การวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างไดคลอโรฟีนอล ไตรคลอโรฟีนอล เพนตะคลอโรฟีนอล และไตรคลอโรแอนิซอล ในตัวอย่างกระดาษด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

ชัชลิฎา บุญพะเนียด[1,2]* ชญานี อรุณสมบูรณ์[3] ฐิติกา วงษ์มี[3] และ สมโภชน์ น้อยจินดา[4]

บทคัดย่อ

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้าง 2,4-dichlorophenol (DCP), 2,4,6-trichorophenol (TCP) pentachlorophenol (PCP) และ 2,4,6-trichoroanisole (TCA) ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยสกัดสารจากกระดาษด้วยวิธีซอกห์เลตร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิก ศึกษาผลของเวลาและชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัด พบว่าเวลาที่ใช้สกัดด้วยวิธีซอกห์เลต 16 ชั่วโมง กับเทคนิคอัลตราโซนิก 60 นาที โดยสกัดด้วย Ethyl Acetate ให้ค่าการวิเคราะห์คืนกลับสูงสุด ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างกระดาษสำหรับฉลากอาหารและบรรจุอาหาร 3 ชนิด กระดาษเบอร์ 113, Sack Kraft และ SB+PE วิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างได้ดังนี้ 0.00195 mg DCP/g Sample, 0.0012-0.00344 mg TCP/g Sample, 0.00169-0.01054 mg PCP/g Sample และ 0.00159-0.00174 mg TCA/g Sample

คำสำคัญ: 2,4-dichlorophenol (DCP), 2,4,6-trichorophenol (TCP) Pentachlorophenol (PCP), 2,4,6-trichoroanisole (TCA), Gas Chromatography, Paper

[1] อาจารย์ ภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

[2] นักวิจัย Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs), Thailand

[3] นักศึกษา ภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

[4] รองศาสตราจารย์ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0-2555-2000 ต่อ 4805 อีเมล: cbn@kmutnb.ac.th

รับเมื่อ 14 พฤษภาคม 2557 ตอบรับเมื่อ 6 มิถุนายน 2557

Determination of Dichlorophenol Trichlorophenol Pentachlorophenol and Trichloroanisole Residual in Paper Sample by Gas Chromatography

Chatchalida Boonpanaid[1,2]* Chayanee Arunsomboon[3] Titika Wongmee[3] and Sompoch Noichinda[3]

Abstract

The appropriate conditions for determination of residual 2,4-dichlorophenol (DCP), 2,4,6-trichlorophenol (TCP), pentachlorophenol (PCP), and 2,4,6-trichloroanisole (TCA) by gas chromatography were studied. Residues in paper samples were extracted by Soxhlet procedure and ultrasonic technique. The effect of extraction time and types of solvent was considered. It was found that 16 hours for Soxhlet extraction and 60 minutes for ultrasonic extraction with ethyl acetate as solvent gave the optimal results. The residues in food label paper and 3 types of package paper: 113, Sack Kraft and SB+PE were 0.00195 mg DCP/g sample, 0.0012-0.00344 mg TCP/g sample, 0.00169-0.01054 mg PCP/g sample and 0.00159-0.00174 mg TCA/g sample, respectively.

Keywords: 2,4-dichlorophenol (DCP), 2,4,6-trichorophenol (TCP), Pentachlorophenol (PCP), 2,4,6-trichoroanisole (TCA), Gas Chromatography, Sample Paper

[1] Lecturer, Department of Industrial Chemistry, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok.

[2] Researcher, Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs), Thailand.

[3] Student, Department of Industrial Chemistry, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok.

[4] Associate Professor, Department of Agro-Industrial Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok.

