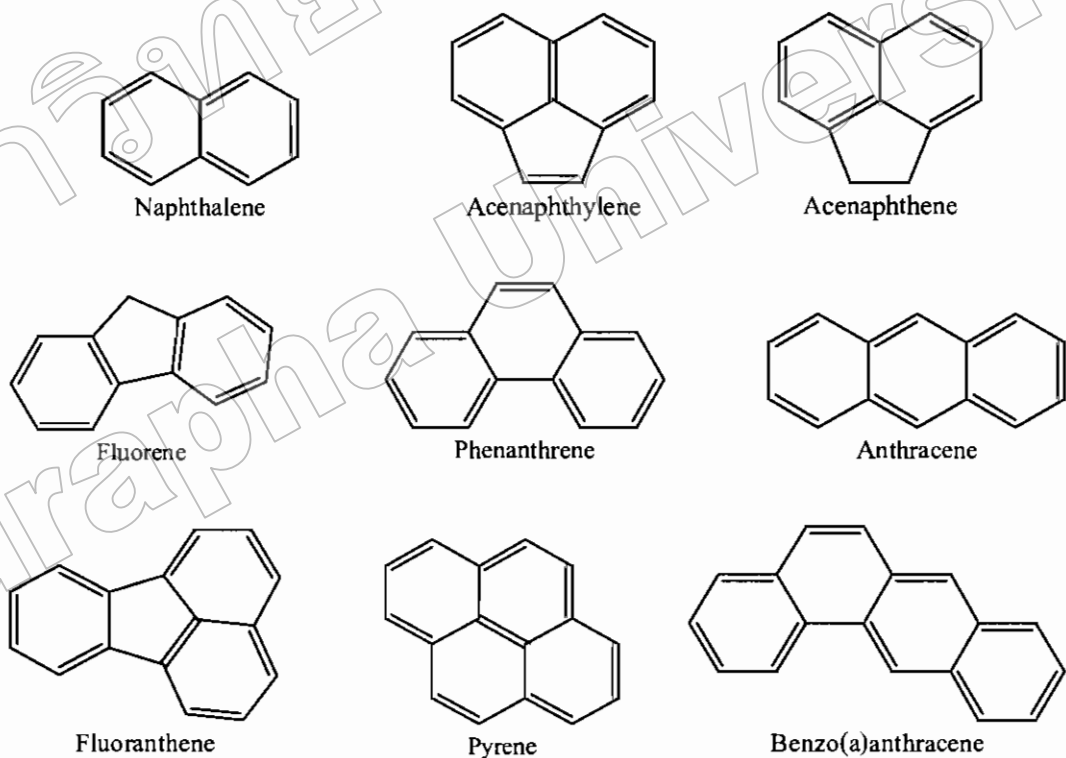


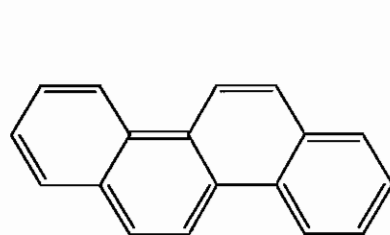
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

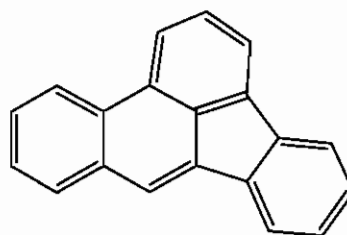
Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs) ประกอบด้วยสารที่มีสูตรโครงสร้างหลักแตกต่างกันมากมายและแต่ละสูตรโครงสร้างหลักประกอบด้วยอนุพันธ์ต่าง ๆ สำหรับ PAHs ที่เป็นสารก่อมะเร็งและทำให้เกิดการกลายพันธุ์ซึ่ง USEPA กำหนดไว้ 16 ชนิด ได้แก่ Naphthalene, Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo[a]anthracene, Chrysene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[a]pyrene, Dibenzo[a,h]anthracene, Benzo[g,h,i]perylene และ Indeno[1,2,3-cd]pyrene (Rodil et al., 2007) มีโครงสร้างดังภาพที่ 2-1



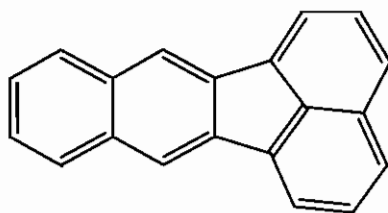
ภาพที่ 2-1 แสดงโครงสร้างของ PAHs ทั้ง 16 ชนิด



