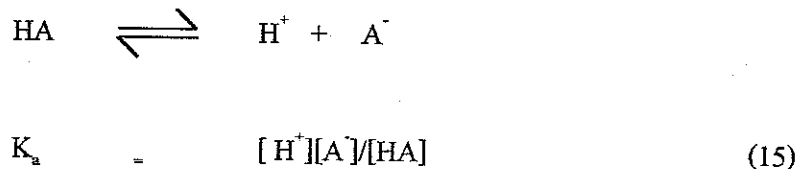


บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์สารผสมฟีนอล โดยวิธีคาปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารผสมฟีนอล โดยกำหนดสภาวะที่ใช้ในการทดลองคือความยาวของคาปิลลารี 68.0 เซนติเมตร ความยาวของคาปิลลารีที่ใช้ในการแยก 59.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 75 ไมโครเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 294 โวลต์ต่อเซนติเมตร นำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 200 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร

1. การศึกษา pH ของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรต ที่มีต่อการวิเคราะห์สารผสมฟีนอล ได้ผลการทดลองดังภาพ 8 พบว่าไมเกรชันไทม์ของสารเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตเพิ่มขึ้น ซึ่งโดยทั่วไปการเพิ่ม pH ของสารละลายบัฟเฟอร์จะมีผลทำให้ค่าไมเกรชันไทม์ของสารลดลง (EOF เพิ่มขึ้น) แต่เนื่องจากโมเลกุลของฟีนอลที่ทำการศึกษานี้เป็นกรดอ่อน (Li, & Locke, 1995) เมื่ออยู่ในน้ำสามารถแตกตัวได้ดังสมการที่ 15



เมื่อ

K_a คือ ค่าของการแตกตัวของกรดอ่อน

การเคลื่อนที่ของโมเลกุลจะเป็นการเคลื่อนที่ของไอออนลบ (สปีชีส์ A^-) ซึ่งจะเคลื่อนที่ด้วยอิเล็กโทรโฟเรติกโมบิลิตี้ ภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้า ซึ่งขึ้นอยู่กับขนาดและประจุของโมเลกุล จากสมการที่ 15 พบว่าเมื่อ pH สูงขึ้นสารจะกลายเป็นไอออนได้มากขึ้น ทำให้สารเคลื่อนที่ด้วยอิทธิพลของอิเล็กโทรโฟเรติกโมบิลิตี้มากขึ้น โดยการเคลื่อนที่จะสวนทางกับอิเล็กโทรออสโมติกโฟล แต่เนื่องจากอิเล็กโทรออสโมติกโฟลมีค่ามากกว่าอิเล็กโทรโฟเรติกโมบิลิตี้ เพราะฉะนั้นการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของโมเลกุลจึงเกิดจากผลต่างของอิเล็กโทร