* Corresponding Author, Tel. 0-2555-2000 ext. 4805, E-mail: cbn@kmutnb.ac.th

Received 14 May 2014; Accepted 6 June 2014

1. บทนำ

สาร dichlorophenol (DCP) trichlorophenol (TCP) tetrachlorophenol 2,3,4,6-chloro-2-phenylphenol 2-chloro-4-phenylphenol และ pentachlorophenol (PCP) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม polychlorophenols และ 2,4,6-trichloroanisole นิยมใช้ในอุตสาหกรรมไม้ ผลิตภัณฑ์ไม้แปรรูป ผลิตภัณฑ์กระดาษ และบรรจุภัณฑ์ห่ออาหารที่ทำมาจากกระดาษ สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา แต่เป็นสารที่มีอัตราการสลายตัวช้าทำให้มีการตกค้างและปนเปื้อนในกระบวนการผลิตอาหารและเครื่องดื่ม ซึ่ง US.EPA; Unit States Environmental Protection Agency และ IARC; International Agency for Research on Cancer [1] ได้จัดสาร PCP ไว้ในสารกลุ่ม 2B ซึ่งเป็นสารที่มีศักยภาพก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ เป็นเหตุให้ประเทศที่พัฒนาแล้วใช้เป็นข้ออ้างในการกีดกันทางการค้า โดยจะไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนนั้นๆ เข้าประเทศ ดังนั้นการควบคุมคุณภาพการผลิตเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอ จำเป็นต้องคำนึงถึงบรรจุภัณฑ์ที่ใช้อีกด้วย ในอุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ รวมถึงอุปกรณ์ไม้ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ในปัจจุบันสารกลุ่ม Polychlorophenols ได้ถูกยกเลิกการจดทะเบียนสำหรับการนำมาใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืช สารกำจัดเชื้อรา สารกำจัดวัชพืช สารฆ่าเชื้อหรือสารป้องกันการเกิดกลิ่นสำหรับสี และสารกำจัดเมือกในหอหล่อเย็น อย่างไรก็ตามปัจจุบันประเทศนิวซีแลนด์ และสหรัฐอเมริกา ได้ยกเลิกการใช้สารจำพวก Chlorinated Organic นี้แล้ว [2]

จากความเป็นพิษของสารประกอบคลอโรฟีนอล ทำให้มีนักวิจัยหลายท่านสนใจและได้เสนอวิธีการวิเคราะห์สารประกอบคลอโรฟีนอล ซึ่งสารประกอบคลอโรฟีนอลเป็นสารประกอบที่มีขั้ว ดังนั้นงานวิจัยส่วนมากได้เสนอวิธีการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (HPLC) พร้อมกับเครื่องตรวจวัดชนิดยูวีวิสสิเบิ้ล (UV-Vis) [3], [4] ฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent) [5]

สารประกอบคลอโรฟีนอลสามารถวิเคราะห์โดยวัดการคายแสงในช่วงฟลูออเรสเซนต์ได้ โดยการเปลี่ยนสารประกอบคลอโรฟีนอลเป็นสารอนุพันธ์โดยใช้ 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)benzoyl chloride เป็นสารทำเครื่องหมาย (Fluorescent Labeling Reagent) และไตรเอทิลลามีน (Triethylamine) ได้เป็นสารอนุพันธ์ 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)benzoyl phenol ซึ่งทำให้สารอนุพันธ์นี้สามารถคายแสงในช่วงฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งช่วงความยาวคลื่นที่ทำการวิเคราะห์จะเป็นค่าที่เฉพาะเจาะจงสำหรับสารอนุพันธ์ทำให้การวิเคราะห์มีความแม่นยำสูง

เนื่องจากสารประกอบคลอโรฟีนอลเป็นสารที่มีขั้ว ดังนั้นในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี จึงต้องทำการเปลี่ยนให้เป็นสารอนุพันธ์ที่มีความเป็นขั้วน้อยลง เนื่องจากสารประกอบคลอโรฟีนอลสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้ โดยปกติแล้วเครื่องตรวจวัดที่ใช้คู่กับเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ในการวิเคราะห์สารประกอบคลอโรฟีนอลนั้นนิยมใช้เครื่องตรวจวัดชนิดอิเล็กตรอนแคพเจอร์ดีเทคเตอร์ (ECD) [6]-[9] และแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass Spectometer) [10]-[16] เนื่องจากสารประกอบคลอโรฟีนอลในตัวอย่างโดยปกติจะมีปริมาณที่น้อย ดังนั้นในการสกัดและการทำสารอนุพันธ์ของสารประกอบคลอโรฟีนอลทำให้สารมีความเจือจางจึงต้องทำการ Pre-concentration ก่อนทำการวิเคราะห์ เทคนิคการวิเคราะห์มีหลายวิธีเช่น การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (SPME) [8], [10], [11], [13] การสกัดด้วยสารละลายปริมาณน้อย (LPME) [9] การสกัดด้วยสารละลายไอออนิกเคลือบผิวตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (IL-SPME) [16],[17] และการสกัดด้วยตัวดูดซับแม่เหล็ก (Stir-bar Sortive Extraction, SbSE) [12]

ในการทดลองนี้สนใจการสกัดสารประกอบอนุพันธ์คลอโรฟีนอล คลอโรแอนิซอลบางชนิดในตัวอย่างกระดาษที่ใช้ห่อหุ้มผลิตภัณฑ์อาหาร โดยใช้เทคนิคซอกห์เล็ต (Soxhlet) ร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิค (Ultrasonic)

ซึ่งเป็นการสกัดอย่างต่อเนื่อง ไม่ยุ่งยากและประหยัดตัวทำละลาย แล้วทำการวิเคราะห์สารที่สกัดได้ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีซึ่งมีตัวตรวจวัดแบบเฟรมไอออไนเซชัน (GC-FID)