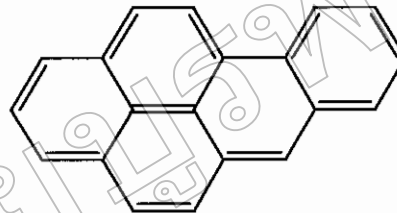
Chrysene



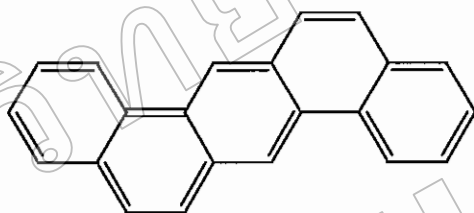
Benzo(b)fluoranthene



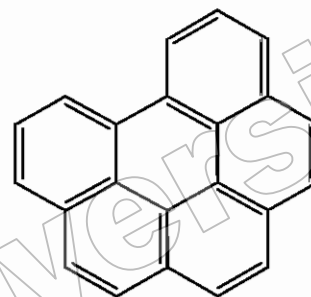
Benzo(k)fluoranthene



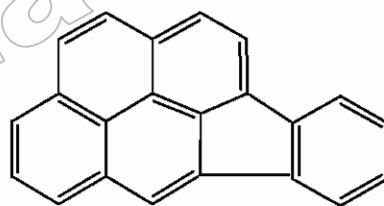
Benzo(a)pyrene



Dibenzo(a,h)anthracene



Benzo(g,h,i)perylene



Indeno(1,2,3cd)pyrene

ภาพที่ 2-1 (ต่อ)

การวิเคราะห์หาปริมาณ PAHs ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีเป็นที่นิยมน้อย่างกว้างขวาง โดยส่วนใหญ่แตกต่างกันที่วิธีการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง วิธีที่นิยมใช้กันมาตั้งแต่เดิมคือ เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (Liquid-liquid Extraction) และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (Solid-phase Extraction) แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี

Lin et al. (2005) ได้เสนอการคำนวณ ค่าความเข้มข้นของ PAHs ในชาที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ (Sanitary Standards of PAHs for Tea) เรียกอย่างย่อว่า SST การคำนวณคิดจากปริมาณการบริโภคชาเท่ากับ 10 กรัมของชาแห้งต่อ 1 คนต่อ 1 วัน และใช้เวลาชงชา 10 นาที พบว่าค่า SST ของใบชามีค่าอยู่ระหว่าง 0.1-110 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ PAHs ทั้ง 16 ชนิด จากนั้นได้ทำการวิเคราะห์หา PAHs ทั้ง 16 ชนิดในตัวอย่างใบชาและน้ำชา 8 ยี่ห้อ ใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลวในเครื่องอุลตราโซนิก และใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ครั้งละ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำชา 50 มิลลิลิตร พบ PAHs ที่มีวงเบนซีน 3-4 วงในใบชาทั้งหมด 8 ยี่ห้อ สำหรับในน้ำชาพบเฉพาะ PAHs ที่มีวงเบนซีน 2-3 วง ผลจากการวิเคราะห์พบว่าปริมาณรวมของ PAHs ทั้ง 16 ชนิดที่ได้รับจากชาดำมีค่าเท่ากับ 6.36 ไมโครกรัมต่อวัน ซึ่งไม่เกินค่า SST

Martinez, Gros, Lacorte, and Barcelo (2004) ได้ทำการศึกษาเทคนิคการสกัดที่มีประสิทธิภาพสำหรับวิเคราะห์หา PAHs 16 ชนิดในตัวอย่าง น้ำบาดาล ดินตะกอน และหอยแมลงภู่ โดยตัวอย่างน้ำบาดาลใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งและหอยแมลงภู่ใช้ตัวอย่างดินตะกอนใช้การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว 2 วิธี ได้แก่ การสกัดโดยใช้ Soxhlet และการสกัดในเครื่องอุลตราโซนิก สำหรับการสกัดด้วย Soxhlet ใช้เวลาในการสกัด 24 ชั่วโมงและใช้ตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ส่วนการสกัดด้วยเครื่องอุลตราโซนิกใช้ตัวทำละลาย 30 มิลลิลิตร เมื่อผ่านกระบวนการสกัดทั้งสองวิธีแล้ว ต้องนำมา Clean-up โดยใช้ Solid-phase Extraction Cartridge ที่มีลูมินาปริมาณ 5 กรัมและต้องชะด้วยตัวทำละลายผสมทั้งหมด 200 มิลลิลิตร ส่วนตัวอย่างหอยแมลงภู่ใช้การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลวทั้ง 2 วิธีเช่นเดียวกับตัวอย่างดินตะกอน และการสกัดแบบ Pressurized Liquid Extraction ซึ่งใช้ความดันและอุณหภูมิสูง เมื่อผ่านกระบวนการสกัดทั้ง 3 วิธีแล้ว ได้มีการนำตัวอย่างที่สกัดได้มาทำเจสการบกรวณด้วยการไดเจสท์ (Digest) ด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไปผ่านกระบวนการ Clean-up เช่นเดียวกับตัวอย่างดินตะกอน ตัวอย่างที่เตรียมเรียบร้อยแล้วถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ผลการวิจัยพบว่า ในการสกัดตัวอย่างน้ำบาดาล วัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมและให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุด คือ C_{18} สำหรับตัวอย่างดินตะกอนการสกัดด้วยเครื่องอุลตราโซนิกมีข้อดีกว่า คือใช้เวลาในการสกัดน้อยกว่า สำหรับตัวอย่างหอยแมลงภู่ พบว่าวิธีสกัดแบบ Pressurized Liquid Extraction ให้ร้อยละการได้กลับคืนสูงที่สุด