ออสโมติกโฟลกับอิเล็กโทรโฟรีติกโมโบลิตี เมื่ออิเล็กโทรโฟรีติกโมโบลิตีมีความมากทำให้ความเร็วสัมพัทธ์ที่ได้มีค่าน้อยลง ไม่เกรชันใหม่ของสารจึงมากขึ้นเมื่อ pH สูงขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับผลการทดลองที่ได้ การแยกของโมเลกุลของฟีนอลจะเกิดขึ้นเนื่องจากการเลือก pH ของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตที่เหมาะสม ที่ช่วยในการแตกตัวเป็นไอออนของสารได้ดี จากภาพ 8 แสดงอิเล็กโทรเฟอร์โรแกรมของสารผสมฟีนอลที่ pH ต่างๆ ที่ pH 9.4 พิก 2-methyl-4,6-dinitrophenol กับพิก 2-chlorophenol ซ้อนทับกันไม่สามารถแยกกันได้อีก เนื่องจากที่ pH 9.4 นี้ 2-chlorophenol ($pK_a = 8.48$) แตกตัวเป็นไอออนได้น้อยทำให้อิเล็กโทรโฟรีติกโมโบลิตีมีความน้อย เพราะฉะนั้นการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของโมเลกุลจึงมีความมากทำให้สารเคลื่อนที่เร็ว ซึ่งความเร็วในการเคลื่อนที่ใกล้เคียงกับโมเลกุลของ 2-methyl-4,6-dinitrophenol จึงไม่สามารถแยกออกจากกัน พบว่าเมื่อให้ pH สูงขึ้นเรื่อยๆ ($pH 9.6 > pK_a + 2$) แนวโน้มของการแยกระหว่างสาร 2 ตัวนี้มีค่าสูงขึ้น เนื่องจากว่าที่ pH สูงขึ้น 2-chlorophenol ซึ่งมีค่า pK_a 8.48 จะถูกดึงโปรตอน (Lin, Lin, & Chiou, 1995) กลายเป็นไอออนลบ (A⁻) ได้มากขึ้นทำให้อิเล็กโทรโฟรีติกโมโบลิตีมีความมากขึ้น เพราะฉะนั้นการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของโมเลกุลจึงมีค่าน้อย ทำให้ 2-chlorophenol เคลื่อนที่ช้าลง ซึ่งความเร็วในการเคลื่อนที่ต่างกับโมเลกุลของ 2-methyl-4,6-dinitrophenol จึงสามารถแยกจากโมเลกุลของ 2-methyl-4,6-dinitrophenol ได้ แต่พบว่าการเคลื่อนที่ที่ช้าลงนี้จะมีผลกับการแยกของสารตัวอื่นซึ่งในที่นี้คือ 2,4-dinitrophenol พบว่าที่ pH 9.8 พิกของ 2-chlorophenol และพิก 2,4-dinitrophenol มีส่วนที่ซ้อนทับกัน และที่ pH 10.0 พิกทั้งสองซ้อนทับกัน 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจากผลการทดลองจึงเลือก pH 9.6 เป็น pH ที่เหมาะสม

2. การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรต ที่มีต่อการวิเคราะห์สารผสมฟีนอลได้ผลการทดลองดังภาพ 9 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตเพิ่มขึ้น ไม่เกรชันใหม่มีความมากขึ้น เนื่องจากอิเล็กโทรออสโมติกโมโบลิตีมีความลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ ที่ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์มากๆ จะมีความหนืดมาก ทำให้สารเคลื่อนที่ช้าลง จึงมีเวลาในการแยกมากขึ้นดังสมการที่ 5 ในบทที่ 2 จะเห็นว่าอิเล็กโทรออสโมติกโมโบลิตีลดลงเป็นสัดส่วนกับรากที่ 2 ของความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ ที่ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรต 5 มิลลิโมลต่อลิตร สารกลุ่มฟีนอลใช้เวลาในการวิเคราะห์เร็วที่สุดและตามด้วย 10, 15, 20 และ 25 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าถ้าความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตมีความมากขึ้นค่าการแยกจะมีค่ามากขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตยังมีผลต่อสภาพไวของการวิเคราะห์ เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์สูง จะช่วยป้องกันสารไม่ให้ดูดซับที่ผนังของคาปิลลารี (Li, & Locke, 1995) จากภาพ 10 เป็นการพลอตระหว่างอัตราส่วน

ระหว่างสัญญาณที่ได้ต่อสัญญาณรบกวนของความสูงพิกัดกับความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ โซเดียมบอเรตที่ 15 และ 20 มิลลิโมลต่อลิตร พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ โซเดียมบอเรตมากขึ้นค่าอัตราส่วนระหว่างสัญญาณที่ได้ต่อสัญญาณรบกวนจะเพิ่มขึ้น ดังนั้น ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารผสมฟีนอลคือ 20 มิลลิโมลต่อลิตร

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตกับ กระแสไฟฟ้าได้ผลการทดลองดังภาพ 11 ซึ่งเป็นการพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตกับกระแสไฟฟ้า พบว่าแนวโน้มของกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรต แต่จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตที่มีต่อการวิเคราะห์สารกลุ่มฟีนอล ความเข้มข้นสูงสุดของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตที่ทำการศึกษาคือ 25 มิลลิโมลต่อลิตร ซึ่งกระแสเกิดขึ้น 59 ไมโครแอมแปร์ ซึ่งปริมาณกระแสขนาดนี้ไม่ทำให้เกิดความร้อน (Joule heating) ภายในคาปิลลารี (Lin, Lin, & Chion, 1995)