2. การทดลอง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

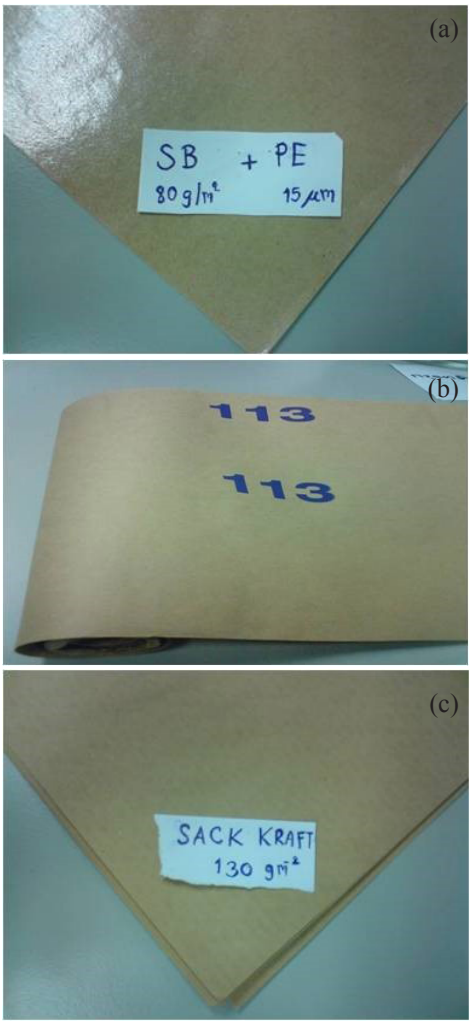
เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี บริษัท Agilent รุ่น 4890D คอลัมน์ที่ใช้ชนิด DB-5MS ขนาดความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.25 มิลลิเมตร ความหนาของฟิลม์ที่เคลือบภายใน (Film Thickness) 0.50 ไมโครเมตร เครื่องบันทึกสัญญาณและประมวลผล Intregrator บริษัท Agilent รุ่น 3396 III สหรัฐอเมริกา เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator) รุ่น R-200 บริษัท Buchi รุ่น B-490 และเครื่องอัลตราโซนิค บริษัท Bandelin รุ่น RK 106 เยอรมัน

2.2 สารเคมี

2,4,6-trichlophenol (TCP, 99.3% Merck), 2,4,6-trichloroanisole (TCA, 99% Sigma-Aldrich) กับ 2,4-dichlorophenol (DCP, 99% Sigma-Aldrich) และ pentachlorophenol (PCP, 98% Sigma-Aldrich), 3,4-dimethyl phenol (98%, Fluka) ใช้เป็นสารมาตรฐาน Internal Standard (IS), Hexane (HPLC Grade 99.5%, LAB-SCAN), Ethyl Acetate (HPLC Grade 99.99%, Fisher Scientific, UK) และ Methanol (AR Grade 99.8%, Merck)

2.3 การตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ที่ใช้ในการแยกสารตัวอย่าง ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ 1.00 ไมโครลิตร ด้วยวิธีฉีดเข้าทั้งหมด (Splitless) อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม 2 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิที่ Inlet 200 องศาเซลเซียส และศึกษาการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิแบบต่าง ๆ และอุณหภูมิแบบโปรแกรมขั้นบันได (Temperature Program Ramps) 2 ขั้นตอน อุณหภูมิที่จุดตรวจวัด 300 องศาเซลเซียส



รูปที่ 1 ตัวอย่างกระดาษ (a) SB 80 กรัมต่อตารางเมตร (b) 113 (c) Sack Kraft 130 กรัมต่อตารางเมตร

2.4 ตัวอย่างกระดาษ

ตัวอย่างกระดาษที่ใช้ในการทดลองดังรูปที่ 1 คือ กระดาษตัวอย่างหมายเลข 113 กระดาษ Sack Kraft (SK1) ขนาด 130 กรัมต่อตารางเมตร กระดาษ SB ขนาด 80 กรัมต่อตารางเมตร ซึ่งลอกสารเคลือบโพลีเอทิลลีน

ความหนา 15 ไมโครเมตร ออกก่อน โดยการทดลองนี้ใช้ตัวอย่างกระดาษเปรียบเทียบเป็นกระดาษกรอง (Filter Paper, FP) หมายเลข 1 Whatman เป็นตัวอย่างกระดาษเปรียบเทียบ (Blank) ตัดตัวอย่างกระดาษให้ได้ขนาด กว้าง 0.5 เซนติเมตร ยาว 0.5 เซนติเมตร กระดาษที่ตัดได้รวบรวมใส่ในถุงกันความชื้นและเก็บรักษาในโถดูดความชื้นสำหรับใช้ตลอดการทดลอง