Xie, Xie, Deng, and Zhuang (2003) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับขั้นตอนการ Clean-up ของการสกัดโดยใช้ ซิลิกาเป็นวัฏภาคของแข็ง เพื่อวิเคราะห์หา PAHs 16 ชนิดในตัวอย่างฝุ่นละอองที่เก็บจากอากาศ ก่อนการสกัดต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนโดยโซนิเกต ด้วยไดคลอโรมีเทนปริมาตร 25 มิลลิลิตร 4 ครั้ง ซิลิกาคอลัมน์ที่ใช้ในการสกัดต้องผ่านการเตรียมสภาวะ

ก่อนด้วย ไคคลอโรมีเทน และ เฮกเซน จากนั้นทำให้แห้งด้วยระบบสุญญากาศเป็นเวลา 5 นาที จึงใส่ตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในคอลัมน์แล้วทำให้แห้งด้วยระบบสุญญากาศเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นชะด้วยไคคลอโรมีเทน 20% ในตัวทำละลายเฮกเซน อัตราการไหลของตัวอย่างในขั้นตอนการสกัดคือ 1 มิลลิลิตรต่อนาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS

Anyakora et al. (2005) ได้ศึกษาการวิเคราะห์ PAHs 16 ชนิดในดินตะกอนบริเวณ Niger Delta ของประเทศไนจีเรีย เนื่องจากพื้นที่บริเวณนี้มีโรงงานผลิตปิโตรเคมีกันจำนวนมาก และก่อตั้งขึ้นมาเป็นเวลาหลายทศวรรษแล้ว จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะเกิดการสะสมของ PAHs ในดินบริเวณนี้ ตัวอย่างดินตะกอนเก็บจากบริเวณที่พบว่าเคยเกิดการรั่วไหลของน้ำมัน หรืออยู่ใกล้แหล่งผลิตน้ำมัน โดยเก็บมาจากก้นแม่น้ำ ภายในหลุมหลบภัย และบ่อน้ำ นำมาสกัดด้วย Soxhlet โดยใช้ไคคลอโรมีเทน 150 มิลลิลิตร สกัดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ผลการวิเคราะห์พบปริมาณ PAHs ที่ประกอบด้วยวงเบนซีน 5-6 วงในปริมาณสูงกว่าชนิดอื่น งานวิจัยนี้ยังแสดงให้เห็นว่า PAHs มีความทนทานสูงต่อการสลายตัวทางธรรมชาติด้วยจุลินทรีย์

จากงานวิจัยที่มีการศึกษามาข้างต้นจะเห็นได้ว่าการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว มีข้อเสียคือ ใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์และเวลาสูง ส่วนการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งนั้นมีขั้นตอนยุ่งยาก ต้องเตรียมตัวอย่างก่อนนำมาสกัด จึงได้มีงานวิจัยมากมายที่ทำการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการสกัดต่าง ๆ ดังนี้

King, Readman, and Zhou (2004) ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (Solid-phase Microextraction หรือ SPME) เพื่อแยกและวิเคราะห์ PAHs 16 ชนิด ในตัวอย่างสารละลาย การสกัดเกิดขึ้นโดย PAHs จะถูกดูดซับอยู่บนเส้นใยของฟิวส์ซิลิกา (Fused Silica) ที่มีพอลิไดเมทิลไซลอกเซน (Polydimethylsiloxane) เคลือบอยู่ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ได้โดยตรงเมื่อนำเข็ม SPME ฉุดเข้าไปในระบบนำเข้าของ GC ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมพบว่า การสกัดให้ประสิทธิภาพดีเมื่อใช้เวลาในการสกัด 45 นาที และปั่นกวาสารละลายด้วยเครื่องอัลตราโซนิกโดยไม่ต้องใช้ความร้อนและปรับค่าพีเอช