3. การศึกษาอุณหภูมิที่มีต่อการวิเคราะห์สารผสมฟีนอลได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 12 พบว่าเมื่ออุณหภูมิของคาปิลลารีสูงขึ้น ไมเกรชันไทม์ของสารกลุ่มฟีนอลมีค่าน้อยลง เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะมีผลต่อความหนืดของสารละลายบัฟเฟอร์ คือที่อุณหภูมิสูงความหนืดของสารละลายจะลดลงทำให้สารเคลื่อนที่เร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ในการทดลองพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือที่ 35 องศาเซลเซียส เพราะใช้เวลาในการวิเคราะห์เร็วที่สุดและพีคของสารสามารถแยกกันได้ดีโดยไม่ซ้อนทับกัน

4. การศึกษานเวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารี ที่มีต่อการวิเคราะห์สารผสมฟีนอลได้ผลการทดลองแสดงดังภาพ 13 พบว่าสภาพไวเพิ่มขึ้นถ้าเพิ่มเวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารี ถ้าใช้เวลานานสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารีมากทำให้สภาพไวเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ พบว่าเวลาที่ใช้ในการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารีที่เวลา 15 วินาที ให้สัญญาณสูงสุดมากกว่า 10 และ 5 วินาทีตามลำดับ แต่ถูกจำกัดในเทอมค่าการแยกมีพีคของ 2-methyl-4,6-dinitrophenol กับพีคของ 2-chlorophenol มีบางส่วนที่ซ้อนทับกัน เพราะฉะนั้นเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์จึงเลือกที่เวลา 10 วินาที ให้สัญญาณมากกว่าที่เวลา 5 วินาทีและพีคของสารกลุ่มฟีนอลสามารถแยกจากกันได้โดยที่ไม่ซ้อนทับกัน

5. การศึกษาการเพิ่มสภาพไว โดยใช้เทคนิค stacking เนื่องจากการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคคาปิลลารีอิเล็กโตรโฟเรซิส ตัวตรวจวัดชนิดยูวี ให้สภาพไวต่ำ จึงได้ศึกษาการเพิ่มสภาพไวโดยใช้เทคนิค stacking การใช้เทคนิค stacking วัตถุประสงค์ของวิธีนี้เพื่อเพิ่ม