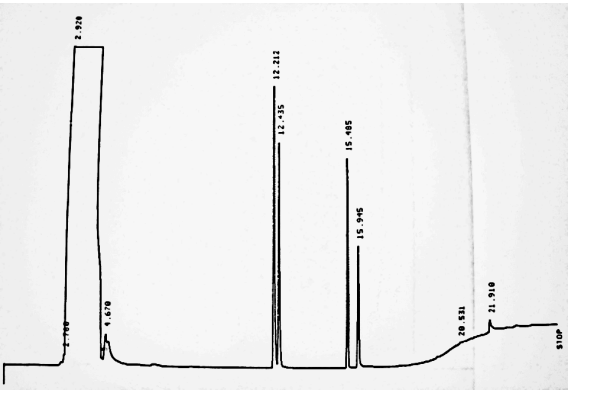
2.5 ศึกษาสภาวะการสกัด

ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสาร DCP, TCP, PCP และ TCA ด้วยการสกัดแบบซอกห์เลตและอัลตราโซนิค ปิเปตสารละลายผสม DCP, TCP, PCP และ TCA ความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ใน 1% ปริมาตรโดยปริมาตรของสารละลายเอทิลอะซิเตทในตัวทำละลายเฮกเซน ปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร เติมลงในตัวอย่างกระดาษเปรียบเทียบ 5.000 กรัม ให้ตัวอย่างกระดาษแห้งในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างกระดาษเปรียบเทียบที่แห้งแล้วมาทำการสกัดด้วยการสกัดแบบซอกห์เลตและอัลตราโซนิคในเวลาต่าง ๆ กัน ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำสารที่สกัดได้ไปทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน ปรับปริมาตรของสารละลายที่เหลือด้วย 1% ปริมาตรโดยปริมาตรของสารละลายเอทิลอะซีเตทในตัวทำละลายเฮกเซน ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร ซึ่งได้เติม IS ความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 500.00 ไมโครลิตร ไว้ก่อนแล้ว ทำการทดลองดังกล่าวซ้ำแต่เปลี่ยนชนิดของตัวทำละลาย เพื่อศึกษาความสามารถในการสกัดของตัวทำละลายโดยใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์และตัวทำละลายผสมเอทิลอะซิเตท-เฮกเซนและเมทานอล

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 สภาวะอุณหภูมิสำหรับการแยก

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ IS, DCP, TCP, PCP และ TCA ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี



รูปที่ 2 โครมาโทแกรมในการแยก IS DCP TCP PCP และ TCA

เริ่มจากการตั้งอุณหภูมิเริ่มต้น 80°C คงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 1 นาที แต่ใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิแตกต่างกัน ซึ่งการใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 20°C ต่อนาที เกิดปัญหาการซ้อนทับกันของพีค DCP กับ IS และเมื่อปรับใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 8°C ต่อนาทีแล้วจึงสามารถแยกพีคของ DCP กับ IS ออกจากกันได้ ดังรูปที่ 2

จากรูปที่ 2 พบว่าสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดลำดับการออกจากคอลัมน์ ตามจุดเดือดของสารดังนี้ DCP, TCA, TCP และ PCP มีจุดเดือดที่อุณหภูมิ 210, 140, 226 และ 310°C ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าสารประกอบทั้ง 5 ชนิด สามารถแยกออกจากกันได้ดี ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลของโปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบทั้ง 5 ชนิด ซึ่ง DCP มีค่ารีเทนชันไทม์ (t_R) 12.212 นาที IS มีค่ารีเทนชันไทม์ 12.435 นาที TCA มีค่ารีเทนชันไทม์ 15.485 นาที TCP มีค่ารีเทนชันไทม์ 15.945 นาที และ PCP มีค่ารีเทนชันไทม์ 21.910 นาที ซึ่งการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิที่ได้ศึกษานี้ไม่เหมาะกับการใช้สาร Lindane เป็นสารมาตรฐาน เพราะจะไม่สามารถแยกพีคระหว่าง Lindane กับ PCP ออกจากกันได้ [17] ตารางที่ 2 แสดงสมการเส้นตรง ค่าความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดการตรวจพบ และขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณของสารประกอบ DCP, TCA, TCP และ PCP ที่ความเข้มข้น 2.00-10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 1 โปรแกรมอุณหภูมิสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบ DCP, TCA, TCP และ PCP ที่ความเข้มข้น 2.00 - 10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

Conditions	
Inlet temperature	200°C
Initial temperature (hold 1 min)	80°C
Ramp 1	8°C/min
Final temperature 1	210°C
Ramp 2	25°C/min
Final temperature (hold 5 min)	280°C
Detector temperature	300°C