Wei and Jen (2007) ได้นำเทคนิคการสกัด Headspace Solid-phase Microextraction (HS-SPME) มาใช้ร่วมกับเครื่องไมโครเวฟเพื่อวิเคราะห์ PAHs 16 ชนิดในตัวอย่างสารละลาย โดยที่ PAHs จะกลายเป็นไอด้วยรังสีจากไมโครเวฟ จากนั้นจะถูกดูดซับบนเส้นใยฟิวส์ซิลิกา หลังจากนั้นนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของชนิดพอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบบนเส้นใยฟิวส์ซิลิกา สภาวะของไมโครเวฟที่ทำให้เกิดการดูดซับ อุณหภูมิของระบบหมุนเวียนของน้ำ และอุณหภูมิส่วนนำสารเข้าของเครื่อง GC ที่ทำให้เกิดการคายตัวของ PAH ที่ถูกดูดซับบนเส้นใยฟิวส์ซิลิกา ผลการศึกษาพบว่า ใช้พลังงานจากไมโครเวฟ 145 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้สารที่เคลือบเป็น พอลิ

โคเมทิลไซลอกเซน/ไคไวนิลเบนซีน ความหนา 65 ไมโครเมตร โดยมีน้ำหนักแห้งเหลือเย็นตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 20 °C สำหรับสถานะที่เครื่อง GC คือ อุณหภูมิของส่วนนำสารเข้าอยู่ที่ 290 °C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสถานะที่ได้มาวิเคราะห์หา PAHs ในตัวอย่างน้ำผิวดินและน้ำจากกระบวนการกำจัดกลิ่นคาว วิธีนี้ปราศจากตัวทำละลายอินทรีย์และเหมาะสมสำหรับตัวอย่างที่มีสารเจือปนสูง

เทคนิค SPME เป็นการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย ปราศจากการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ สะดวก และใช้อุปกรณ์ราคาไม่แพง เป็นที่นิยมอย่างกว้างขวาง สามารถใช้กับตัวอย่างได้หลากหลายประเภท สามารถนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับเครื่อง Gas Chromatography (GC) High-performance Liquid Chromatography (HPLC) รวมทั้ง Capillary Electrophoresis (CE) ได้อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามพอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบเส้นใยฟิวส์ซิลิกา มีราคาแพง มีขีดจำกัดเรื่องอายุการใช้งาน และต้องระมัดระวังมิให้เกิดการปนเปื้อนข้ามจากตัวอย่างแรกไปยังตัวอย่างถัดไป (Carry-over) ในขั้นตอนการทำให้สารคายตัวสู่เครื่อง GC ต่อมาจึงได้พัฒนามาเป็นการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลว (Liquid-phase Microextraction หรือ LPME) โดยมีวารสารตีพิมพ์ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1996 ซึ่งเป็นผลงานวิจัยของ คณะของ Dasgupta และคณะของ Cantwell หลังจากนั้นก็มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยเทคนิค LPME ตีพิมพ์ลงในวารสารต่าง ๆ เป็นต้นมา กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค LPME นั้นเริ่มต้นจากการนำหยดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ติดอยู่ที่ปลายเข็มฉีดยา GC ไปจุ่มลงในสารละลายตัวอย่างที่เป็นน้ำ การสกัดเกิดขึ้น โดยสารที่เราสนใจถูกสกัดเข้าไปในหยดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ติดอยู่ที่ปลายเข็ม เมื่อเสร็จสิ้นการสกัดหยดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสารที่เราสนใจอยู่ถูกดูดกลับเข้าไปในเข็มแล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC ได้ทันที ถึงแม้ว่าวิธีการนี้เป็นวิธีการที่ง่ายและมีประสิทธิภาพ รวมทั้งลดปริมาณตัวทำละลายลงมากเมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิม โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในระดับไมโครลิตร แต่ยังมีข้อจำกัดในเรื่องความคงตัวของหยดตัวทำละลายอินทรีย์ ทำให้เกิดการสูญเสียไปในระหว่างการสกัด (Pedersen-Bjergaard and Rasmussen, 2008)