สภาพไวให้กับวิธีการวิเคราะห์และลักษณะของพืชที่ได้มีรูปร่างสมมาตร ความกว้างของฐาน พืชแคบ เมื่อนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารีและให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าทั้งสอง ให้เกิดสนามไฟฟ้า ขึ้นภายในคาปิลลารีและสารเคลื่อนที่ด้วยอิเล็กโทรโฟเรติกโมบิลิตี้ เนื่องจากสารตัวอย่างละลาย อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์เจือจางจึงมีความต้านทานสูง (resistivity) (Chien, & Bugr, 1992) ความแรงของสนามไฟฟ้าบริเวณสารตัวอย่างจะสูงกว่าในสารละลายบัฟเฟอร์ เป็นเหตุให้สาร ตัวอย่างเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วไปยังบริเวณรอยต่อระหว่างสารละลายบัฟเฟอร์และเคลื่อนที่ต่อไปยัง ตัวตรวจวัด การที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วภายในคาปิลลารีมีผลทำให้ลักษณะของพืชที่ได้ มีรูปร่างสมมาตรความกว้างของฐานพืชแคบ ผลการทดลองที่ได้จากการใช้เทคนิค stacking แสดงดังภาพ 14 พบว่าแนวโน้มของไมเกรชันโทมลดลงเมื่อเวลาในการนำสารตัวอย่างเข้า คาปิลลารีมากขึ้น เนื่องจากว่าเมื่อใช้เวลามากขึ้น สารตัวอย่างสามารถเข้าไปในคาปิลลารีได้ ระยะทางมากขึ้นจึงทำให้ไมเกรชันโทมที่ได้ลดลงและเมื่อพิจารณาสภาพไว โดยพิจารณาในเทอม ของความสูงพืช พบว่าความสูงพืชเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารี ซึ่ง แสดงดังภาพ 15 เป็นการพลอตระหว่างเวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารีกับความสูงพืชโดย ใช้เทคนิค stacking เห็นได้ว่าเทคนิคนี้ช่วยเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์ในเทคนิคคาปิลลารีอิ เลกโทรโฟเรซิสและเมื่อเปรียบเทียบกับการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารีโดยไม่ได้ใช้เทคนิค stacking โดยการเปรียบเทียบกับอิเล็กโทรเฟอร์โรแกรมของภาพ 13 ซึ่งเป็นอิเล็กโทรเฟอร์โร แกรมของสารผสมฟีนอลที่นำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารีโดยไม่ได้ใช้เทคนิค stacking (สารตัวอย่างละลายในเมทานอล) จะเห็นว่ารูปร่างของพืชโดยเฉพาะของ pentachlorophenol มีรูปร่างไม่สมมาตรและความกว้างฐานพืชกว้าง แต่รูปร่างของพืชที่ได้จากการใช้เทคนิค stacking มีความกว้างฐานพืชแคบ แต่การใช้เทคนิค stacking มีข้อจำกัดในเทอมค่าการแยก พบว่าที่เวลา 20 วินาที พืชของ 2,4-dinitrophenol กับพืช 2-methyl-4,6-dinitrophenol มีบางส่วนที่ซ้อนทับกัน ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารีในการใช้เทคนิค stacking คือ 15 วินาที ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่ได้ใช้เทคนิค stacking พบว่าเวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารี ที่เวลา 15 วินาที พืชของ 2-methyl-4,6-dinitrophenol กับพืช 2-chlorophenol มีบางส่วนเริ่ม ซ้อนทับกัน ในขณะที่เทคนิค stacking พืชสามารถแยกกันได้ดี การใช้เทคนิค stacking ให้ สภาพไวดีกว่าประมาณ 1.25 – 2.22 เท่า อย่างไรก็ตามเทคนิค stacking ไม่ได้นำมาใช้ในการเพิ่ม สภาพไว เนื่องจากว่าในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นตัวชะ ทำให้สุดท้าย แล้วสารตัวอย่างจะละลายอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งถ้านำตัวอย่างมาละลายในสารละลาย บัฟเฟอร์ที่เจือจางทำให้ตัวอย่างที่ได้เจือจางยิ่งขึ้น ซึ่งผลที่ตามมาคือจะทำให้เครื่องไม่สามารถ ตรวจวัดได้ จึงไม่ได้ใช้เทคนิคนี้ในการเพิ่มสภาพไวของการวิเคราะห์

6. การศึกษาองค์ประกอบของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรตในสารละลาย

เมธานอลและอะซิโตนไคร์ที่มีต่อการวิเคราะห์สารผสมฟินอลได้ผลการทดลองแสดงดังภาพ 16 ซึ่งแสดงอิเล็กโทรเฟอร์โรแกรมของสารผสมฟินอลที่เปอร์เซ็นต์ของอะซิโตนไคร์ต่าง ๆ และภาพ 17 ซึ่งแสดงอิเล็กโทรเฟอร์โรแกรมของสารผสมฟินอลที่เปอร์เซ็นต์ของเมธานอลต่าง ๆ พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณทั้งเมธานอลและอะซิโตนไคร์ ค่าไมเกรชันไทม์สูงขึ้น โดยเฉพาะของเมธานอลพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเมธานอลในสารละลายบัฟเฟอร์เป็น 30 เปอร์เซ็นต์ ไมเกรชันไทม์ของสารเพิ่มขึ้นมาก เหตุที่ไมเกรชันไทม์ที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นมาก เนื่องจากว่าตัวทำละลายอินทรีย์ไปลดอิเล็กโทรออสโมติกโฟล ทำให้สารเคลื่อนที่ช้าลง จึงทำให้ค่าไมเกรชันไทม์ของสารมากขึ้น (Schwer, & Kenndler, 1991 cited in Weinberger, 1993, p. 25) และนอกจากนี้ยังพบว่าที่ 10 เปอร์เซ็นต์ของเมธานอลและอะซิโตนไคร์ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรต ทำให้พีคของ 2-chlorophenol กับพีค 2-methyl-4,6-dinitrophenol ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ดังนั้นในการวิเคราะห์จึงไม่มีการเติมเมธานอลและอะซิโตนไคร์ลงในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรต

สรุปสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์สารกลุ่มฟินอลโดยวิธีคาปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส ดังตาราง 17

ตารางที่ 17 แสดงสถานะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกลุ่มฟินอลโดยวิธีคาปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส

สถานะที่ศึกษา	สถานะที่เหมาะสม
pH ของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรต	9.6
ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมบอเรต	20 มิลลิโมลต่อลิตร
อุณหภูมิ	35 องศาเซลเซียส
เวลาที่ใช้ในการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารี (ความดัน 50 มิลลิบาร์)	10 วินาที

7. การศึกษาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์สารกลุ่มฟินอล พบว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ที่อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.10 – 0.38 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าวิธีการนี้ให้ขีดจำกัดในการวิเคราะห์ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับของลิและล็อก (Li, & Locke, 1995) (ขีดจำกัดของการตรวจวัดอยู่ในช่วง 0.30 - 0.59) ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.25 – 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร การสร้างกราฟมาตรฐานผลที่ได้แสดงดังตาราง 6 สัมประสิทธิ์ของความ

สัมพัทธ์ (r^2) ของสารทุกตัวมากกว่า 0.999 ยกเว้น 2-methyl-4,6-dinitrophenol 0.9981 ความเข้มข้นของสารที่ให้กราฟเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.25-20.01 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการศึกษาความเที่ยงโดยใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์พื้นที่ที่สกัดอยู่ในช่วง 2.46 - 6.07 ความสูงของพีคอยู่ในช่วง 4.55 - 8.84 และไมเกรชันไทม์อยู่ในช่วง 1.50 - 2.72 แสดงให้เห็นว่าวิธีที่ทำการวิเคราะห์นี้ ให้ความเที่ยงในการวิเคราะห์สูง (Chao, & Whang, 1994) (Deng et al, 1998) การหาความแม่นยำของการนำสารตัวอย่างเข้าคาปิลลารี รายงานผลเป็นค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์พบว่าอยู่ในช่วง 0.02-5.81 ยกเว้นของ 4-chlorophenol-3-methyl-phenol 8.92

8. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างน้ำโดยวิธี solid-phase extraction โดยใช้เรซิน Amberlite-XAD-4 (polystyrene divinylbenzene) เป็นตัวดูดซับ โดยศึกษา pH ของสารละลายผสมฟีนอลและตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการชะสารกลุ่มฟีนอลออกจากตัวดูดซับ โดยดูประสิทธิภาพของร้อยละการกลับคืน ได้ผลดังตาราง 11 แสดงร้อยละการกลับคืนของสารละลายผสมฟีนอลที่ pH 2.0 และ 5.0 พบว่าที่ pH 5.0 ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 82 - 93 ยกเว้น 2,4-dinitrophenol ให้ร้อยละการกลับคืน 35 ที่ pH 2.0 ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 82 - 95 เหตุที่ pH 5.0 ร้อยละการกลับคืนของ 2,4-dinitrophenol ได้เพียง 35 เนื่องจากว่า pK_a ของ 2,4-dinitrophenol เท่ากับ 4 เนื่องจากที่ pH 5.0 ($pH > pK_a$) สารสามารถแตกตัวเป็นไอออน ทำให้ดูดซับบนเรซินซึ่งมีสมบัติเป็นสารไม่มีขั้ว (non-polar) ได้ไม่ดีทำให้ร้อยละการกลับคืนที่ได้มีค่าต่ำ จึงพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือสารละลาย pH 2.0 เนื่องจากที่ pH 2.0 สารกลุ่มฟีนอลจะไม่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (Onodera et al, 1993) เนื่องจากค่า pK_a ของสารกลุ่มนี้อยู่ในช่วง 4.00 - 10.59 จึงสามารถดูดซับบนเรซินซึ่งมีสมบัติเป็นสารไม่มีขั้วได้ดี

ได้ทำการศึกษาคำทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการชะสารกลุ่มฟีนอลออกจากตัวดูดซับ คำทำละลายอินทรีย์ที่ทำการศึกษาได้แก่ เมธานอลและอะซิโตไนไตร์ จากตาราง 12 พบว่าเมื่อใช้เมธานอลเป็นตัวชะมีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 73.2 - 93.4 ยกเว้น 2-nitrophenol มีค่าร้อยละการกลับคืน 51.7 และใช้อะซิโตไนไตร์เป็นตัวชะมีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 84.2 - 100.4

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลการชะด้วยเมธานอลและอะซิโตไนไตร์ที่ได้จากตาราง 14 โดยใช้ค่าทางสถิติ F-test ที่ความเชื่อมั่น 95 % F-test จากการทดลองน้อยกว่า F-test จากตาราง แสดงข้อมูลมีความแปรปรวนไม่แตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการชะโดยใช้ค่า t-test ตาราง 15 ระหว่างการชะด้วยเมธานอลและอะซิโตไนไตร์ พบว่าการชะด้วยเมธานอลและอะซิโตไนไตร์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญสำหรับ 4-chloro-3-methylphenol

2,4-dichlorophenol 4-nitrophenol และ 2-nitrophenol ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ให้ร้อยละการกลับคืนสูงกว่าเมธานอล การชะด้วยอะซิโตนไคโรให้ร้อยละการกลับคืนสูงกว่าเมธานอล เนื่องมาจากว่าอะซิโตนไคโรเป็นสารที่มีขั้วแรงกว่าเมธานอลจึงสามารถทำการชะสารกลุ่มฟีนอลได้ดีกว่าเมธานอล ดังนั้นจึงเลือกใช้อะซิโตนไคโรเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการชะสารกลุ่มฟีนอล

การเตรียมตัวอย่างน้ำโดยวิธี solid-phase extraction นี้สามารถทำให้ตัวอย่างเข้มข้นขึ้น ทำให้สามารถวิเคราะห์สารที่มีความเข้มข้นต่ำได้และวิธีการเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยากซับซ้อน ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นและใช้ตัวทำละลายอินทรีย์น้อย ซึ่งทำให้ประหยัดสารเคมีที่ใช้ ลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์และให้ค่าร้อยละการกลับคืนสูง

9. การหาปริมาณสารกลุ่มฟีนอลในตัวอย่างน้ำจาก โรงงานผลิตเรซิน, โรงกลั่นน้ำมัน โรงงานกระดาษและฟาร์มไก่ พบฟีนอลจากโรงงานผลิตเรซิน แสดงอิเล็กโทรเฟอร์โรแกรมดังภาพ 18 ซึ่งพบว่าไมเกรชั่นโทม์ของฟีนอลเกิดการ Shift เพื่อที่จะยืนยันว่าเป็นฟีนอลได้แสดงสเปกตรัมดังภาพ 30 ปริมาณฟีนอลที่พบ 42.3 ± 2.9 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นโรงงานผลิตเรซินชนิดฟีนอลิกเรซิน ซึ่งใช้ฟีนอลเป็นวัตถุดิบในการผลิตจึงพบปริมาณฟีนอล และที่ฟาร์มไก่พบ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล (2,4,6-trichlorophenol) 44.8 ± 2.4 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล (2,4-dichlorophenol) 49.2 ± 2.1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ เนื่องจากฟาร์มไก่มีการใช้น้ำยาทำความสะอาดโรงเรือนเป็นสารจำพวกฟีนอลซึ่งมีส่วนประกอบของสารกลุ่มฟีนอล ส่วนแหล่งน้ำจากโรงกลั่นน้ำมันและโรงงานกระดาษไม่พบสารกลุ่มฟีนอล อาจเนื่องมาจากว่าน้ำเสียที่นำมาวิเคราะห์เป็นน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วจึงไม่พบสารกลุ่มฟีนอล