ตารางที่ 2 Analytical Performances

Compounds	**Linear equation**	**r^2**	**LOD* (mg/L)**	**LOQ** (mg/L)**
DCP	y = 0.1963x + 0.0291	0.9996	0.164	0.561
TCP	y = 0.0863x + 0.0416	0.9978	0.345	1.397
PCP	y = 0.059x + 0.0166	0.9999	0.350	1.209
TCA	y = 0.103x + 0.0404	0.9978	0.313	1.469

* LOD is limit of detection
** LOQ is limit of quantitation

3.2 การสกัดด้วยการสกัดแบบซอกห์เลตและอัลตราโซนิก

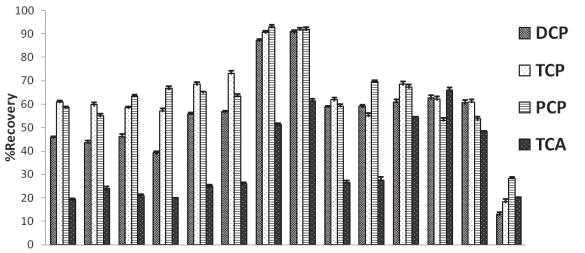
ตารางที่ 3 แสดงเวลาที่ใช้ในการศึกษาการสกัดด้วยการสกัดแบบซอกห์เลตและอัลตราโซนิกซึ่งได้ทำการศึกษา 14 สภาวะ (สภาวะ A-N) จากรูปที่ 2 พบว่าเมื่อทำการสกัดสารออกจากกระดาษตัวอย่างด้วยการสกัดแบบซอกห์เลตเพียงอย่างเดียว (สภาวะ L-N) จะให้ค่าร้อยละการคืนกลับที่น้อยกว่าการใช้การสกัดแบบซอกห์เลตร่วมกับอัลตราโซนิค เนื่องจากอัลตราโซนิคเป็นคลื่นเสียงที่มีความสั่นสะเทือนที่ความถี่สูงกว่า 20,000 รอบ/วินาที และจากคลื่นความถี่สูงของอัลตราโซนิกนี้จะช่วยให้อนุภาคของสารหลุดออกจากตัวอย่างกระดาษ ทำการใช้การสกัดแบบซอกห์เลตและอัลตราโซนิก มีค่าร้อยละการคืนกลับที่มากกว่า เมื่อพิจารณาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดทั้ง 2 วิธีพบว่าในช่วงเวลา 4-16 ชั่วโมงในการสกัดแบบซอกห์เลตและ 30-60 นาทีสำหรับอัลตราโซนิค มีค่าร้อยละการคืนกลับที่เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น (สภาวะ A-H) เนื่องจากมีรอบการสกัดด้วยตัวทำละลายเพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาการสกัดที่ใช้เวลา 18 ชั่วโมงขึ้นไปสำหรับการสกัดแบบซอกห์เลตร่วมกับอัลตราโซนิกในช่วงเวลา 180-300 นาที พบว่ามีค่าร้อยละการคืนกลับที่ลดลง เนื่องจากในขั้นตอนอัลตราโซนิคทำในระบบเปิดอาจเกิดการระเหยของตัวทำละลายไปบางส่วน ทำให้สารประกอบ DCP, TCP, TCA และ PCP เกิดการตกผลึกและติดค้างอยู่ที่ตัวอย่างกระดาษไม่สามารถละลายกลับมาได้ทั้งหมด ดังนั้นการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบจากกระดาษตัวอย่างที่เลือกใช้ในการทดลองนี้คือ สกัดแบบซอกห์เลตเป็นเวลา 16 ชั่วโมงร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกเป็นเวลา 60 นาที เนื่องจากให้ค่าร้อยละการคืนกลับของการวิเคราะห์สูงที่สุด

ตารางที่ 3 สภาวะของเวลาที่ใช้ในการสกัดสารออกจากตัวอย่างกระดาษโดยวิธีซอกห์เลตและอัลตราโซนิก

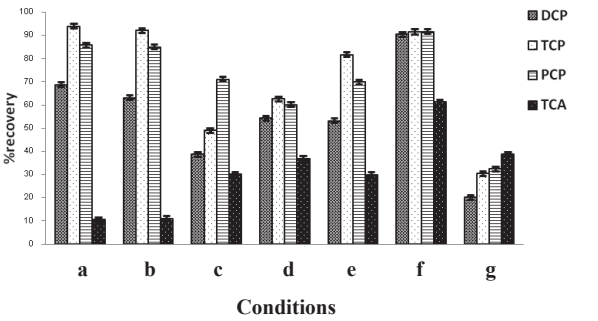
Condition	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**	**G**	**H**	**I**	**J**	**K**	**L**	**M**	**N**
Soxhlet (hr)	4	4	6	6	8	8	16	16	18	18	36	30	24	48
Ultrasonic (min)	30	60	30	60	30	60	30	60	180	300	15	0	0	0

