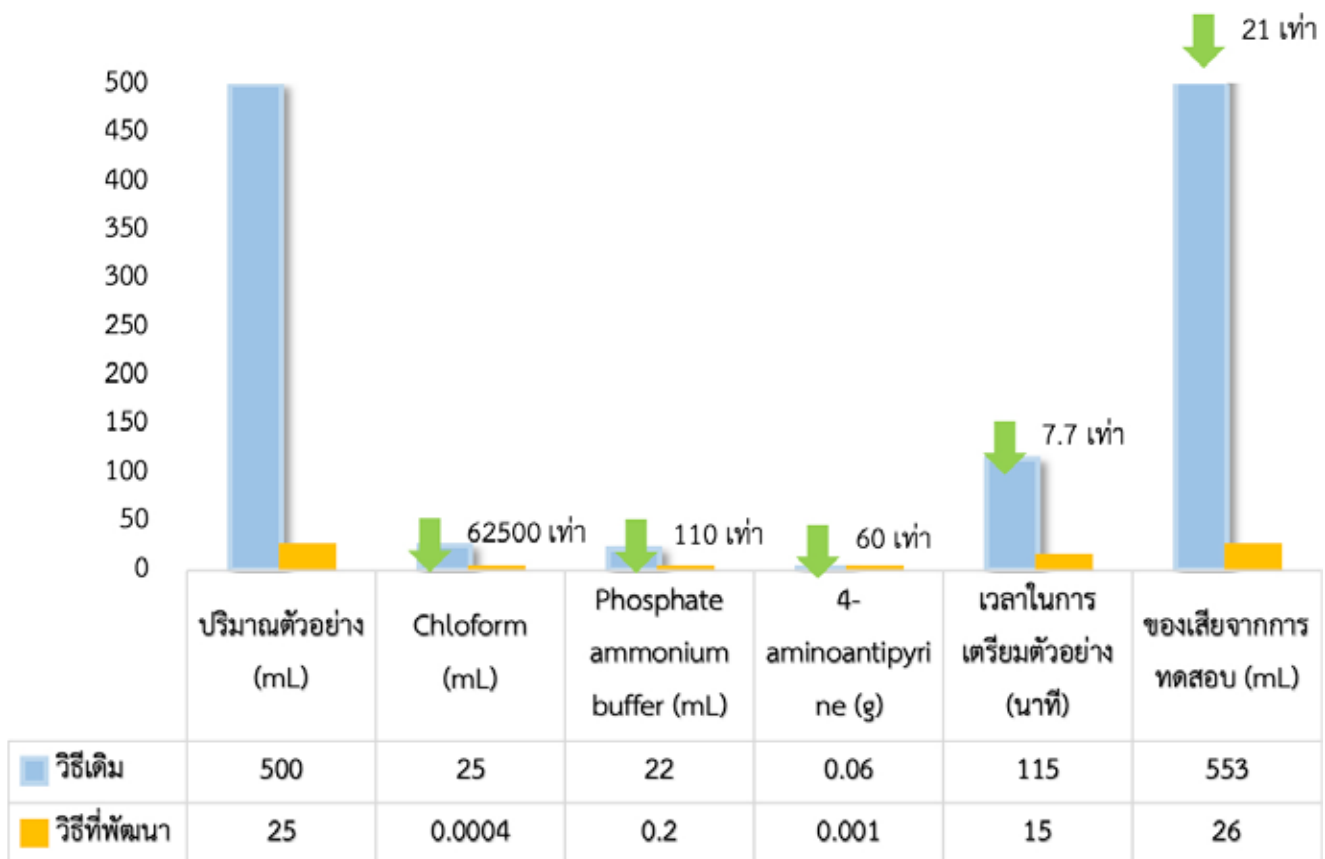
ตัวทำละลายที่ใช้สกัดในสารละลายตัวอย่าง ถ้าปริมาตรตัวทำละลายกระจายตัวน้อยเกินไปจะทำให้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดกระจายตัวในสารละลายตัวอย่างไม่สมบูรณ์ ในทางตรงกันข้าม ถ้าปริมาตรตัวทำละลายกระจายตัวมากเกินไปจะทำให้สารที่สนใจละลายในน้ำได้ดีขึ้น เนื่องจากทำให้ความเข้มข้นระหว่างน้ำและตัวทำละลายที่ใช้สกัดแตกต่างกันน้อยลง ส่งผลให้สกัดสารที่สนใจเข้าสู่ตัวทำละลายที่ใช้สกัดได้ไม่ดี ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพการสกัดลดลง

5. เวลาที่ใช้ในการสกัด หมายถึง ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มฉีดสารผสมของตัวทำละลายที่ใช้สกัดกับตัวทำละลายกระจายตัวในสารตัวอย่างจนถึงการปั่นเหวี่ยง แต่เวลาในการสกัดจะมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดน้อยมาก เนื่องจากเมื่อตัวทำละลายที่ใช้สกัดเกิดการกระจายตัวเป็นหยดเล็ก ๆ ทำให้การถ่ายโอนมวลของสารที่สนใจจากสารละลายตัวอย่างไปยังตัวทำละลายที่ใช้สกัดเกิดได้อย่างรวดเร็ว การสกัดจึงใช้เวลาไม่น้อยซึ่งถือเป็นข้อดีสำคัญของเทคนิค DLLME

6. การเติมเกลือ หรือการเพิ่มความแรงไอออน (ionic strength) ของสารละลายมักส่งผลต่อการละลายของสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือสารอินทรีย์ในน้ำ โดยจะส่งผลอย่างไรนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สนใจที่ศึกษา สารบางชนิดอาจจะละลายในน้ำได้ลดลง ซึ่งส่งผลให้ค่าการกลับคืนของการสกัดมีค่ามาก แต่สารบางชนิดอาจจะส่งผลในทิศทางตรงกันข้าม อย่างไรก็ตามการเติมเกลือมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดน้อยมากเมื่อเทียบกับปัจจัยอื่น ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น

จากการศึกษาวิธีเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค DLLME สำหรับหาปริมาณฟีนอลในน้ำดื่มพบว่าขีดจำกัดการตรวจหา (LOD) เท่ากับ 0.5 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดการวัดปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ค่าการคืนกลับ (recovery) เท่ากับ 96.0-100.5% และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) เท่ากับ 4.4-6.1%





กราฟเปรียบเทียบวิธีเตรียมตัวอย่างแบบเดิมกับวิธีที่พัฒนา

จากกราฟพบว่าวิธีเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) สามารถลดปริมาณตัวอย่างทดสอบได้ 20 เท่า ลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์และสารเคมีได้ 60-62, 500 เท่า ลดระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างได้ 7.7 เท่า และลดปริมาณของเสียจากการทดสอบได้ 21 เท่า ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ผู้สนใจสามารถติดต่อสอบถาม เกี่ยวกับการบริการทดสอบน้ำอุปโภคและบริโภคได้ที่ กรมวิทยาศาสตร์บริการ กองผลิตภัณฑ์อาหารและวัสดุสัมผัสอาหาร กลุ่มน้ำอุปโภคและบริโภค โทรศัพท์ 0-2201-7219-20

### เอกสารอ้างอิง

1. พิมพา สร้อยสูงเนิน. การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย : หลักการและการพัฒนาในส่วนของตัวทำละลายสกัด. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 2561, 23(3), 1284-1288.
2. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, and WATER ENVIRONMENT FEDERATION. 5530 Phenols. In: Standard methods for the examination of water and wastewater. 23rd ed. Washington, D.C.: APHA, 2017, Part 5530.
3. LAVILLA I., S. GIL, M. COSTAS and C. BENDICHO. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with microvolume spectrophotometry to turn green the 5530 APHA standard method for determining phenols in water and wastewater. Talanta. 2012, 98, 197-202.
4. ZAHEDI, M.M., M. NASSIRI, S.M. POURMORTAZAVI and M. YOUSEFZADE. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and spectrophotometric determination of phenols in Chabahar Bay seawater after derivatization with 4-aminoantipyrine. Marine Pollution Bulletin. 2014, 86(1-2), 512-517.