Pederson-Bjergaard และ Rasmussen จึงได้พัฒนาเทคนิคการสกัดโดยนำเมมเบรนชนิดเส้นใยกลวง (Hollow Fiber) มาใช้ในการสกัดด้วยเทคนิค LPME โดยเมื่อนำเมมเบรนซึ่งมีรูพรุนจุ่มลงในตัวทำละลายอินทรีย์ รูพรุนที่ผนังของเมมเบรนจะถูกบรรจุด้วยตัวทำละลายซึ่งเกิดจากแรงแคปิลลารีระหว่างเส้นใยของผนังเมมเบรนกับตัวทำละลาย ดังนั้นตัวทำละลายจะคงอยู่ในรูพรุนที่ผนังเมมเบรน ผนังที่บรรจุตัวทำละลายในรูพรุนนี้เปรียบเสมือนเป็นวัฏภาคที่ใช้ในการสกัด เมื่อบรรจุตัวทำละลายลงในรูกลวงตรงกลางของเมมเบรนแล้ว ตัวทำละลายนี้ทำหน้าที่เป็นสารละลายผู้รับ (Acceptor Solution) จากนั้นสารที่เราสนใจถูกสกัดจากสารละลายตัวอย่าง (Donor Solution) เข้าไปในตัวทำละลายอินทรีย์ที่อยู่ในรูพรุน แล้วจึงแพร่เข้าไปในตัวทำละลายที่อยู่ในรูกลวงของเมม

เบรณ ผันของเมมเบรณนี้จะทำหน้าที่แยกระหว่าง Acceptor Solution กับ Donor Solution ด้วย เมื่อการสกัดเสร็จสิ้นลง ตัวทำละลายอินทรีย์ที่อยู่ในรูกลวงสามารถนำมาวิเคราะห์ได้โดยตรงกับเครื่องมือทางเคมีวิเคราะห์ (Pedersen-Bjergaard and Rasmussen, 2008) เทคนิคนี้ได้มีผู้ศึกษาอย่างแพร่หลาย และนำไปใช้วิเคราะห์กับตัวอย่างชนิดต่าง ๆ ดังนี้

Basheer, Lee, and Obbard (2002) ได้ศึกษาการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของเหลวโดยใช้เมมเบรณชนิดเส้นใยกลวง (Hollow Fiber Membrane Liquid-phase Microextraction) ในการวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine Pesticides หรือ OCPs) ที่อยู่ในน้ำทะเล โดยชนิดของเมมเบรณที่ใช้ได้แก่ พอลิพรอพิลีน (Polypropylene) ความยาว 1.3 เซนติเมตร ปลายด้านหนึ่งของเมมเบรณมีปลายเข็ม GC เสียบอยู่ตลอดเวลาการสกัดเพื่อใช้บรรจุตัวทำละลายลงไป และดูดตัวทำละลายขึ้นมาหลังการสกัดเสร็จสิ้น เข็มนี้ถูกยึดไว้ด้วยขาค้างและที่หนีบ ระหว่างการสกัดทำการปั่นกวนด้วยเครื่องปั่นกวนด้วยแม่เหล็ก (Magnetic Stirrer) สภาพที่ศึกษาได้แก่ ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม เวลาในการสกัด ผลของพีเอชสารละลายตัวอย่าง ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์ในสารละลายตัวอย่าง อัตราเร็วในการปั่นกวน และอุณหภูมิของสารละลายตัวอย่าง จากการศึกษพบว่า ใช้โทลูอีนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ปริมาตร 5 ไมโครลิตร และพีเอชของสารละลายตัวอย่างเท่ากับ 2 โดยไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ อัตราการปั่นกวนที่ 900 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 °C จากนั้นนำสถานะที่ได้มาใช้สกัดตัวอย่างน้ำแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี ผลที่ได้พบว่างานวิจัยนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณ OCPs ได้ในระดับไมโครกรัมต่อลิตร เป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย มีประสิทธิภาพสูง ลดเวลาและปริมาณการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีสารเจือปนหลากหลายชนิด

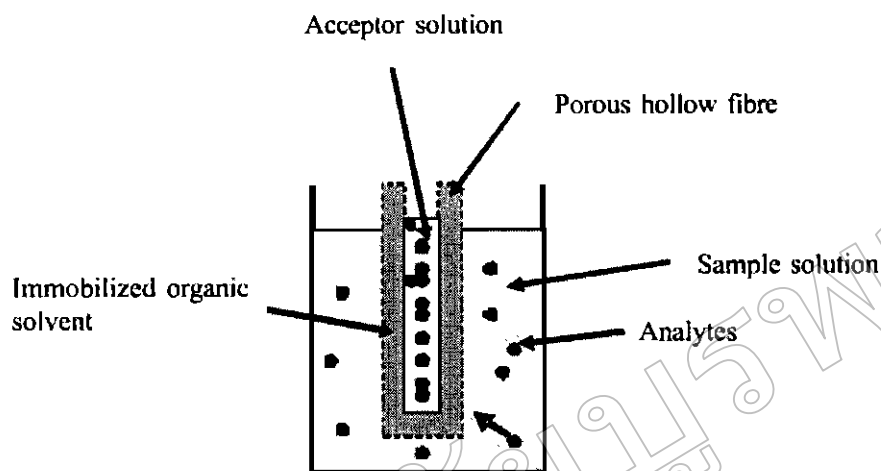
King, Meyer, and Andrews (2002) ได้ศึกษาการวิเคราะห์หา PAHs 6 ชนิด ในตัวอย่างดินโดยใช้เทคนิคการสกัด แบบ LPME ใช้เมมเบรณชนิดพอลิพรอพิลีนความยาว 6.5 เซนติเมตร ปิดปลายด้านหนึ่งโดยใช้เปลวไฟ เมมเบรณถูกเสียบผ่านเซปตัม เพื่อใช้เป็นที่ยึดโดยไม่ต้องใช้ขาค้างและที่หนีบ ปลายด้านที่เปิดใส่แผ่นเซปตัมขึ้นมาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วเซปตัมนี้ใช้ปิดขวดแก้ว (Vial) ขนาด 22 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุตัวอย่างไว้ การบรรจุตัวทำละลายใช้เข็ม GC เสียบเข้าไปในรูกลวงของ เมมเบรณด้านปลายเปิดที่ใส่แผ่นเซปตัมขึ้นมา สภาพที่ศึกษาได้แก่ เวลาในการสกัด อัตราเร็วในการปั่นกวน ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด และปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ฉีดเข้าเครื่อง GC จากโดยใช้ออกเทนเป็นตัวทำละลายในการสกัดปริมาตร 8 ไมโครลิตร เป็นเวลา 8 นาที ที่อัตราการปั่นกวน 800 รอบต่อนาที จากนั้นใช้ปริมาตรที่สกัดได้ 4 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี สภาพที่ได้นำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หา ปริมาณ PAHs

ในตัวอย่างดิน วิธีการนี้พบว่าให้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) ต่ำ ในระดับไมโครกรัม เป็นวิธีที่ราคาไม่สูง รวดเร็ว เป็นการเพิ่มความเข้มข้นตัวอย่างและไม่ต้องกรองหรือเตรียมตัวอย่างก่อนที่นำมาสกัด

Narongchai Vora-adisak and Pakorn Varanusupakul (2006) ได้ศึกษาการสกัดแบบ LPME โดยใช้เมมเบรนชนิดเส้นใยกลวง สำหรับการวิเคราะห์สารกลุ่มไตรฮาโลมีเทนในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เข็มฉีดยาเสียบที่ปลายทั้งสองข้างของเมมเบรน ผ่านเชปดัมที่มีฝาเกลียวสำหรับปิดขวดแก้วที่บรรจุสารละลายตัวอย่าง โดยที่เข็มฉีดยานั้นต่อกับหลอดฉีดยาไว้เพื่อไม่ให้เกิดการสูญเสียดัวยที่ละลายในระหว่างการสกัด ใช้เข็ม GC บรรจุตัวทำละลายเข้าที่ด้านใดด้านหนึ่งของปลายเมมเบรน แล้วนำกลับไปเสียบกับเข็มฉีดยาเช่นเดิมทันที สภาวะที่ศึกษาได้แก่ ชนิดของเมมเบรน ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม เทคนิคการสกัด (เฮดสเปซและฉีดเข้าโดยตรง) เวลาในการสกัด และปริมาตรตัวอย่าง จากการศึกษาพบว่าเมมเบรนชนิดพอลิพรอพิลีนให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดีกว่าพอลิซัลโฟนโดยใช้ 1-ออกทานอล เป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที โดยปราศจากการปั่นควน สภาวะที่ได้สามารถเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างได้ 28-62 เท่า จากนั้นนำวิธีการนี้มาสกัดตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำก๊อก แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC พบว่าขีดจำกัดของการตรวจวัดที่ได้ต่ำกว่าการสกัดด้วยหยดตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีนี้ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่สลับซับซ้อนและราคาแพง ไม่ต้องใช้ขวดตั้งและที่หนีบยึด รวมทั้งไม่ต้องใช้การปั่นควนอีกด้วย