3.3 ความสามารถในการสกัดของตัวทำละลายผสมเอทิลอะซิเตท เฮกเซน และเมทานอล

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่ใช้ในการทดลองนี้เลือกใช้ตามความสามารถในการละลายของสารในตัวทำละลายเช่นเดียวกับการเตรียมตัวทำละลายของสารมาตรฐาน จากการทดสอบการละลายมีเพียง TCA เท่านั้นที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายเฮกเซน แต่ละลายได้เล็กน้อยในเมทานอล และทุกสารประกอบสามารถละลายได้ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท เนื่องจากข้อจำกัดของแคปิลาลีคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ทำให้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทไม่เหมาะสำหรับเป็นตัวทำละลายโดยตรง ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกใช้ 1% โดยปริมาตรของตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทในทำละลายเฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารมาตรฐานทั้งหมด ตารางที่ 4



รูปที่ 3 เทคนิคซอกห์เลต์ร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกที่เวลาต่าง ๆ



รูปที่ 4 แผนภูมิแสดงค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับเมื่อใช้ตัวทำละลายสัดส่วนต่าง ๆ กัน

แสดงอัตราส่วนของสารละลายผสม เฮกเซน เอทิลอะซีเตท และเมทานอลซึ่งได้แบ่งการทดลองเป็น 7 สภาวะ (สภาวะ A-G) ซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3 เป็นกราฟแท่ง ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการคืนกลับและสภาวะต่าง ๆ พบว่าการสกัดด้วยเฮกเซนบริสุทธิ์ให้ผลการทดลองที่มีค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับต่ำกว่าการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ (กราฟแท่ง G) เมื่อเพิ่มปริมาตรเฮกเซนความสามารถสกัด TCA ได้เพิ่มขึ้นแต่ DCP, TCP และ PCP ถูกสกัดออกมาได้น้อยลง (กราฟแท่ง A ถึงกราฟแท่ง C) ซึ่งเมื่อเพิ่มความเป็นขั้วในตัวทำละลายด้วยการเติมเมทานอลหรือเอทิลอะซิเตท แล้วพบว่าการเติมเมทานอลไม่มีผลต่อการสกัด (กราฟแท่ง C กราฟแท่ง D และกราฟแท่ง E) และเมื่อใช้เอทิลอะซิเตทในการสกัดเพียงอย่างเดียว (กราฟแท่ง F) ให้ร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับของการสกัด DCP, TCA, TCP และ PCP ได้ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายผสม ซึ่งได้ค่าร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับของการสกัด DCP, TCA, TCP และ PCP เท่ากับ 90.71, 91.72, 91.74 และ 64.41 ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายในการสกัดกระดาษตัวอย่างต่อไป

ตารางที่ 4 ปริมาตรตัวทำละลายผสมที่ใช้ในการสกัด

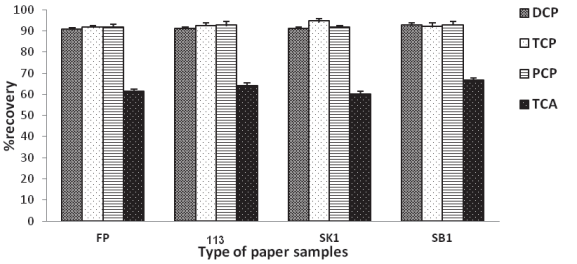
Condition / Solvent (mL)	a	b	c	d	e	f	g
Ethyl acetate	150	100	150	150	125	200	-
Hexane	50	100	-	25	50	-	200
Methanol	-	-	50	25	25	-	-

3.4 การรบกวนของสารเติมแต่งอื่น ๆ ในตัวอย่างกระดาษ

สารที่สกัดได้จากตัวอย่างกระดาษอาจมีสารปนเปื้อนที่ส่งการรบกวนต่อสัญญาณการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีจึงทำการทดลองแยกสารที่สกัดได้ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC) ก่อน [18] พบว่ามีผลให้ค่าร้อยละการคืนกลับของสารมีค่าลดลง และเมื่อทำการทดลองซ้ำแล้วผลการทดลองแตกต่างไปในแต่ละครั้ง (Irreproducible) ทำให้ผลการทดลองมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสูง ซึ่งเมื่อนำสารสกัดที่ได้มาตรวจสอบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยตรงแล้วพบว่ามีเพียงการยกตัวของเส้นสัญญาณพื้น (Baseline) เท่านั้น ไม่มีสัญญาณรบกวนกับสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือปัญหาการตกค้างของสารอื่นบนคอลัมน์เกิดขึ้น

3.5 การหาปริมาณสารตกค้างในกระดาษตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบ DCP, TCA, TCP และ PCP ในตัวอย่างกระดาษเปรียบเทียบกับการทดลองการสกัดจากตัวอย่างกระดาษเปรียบเทียบ FP ซึ่งกระดาษตัวอย่างที่นำมาศึกษาเป็นกระดาษสำหรับใช้บรรจุอาหาร จึงไม่ควรมีสารตกค้างใด ๆ ปนเปื้อนอยู่ จากผลการทดลองพบว่า ค่าร้อยละการคืนกลับของสารสกัดในตัวอย่างกระดาษทุกชนิดมีค่าใกล้เคียงกับการสกัดจากตัวอย่างกระดาษเปรียบเทียบดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 แผนภูมิแสดงค่าร้อยละการคืนกลับของการสกัดสารจากกระดาษชนิดต่างๆ

และคำนวณความเข้มข้นที่แท้จริงของสารที่ตกค้างในกระดาษตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 5

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างในกระดาษตัวอย่างพบว่า มีปริมาณสารประกอบ TCP ความเข้มข้น 1.21-3.44 ไมโครกรัมต่อ (กรัม) น้ำหนักของกระดาษตัวอย่าง TCA ความเข้มข้น 1.59-1.74 ไมโครกรัมต่อ (กรัม) น้ำหนักของกระดาษตัวอย่าง สำหรับสารประกอบ DCP ไม่สามารถตรวจพบในตัวอย่าง 113 และ SK1 อาจเป็นเพราะมีสารตกค้างอยู่ปริมาณต่ำกว่าขีดจำกัดการตรวจวัด (Detection Limit) หรืออาจไม่มี DCP ตกค้างอยู่เลยและ PCP 1.69-10.5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนัก (กรัม) ของกระดาษตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณตกค้างเกินกว่าค่ากำหนดของคณะกรรมการสาธารณะสุข สหภาพยุโรป ในปี 2004 (Public Health Committee, Council of Europe) [19] คือมีปริมาณ PCP น้อยกว่า 0.15 มิลลิกรัมต่อ (กิโลกรัม) น้ำหนักของกระดาษตัวอย่าง

4. สรุป

ความสามารถในการสกัดด้วยเทคนิคซอกห์เล็ตร่วมกับการเทคนิคอัตราโซนิคเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดให้ดีกว่าการสกัดด้วยเทคนิคซอกห์เล็ตหรือเทคนิคอัตราโซนิคเพียงเทคนิคเดียวและช่วยลดเวลาที่ใช้ในการสกัดทั้งหมดได้ด้วย การสกัดสารกลุ่มนี้จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายผสม ต้องคำนึงถึงความสามารถในการละลายของตัวทำละลายของสารที่สนใจแต่ละชนิดในตัวทำละลายมีค่าแตกต่างกัน การนำสารที่สกัดได้มาแยกด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีแล้วพบว่าค่าร้อยละการคืนกลับมีค่าลดลงมาก จึงทำการวิเคราะห์สารโดยตรงด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีการตรวจวัดแบบ FID ไม่รบกวนสัญญาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ให้ค่าร้อยละการคืนกลับได้มากที่สุด 90-95%

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ปริมาณ DCP, TCP, PCP และ TCA ในตัวอย่างกระดาษ (ค่าเฉลี่ยของการทดลอง n = 3)

Type of paper	DCP				TCP				PCP				TCA			
	Add (mg/L)	Found (mg/L)	%Recovery	µg/g sample	Add (mg/L)	Found (mg/L)	%Recovery	µg/g sample	Add (mg/L)	Found (mg/L)	%Recovery	µg/g sample	Add (mg/L)	Found (mg/L)	%Recovery	µg/g sample
113	5.59	5.17±0.09	92.6±1.65		5.35	5.46±0.14	92.5±2.66		5.51	8.40±0.17	92.6±3.16		4.13	3.17±0.13	64.2±3.22	
	-	ND	ND	ND	-	0.52±0.09	-	1.21	-	3.30±0.21	-	7.11	-	0.52±0.09	-	1.61
SK1	5.59	5.09±0.08	91.0±1.38		5.35	6.69±0.08	94.6±1.44		5.51	5.83±0.08	91. 8±1.43		4.13	2.96±0.15	60.0±3.58	
	-	ND	ND	ND	-	1.63±0.18		3.44	-	1.63±0.18		1.69	-	0.48±0.09		1.59
SB	5.59	6.08±0.14	92.6±2.49		5.35	5.53±0.20	92.0±3.72		5.51	10.0±0.15	92.8±2.76		4.13	3.33±0.04	66.5±0.92	
	-	0.90±0.05	-	1.95	-	0.61±0.09	-	1.33	-	4.89±0.03	-	10.5	-	0.58±0.01	-	1.74

ND = no detectable

เอกสารอ้างอิง

[1] IARC Monographs, *Supplement*, vol.7, pp. 154-156, 1987.