หลักการสกัดระดับจุลภาคด้วยวิทยาการของเหลว

ก่อนการสกัดเตรียมสารละลายตัวอย่างที่จะนำมาสกัดลงในขวดแก้ว สำหรับสารละลายที่เป็นกรดหรือเบส ปรับพีเอชให้เหมาะสมก่อนการสกัด ในส่วนของเมมเบรนชนิดเส้นใยกลวงอาจมีลักษณะเป็นแท่งปลายปิดหรือปลายเปิดทั้งสองด้านเป็นรูปตัวยูก็ได้ ขึ้นแรกของการสกัดเริ่มต้น โดยนำเมมเบรนจุ่มลงในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ เป็นเวลา 2-3 วินาที เพื่อให้ตัวทำละลายเข้าไปอยู่ในรูพรุนที่ผนังของเมมเบรน ปริมาตรของตัวทำละลายเท่ากับความหนาของผนังเมมเบรน จากนั้นกำจัดตัวทำละลายที่มากเกินไป (อาจใช้การเป่าลมด้วยเข็ม GC) แล้วบรรจุสารละลาย Acceptor Solution ลงในช่องกลวงตรงกลางของเมมเบรน กระบวนการสกัดที่เกิดขึ้นแสดงได้ดังภาพที่ 2-2



ภาพที่ 2-2 แสดงหลักการเบื้องต้นของการสกัดด้วยเทคนิค LPME (Rasmussen & Pedersen-Bjergaard, 2004)

สารที่เราสนใจถูกสกัดจากสารละลายตัวอย่างเข้าไปยังตัวทำละลายอินทรีย์ที่อยู่ในรูพรุนของเมมเบรน แล้วเข้าสู่ Acceptor Solution ที่อยู่ในช่องกลางของเมมเบรน ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังสมการที่ 1

$$A_{Sample} \leftrightarrow A_{Acceptor} \quad (1)$$

เมื่อ A คือ สารที่เราสนใจ สำหรับค่าคงที่การกระจายตัว (Partition Coefficient หรือ K) แสดงดังสมการที่ 2

$$K_{Acceptor / Sample} = \frac{C_{eq, Acceptor}}{C_{eq, Sample}} \quad (2)$$

เมื่อ $C_{eq, Acceptor}$ คือ ความเข้มข้นของ A ใน Acceptor Solution ที่สภาวะสมดุล และ $C_{eq, Sample}$ คือ ความเข้มข้นของ A ในสารละลายตัวอย่าง ที่สภาวะสมดุล ร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3

$$R = \frac{K_{Acceptor / Sample} V_{Org}}{K_{Acceptor / Sample} V_{Org} + V_{Sample}} \times 100\% \quad (3)$$

เมื่อ V_{Org} คือ ปริมาตรของตัวทำละลายทั้งหมดในระบบ (ผลรวมของปริมาตรตัวทำละลายที่อยู่ในรูปของเหลวและที่อยู่ในช่องกลางของเมมเบรน)

และ V_{Sample} คือ ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง

จากสมการที่ 3 เราสามารถคำนวณร้อยละการได้กลับคืน ซึ่งค่าที่ได้ขึ้นอยู่กับค่าคงที่การกระจายตัว ปริมาตรตัวทำละลาย และปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง สารที่สกัดแล้วให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนสูงแสดงว่ามีค่าคงที่การกระจายตัวสูง ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ค่าพีเอชของสารละลายที่เหมาะสมในกรณีที่สารละลายเป็นกรดหรือเบส และบางกรณีอาจมีการเติมเกลือลงไปในสารละลายตัวอย่างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด นอกจากนี้ถ้าปริมาตรสารละลายตัวอย่างน้อยลงยังมีผลทำให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนสูงขึ้นอีกด้วย (Pedersen-Bjergaard & Rasmussen, 2008)

ค่า Enrichment Factor (Narongchai Vora-adisak & Pakorn Varanusupakul, 2006)

ค่า Enrichment Factor แสดงถึงประสิทธิภาพในการสกัดที่บอกถึงความสามารถในการเพิ่มความเข้มข้นของสารที่เราสนใจหลังจากผ่านกระบวนการสกัดแล้ว สำหรับค่า Enrichment Factor นี้สัมพันธ์กับปริมาตรของตัวอย่างและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด แสดงดังสมการที่ 4

$$\text{Enrichment Factor} = \frac{C_{org}}{C_{Sample}} = \frac{n_{org} V_{Sample}}{n_o V_{Org}} \quad (4)$$