[2] K. C. Jones and P. de Voogt, "Persistent organic pollutants (POPs): state of the science," *Environmental Pollution*, vol.100, pp. 209-221, 1999.

[3] A. Oubina, D. Puig, J. Gascón, and D. Barceló, "Determination of pentachlorophenol in certified waste waters, soil samples and industrial effluents using ELISA and liquid solid extraction followed by liquid chromatography," *Analytica Chimica Acta*, vol. 346 , pp. 49-59, 1997.

[4] G. Favaro, D. de Leo, P. Pastore, F. Magno, and A. Ballardin, "Quantitative determination of chlorophenols in leather by pressurized liquid extraction and liquid chromatography with diode-array detection," *Journal of Chromatography A*, vol. 1177, pp. 36-42, 2008.

[5] M. Wada, S. Kinoshita, Y. Itayama, N. Kuroda, and K. Nakashima, "Sensitive high-performance liquid chromatographic determination with fluorescence detection of phenol and chlorophenols with 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl) benzoyl chloride as a labeling reagent," *Journal of Chromatography B*, vol. 721, pp. 179-186, 1999.

[6] R. L. Crawford and W. W. Mohn, "Microbiological removal of pentachlorophenol from soil using a Flavobacterium," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 7, pp. 617-620, 1985.

[7] L. Polese and M. L. Ribeiro, "Methods for determination of hexachlorobenzene and pentachlorophenol in soil samples," *Talanta*, vol. 46, pp. 915-920, 1998.

[8] C. Domeño, G. Munizza, and C. Nerín, "Development of a solid-phase microextraction method for direct determination of pentachlorophenol in paper and board samples: Comparison with conventional extraction method," *Journal of Chromatography B*, vol. 1095, pp. 8-15, 2005.

[9] Y. Shi, M. Chen, S. Muniraj, and J. Jen, "Microwave-assisted headspace controlled temperature liquid-phase microextraction of chlorophenols from aqueous samples for gas chromatography-electron capture detection," *Journal of Chromatography A*, vol. 1207, pp. 130-135, 2008.

[10] M. R. Lee, Y. C. Yeh, W. "Direct determination of chlorophenols in landfill leachates by solid-phase micro-extraction–gas chromatography–mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 975, pp. 267-274, 2002.

[12] M. Kawaguchi, Y. Ishii, N. Sakui, N. Okanouchi, R. Ito, K. Saito, and H. Nakazawa, "Stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry for determination of chlorophenols in water and body fluid samples," *Analytica Chimica Acta*, vol. 533, pp. 57-65, 2005.

[13] Y. Zhou, Q. Jiang, Q. Peng, D. Xuan, and W. Qu, "Development of a solid phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry method for the determination of pentachlorophenol in human plasma using experimental design," *Chemoshere*, vol. 70, pp. 256-262, 2007.

[14] A. Kovács, A. Kende, M. Mörtl, G. Volk, T. Rikker, and K. Torkos, "Determination of phenols and chlorophenols as trimethylsilyl derivatives

using gas chromatography–mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 1194, pp. 139-142, 2008.

[15] L.W. Chung and M.R. Lee, "Evaluation of liquid-phase microextraction conditions for determination of chlorophenols in environmental samples using gas chromatography–mass spectrometry without derivatization," *Talanta*, vol. 76, pp. 154-160, 2008.

[16] T. Ho, C. Chen, Z. Li, T.C. Yang, and M. Lee, "Determination of chlorophenols in landfill leachate using headspace sampling with ionic liquid-coated solid-phase microextraction fibers combined with gas chromatography–mass spectrometry," *Analytica Chimica Acta*, vol. 712, pp. 72-77, 2012.

[17] R. Ito, M. Kawaguchi, H. Honda, Y. Koganei, N. Okanouchi, N. Sakui, K. Saito, and H. Nakazawa, "Hollow-fiber-supported liquid phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography–mass spectrometry for determination of chlorophenols in human urine samples," *Journal of Chromatography B*, vol. 872, pp. 63-67, 2008.

[18] C. Arunsomboon and P. Wanichanurakchai, "Determination of pentachlorophenol chloroanisole and derivative in paper sample by gas chromatography," The project report for the Bachelor's Degree, Department of Industrial Chemistry, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, 2008.

[19] Public health committee. Council of Europe. (2004). Committee of experts on materials coming into contact with food [Online]. Available: http://www.coe.int/t/e/social_cohesion/socp/public_health/food_contact/ps%20e%2tissue%20paper%20version%201.pdf [April 2010]