เมื่อ C_{org} คือ ความเข้มข้นของสารที่เราสนใจที่ถูกสกัดอยู่ในตัวทำละลาย

C_{Sample} คือ ความเข้มข้นของสารที่เราสนใจก่อนการสกัดในสารละลายตัวอย่าง

V_{Sample} คือ ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง

V_{org} คือ ปริมาตรของตัวทำละลาย

ค่าขีดจำกัดสูงสุดของปริมาณ PAHs ที่ยอมรับได้ (Maximum Contaminant Level หรือ MCL)

สำหรับ PAHs ทั้ง 16 ชนิด ที่ USEPA กำหนดให้เป็นสารก่อมะเร็งและทำให้เกิดการกลายพันธุ์ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้นนั้น (Rodil et al., 2007) USEPA จึงได้กำหนดเกณฑ์มาตรฐานเพื่อควบคุมปริมาณ PAHs ในน้ำดื่มออกมาเพื่อความปลอดภัยทางด้านสุขอนามัยของผู้บริโภค เนื่องจาก Benzo[a]pyrene เป็น PAHs ที่มีความเป็นพิษสูงที่สุดจึงกำหนดให้น้ำดื่มมีปริมาณของ Benzo[a]pyrene เกือปนได้ไม่เกิน 0.2 ไมโครกรัมต่อลิตร (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2008)

Lin et al. (2005) ได้ทำการศึกษาค่าขีดจำกัดสูงสุดของปริมาณ PAHs ที่ยอมรับได้ (Maximum Contaminant Level หรือ MCL) สำหรับ PAHs ชนิดอื่นนอกจาก Benzo[a]pyrene ในน้ำดื่ม โดยพบว่าค่า MCL ของ PAHs ทุกชนิดสามารถหาได้จากค่า Toxic Equivalency Factors หรือ TEFs ดังนี้

$$MCL = 0.2 \text{ ไมโครกรัมต่อลิตรของ Benzo[a]pyrene} / \text{TEFs} \quad (5)$$

ค่า Toxic Equivalency Factors (TEFs) ของ PAHs นี้ได้จากงานวิจัยของ Nisbet and Lagoy (1992) เป็นค่าที่แสดงถึงความเป็นพิษของ PAHs แต่ละชนิดโดยเปรียบเทียบ PAHs ชนิดอื่นกับ Benzo[a]pyrene ที่มีความเป็นพิษสูงสุด ซึ่งกำหนดให้ Benzo[a]pyrene มีค่า TEFs เท่ากับ 1 โดยสัมพันธ์กับค่า TEFs ของ PAHs ชนิดอื่นที่มีความเป็นพิษน้อยกว่า ดังนั้นค่า TEFs ของ PAHs ชนิดอื่นที่ได้จึงมีค่าน้อยกว่า 1 จากนั้นเมื่อนำค่า TEFs นี้ไปแทนค่าในสมการที่ 4 จะได้ค่า MCL ของ PAHs แต่ละชนิด ดังในตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 ค่า TEFs (Nisbet & Lagoy, 1992) และค่า MCL ของ PAHs ทั้ง 9 ชนิด

PAHs	TEFs	MCL (ไมโครกรัมต่อลิตร)
Acenaphthylene	0.001	200
Acenaphthene	0.001	200
Fluorene	0.001	200
Phenanthrene	0.001	200
Anthracene	0.01	20
Fluoranthene	0.001	200
Pyrene	0.001	200
Benzo [a] anthracene	0.1	2
Chrysene	0.01	20

การคำนวณ

1. ค่าการแยก (Resolution หรือ R_s)

$$R_s = \frac{(t_{r2} - t_{r1})}{\frac{1}{2}(W_1 + W_2)} \quad (6)$$

เมื่อ t_{r1} คือ Retention Time ของพีคที่ 1 (พีคก่อน)

t_{r2} คือ Retention Time ของพีคที่ 2 (พีคหลัง)

W_1 คือ ความกว้างของฐานพีคที่ 1

W_2 คือ ความกว้างของฐานพีคที่ 2

2. ค่าเฉลี่ย (Mean หรือ $\bar{X}$)

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad (7)$$

เมื่อ X_i คือ ค่าที่ได้จากการวัดในแต่ละครั้ง

n คือ จำนวนครั้งที่วัด

3. ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation หรือ SD)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (8)$$

4. ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation หรือ RSD)

$$RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \quad (9)$$

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \quad (10)$$

5. ค่าร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery)

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C_{Std+Sample} - C_{Sample})}{C_{Std}} \times 100 \quad (11)$$

เมื่อ $C_{Std+Sample}$ คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

C_{Sample} คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

C_{Std} คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป