

การพัฒนาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้น แบบ Sample Stacking ใน Capillary Electrophoresis เพื่อวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช กลุ่ม Chlorinated acids

สุรัตดา ศรีสุวรรณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



**DEVELOPMENT OF SAMPLE STACKING  
PRECONCENTRATION TECHNIQUE IN CAPILLARY  
ELECTROPHORESIS FOR THE DETERMINATION OF  
CHLORINATED ACIDS HERBICIDE**

**SURATDA SRISUWAN**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS  
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
MAJOR IN ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE  
UBON RATCHATHANI UNIVERSITY  
YEAR 2012  
COPYRIGHT OF UBONRATCHATHANI UNIVERSITY**



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์

เรื่อง การพัฒนาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้น แบบ Sample Stacking ใน Capillary Electrophoresis เพื่อวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช กลุ่ม Chlorinated acids

ผู้วิจัย นางสาวสุรัตดา ศรีสุวรรณ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุชา เพียรชนะ)

..... กรรมการ

(ดร.ศันสนีย์ ชวนะกุล)

คณบดี

..... (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ)

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี รับรองแล้ว

..... (รองศาสตราจารย์ ดร.อุทธิศ อินทร์ประสิทธิ์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ปฏิบัติราชการแทนอธิการบดี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2555

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาอย่างดีเยี่ยมจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประسنก์สม บุณยอุปพัทธ์ ประธานหลักสูตรสาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม ดร.ศันสนีย์ ชวนะกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่อง ต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่ สนับสนุน ให้กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในการวิจัยแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุชา เพียรชนะ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่าง ๆ ที่มีคุณค่าอย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ กัญญา เกิดศิริ อาจารย์บ่มรรัตน์ วงศ์กลม อาจารย์ภูดิท เกิดศิริ อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี และพันตำรวจตรี หญิงวิมลศิริ อมรไชย ที่กรุณาให้ความรู้และสละเวลาให้คำปรึกษา ชี้แนะในการทำงานวิจัย พร้อม ทั้งให้คำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัย อุบลราชธานีที่กรุณาให้ความรู้และสละเวลาให้คำปรึกษา ชี้แนะในการศึกษาทดลองระยะเวลาการศึกษา ในมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี พร้อมทั้งให้คำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา

คุณค่าอันพึงมีจากการศึกษาวิทยานิพนธ์นี้ ขอขอบเด่นคุณพ่อ คุณแม่ ครู-อาจารย์ที่เคารพ อย่างสูงยิ่ง หากมีข้อบกพร่องประการใด ผู้วิจัยขอน้อมรับไว้ด้วยความขอบคุณยิ่ง

สุรัตดา ศรีสุวรรณ  
(นางสาวสุรัตดา ศรีสุวรรณ)

ผู้วิจัย

## บทคัดย่อ

**ชื่อเรื่อง** : การพัฒนาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้น แบบ Sample Stacking ใน Capillary Electrophoresis เพื่อวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช กลุ่ม Chlorinated acids

**โดย** : สุรัตตา ศรีสุวรรณ

**ชื่อปริญญา** : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

**สาขาวิชา** : เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม

**ประธานกรรมการที่ปรึกษา** : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ

**ศัพท์สำคัญ** : แคปิลารีอิเล็กโทร โฟร์เชส sample stacking sample preconcentration  
สารกำจัดวัชพืช ประเภท chlorinated acids

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้น แบบ Sample Stacking เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการวิเคราะห์สารให้ได้ในระดับต่ำๆ ซึ่งได้ทำการทดลอง 2 วิธี คือ Normal Stacking Mode (NSM) และ Field Amplified Sample Stacking (FASS) ด้วยเทคนิค Capillary Electrophoresis เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารกำจัดวัชพืช กลุ่ม Chlorinated acids ได้แก่ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), 4-chloro-2-methyphenoxyacetic acid (MCPA) และ 2-(2,4-dichlorophenoxy)-propionic acid (dichloroprop) โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ ได้แก่ ชนิดของสารละลายอิเล็กโทร ไลต์ ความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทร ไลต์ pH สารลดแรงตึงผิว ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการแยกสาร เวลาในการฉีดสาร และเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง เพื่อหาวิธีและสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ซึ่งพบว่าวิธี และสภาวะที่ให้ผลดีที่สุดในการทดลองคือ NSM ซึ่งเจือจางสารตัวอย่างด้วยน้ำ ใช้ fused-silica capillary 50 µm i.d. x 64.5 cm (56 cm effective length) 50 mM phosphate buffer และ 100 mM sodium lauryl sulfate ที่ pH 7.0 เวลาที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่าง 40 วินาที เวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง 10 วินาที ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการแยกสาร คือ +30 kV อุณหภูมิ 25°C ตรวจวัดสัญญาณด้วย UV-Visible detector ที่ความยาวคลื่น 214 nm ค่า detection limits ของสารกำจัดวัชพืช คือ 0.05 mg/l

## ABSTRACT

TITLE : DEVELOPMENT OF SAMPLE STACKING PRECONCENTRATION  
TECHNIQUE IN CAPILLARY ELECTROPHORESIS FOR THE  
DETERMINATION OF CHLORINATED ACIDS HERBICIDE

BY : SURATDA SRISUWAN

DEGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY

CHAIR : ASST.PROF. JANPEN INTHARAPHASERT, Ph.D.

KEYWORDS : CAPILLARY ELECTROPHORESIS / SAMPLE STACKING /  
SAMPLE PRECONCENTRATION / CHLORINATED ACIDS HERBICIDE

This research has development of sample stacking preconcentration 2 methods were Normal Stacking Mode (NSM) and Field Amplified Sample Stacking (FASS) for improve detection sensitivity using capillary electrophoresis (CE) for determination of chlorinated acids herbicide such as 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), 4-chloro-2-methyphenoxyacetic acid (MCPA) and 2-(2,4-dichlorophenoxy)-propionic acid (dichloroprop) were studied. The optimum analytical conditions were involved type of buffer solution, concentration of buffer solution, pH, surfactant, separation voltage, sample injection time and water injection time. The experiment results indicated that the method and optimum condition were fused-silica capillary 50  $\mu\text{m}$  i.d. x 64.5 cm (56 cm effective length), 50 mM phosphate buffer solution and 100 mM sodium lauryl sulfate, pH 7.0, sample injection times 40 sec., water injection times 10 sec., separation voltage +30 kV, temperature at 25 °C, UV-Visible detector, signal wavelength at 214 nm. The detection limits for these could be 0.05 mg/l

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่	ด
<b>1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัจุหা	1
1.2 ข้อมูลทางเคมีของสารกำจัดวัชพืช	3
1.3 ข้อมูลเกี่ยวกับสารกำจัดวัชพืช	8
1.4 วัตถุประสงค์	9
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	10
<b>2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 หลักการของ Capillary Electrophoresis	11
2.2 Capillary Zone Electrophoresis หรือ CZE	23
2.3 Micellar Electrokinetic Chromatography หรือ MEKC	24
2.4 Sample Stacking	25
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	28
2.6 การเก็บตัวอย่าง (sampling)	31
2.7 เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid Phase Extraction, SPE)	34
<b>3 วิธีดำเนินการวิจัย</b>	
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	36
3.2 วิธีการทดลอง	38

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล</b>	
4.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช	45
4.2 การเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	54
4.3 การเปรียบเทียบระหว่างเทคนิค Normal stacking mode (NSM) และ Field amplified sample stacking (FASS)	62
4.4 การวิเคราะห์สารตัวอย่างในดินและน้ำ	63
<b>5 สรุปผล และข้อเสนอแนะ</b>	
5.1 สรุป และอภิปรายผลการวิจัย	75
5.2 ข้อเสนอแนะ	78
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	79
<b>ภาคผนวก</b>	
ก การเตรียมสารเคมี	85
ข Calibration curve ของสารตัวอย่างมาตรฐาน	95
<b>ประวัติผู้วิจัย</b>	98

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ข้อมูลทางเคมีของ 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)	3
1.2 ข้อมูลทางเคมีของ 2-(2,4-Dichlorophenoxy) propionic acid (Dichloroprop)	4
1.3 ข้อมูลทางเคมีของ 2,4,5-Trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T)	6
1.4 ข้อมูลทางเคมีของ 4-Chloro-2-methyl-phenoxy acetic acid (MCPA)	7
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	36
3.2 รายชื่อสารเคมี	37
4.1 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร	54
4.2 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง	55
4.3 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง	57
4.4 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของการฉีดสารแบบ voltage	58
4.5 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง	60
4.6 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของเวลาในการฉีดสารตัวอย่าง	61
4.7 สรุปการทดลองที่ดีที่สุดในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด	63
4.8 ข้อมูลของสารกำจัดศัตรูพืช	64
4.9 ผลของการวิเคราะห์ตัวอย่างดินและน้ำที่เก็บจากพื้นที่การเกษตร	74
5.1 สรุปที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช ด้วยเทคนิค MEKC	75
5.2 สรุปที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชด้วยเทคนิค NSM	76
5.3 สรุปที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชด้วยเทคนิค FASS	77
5.4 ผลของการวิเคราะห์ตัวอย่างดินและน้ำที่เก็บจากพื้นที่การเกษตร	78

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ประจุที่ผิวของแคปิลารี	13
2.2 การเคลื่อนที่ของสารภายในแคปิลารี	15
2.3 ลักษณะการไหลของสารในแคปิลารี	16
2.4 การเคลื่อนที่ของสารประจำน้ำ ลบ และสารที่เป็นกลางทางไฟฟ้าโดยอิทธิพลของ EOF	16
2.5 สัญลักษณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการคำนวณพารามิเตอร์ในการวิเคราะห์	17
2.6 ส่วนประกอบของเครื่อง CE	21
2.7 กลไกการแยกสารแบบ CZE	23
2.8 รูปร่างของไมเซลล์	24
2.9 กลไกการแยกสารแบบ MEKC	25
2.10 กลไกการเกิด sample stacking	26
2.11 กลไกการเกิด sample stacking แบบ FASS	27
2.12 ขั้นตอนของ SPE	34
3.1 ขั้นตอนการกรองตัวอย่างน้ำ	43
3.2 ขั้นตอนการเตรียม cartridge	43
3.3 ขั้นตอนการผ่านตัวอย่างน้ำเข้าไปใน cartridge	44
3.4 ขั้นตอนการชะสารตัวอย่างออกจาก cartridge	44
3.5 ขั้นตอนการ blow nitrogen gas	45
4.1 Electropherograms แสดงการผลการแยกของสารละลายน้ำตรฐานในสารละลายน้ำเล็ก tro ไลต์ทั้ง 3 ชนิด	47
4.2 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำตรฐานในสารละลายน้ำ phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ	48
4.3 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำตรฐานในสารละลายน้ำ phosphate buffer ที่ความเข้มข้นต่างๆ	49
4.4 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำตรฐาน โดยเติมสาร buffer additive (SDS) ลงในสารละลายน้ำ phosphate buffer ที่ความเข้มข้นต่างๆ	50

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.5 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำมาตรฐานระบุตำแหน่งของสารแต่ละชนิด	51
4.6 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำมาตรฐาน ที่ใช้เวลาในการฉีดสารตัวอย่างต่างกัน	52
4.7 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำมาตรฐาน ที่คำนวณต่างศักย์ไฟฟ้าต่างๆ	53
4.8 Electropherograms แสดงผลของเวลาในการฉีดสารตัวอย่าง	55
4.9 Electropherograms แสดงผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง	56
4.10 Electropherograms แสดงผลของการฉีดสารตัวอย่างแบบ Voltage	58
4.11 Electropherograms แสดงผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง	59
4.12 Electropherograms แสดงผลของเวลาในการฉีดสารตัวอย่าง	61
4.13 Electropherograms แสดงผลของsample stacking (a) NSM (b) FASS	62
4.14 บริเวณพื้นที่การเก็บตัวอย่างคืนและน้ำ	65
4.15 จุดเก็บตัวอย่างน้ำจุดที่ 1	66
4.16 จุดเก็บตัวอย่างน้ำจุดที่ 2	66
4.17 จุดเก็บตัวอย่างน้ำจุดที่ 3	67
4.18 จุดเก็บตัวอย่างคืนจุดที่ 1	67
4.19 จุดเก็บตัวอย่างคืนจุดที่ 2	68
4.20 Electropherograms ของตัวอย่างน้ำจุดที่ 1 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2,3 (b) spiking standard	69
4.21 Electropherograms ของตัวอย่างน้ำจุดที่ 2 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2,3 (b) spiking standard	70
4.22 Electropherograms ของตัวอย่างน้ำจุดที่ 3 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2,3 (b) spiking standard	71
4.23 Electropherograms ของตัวอย่างคืนจุดที่ 1 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2,3 (b) spiking standard	72

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.24	Electropherograms ของตัวอย่างคินจุดที่ 2 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2, 3 (b) spiking standard	73
๔.1	Calibration curve ของ dichloroprop	96
๔.2	Calibration curve ของ MCPA	96
๔.3	Calibration curve ของ 2,4-D	97
๔.4	Calibration curve ของ 2,4,5-T	97

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัจจัย

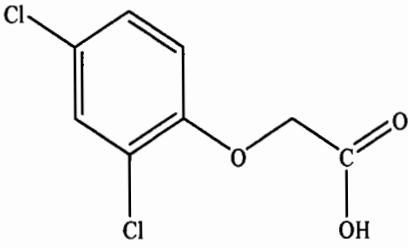
เกษตรกรรมในประเทศไทย มีการใช้สารเคมีแมลง (pesticides) และสารกำจัดวัชพืช (herbicides) อิ่งกว้างขวาง ข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่าประเทศไทย มีการใช้สารกำจัดวัชพืชที่มีปริมาณมาก คือ มีการนำเข้าสารกำจัดวัชพืช ในปี พ.ศ.2552 ปริมาณมากถึง 85,821 ตัน คิดเป็นมูลค่า 9,338 ล้านบาท และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2545) การใช้สารเคมีประเภทต่างๆของเกษตรกร เหล่านี้ ไม่ได้รับคำแนะนำที่ถูกต้อง เช่น การใช้สารเคมีเหล่านี้ ในปริมาณที่มากเกินพอกเพื่อที่จะเร่งให้ได้ผลผลิตที่ดี มีคุณภาพ และมีจำนวนมาก เกษตรกร ไม่ได้ทิ้งระยะเวลาหลังการใช้สารเคมีให้นานพอก่อนการเก็บเกี่ยว และจำหน่ายให้ผู้บริโภค ทำให้สารเคมีเหล่านี้ตกค้างอยู่ในผลผลิต ในคืน และบางส่วนถูกชะลงสูญเหลือบ้าง เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการตรวจสอบหาปริมาณการตกค้างของสารกำจัดวัชพืช ทั้งในผลผลิตทางการเกษตรและสิ่งแวดล้อมซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง การตรวจหาปริมาณสารกำจัดวัชพืชที่ตกค้างในผลผลิตทางการเกษตร หรือในสิ่งแวดล้อม ที่มีความเข้มข้นในระดับหนึ่งในล้านส่วน (ppm) นั้น สามารถทำได้โดยใช้เครื่องมือ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และ Gas Chromatography (GC) แต่อย่างไรก็ตาม HPLC และ GC มีข้อจำกัดหลายด้านด้วยกัน เช่น เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย HPLC นั้น ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ในปริมาณที่มาก การวิเคราะห์ใช้เวลานาน และการเสื่อมสภาพของ HPLC colum ซึ่งมีราคาสูง รวมถึงไม่สามารถใช้เทคนิค HPLC ใน การวิเคราะห์สารเคมีที่ไม่มี chromophore หรือ fluorophore บางชนิดได้ สำหรับการใช้ GC ใน การวิเคราะห์สารเคมีและสารกำจัดวัชพืชนั้น มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก คือ การทำให้เกิดสารอนุพันธ์ (derivatization) เพื่อเพิ่มความสามารถในการระบุของสารตัวอย่าง ทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และสารเรอเจนต์ที่ใช้ทำปฏิกิริยา ส่วนใหญ่มีราคาสูงและเป็นพิษ

การพัฒนาวิเคราะห์หาปริมาณสารเคมีและสารกำจัดวัชพืชด้วยเทคนิค Capillary Electrophoresis (CE) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ได้รับการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง ผสมผสานลักษณะเด่นของวิเคราะห์ที่อ่อนเข้าด้วยกัน ระหว่าง Gel Electrophoresis (GE), HPLC และ GC ซึ่งนำมาสู่เทคนิค CE ซึ่งเป็นเทคนิคที่ยอมรับอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน หลักการทำงานของ CE คือ เป็นการแยกสารโดยอาศัยความแตกต่างของความสามารถของสารในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า เมื่อให้ความต่างศักย์จะ

เกิดสนานไฟฟ้าขึ้นและสารแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วไม่เท่ากันไปยังขั้วไฟฟ้าที่ตรงข้ามกับประจุของสาร ความเร็วในการเคลื่อนที่ของสารขึ้นอยู่กับความสามารถเฉพาะตัวในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้า ความต้านทานไฟฟ้าและความต่างศักย์ โดยความสามารถเฉพาะตัวในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของสารแต่ละชนิดมีค่าไม่เท่ากันขึ้นกับคุณสมบัติของสาร เช่น ขนาดและจำนวนของประจุ ระดับขั้นการแตกตัวของสาร (degree of dissociation) และปัจจัยอื่น อีก 1 ความหนืด อุณหภูมิ และค่าคงที่ไคโอเล็กทริก (dielectric constant) ของบัฟเฟอร์ หรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้ เป็นต้น (ลีพา สุนทรสุข, 2550) CE มีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับ HPLC คือ CE เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพการแยกสูงกว่า HPLC (Yu et al., 2005) ใช้สารเคมี สารละลายและตัวทำละลายในปริมาณที่น้อยมาก ระดับไมโครลิตร ( $\mu\text{l}$ ) ทำให้ปริมาณของเสียจากห้องปฏิบัติการน้อย CE เป็นวิธีที่สะอาด ใช้ง่าย เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ล้วน ดันทุนการวิเคราะห์ต่อหน่วยต่ำ CE ประกอบด้วยชนิดของการแยก (separation mode) หลายชนิด เช่น Capillary zone electrophoresis (CZE) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด เหมาะสมสำหรับการแยกและวิเคราะห์สารที่มีประจุขนาดเล็ก Micellar Electokinetic Chromatography (MEKC) สามารถใช้แยกสารได้ทั้งที่มีประจุและเป็นกลางทางไฟฟ้าได้ (Zhu et al., 2002) โดยการเติมสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ลงในสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อให้เกิดเป็นไนเชลล์ (micelle) เป็นต้น แต่เทคนิค CE ยังมีข้อจำกัดในการวิเคราะห์ คือ มีค่า limit of detection (LOD) ที่สูงกว่า HPLC เนื่องจากการใช้แคปิลารีคอลัมน์ ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยมาก ( $50-75 \mu\text{m}$ ) และปริมาณของสารตัวอย่างที่มีดินแต่ละครั้งของการวิเคราะห์ใช้ในระดับไมโครลิตร ( $\mu\text{l}$ ) ซึ่ง ส่งผลให้ CE มีค่า LOD ที่สูงกว่า HPLC ดังนั้นนักวิจัยจึงได้พยายามพัฒนาวิธีต่างๆ เพื่อแก้ปัญหานี้ โดยได้ทำการนឹดสารในปริมาณที่มากขึ้นและใช้กลไกที่ทำให้สารตัวอย่างที่มีเกาะกลุ่มกันเป็นโซน แคบๆ ในแคปิลารีคอลัมน์ ซึ่งเรียกเทคนิคนี้ว่า on-column concentration ข้อดีของการทำ on-column concentration ใน CE คือไม่จำเป็นต้องมีเครื่องมือใดๆ เพิ่มขึ้น อาศัยการบังคับการเคลื่อนที่ (electromigration) ของสารในแคปิลารีคอลัมน์ให้มีอัตราเร็วที่แตกต่างไปจากปกติเพียงอย่างเดียว ตัวอย่างเช่น เทคนิค Sample Stacking ได้แก่ Normal Stacking Mode (NSM) และ Field-Amplified Sample Injection (FASI) รายงานที่ประยุกต์ใช้เทคนิคนี้กับสารกำจัดพิษ chlorinated acid จะมีน้อยมาก การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการพัฒนาเทคนิค CE เพื่อใช้วิเคราะห์สารกำจัดพิษ chlorinated acid ได้แก่ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), 4-chloro-2-methyphenoxyacetic acid (MCPA) และ 2-(2,4-dichlorophenoxy) propionic acid (Dichlorprop)

## 1.2 ข้อมูลทางเคมีของสารกำจัดวัชพืช (ศูนย์พัฒนาโภชนาชีวัติค้านเคมี, 2005)

ตารางที่ 1.1 ข้อมูลทางเคมีของ 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)

ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
1. 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)	
<b>คุณสมบัติทางกายภาพ</b>	
สูตรโมเลกุล : $C_8H_6Cl_2O_3$ สารสลายตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือด ค่า $pK_a = 3.30$ ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (น้ำ=1) : 0.7-0.8	น้ำหนักโมเลกุล : 221.04 g/mol จุดหลอมเหลว : 140 °C การละลายน้ำ (g/100 ml ที่ 25 °C) : 0.031 (ละลายได้น้อยมาก)
<b>ข้อมูลสำคัญ</b>	
<b>สถานะทางกายภาพ สักขณะ :</b> เป็นผลึกไม่มีสี หรือเป็นผงสีขาว <b>อันตรายทางเคมี :</b> สารสลายตัวเมื่อได้รับความร้อนทำให้เกิดควันที่เป็นพิษรวมถึงไฮโดรเจนคลอไรด์ ทำปฏิกิริยากับสารออกซิไดซ์อิยาเจน ทำให้เกิดอันตรายจากไฟไหม้และการระเบิด สารนี้ทำลายสารเคลือบบางชนิดและโลหะ <b>ค่าจำกัดที่ยอมให้สัมผัสได้จากการทำงาน :</b> TLV : 10 mg/m <sup>3</sup> as TWA; A4 (not classifiable as a human carcinogen); (ACGIH 2005) MAK : (Inhalable fraction) 1 mg/m <sup>3</sup> ; skin absorption (H); Peak limitation category : II(8); Pregnancy risk group : C; (DFG 2005) <b>วิถีทางของการได้รับสัมผัส :</b> สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้โดยการหายใจเอ牢ะองสารเข้าไป เข้าทางผิวนังและโดยการกินกิน <b>ความเสี่ยงจากการหายใจ :</b> ปริมาณของสารในอากาศสามารถเพิ่มขึ้นได้อย่างรวดเร็วจนถึงจุดอันตรายจากการพ่นเป็นละอองหรือเมื่อผู้คนสารเกิดการฟุ้งกระจาย <b>ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะสั้น :</b> สารนี้จะทำให้ตา ผิวนัง และทางเดินหายใจเกิดการระคายเคือง การได้รับสารนี้ในระดับสูงอาจมีผลต่อระบบประสาท	

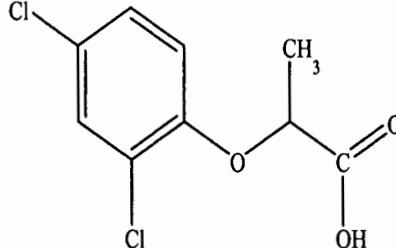
### ตารางที่ 1.1 ข้อมูลทางเคมีของ 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) (ต่อ)

ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะยาว : 2,4-D เป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม chlorophenoxy ซึ่งถูกจัดกลุ่มโดย IARC (1987) ว่าอาจก่อให้เกิดมะเร็งกับมนุษย์ แต่ข้อมูลของสารนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ ตัวทำละลายช่วย (carrier solvents) ที่ใช้ในตัวรับที่ขายในห้องทดลองอาจเกิดการเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพและความเป็นพิษได้

#### ข้อมูลผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

สารนี้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ สารนี้สามารถออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ภายใต้การใช้ตามปกติ จึงควรเอาใจใส่อย่างมาก อย่างไรก็ตาม ควรหลีกเลี่ยงวิธีที่เป็นการเพิ่มการปลดปล่อย เช่น การกำจัดทิ้งอย่างไม่เหมาะสม

### ตารางที่ 1.2 ข้อมูลทางเคมีของ 2-(2,4-Dichlorophenoxy) propionic acid (Dichloroprop)

ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
2. 2-(2,4-Dichlorophenoxy) propionic acid (Dichloroprop)	
<b>คุณสมบัติทางกายภาพ</b>	
สูตรโมเลกุล $C_9H_8Cl_2O_3$ ค่า $pK_a = 3.00$ จุดหลอมเหลว : $117-118^\circ C$ ความหนาแน่นสัมพัทธ์ ( $\text{น้ำ}=1$ ) : 1.42	น้ำหนักโมเลกุล = 235.06 g/mol การละลายในน้ำ : ไม่ละลายน้ำ สัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน Octanol/น้ำ ตาม $\log Pow : 5.91$
<b>ข้อมูลสำคัญ</b>	
<b>สถานะทางกายภาพ</b>	
ลักษณะ : เป็นผลึกไม่มีสีถึงสีเหลือง ไม่มีกลิ่น	

**ตารางที่ 1.2 ข้อมูลทางเคมีของ 2-(2,4-Dichlorophenoxy) propionic acid (Dichloroprop) (ต่อ)**

**อันตรายทางเคมี :** สารสลายตัวเมื่อได้รับความร้อนหรือเกิดการเผาไหม้และการสัมผัสกับพื้นผิวที่ร้อน ทำให้เกิดก๊าซพิษและกัดกร่อน ทำลายเนื้อเยื่อร่วมทั้งฟอสฟิน (ICSC0007) และไฮโดรเจนคลอไรต์ (ICSC 0163) สารละลายในน้ำเป็นกรดอ่อน ทำลายโลหะหลายชนิดเมื่อมีน้ำร่วมด้วย

**ค่าจำกัดที่ยอมให้สัมผัสได้จากการทำงาน :** ไม่ได้กำหนดค่า TLV

**วิธีทางของการได้รับสัมผัส :** สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้โดยการหายใจเอาละของสารเข้าไป

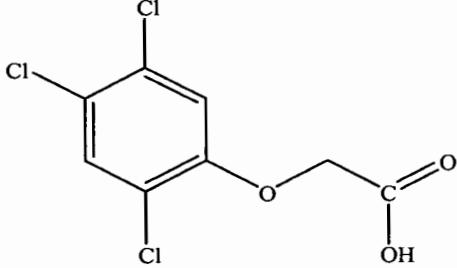
ไป เข้าทางผิวนังและโดยการกลืนกิน

**ความเสี่ยงจากการหายใจ :** ที่อุณหภูมิ 20 °C การระเหยของสารจะน้อยมาก อย่างไรก็ตาม ปริมาณของสารในอากาศสามารถเพิ่มขึ้นได้ จนถึงจุดอันตรายอย่างรวดเร็วระหว่างการขนย้าย ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะยาว : อาจเกิดการปนเปื้อนกับสารประกอบอื่น ซึ่งทำให้เป็นสารก่อมะเร็ง นั่นคือควรแลเป็นพิเศษเพื่อหลีกเลี่ยงการได้รับสัมผัสสาร จุดหลอมเหลว อื่น : 114 °C (technical grade) อันตรายขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการได้รับสัมผัสสาร ควรไปรับการตรวจจากแพทย์เป็นระยะ ถ้ามีการใช้สารนี้ในสูตรคำารับร่วมกับตัวทำละลายอื่นๆ ควรศึกษา card (s) (ICSC) ของตัวทำละลายนั้น ตัวทำละลายช่วย (carrier solvents) ที่ใช้ในคำารับที่ขายในห้องคลาดอาจเกิดการเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพและความเป็นพิษได้ คำแนะนำของ Card นี้ สามารถใช้ร่วมกับ เอสเตอร์ของ dichloroprop ได้ สารนี้มีชื่อการค้า คือ Cormox RK, Hedonal DP card นี้ใช้ได้เฉพาะกับตัวสารเท่านั้น ไม่ใช้ในกรณีที่เป็น สูตรคำารับ เนื่องจากหากเป็นสูตรคำารับอาจเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ได้มากกว่าในรูปสารบริสุทธิ์

**ข้อมูลผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม**

หลีกเลี่ยงการปล่อยสารเข้าสู่สิ่งแวดล้อม ทั้งในสถานที่แตกต่างและการใช้ตามปกติ

**ตารางที่ 1.3 ข้อมูลทางเคมีของ 2,4,5-Trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T)**

ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
3. 2,4,5-Trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T)	
<b>คุณสมบัติทางกายภาพ</b>	
สูตรโมเลกุล : $C_8H_5Cl_3O_3$ ค่า $pK_a$ : 2.88 สลายตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือด จุดหลอมเหลว : $153-158^{\circ}C$ ความหนาแน่น : $1.80 \text{ g/cm}^3$	น้ำหนักโมเลกุล : 255.48 g/mol การละลายในน้ำ (g/100 ml ที่ $25^{\circ}C$ ) : 0.03 ความคันไอ, Pa ที่ $25^{\circ}C$ : น้อยมาก สัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน Octanol/น้ำ ตาม $\log Pow$ : 4
<b>ข้อมูลสำคัญ</b>	
<p><b>สถานะทางกายภาพ ลักษณะ :</b> เป็นผงผลึกสีขาว</p> <p><b>อันตรายทางเคมี :</b> สารสลายตัวได้เมื่อสัมผัสกับความร้อนหรือเมื่อเผาไหม้ เมื่อสารสลายตัวจะปล่อยคลวันที่เป็นพิษและกัดกร่อนทำลายเนื้อเยื่อ รวมทั้งฟอสฟิน (ดู ICSC0007) และไฮโดรเจนคลอไรด์ (ดู ICSC0163) สารละลายของสารนี้ในน้ำเป็นกรดอ่อน</p> <p><b>ค่าจำกัดที่ยอมให้สัมผัสได้จากการทำงาน :</b> TLV: <math>10 \text{ mg/m}^3</math> as TWA; A4 (not classifiable as a human carcinogen); (ACGIH 2005) MAK: (Inhalable fraction) <math>10 \text{ mg/m}^3</math>; Peak limitation category: II(2); skin absorption (H); Pregnancy risk group: C; (DFG 2004)</p> <p><b>วิถีทางของการได้รับสัมผัส :</b> สามารถเข้าสู่ร่างกายได้โดยการหายใจเอกสารองของสารเข้าไป และโดยการกลืนกิน</p> <p><b>ความเสี่ยงจากการหายใจ :</b> เมื่อถูกพ่นเป็นละออง หรือมีการพุ่งกระจากของฝุ่นสาร การปนเปื้อนของสารสู่อากาศในจุดยั่งคงจะเร็วขึ้นมาก</p> <p><b>ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะสั้น :</b> สารนี้ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อดวงตาและทางเดินหายใจ</p>	

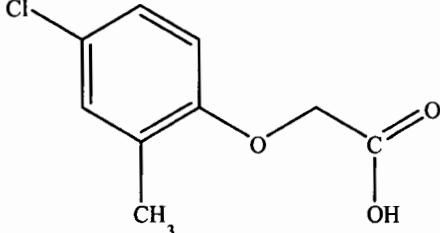
**ตารางที่ 1.3 ข้อมูลทางเคมีของ 2,4,5-Trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T) (ต่อ)**

ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะยาว : จากการทดลองในสัตว์พบว่าสารนี้อาจเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ของมนุษย์หรือการพัฒนาการของทารก

**ข้อมูลผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม**

สารนี้เป็นพิษอย่างมากต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ สารนี้สามารถออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ภายใต้การใช้ตามปกติ จึงควรเอาใจใส่อย่างมาก อย่างไรก็ตามความหลีกเลี่ยงวิธีที่เป็นการเพิ่มการปลดปล่อย เช่น การกำจัดทิ้งอย่างไม่เหมาะสม

**ตารางที่ 1.4 ข้อมูลทางเคมีของ 4-Chloro-2-methyl-phenoxy acetic acid (MCPA)**

ชื่อสารเคมี	โครงสร้าง
4. 4-Chloro-2-methyl-phenoxy acetic acid (MCPA)	
<b>คุณสมบัติทางกายภาพ</b>	
สูตรโมเลกุล : $C_9H_9ClO_3$ ค่า $pK_a$ : 3.10 จุดหลอมเหลว : $118-119^\circ C$ ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (น้ำ=1) : 1.6	น้ำหนักโมเลกุล : 200.62 g/mol การละลายในน้ำ : ไม่ละลายน้ำ สัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน Octanol/น้ำ ตาม log Pow : 3.3
<b>ข้อมูลสำคัญ</b>	
<b>สถานะทางกายภาพ ลักษณะ :</b> พงหลีกสีขาว <b>อันตรายทางเคมี :</b> สารถ่ายตัวด้วยความร้อนให้คุณที่เป็นพิษและทำลายเนื้อร่วนถึงไขกระเจนคลอไรค์สารนี้เป็นกรดอ่อน <b>ค่าจำกัดที่ยอมให้สัมผัสได้จากการทำงาน :</b> ไม่ได้กำหนดค่า TLV ไว้	

### ตารางที่ 1.4 ข้อมูลทางเคมีของ 4-Chloro-2-methyl-phenoxy acetic acid (MCPA) (ต่อ)

**วิธีทางของการได้รับสัมผัส :** สามารถเข้าสู่ร่างกายได้โดยการหายใจเข้าไป เข้าทางผิวนังและโดยการกลืนกิน

**ความเสี่ยงจากการหายใจ :** ที่อุณหภูมิ 20°C การระเหยของสารจะทำให้อากาศปนเปื้อนจนถึงขั้นเป็นอันตรายอย่างมาก อย่างไรก็ตามถ้าถูกพ่นเป็นละออง หรือเมื่อเกิดการฟุ้งกระจายของฝุ่นสาร การปนเปื้อนของสารสู่อากาศจะเร็วขึ้น

**ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะสั้น :** สารนี้จะทำให้คงตา ผิวนัง และทางเดินหายใจ เกิดการระคายเคือง

**ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะยาวหรือได้รับช้าๆ :** การทดลองในสัตว์แสดงว่าสารนี้อาจก่อให้เกิดพิษและมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ในมนุษย์หรือการพัฒนาการของทารก

**หมายเหตุ :** MCPA อยู่ในกลุ่มสารกำจัดวัชพืชชนิด chlorophenoxy ซึ่งสารกลุ่มนี้อาจเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ ความรุนแรงอันตรายขึ้นกับความรุนแรงของการได้รับสัมผัสสาร ควรนำไปรับการตรวจจากแพทย์เป็นระยะ ตัวทำละลายช่วย (carrier solvents) ที่ใช้ในการรับที่ขายในท้องตลาดอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพและความเป็นพิษได้

#### ข้อมูลผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

สารนี้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำ

### 1.3 ข้อมูลเกี่ยวกับสารกำจัดวัชพืช

สารเคมีกำจัดวัชพืชกลุ่ม Chlorophenoxyacetate ซึ่งบางครั้งเรียกชื่อสั้น ๆ ว่า Phenoxy หรือ Chlorophenoxy สารในกลุ่มนี้ เช่น 2,4-D, MCPA , mecoprop (MCPP) , dichlorprop (DCPP) และ 2,4,5-T ประโยชน์ของสารเคมีกำจัดวัชพืชกลุ่มนี้ คือ ใช้กำจัดวัชพืชในกว้างในไร่นา ในทุ่งหญ้า สวนสาธารณะ สวนผลไม้ วัชพืชที่ขึ้นตามขอบถนน ริมคลองชลประทาน เป็นต้น สารเคมีกำจัดวัชพืชกลุ่ม Chlorophenoxy เมื่อถูกสัมผัสบริเวณผิวนัง จะรู้สึกระคายเคือง ถ้าเข้าปากจะเจ็บในปาก ปวดแสบปวดร้อนในลำคอ และหลอดอาหาร ทำให้เกิดแพลงผุอง และทำลายกล้ามเนื้อ เส้นประสาท และสมองสารเคมีกำจัดวัชพืชบางชนิดอาจมีส่วนผสมของน้ำมันก้าดและน้ำมันเบนซิน เมื่อกลืนกินเข้าไปอาจจะทำให้เกิดอาการภาวะปอดบวมน้ำในภายหลังขึ้นได้ ผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่ได้รับพิษมักมีสาเหตุมาจาก การกลืนกินสารพิษเข้าไปเป็นจำนวนมาก และสารพิษมีความเข้มข้นสูง บางรายที่กลืนกินเข้าไปมากก็อาจเสียชีวิตได้

## ลักษณะอาการ

การกลืนกินสารพิษ จะปนเปื้อนปั่นป่วนในปากไอ หายใจด้วยใจดี จุก แน่นปอดในช่องห้องอก ย่างรุนแรงมีไข้ต่ำๆ กระวนกระวายความคิดสับสนป่วยกล้ามเนื้อกล้ามเนื้ออ่อนเพลี้ย และกล้ามเนื้อกระตุกความดันโลหิตต่ำหายใจเร็วและผิวหนังเขียวคล้ำหมดสติชักและอาจเสียชีวิตภายใน 2-3 ชั่วโมงถ้าผู้ป่วยรอดชีวิตผ่านพ้นไปแล้ว 2-3 ชั่วโมง จะมีอาการภาวะปอดบวมน้ำภายใน 12-24 ชั่วโมง หากสารดังกล่าวมีน้ำมันกัดหรือน้ำมันเบนซินเป็นส่วนประกอบปั๊สสารจะมีสีคล้ำเนื่องจากมีอาการของไตถูกทำลาย มีอาการอวัยวะตับถูกทำลาย กรณีผู้ป่วยกลืนกินสารพิษให้รีบนำผู้ป่วยส่งโรงพยาบาลทันทีพร้อมพากันและบรรจุสารพิษ

สารพิษถูกผิวหนัง ผิวหนังจะแดง และระคายเคืองถ้าสารพิษถูกผิวหนังเป็นบริเวณกว้างจะมีอาการปวดกล้ามเนื้อกล้ามเนื้ออ่อนเพลี้ย และกล้ามเนื้อกระตุกหมดสติถ้าหายใจเอาสารพิษเข้าสู่ร่างกายปริมาณมากจะมีอาการปวดกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้ออ่อนเพลี้ย และกล้ามเนื้อกระตุก หมดสติ การปฐมพยาบาลเบื้องต้น ถ้าสารพิษถูกผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีขาวออกทันทีและทำความสะอาดบริเวณผิวหนังที่ถูกสารพิษด้วยน้ำสะอาดและฟอกด้วยสูตรและน้ำเย็นปริมาณมากๆ เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที ควรฉีดด้วยน้ำไฮโดรเจน เช่น น้ำประปา เป็นต้น

สารพิษเข้าตา จะมีอาการตาแดง และระคายเคือง การปฐมพยาบาลเบื้องต้นถ้าสารพิษเข้าตาล้างตาด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 15 นาที (ประพันธ์ เชิดชูงาม, 2549 ; Henry, 1997)

## 1.4. วัตถุประสงค์

1.4.1 หาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อวิเคราะห์หาสารกำจัดวัชพืช ประเภท Chlorinated Acids ด้วยวิธี Micellar Electrokinetic Chromatography (MEKC)

1.4.2 เพื่อพัฒนาวิธีการเพิ่มความเข้มข้น (On-line concentration) แบบ Sample Stacking ได้แก่ Normal Stacking Mode (NSM) และ Field-Amplified Sample Injection (FASI) ในการวิเคราะห์หาสารกำจัดวัชพืช

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 สามารถพัฒนาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้น แบบ Sample Stacking เพื่อวิเคราะห์หาสารกำจัดวัชพืชโดยใช้เครื่อง CE

1.5.2 ลดต้นทุนในการวิเคราะห์หาสารกำจัดวัชพืช เนื่องจาก CE เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ราคาไม่แพง ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น ปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์น้อย ไม่เป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 หลักการของ Capillary Electrophoresis

หลักการแยกสารโดย electrophoresis อาศัยความแตกต่างของความสามารถของสารในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า เมื่อให้ความต่างศักย์จะเกิดสนามไฟฟ้าขึ้นและสารแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วไม่เท่ากันไปยังขั้วไฟฟ้าที่ตรงข้ามกับประจุของสาร ความเร็วในการเคลื่อนที่ของสารขึ้นอยู่กับความสามารถเฉพาะตัวในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าของสารแต่ละชนิดมีค่าไม่เท่ากันขึ้นกับคุณสมบัติของสาร เช่น ขนาดและจำนวนของประจุ ระดับขั้นของการแตกตัวของสาร และปัจจัยอื่น อาทิ ความหนืด อุณหภูมิ และค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) ของบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ เป็นต้น

##### 2.1.1 Electrophoresis

การแยกสารโดย electrophoresis ใช้หลักการเดียวกัน คือ อาศัยความแตกต่างในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าของสารแต่ละชนิด กล่าวคือสารที่มีขนาดและจำนวนประจุแตกต่างกันจะมีความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงมีความเร็วในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าแตกต่างกัน ความสัมพันธ์ระหว่างสนามไฟฟ้า ความสามารถ และความเร็วในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า แสดงดังสมการต่อไปนี้

$$V_e = \mu_e E \quad (1)$$

$$\mu_e = \frac{V_e}{E} \quad (2)$$

$$\mu_e \propto \frac{F_E}{F_F} \quad (3)$$

$$F_E = qE \quad (4)$$

$$F_F = 6\pi\eta rV \quad (5)$$

$$\text{ที่ภาวะสมดุล} \quad F_E = F_F \quad (6)$$

$$qE = 6\pi\eta rV \quad (7)$$

$$\mu_e = \frac{q}{6\pi\eta rV} \quad (8)$$

$\mu_e$	=	ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า (electrophoretic mobility, $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )
$V_e$	=	ความเร็วในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า
$E$	=	สนามไฟฟ้า (electric field, $\text{V/cm}$ )
$F_E$	=	แรงไฟฟ้า (electric force, N)
$F_F$	=	แรงเสียดทาน (frictional force, N)
$q$	=	จำนวนประจุ (ion charge)
$\eta$	=	ความหนืด (viscosity, $\text{Ns/m}^2$ )
$r$	=	รัศมีของไออ่อน (ion radius, cm)

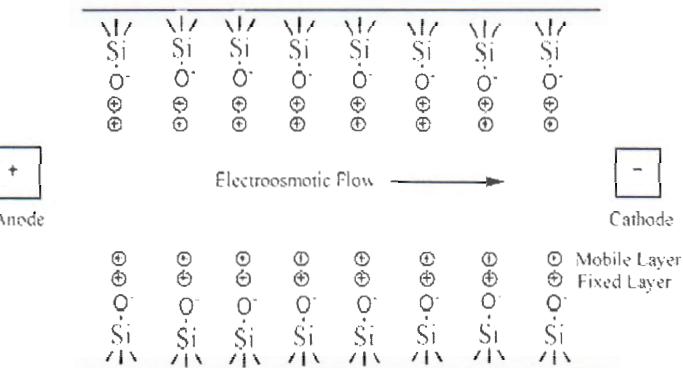
สมการข้างต้นแสดงให้เห็นว่าความเร็วในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า (1) ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าขึ้นกับแรงทางไฟฟ้าและแรงเสียดทาน โดยความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าเป็นปฏิภาค โดยตรงกับแรงไฟฟ้า แต่เป็นปฏิภาคผกผันกับแรงเสียดทาน (3) ที่สภาวะสมดุลสองแรงนี้มีขนาดเท่ากัน (6) ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าจึงขึ้นกับจำนวนประจุ ขนาดหรือรัศมีของไออ่อนและความหนืดของบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (8) กล่าวคือสารที่มีจำนวนประจุมากและมีขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าสารที่มีจำนวนประจุน้อย และมีขนาดใหญ่ และในบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีความหนืดต่ำสารจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าในบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีความหนืดสูง ดังนั้นชนิด ความเข้มข้นและ pH ของบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ และอุณหภูมิจึงมีผลต่อความเร็วในการเคลื่อนที่ของสารนี้ของจากปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อความสามารถหนึดของบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (ลีณา สุนทรสุข, 2550)

### 2.1.2 Capillary Electrophoresis หรือ CE

CE เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูง โดยอาศัยความแตกต่างในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของสารแต่ละชนิด ขั้นตอนการแยกสารเกิดขึ้นในแคปิลารีขนาดเล็กที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในประมาณ  $25-75 \mu\text{m}$  ภายในบรรจุด้วยบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรโอลิต์ การแยกสารเกิดขึ้นเมื่อให้ความต่างศักย์ซึ่งจะทำให้เกิดการไหลอิเล็กโทรโอลิติก (electroosmotic flow, EOF) ของบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรโอลิต์ภายในแคปิลารี โดยปรากฏการณ์นี้เกิดจากการแตกตัวของหมู่ไซLANOL (silanol, SiOH) ที่อยู่บนผนังด้านในแคปิลารี เมื่อถูกสารละลาย pH > 2 ทำให้ผิวของแคปิลารีมีประจุเป็นลบ โดย pH ที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง pH 2-12 ดังสมการต่อไปนี้



จะทำให้เกิดสมดุลของประจุขึ้น ได้เป็น double layer ด้วย counter ions (cations) จากสารละลายอิเล็กโทรโอลิต์ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ประจุที่ผิวของแคปิลารี (Wikipedia, 2012)

ผลจากการให้ศักย์ไฟฟ้าเข้าไปภายในแคปิลารี จะทำให้ชั้นของ double layer ซึ่งมีประจุบวกของสารละลายอิเล็กโทรโอลิต์ (ด้วยตัว它self) เกาะอยู่บนผิวของแคปิลารี วิ่งเข้าหาขั้วแคปิลารีซึ่งเป็นขั้วลบ และเนื่องจากขนาดที่เล็กของแคปิลารี และการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของสารละลายอิเล็กโทรโอลิต์ จะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของประจุบวกของอิเล็กโทรโอลิต์ นำพาโมเลกุลเคลื่อนที่ไปด้วย จึงเกิดเป็นการไหลของสารละลายอิเล็กโทรโอลิต์แบบต่อเนื่องและด้วยความเร็วคงที่ เรียกว่า EOF นั่น

EOF เป็นแรงขับเคลื่อนใน CE ที่มีบทบาทสำคัญต่อความแม่นและความเที่ยงของ การวิเคราะห์ ดังนั้นในทางปฏิบัติจึงต้องคำนวณความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า ของ EOF และควบคุม EOF ให้มีค่าคงที่และมีพิษทางตามที่ต้องการตลอดการวิเคราะห์ ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าของ EOF ของบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทร ไลต์ที่บรรจุอยู่ในแคปิลารีคำนวณจากสมการต่อไปนี้

$$V_{\text{eof}} = \frac{\xi \zeta E}{\eta} \quad (9)$$

$$\mu_{\text{eof}} = \frac{\xi \zeta}{\eta} \quad (10)$$

$$\mu_a = \mu_e + \mu_{\text{eof}} \quad (11)$$

$$\mu_a = \frac{l}{t_m E} \quad (12)$$

$$\mu_a = \frac{L}{t_m V} \quad (13)$$

$V_{\text{eof}}$  = ความเร็วของ EOF (electroosmotic flow velocity, cm/s)

$\mu_a$  = ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าปรากฏ  
(apparent mobility,  $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )

$\mu_e$  = ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า  
(electrophoretic mobility,  $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )

$\mu_{\text{eof}}$  = ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าของ EOF  
(electroosmotic flow mobility,  $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )

E = สนามไฟฟ้า (applied electric field, V/cm)

V = ความต่างศักย์ (voltage, V)

$\zeta$  = ศักย์ซีตา (zeta potential, V)

$\epsilon$  = ค่าคงที่ไอดิเอลิกทริค (dielectric constant,  $\text{C}^2/\text{Jm}$ )

L = ความยาวทั้งหมดของแคปิลารี (capillary total length, cm)

l = ความยาวจากปลายแคปิลารีด้านขาเข้าจนถึงเครื่องตรวจหา  
(capillary effective, cm)



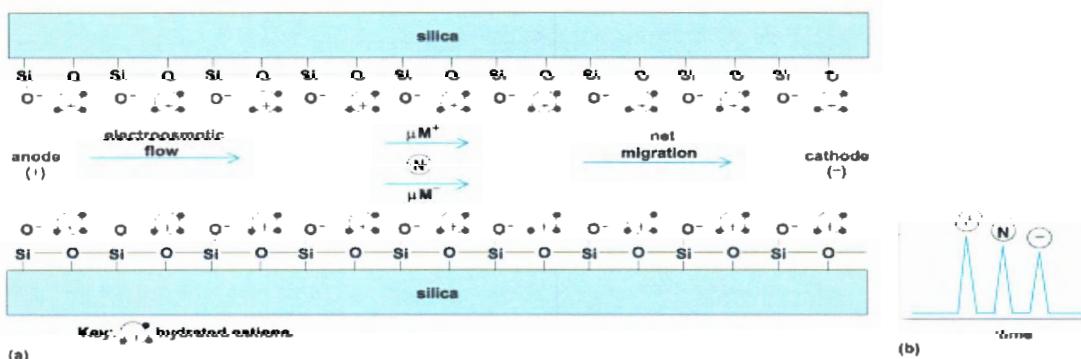
$t_m$  = เวลาในการเคลื่อนที่ของสาร (migration time, s)

$\eta$  = ความหนืด (viscosity, Ns/m<sup>2</sup>)

จากสมการ (10) ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของ EOF ของบัฟเฟอร์หรือสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ไม่เข้มกับสารไฟฟ้า แต่เข้มกับค่าคงที่ไดอิเล็กทริก ศักย์ชีตตา และความสามารถของสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ การเพิ่มและลดศักย์ชีตตาทำให้ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของ EOF เพิ่มและลดลงตามลำดับ ปัจจัยที่มีผลศักย์ชีตตา ได้แก่ (1) pH (2) ความเข้มข้นหรือความแรงไอโอน (ionic strength) ของสารอิเล็กโทรไลต์ (3) จำนวนประจุต่อพื้นที่ผิว และ (4) จำนวนเวลาเดินซึ่งอิเล็กตรอน

ในทางปฏิบัติการคำนวณความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของ EOF ทำโดยการฉีดสารที่มีคุณสมบัติเป็นกลางทางไฟฟ้า (neutral marker) ในช่วงพีเอชที่กรอง ละลายน้ำ ไม่ถูกดูดซับโดยผนังด้านในแคปิลารี และสามารถดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตได้ดี สารที่นิยมใช้ ได้แก่ เมทานอล เปนซิลแลกอฟโซล์ ไฮโดรฟลาวิน เมซิทิลออกไซด์ อะซิตอิน และเบนซิน เป็นต้น สารเหล่านี้ไม่ถูกดูดกลืนโดยขี้วัวแอกโตกหรือแอโนไดน์จากเป็นกลางทางไฟฟ้า และจะเคลื่อนที่พร้อมกับ EOF ด้วยความเร็วของ EOF ปรากฏเป็นพีกที่อยู่ระหว่างพีกของสาร จากนั้นนำเวลาการเคลื่อนที่ของ EOF ไปแทนค่าในสมการ (12) หรือ (13) เพื่อคำนวณความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของ EOF

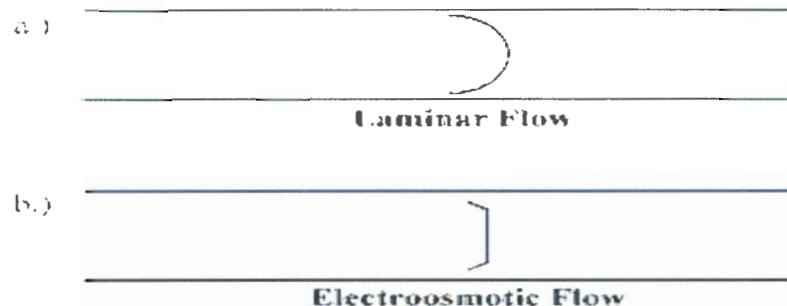
EOF ของสารที่มีประจุภายในแคปิลารี โดยสารที่มีประจุบวกจะเคลื่อนไปยังขั้วแก็โตก ส่วนสารที่มีประจุลบจะเคลื่อนไปยังขั้วแอกโตก ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 การเคลื่อนที่ของสารภายในแคปิลารี (Answers, 2012)

ลักษณะเด่นของ EOF ที่เกิดขึ้นใน CE ก็คือลักษณะการไหลจะเป็นรูปหน้าตัด (flat flow profile) ดังภาพที่ 2.3 ซึ่งเกิดจากไม่มีแรงดันเกิดขึ้นในช่วงเวลาที่มีการไหล ทำให้ไม่เกิดการกระจายของสาร พีกที่ได้จึงมีลักษณะแหลม (sharp) ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการแยกดีกว่าการแยก

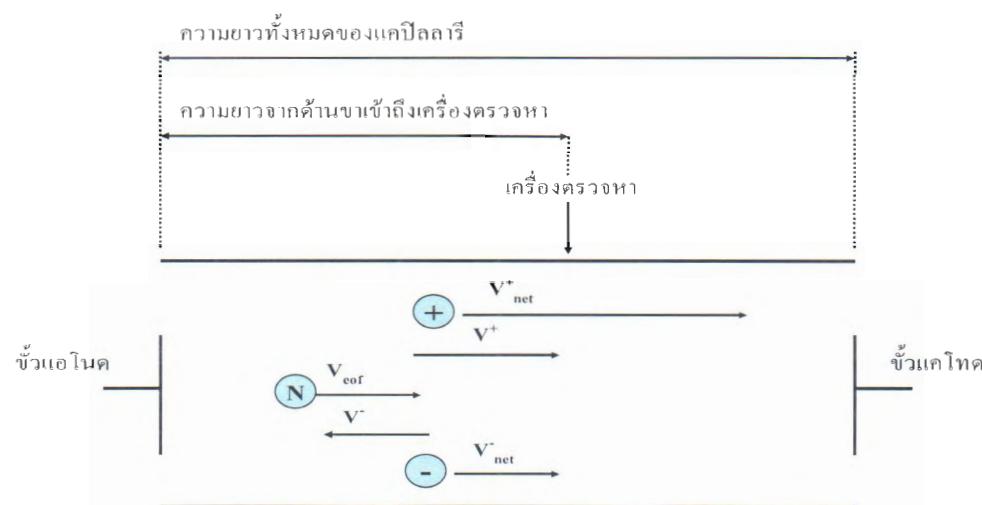
แบบโกรมาโทกราฟีที่ใช้ปั๊มแรงดันปั๊มสารละลายผ่านคอลัมน์ทำให้มีการไหลแบบ parabolic flow ซึ่งจะได้พิคที่มีลักษณะกว้าง (broad band) มากกว่า



ภาพที่ 2.3 ลักษณะการไหลของสารในแคปิลารี (Wikipedia, 2012)

### 2.1.3 พารามิเตอร์ในการวิเคราะห์

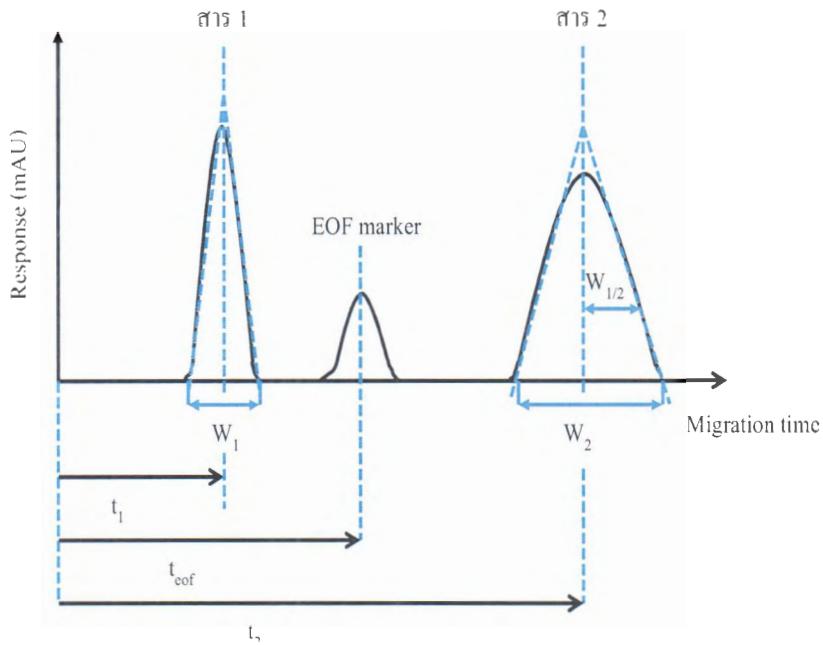
พารามิเตอร์ที่ใช้ในการประเมินประสิทธิภาพในการวิเคราะห์หรือการแยกสารโดย CE ประกอบด้วยประสิทธิภาพของแคปิลารี (capillary efficiency) การกระจายของพิค (peak dispersion) และการแยกชัด (resolution) ดังภาพที่ 2.4 แสดง electropherogram และสัญญาลักษณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการคำนวณพารามิเตอร์ในการวิเคราะห์



ภาพที่ 2.4 การเคลื่อนที่ของสารประจำบวก ลบ และสารที่เป็นกลางทางไฟฟ้าโดยอิทธิพลของ EOF

$V^+_{net}$  = ความเร็วสุทธิของสารประจำน้ำ,  $V^-$  = ความเร็วอิเล็กโทรโฟรีติกของสารประจำน้ำ,

$V_{eof}$  = ความเร็วของ EOF,  $V-nct$  = ความเร็วสุทธิของสารประจำลูบ,  $V-$  = ความเร็วอิเล็กโทรโฟรีติกของสารประจำลูบ, + = สารประจำน้ำ, - = สารประจำลูบ, N = สารที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



ภาพที่ 2.5 สัญลักษณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการคำนวนพารามิเตอร์ในการวิเคราะห์

### 2.1.3.1 ประสิทธิภาพของแคปิลารี (capillary efficiency)

ประสิทธิภาพของแคปิลารีคำนวนจากจำนวนเพลท (number of theoretical plate, N) แคปิลารีที่ดีควรมีจำนวนเพลทสูง คอลัมน์หรือแคปิลารีแต่ละชนิดมีจำนวนเพลทแตกต่างกัน เช่น คอลัมน์ HPLC มีจำนวนเพลทประมาณ  $10^3$  ต่อมตร คอลัมน์ปลายเปิด (open tube) มีจำนวนเพลทประมาณ  $10^6$  ต่อมตร คอลัมน์ที่ภายในบรรจุด้วยเจลมีจำนวนเพลท  $3 \times 10^7$  ต่อมตร สำหรับแคปิลารีโดยทั่วไปมีจำนวนเพลทมากกว่า  $10^5$  ต่อมตร จำนวนเพลทคำนวนจากสมการต่อไปนี้

$$N = 16 \left( \frac{t_m}{w} \right)^2 \quad (15)$$

$$= 5.54 \left( \frac{t_m}{w_{1/2}} \right)^2 \quad (16)$$

$$= \frac{\mu_e E}{2D} \quad (17)$$

$$= \frac{\mu_e Vl}{2DL} \quad (18)$$

N	=	จำนวนเพลท (number of theoretical plate)
$t_m$	=	เวลาในการเคลื่อนที่ของสาร (s)
w	=	ความกว้างของพีค (s)
$w_{1/2}$	=	ความกว้างของพีคที่ความสูงเป็นครึ่งหนึ่ง (s)
D	=	ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )
$\mu_e$	=	ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้า ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )
$\mu_{eof}$	=	ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของ EOF ( $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )
L	=	ความยาวทั้งหมดของแคปิลารี (cm)
l	=	ความยาวจากปลายแคปิลารีด้านขาเข้าจนถึงเครื่องตรวจ (cm)
v	=	ความเร็วในการเคลื่อนที่ของสาร (cm/s)
E	=	สนามไฟฟ้า (V/cm)

สมการ (15) ใช้คำนวณจำนวนเพลทในกรณีที่พีคสมมาตร สมการ (16) ใช้ในกรณีที่พีคไม่สมมาตร เช่น fronting peak หรือ tailing peak สมการ (17) และ (18) ใช้กรณีที่ทราบความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าและความเร็วในการเคลื่อนที่ของสาร จำนวนเพลท มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของสาร โดยประสิทธิภาพของ แคปิลารีจะเพิ่มขึ้นหากสารเคลื่อนที่ได้เร็วภายในไฟฟ้า

### 2.1.3.2 การกระจายของพีค (Peak dispersion)

ในการวิเคราะห์โดย CE หากการกระจายของพีค มีค่าสูงจะทำให้พีคกว้าง และไม่สมมาตร การวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูงควรมีการกระจายของพีคต่ำ การกระจายของพีค คำนวณจากความกว้างของพีคที่ฐานดังสมการต่อไปนี้

$$w_b = 4\sigma \quad (19)$$

$$N = \left( \frac{l}{\sigma} \right)^2 \quad (20)$$

$$\sigma^2 = 2Dt_m = \frac{2DL}{\mu_e V} \quad (21)$$

$w_b$	=	ความกว้างของพีกที่ฐาน (peak dispersion)
$\sigma$	=	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความกว้างของพีก (s)
D	=	ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )
L	=	ความยาวทั้งหมดของแคปิลารี (cm)
l	=	ความยาวจากปลายแคปิลารีด้านขาเข้าจนถึงเครื่องตรวจหา (cm)
$t_m$	=	เวลาในการเคลื่อนที่ของสาร (s)
V	=	ความต่างศักย์ (V)
$\mu_e$	=	ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้า ( $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )
N	=	จำนวนเพลท (number of theoretical plate)

### 2.1.3.3 การแยกชัด (Resolution)

การแยกชัดเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้ระบุว่าสารสองชนิดที่อยู่ใกล้กันมากที่สุด ถูกแยกออกจากกันได้เพียงไร การแยกชัดคำนวณจากสมการดังนี้

$$R_s = \frac{2(t_2 - t_1)}{w_1 + w_2} = \frac{t_2 - t_1}{4\sigma} \quad (22)$$

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left( \frac{\Delta \mu_e}{\bar{\mu}_e} \right) \quad (23)$$

$$R_s = \left( \frac{1}{4\sqrt{2}} \right) (\Delta \mu) \left( \frac{V}{D\bar{\mu}_e + \mu_{eof}} \right)^{1/2} \quad (24)$$

$R_s$	=	การแยกชัด (resolution)
$t_1, t_2$	=	เวลาในการเคลื่อนที่ของสารที่ 1 และ 2 (s)
$w_1, w_2$	=	ความกว้างของฐานพีกของสารที่ 1 และ 2 (s)
$\sigma$	=	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความกว้างของพีก (s)
$\mu_{eof}$	=	ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าของ EOF ( $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )
V	=	ความต่างศักย์ (V)

$D$	=	ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )
$N$	=	จำนวนเพลท (number of theoretical plate)
$\Delta\mu_e$	=	ความแตกต่างระหว่างความสามารถในการเคลื่อนที่ของสารที่ 1 และ 2 ภายในไไฟฟ์ ( $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )
$\overline{\mu}_e$	=	ค่าเฉลี่ยของความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไไฟฟ์ระหว่างสารที่ 1 และ 2 ( $\text{cm}^2/\text{Vs}$ )

การเพิ่มการแยกชัดทำได้โดยการเพิ่มความแตกต่างระหว่างความสามารถในการเคลื่อนที่ของสารภายในไไฟฟ์ของสมการ (23) และหากต้องการเพิ่มการแยกชัดเป็นสองเท่าจะต้องเพิ่มความต่างศักย์ถึงเท่าเดิมของสมการ (24) การวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูงควรมีการแยกชัดสูง โดยทั่วไปควรมีค่ามากกว่า 1.5 (ลีณ สนธรสุข, 2550)

#### 2.1.4 เครื่องนี้ CE

เครื่อง CE มีองค์ประกอบพื้นฐานแสดงดังภาพที่ 2.6 ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้

2.1.4.1 ส่วนฉีดสาร (sample injection) การฉีดสารสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การฉีดสารแบบไฮโดรไดนามิก(Hydrodynamic injection) เป็นการฉีดสารโดยอาศัยความแตกต่างของความดันระหว่างปลายทั้งสองข้างของแคปิลารี และการฉีดสารแบบอิเล็กโทรไฮเคนติก(Electrokinetic injection) เป็นการฉีดสารโดยให้ความต่างศักย์ปริมาณต่ำ เป็นระยะเวลาสั้นๆ สำหรับสารที่มีความเข้มข้นต่ำอาจฉีดสารโดยทำให้เข้มข้นบนแคปิลารีโดยวิธีไอโซแทกโคโพร์ซีสหรือเทคนิค sample stacking

2.1.4.2 ส่วนบรรจุของเหลว (liquid handling component) เป็นส่วนที่สำคัญสำหรับเครื่อง CE ในการทำเลียงสารและถ่ายอิเล็กโทรไลต์ สารตัวอย่าง และของเสียออกจากเครื่องซึ่งประกอบด้วยส่วนลำเลียงอัตโนมัติ ส่วนเก็บสารตัวอย่างหลังการวิเคราะห์ ส่วนเสริมชุดเชยบัฟเฟอร์ และส่วนปรับระดับบัฟเฟอร์

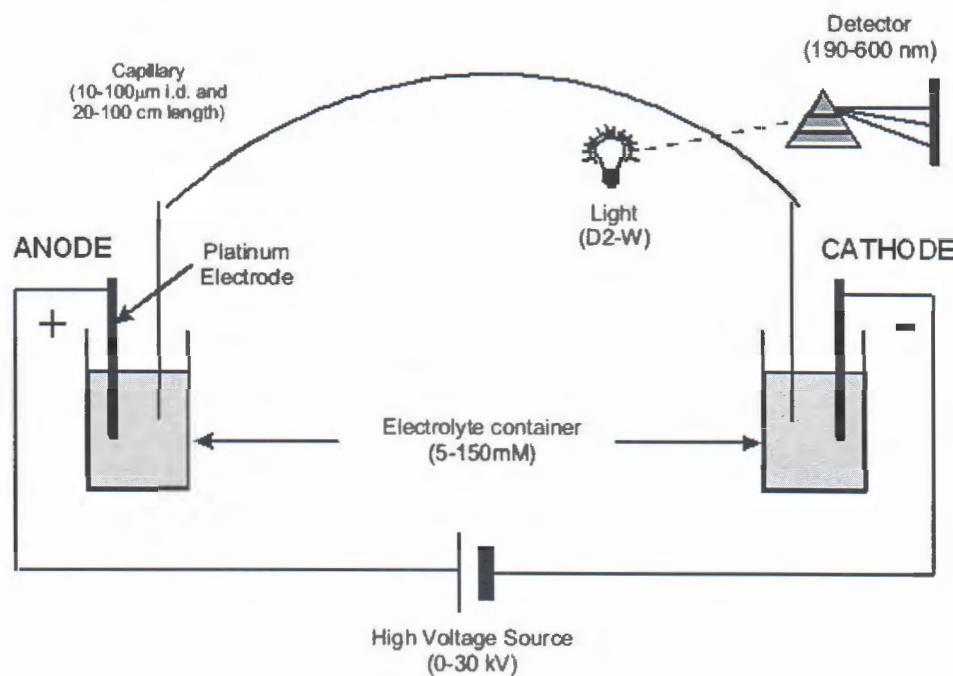
2.1.4.3 แคปิลารี (capillary) เป็นบริเวณที่มีการแยกสารเกิดขึ้น จึงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญมาก แคปิลารีโดยทั่วไปทำจากวัสดุเชื่อม ไม่คุ้งกลืนรังสีอัลตราไวโอเลต และราคาไม่แพง ได้แก่ ซิลิกา เนื่องจากมีราคาถูก พื้นผิวภายในของแคปิลารีที่ทำจากซิลิกามักจะเคลือบด้วยสารพอลิอิมิด (polyimide) เพื่อเพิ่มความคงทนของแคปิลารี ดังนั้นก่อนนำแคปิลารีชนิดนี้ไปใช้งาน จะต้องลอกสารพอลิอิมิดที่อยู่บริเวณตรวจหาออกเพื่อทำเป็นหน้าต่างเซลล์ (cell window)

**2.1.4.4 เครื่องให้ความต่างศักย์ (voltage power supply)** เป็นแหล่งให้ศักย์ไฟฟ้า ปริมาณสูงภายในแคปิลารี การให้ความต่างศักย์สูงทำให้สารเคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูง ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น แต่อาจทำให้ระสึกภาพในการแยกลดเนื่องจากเกิดความร้อนจุลเพิ่มขึ้น ความต่างศักย์ที่นิยมใช้ในการแยกสารโดย CE มีค่าประมาณ 25-30 kV ซึ่งทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าและความร้อนจุลที่ไม่สูงเกินไป

**2.1.4.5 ขั้วไฟฟ้า (electrodes)** ทำมาจากโลหะเชือย เช่น ลวดแพลตินัม (platinum) โดยส่วนปลายทั้งสองข้างของขั้วไฟฟ้าจะจุ่มลงในสารละลายนิเลกโโทรไลต์ เพื่อทำให้เกิดการนำของกระแสไฟฟ้า

**2.1.4.6 เครื่องตรวจหาสัญญาณ (detector)** ทำหน้าที่ตรวจวัดสัญญาณของสารที่ดูดกลืนแสงในช่วง UV-Visible light เป็นต้น

**2.1.4.7 ตัวบันทึกข้อมูล (recorder)** ทำหน้าที่เปลี่ยนสัญญาณที่ได้จาก detector แล้วแสดงข้อมูลในรูปแบบต่างๆ เช่น คอมพิวเตอร์ ซึ่งจะเปลี่ยนสัญญาณเป็น ตัวเลข และกราฟ เป็นต้น



ภาพที่ 2.6 ส่วนประกอบของเครื่อง CE (Doping, 2012)

### 2.1.5 ข้อดีและลักษณะเด่นของ CE

CE เป็นเทคนิคที่นำสารตัวรู้ด้านการวิเคราะห์หลายแขนงมาร่วมกันประกอบด้วย การนำพิวซ์ซิลิกาแคนปิลารีของ GC มาประยุกต์ใช้ การนำเครื่องตรวจหาที่มีสภาพไว้สูง (sensitivity) ของ HPLC มาดัดแปลงให้สามารถตรวจหาโดยตรงบนแคนปิลารีได้ และการนำ เจลอะลีก์โทรอฟอร์ซีสนาพัฒนาให้สามารถทำงานโดยระบบอัตโนมัติ การทดสอบข้อดีของทั้งสาม เทคนิคทำให้เกิดเทคนิคการวิเคราะห์ใหม่ที่มีประสิทธิภาพและสภาพไว้สูง สามารถใช้กับตัวอย่างที่ มีความหลากหลายได้มากขึ้น และมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากเทคนิคอื่น อาทิ มีจำนวนเพลทสูง กว่า HPLC โดยทั่วไปเทคนิค HPLC จะใช้ตัวทำละลายมากกว่า CE ถึง 1,000 เท่า อีกทั้งในกรณี ที่ตรวจหาโดยการคุณลักษณะรังสีอัลตราไวโอเลต สภาพไวในการตรวจหาของเทคนิค CE จะต่ำกว่าวิธี GC และ HPLC ประมาณ 1,000 เท่า เมื่อเทียบกับการตรวจหาโดยวิธี CE ที่ต้องการตัวอย่างต้องมีปริมาณน้ำหนักตัวอย่างมากกว่า (detection window) การวัดการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ที่เหนี่ยวนำโดยเดชอร์ ช่วยให้สภาพไวในการตรวจหาของ CE เพิ่มขึ้น โดยสามารถตรวจหาในระดับ  $10^{-23}$  molar หรือ 6 molar นอกจากนี้แคนปิลารียังมีราคาถูก และเข้าสมควรเร็ว เป็นดังนี้

#### ข้อดีและลักษณะเด่นของ Capillary Electrophoresis สรุปได้ดังนี้

(1) การแยกสารเกิดขึ้นในแคนปิลารีขนาดเล็กซึ่งมีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อ ปริมาตรสูงทำให้การระบายน้ำร้อนมีประสิทธิภาพสูง

(2) สามารถใช้ความต่างศักย์สูงถึง 800 โวลต์ต่อเซนติเมตร ในการแยกสารโดย ไม่เกิดความร้อนสูง ทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น

(3) สามารถตรวจหาสารได้บนแคนปิลารีได้โดยตรง และสามารถใช้เครื่อง ตรวจหาที่มีประสิทธิภาพสูงได้ เช่น เครื่องวัดการคุณลักษณะรังสีอัลตราไวโอเลต เครื่องวัดการเรือง แสงฟลูออเรสเซนต์และสเปกโตรมิเตอร์มวล (mass spectrometer, MS) เป็นต้น

(4) มีประสิทธิภาพในการแยกสูง โดยพิจารณาจากค่าจำนวนเพลทโดยทั่วไปมีค่า จำนวนเพลทสูงกว่า 10,000

(5) ใช้ปริมาณสารตัวอย่างในปริมาณน้อยระดับนาโนลิตร และใช้บัฟเฟอร์หรือ สารละลายอะลีก์โทรอไลต์ในปริมาณน้อยระดับมิลลิลิตรต่อวัน

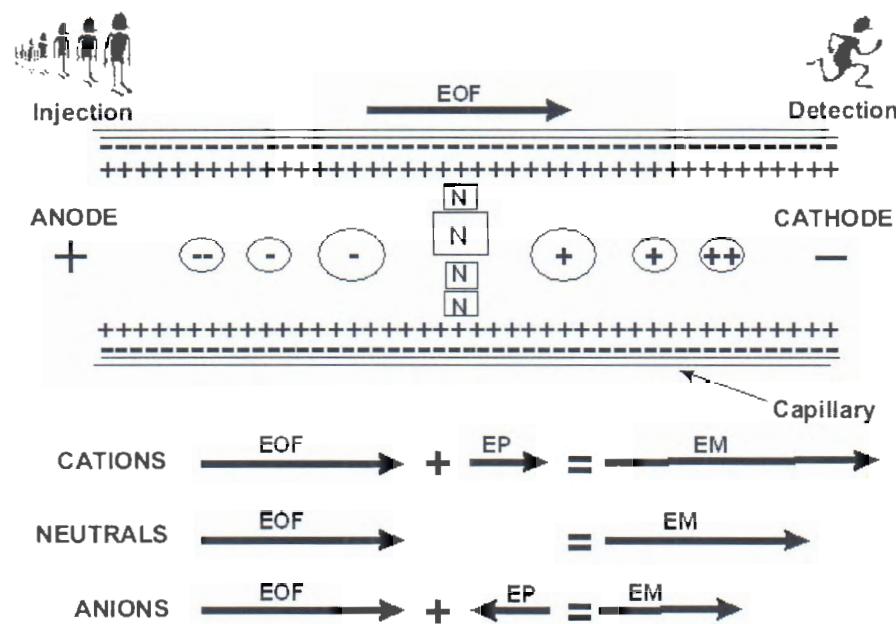
(6) วิธีการใช้เครื่องแคนปิลารีอะลีก์โทรอฟอร์ซีส่ง่าย ไม่ซับซ้อน

การแยกสารโดยแคนปิลารีอะลีก์โทรอฟอร์ซีสสามารถทำได้หลายวิธี แต่ละวิธีมี กลไกการแยกสารที่แตกต่างกันซึ่งสามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับชนิดสารตัวอย่าง

## 2.2 Capillary Zone Electrophoresis หรือ CZE

### หลักการและกลไกการแยกสาร

CZE เป็นวิธีการแยกสารโดย CE ที่ง่ายและมีการนำไปประยุกต์ใช้มากที่สุด สามารถแยกสารได้หลายประเภท เช่น สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ กรดอะมิโน เพปไทด์ โปรตีน ไอกอนค่าๆ และสารเอนไซม์ที่โอมอร์ เป็นต้น ซึ่งสามารถนำไปใช้ศึกษาคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์ ตรวจหาความบริสุทธิ์และศึกษาโครงรูปของสาร กลไกการแยกสารอาศัยความแตกต่างของการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าภายในแคปิลารีที่บรรจุด้วยบันฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ สารที่มีประจุบวกประจุลบ และสารที่เป็นกลางทางไฟฟ้าจะเคลื่อนออกจากแคปิลารีด้วยความเร็วที่แตกต่างกัน โดยสารประจุบวกจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูงสุด ไปยังขั้วแคปิลารีโดย EOF และแรงดึงดูดจากขั้วแคปิลารี สารประจุลบจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วต่ำสุดเนื่องจากมีแรงดึงดูดจากขั้วแอนโโนดในทิศทางตรงข้าม ส่วนสารที่เป็นกลางทางไฟฟ้าจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วระหว่างความเร็วของสารประจุบวกและสารประจุลบโดยจะเคลื่อนออกจากแคปิลารีพร้อมกับ EOF ดังภาพที่ 2.7

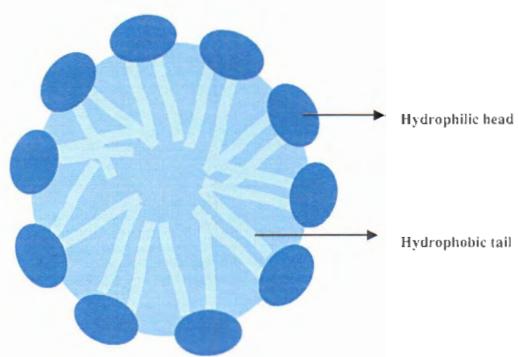


ภาพที่ 2.7 กลไกการแยกสารแบบ CZE (Doping, 2012)

### 2.3 Micellar Electrokinetic Chromatography หรือ MEKC

#### หลักการและกลไกการแยกสาร

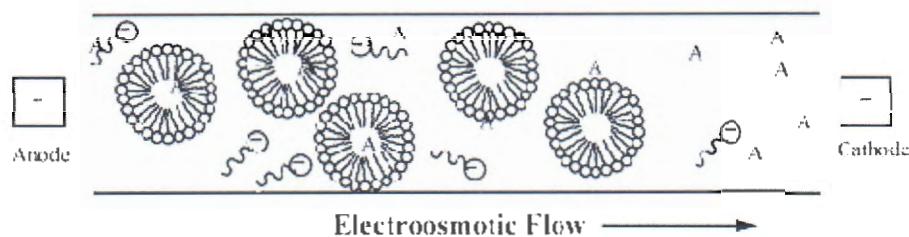
MEKC เป็นวิธีผสมระหว่าง electrophoresis และ chromatography ลักษณะเด่นของวิธีนี้คือ สามารถแยกสารได้ทั้งสารที่มีประจุและสารที่เป็นกลางทางไฟฟ้า โดยการเติมสารลดแรงตึงผิวที่มีความเข้มข้นสูงกว่าไมเซลล์วิกฤต (critical micelle) ของไมเซลล์นั้นๆ ลงในบัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทร ไลต์เพื่อให้เกิดเป็นไมเซลล์ ซึ่งไมเซลล์มีลักษณะทรงกลม ส่วนหัวเป็นบริเวณที่มีประจุอาจเป็นประจุบวกหรือลบขึ้นอยู่กับชนิดของสารลดแรงตึงผิว ส่วนหัวของไมเซลล์จะหันเข้าสู่บัฟเฟอร์หรือสารละลายอิเล็กโทร ไลต์ ส่วนหางของไมเซลล์เป็นส่วนที่ไม่มีข้อจำกัดซึ่งเข้าสู่ศูนย์กลางของไมเซลล์ ดังภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 รูปร่างของไมเซลล์ (Wikipedia, 2012)

ไมเซลล์ที่มีประจุอาจเคลื่อนที่ในทิศทางเดียวกันหรือทิศตรงข้ามกับ EOF ขึ้นอยู่กับชนิดของประจุของสารลดแรงตึงผิวที่ก่อตัวเป็นไมเซลล์ สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ เช่น โซเดียมไดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulphate, SDS) จะเคลื่อนไปยังขั้วแอลูมิเนียมตรงข้ามกับทิศทาง EOF ในสารละลายที่เป็นกลางหรือเป็นด่าง EOF จะเคลื่อนที่เร็วกว่าการเคลื่อนที่ของไมเซลล์ ดังนั้นสารจึงเคลื่อนที่ในทิศทางเดียวกับ EOF ในขณะเคลื่อนที่สารจะมีอันตรกิริยากับไมเซลล์แบบ chromatography ซึ่งมีทั้งอันตรกิริยาไมขอมน้ำและอันตรกิริยาไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction) เข้ามาเกี่ยวข้อง

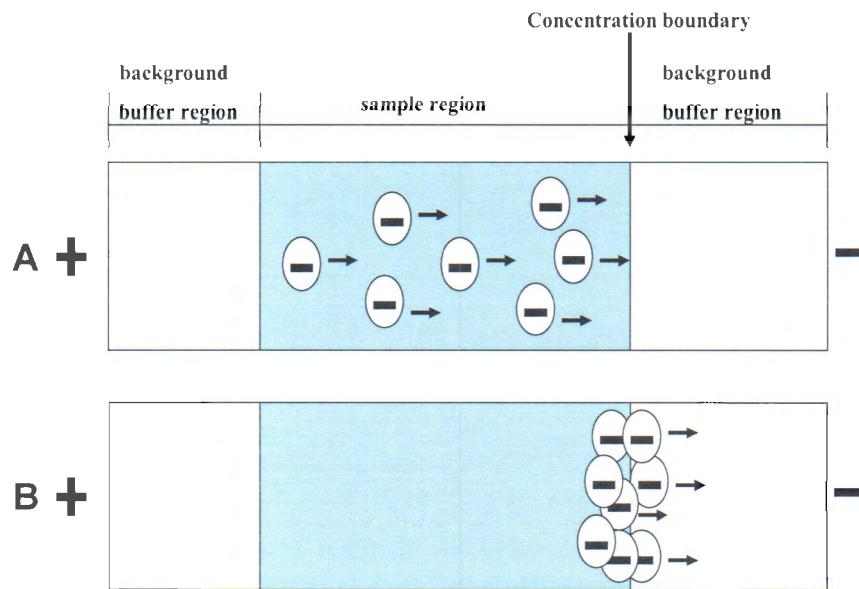
กลไกการแยกสารโดย MEKC แสดงดังภาพที่ 2.9 การแยกสารที่เป็นกลางทางไฟฟ้าเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างสารกับไมเซลล์ และขึ้นอยู่กับการเคลื่อนเข้าและออกจากไมเซลล์ สารที่มีอันตรกิริยากับไมเซลล์มากจะเคลื่อนที่ช้า ดังนั้นสารที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำสูงจะเคลื่อนที่ออกจากแคปิลารีหากว่าสารที่มีข้า



ภาพที่ 2.9 กลไกการแยกสารแบบ MEKC (Kealey and et al., 2012)

#### 2.4 Sample Stacking

Sample stacking เป็นเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายแบบ On-line ซึ่งเป็นวิธีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายที่ทำได้ง่ายและสะดวกภายในแคปิลารี กลไกการเกิด sample stacking สามารถอธิบายได้ดังภาพที่ 2.10 เมื่อมีการฉีด (inject) สารละลายตัวอย่างเข้าไปในแคปิลารี จะทำให้เกิดการแบ่งออกเป็นสองเขต (zone) คือ เขตของสารละลายตัวอย่าง (sample region) ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ และเขตของสารละลายอิเล็กโทร ไลต์ (background electrolyte region) ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้าสูง เมื่อมีการผ่านศักย์ไฟฟ้าเข้าไปในแคปิลารีจะทำให้ไอออนในส่วนของสารละลายตัวอย่างมีการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วไปทางกันบริเวณรอยต่อของเขตทั้งสอง (concentration boundary) จากนั้นจึงมีการเคลื่อนที่เข้าไปในเขตสารละลายอิเล็กโทร ไลต์ แต่เนื่องจากเขตดังกล่าวมีค่าการนำไฟฟ้าที่สูงกว่าจึงทำให้ไอออนที่เข้าไปมีการเคลื่อนที่ช้าลง ส่งผลทำให้มีจำนวนของไอออนที่มาเกาะรวมกันมีจำนวนมาก เรียกว่าการเกิด stacking ทำให้บริเวณรอยต่อมีความเข้มข้นของไอออนมากขึ้น เมื่อไอออนดังกล่าวเคลื่อนที่ผ่าน detector จึงทำให้ค่า sensitivity ของการ detect สารมีค่าสูงขึ้นมากกว่าปกติ



ภาพที่ 2.10 กลไกการเกิด sample stacking (Quirino P. J., 2000)

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการทำ sample stacking 2 เทคนิค คือ

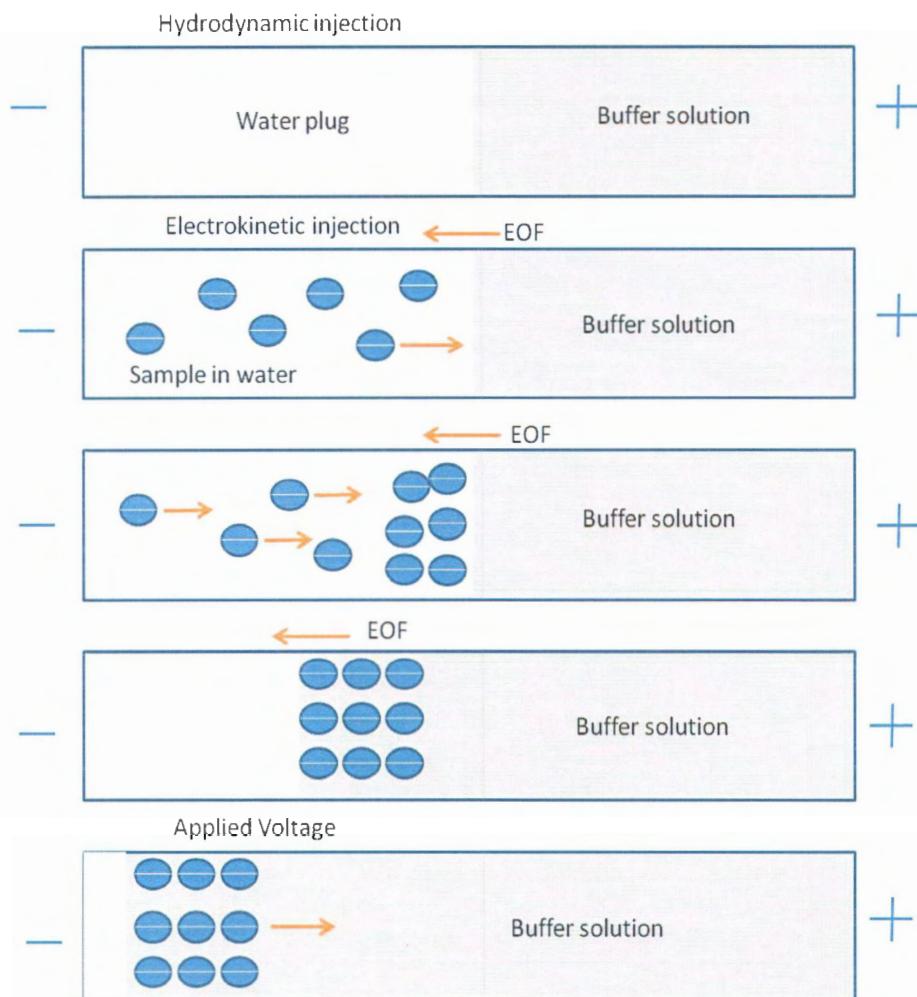
#### 2.4.1 Normal Stacking Mode (NSM)

NSM เป็นเทคนิคการทำ stacking ที่ง่ายที่สุด โดยการละลายสารตัวอย่างในตัวทำละลายที่มีสภาพการนำไฟฟ้าที่ต่ำ เช่น น้ำหรือสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีความเข้มข้นต่ำๆ แล้วจึง inject สารเข้าสู่แคปิลารีในปริมาณมากกว่าปกติด้วยแรงดัน (hydrodynamic injection) จากนั้นให้สักย์ไฟฟ้าเข้าสู่แคปิลารี ซึ่งทำให้ไอออนของสารละลายตัวอย่างซึ่งมีค่าสภาพนำไฟฟ้าที่ต่ำเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วเข้าสู่เขตของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ซึ่งมีค่าสภาพนำไฟฟ้าที่สูงกว่า ในเขตนี้ความเร็วในการเคลื่อนที่ของไอออนช้าลงเกิดเป็น stacking ของไอออนของสารละลายตัวอย่างบริเวณ concentration boundary ก่อนที่จะเคลื่อนที่เข้าสู่ detector เพื่อทำการตรวจต่อไป ข้อจำกัดของเทคนิค NSM คือความยาวของช่วงของสารละลายที่มีการ inject เข้าไปในแคปิลารีมีช่วงที่สั้นถ้า inject สารในช่วงที่ยาวมากๆ จะทำให้ค่าประสิทธิภาพของการแยก (separation efficiency หรือค่า Rs) มีค่าลดลง

#### 2.4.2 Field Amplified Sample Stacking (FASS)

FASS หรือ Field Enhanced Sample Injection (FASI) เป็นเทคนิคเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างอีกเทคนิคหนึ่ง ซึ่งแตกต่างจากเทคนิค NSM ดังนี้ เทคนิค FASS จะมี

การฉีดน้ำเข้าไปในแคปิลารีก่อนจากนั้นจึงฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความต่างศักย์ (voltage) ซึ่งเรียกว่า electrokinetic injection น้ำจะทำให้สารละลายตัวอย่างมีค่าสภาพนำไฟฟ้าต่ำเมื่อผ่านศักย์ไฟฟ้าเข้าไปในแคปิลารีจะทำให้ไอออนของสารละลายตัวอย่างเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วไปทางบวกและรอยต่อของสารละลายตัวอย่างกับสารละลายอิเล็กโทรฟอร์ไมต์ซึ่งมีค่าสภาพนำไฟฟ้าสูงส่งผลทำให้เกิดการ stacking ของสารละลายตัวอย่างขึ้น ซึ่งการเกิด stacking ของเทคนิค FASS นี้จะทำให้มี sensitivity ที่สูงกว่าปกติ กลไกการเกิด stacking และดังภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.11 กลไกการเกิด sample stacking แบบ FASS (Zhu and et al., 2001)

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Chatterjee and et al. (1982) ได้ศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพของ 2,4,5-T ในดิน โดยใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์ *Pseudomonas cepacia* AC110 จะทำให้เกิดการย่อยสลายและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลาย 2,4,5-T ในดิน ที่สภาวะเคมีสมคือ อุณหภูมิที่เหมาะสม ( $30^{\circ}\text{C}$ ) และความชื้น (15-50%) สามารถย่อยสลายได้มากถึง 95% ที่ความเข้มข้น (1 mg/g ของดิน) ภายใน 1 สัปดาห์

Cugat and et al. (1997) ได้ศึกษาและเปรียบเทียบทecnik CZE และ MEKC ในการแยกสารประกอบ aromatic sulphonate 12 ชนิด ได้แก่ 1-amino-2-hydroxy-4-naphthalenesulphonic acid (1-NHa-2-OH-4-NS; 1), naphthalene-2-sulphonic acid(2-NS; 2), 8-amino-2-naphthalenesulphonic acid (8-NHa-2-NS; 3), 2-amino-1-naphthalenesulphonic acid (2-NH2-1-NS; 4), naphthalene-1-sulphonic acid (1-NS; 5), 5-amino-2-naphthalenesulphonic acid (5-NH2-2-NS; 6), 6-amino-1-hydroxy-3-naphthalenesulphonic acid (6-NHa-1-OH-3-NS; 7), 6-amino-4-hydroxy-2-naphthalenesulphonic acid (6-NHa-4-OH-2-NS; 8), 4-amino-1-naphthalenesulphonic acid (4-NHa-1-NS; 9), 1-amino-5-naphthalenesulphonic acid (1-NHa-5-NS; 10), 1-hydroxy-4-naphthalenesulphonic acid (1-OH-4-NS; 11) and benzene sulphonic acid (BZS; 12) พบว่า เทคนิค CZE นั้น pH จะมีผลต่อการวิเคราะห์มาก และไม่สามารถแยกสารบางชนิดได้ เทคนิค MEKC จะทำการเติมสารลดแรงตึงผิวเพื่อเปรียบเทียบ 2 ชนิด คือ SDS และ Brij35 พบว่า Brij35 สามารถแยกสารได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 18 นาที ส่วน SDS ไม่สามารถแยกสารบางชนิดได้

Reddy and et al. (1997) ได้ศึกษาการย่อยสลายของ  $^{14}\text{C}$  ring และ side-chain-labelled 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid โดยใช้เชื้อรา *Dichomitus squalens* และ *Phanerochaete chrysosporium* ซึ่งพบว่า  $\text{Mn}^{2+}$  มีผลกระทบต่อการย่อยสลายสารเหล่านี้เมื่อใช้เชื้อรา *D.squalens* และ พบว่า ในโตรเจนมีผลต่อการย่อยสลายสารของเชื้อรา *P.chrysosporium* ซึ่งให้เห็นว่าเชื้อราทั้งสองชนิดจะเกี่ยวข้องกับการเกิดการแตกออกของ side-chain ซึ่งจะมีตัวเร่งปฏิกิริยาโดยกลไกอิสระของระบบการย่อยสลายลิกนิน ในขณะที่การย่อยสลายของ aromatic ring จะขึ้นอยู่กับระบบการย่อยสลายลิกนิน การย่อยสลาย chlorophenoxyacetic acid โดยใช้ *D.squalens* แสดงให้เห็นว่า chlorophenol เป็นผลิตภัณฑ์ตัวแรกที่เกิดขึ้น โดย chlorophenol จะถูก xylosylated ในรูปของ chlorophenolxyloside ในทางกลับกัน chlorophenolxyloside จะถูกย่อยสลายโดย intracellular  $\beta$ -xylosidase เพื่อทำให้ได้ chlorophenol ซึ่ง chlorophenol เป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาของ xylosidase ซึ่งเกิด dechlorinated oxidatively ในรูปของ 2-chloro-p-benzoquinon ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของ dechlorination และ ring-opening reaction

Farran and et al. (1999) ได้ศึกษาการแยกสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม phenoxyalkal acid คือ 2,4-D และ MCPA โดยใช้ CE ด้วยเทคนิค CZE และ MEKC ซึ่งได้ศึกษาผลของ organic modifier (acetonitrile), micellar system (sodium cholate) และ เดิมสาร cyclodextrins พบว่า เมื่อเติมสาร cyclodextrins จะทำให้มีประสิทธิภาพการแยกที่สูงกว่าวิธีอื่น และสามารถแยกสารได้ภายใน 5 นาที

Gregus and et al. (1999) ได้ศึกษาผลของสารกำจัดวัชพืช กลุ่ม chlorophenoxyacetic acid คือ 2,4-D และ 2,4,5-T บน glycine conjugation ของ benzoic acid โดยทำการฉีดสารทั้ง 2 ชนิด ลงไปใน benzoate จากเดื่อคและระบบขับปัสสาวะในหนู ซึ่งอยู่ในรูปของ benzoylglycine พบว่ามีผลกระแทบดังนี้ 1) จะรับกวนการทำงานระบบขนส่งของ ไトイ 2) เกิดการยับยั้งการขับถ่ายของ ไトイจาก benzoylglycine 3) ยับยั้งการก่อตัวของ benzoylglycine จาก benzoic acid 4) มีผลต่อความเข้มข้นของ ATP, CoA ในตับ 5) ลดกิจกรรมของ synthetase benzoyl-CoA ในตับ จากผลกระทบทั้งหมดนี้ แสดงให้เห็นว่า 2,4-D และ 2,4,5-T ลดการเกิด benzoylglycine ในหนู โดยการยับยั้งของ synthetase benzoyl-CoA

Kim and et al. (2001) ได้ศึกษาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้น 2 เทคนิค ได้แก่ sample stacking และ sweeping โดยใช้สารลดแรงตึงผิวประจุบวก ในวิธี micellar electrokinetic chromatography สารลดแรงตึงผิวประจุบวกที่ใช้ คือ tetradecyltrimethyl ammonium bromide และ cetyltrimethyl ammonium chloride เพื่อเพิ่มสภาพไวในการวิเคราะห์ โดยใช้ naphthalene sulfonic acids ทดสอบประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถหาค่า detection limits ได้จาก 0.96-0.47 ppb

Zhu and et al. (2002) ได้ศึกษาเทคนิค on-line preconcentration เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของสาร acidic compound โดยรวมสองเทคนิคของ on-line concentration คือ field-amplified sample injection (FASI) และ sweeping-MEKC ใช้สารละลายน้ำฟอเริ่ม pH ต่ำ (2.5) เพื่อช่วยลด electroosmotic flow (EOF) และช่วยทำให้สารตัวอย่างเกิดการแตกตัวเป็น ไอออน ซึ่งมีความไวในการวิเคราะห์ได้ถึง 100000 เท่า สำหรับสารกำจัดวัชพืชประเภท phenoxy acidic เมื่อเทียบกับการฉีดสารแบบไฮโดรไดนามิก

Komarava and et al. (2002) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารกำจัดวัชพืช กลุ่ม chlorophenoxy carboxylic acid 6 ชนิด ได้แก่ 2,4-dichlorophenoxybutyric acid (2,4-DB) 2,4-dichlorophenoxypropionic acid (2,4-DP) 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) Phenoxyacetic acids (PA) และ 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP) ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ และน้ำสำหรับบริโภค โดยสกัดสารแบบ solid-phase extraction วิเคราะห์ด้วยเทคนิค CZE ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์คือการใช้ sodium tetra borate pH 9.2 เป็นสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ Sample injection 30 mbar 30 วินาที

applied voltage +20 kV ซึ่งสามารถแยกสารได้ภายใน 12 นาที และมีค่า LOD ของ 2,4-DB 2,4-DP 2,4,5-T และ 2,4-D เท่ากับ 0.005 mg/l ส่วน PA และ 2,4-DCP มีค่า LOD เท่ากับ 0.001 mg/l

Komarova and et al. (2003) ได้ศึกษาหาปริมาณของสารกำจัดวัชพืชประเภท chlorophenoxy carboxylic acid ในน้ำตามธรรมชาติ และน้ำดื่ม ได้แก่ 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-DO), 2,4-dichlorophenoxypropionic (2,4-DP), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic (2,4,5-T), 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D), 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic (2M-4C), and phenoxyacetic (PAA) acids โดยใช้เทคนิค CZE โดยเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกด้วยการเติม  $\beta$ -cyclodextrin ลงในสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ (ไม่เกิน 2 mM ลงใน 10 mM borat buffer 9.2) ซึ่งสามารถหาค่า LOD ของ 2,4-DM, 2,4-DP, 2,4,5-T และ 2,4-D เท่ากับ 0.0005 mg/l นอกจากนี้ CE ยังเป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการแยกและวิเคราะห์สารที่อยู่ในรูปของไอออนลับของสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม chlorophenoxyacetic acid

Kartsova and et al. (2006) ได้ศึกษาการแยกสาร tea flavanoids ได้แก่ (+)-catechin and (-)-epicatechin โดยใช้เทคนิค CZE และ MEKC ซึ่งในเทคนิค CZE จะเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกด้วยการเติม  $\beta$ -cyclodextrin ลงในสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ ส่วนเทคนิค MEKC จะใช้สำหรับการแยกสารประกอบหลายชนิดที่ผสมกัน ซึ่ง EOF และประสิทธิภาพในการแยกสารจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ micelle-forming agent (SDS) และ organic modifier (Urea)

Fu and et al. (2009) ได้ศึกษาการย้อมสลายและหาปริมาณของ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ 2-methyl-4-chloro-phenoxyacetic sodium (MCDA sodium) ในดินธรรมชาติจากการเกษตร โดยศึกษาสภาพที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ และใช้เทคนิค capillary zone electrophoresis (CZE) ค่า detection limits ที่คำนวณได้คือ 0.25  $\mu\text{g/g}$  (MCDA sodium) และ 0.15  $\mu\text{g/g}$  (2,4-D)

Zykova and et al. (2010) ได้ศึกษาการหาปริมาณของสาร ascorbic acid (AA) ใน medicinal preparations โดยใช้เทคนิค CZE และ MEKC พบว่าทั้งสองวิธีนี้มีความถูกต้องและแม่นยำในการวิเคราะห์และหาปริมาณสาร เนื่องจากใน medicinal preparations มี AA อยู่ 50 mg เมื่อวิเคราะห์ด้วย CE จะตรวจพบถึง  $49.99 \pm 0.24 \text{ mg/l}$

## 2.6 การเก็บตัวอย่าง (Sampling)

การเก็บตัวอย่างหรือการสุ่มเลือกตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ เป็นสิ่งที่สำคัญมากทางเคมี วิเคราะห์ เพราะเป็นการเลือกตัวแทนของตัวอย่างเพื่อนำมาทำการวิเคราะห์ ถ้าเก็บตัวอย่างไม่ดีจะทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดจากความเป็นจริงมาก การเก็บตัวอย่างมีหลายวิธี เช่น ตัวอย่างที่เป็น heterogeneous สามารถเก็บหลายตัวอย่างแบบสุ่ม (random) และจะนำส่วนใดมาวิเคราะห์ก็ได้

### 2.6.1 การเก็บตัวอย่างน้ำ

น้ำตัวอย่างที่เก็บมาจะต้องเป็นตัวแทนของน้ำที่ต้องการจะศึกษาหรือวิเคราะห์ เพื่อให้ทราบถึงคุณภาพในการนี้ต้องคำนึงถึงปริมาณของน้ำที่จะเก็บ เวลา ชนิด และแหล่งของน้ำที่จะเก็บว่าเป็นน้ำดีหรือน้ำเสีย การบรรยายถึงวิธีการเก็บตัวอย่างจะอธิบาย เพื่อนำไปใช้กับตัวอย่างทุกชนิด และทุกที่นั้นเป็นไปได้ยาก เพราะความแตกต่างกันของวัตถุประสงค์ และวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ จึงขอกล่าวถึงโดยทั่วๆไป เท่านั้น

#### 2.6.1.1 ชนิดของตัวอย่าง

##### 1) ตัวอย่างแยก (Grab or Catch Samples)

โดยทั่วไปหมายถึงตัวอย่างที่เก็บ ณ เวลาและสถานที่หนึ่ง แล้วนำมาวิเคราะห์เป็นตัวอย่างๆไป ตัวอย่างแยกนี้จะเป็นตัวแทนของแหล่งน้ำนั้น เนพะเวลาและชุดที่เก็บเท่านั้น อย่างไรก็ได้ ถ้าปรากฏว่าแหล่งน้ำนั้นมีคุณภาพที่ค่อนข้างจะคงที่ ณ เวลาและชุดต่างๆ เราอาจจะกล่าวได้ว่าตัวอย่างนั้นเป็นตัวแทนของแหล่งน้ำได้ ซึ่งในกรณีนี้ ตัวอย่างแยกเพียงตัวอย่างเดียว อาจใช้เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำบางแห่งได้เลย เช่น น้ำประปา น้ำพิวดิน และน้ำป่าลึก

ถ้าแหล่งน้ำนั้นมีคุณภาพตัวแปรผันตามเวลา การเก็บตัวอย่างแยกในช่วงเวลาที่เหมาะสม มาทำการวิเคราะห์จะช่วยให้ทราบถึงขอบเขต ความถี่และช่วงที่เปลี่ยนแปลงได้ ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างขึ้นอยู่กับความถี่ของการเปลี่ยนแปลง ดังนั้น จึงอาจจะแปรผันได้ตั้งแต่ 5 นาที ถึง 1 ชั่วโมง หรือนานกว่านี้ ในกรณีที่คุณภาพของแหล่งน้ำแปรผันตามระยะเวลา แทนที่จะแปรผันตามเวลา ควรใช้ชุดเก็บ (Set) ของตัวอย่างจากจุดที่เหมาะสม โดยให้มีการเจาะจเวลาน้อยที่สุด เพื่อจะได้ข้อมูลที่ถูกต้องและมีประโยชน์มากที่สุด ใน การเก็บตัวอย่างที่เป็นสลัดจ์ (Sludge) และโคลนดม(Mud) จะต้องใช้ความระมัดระวังอย่างมากเป็นพิเศษ เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของตัวอย่างทั้งหมด

##### 2) ตัวอย่างรวมแบบ Composite (Composite Samples)

หมายถึงส่วนผสมของตัวอย่างแยก ที่ทำการเก็บ ณ จุดเดียวกันแต่ต่างเวลา บางครั้งใช้คำว่า Time Composite Samples มีประโยชน์สำหรับใช้กับงานที่ต้องการทราบความเข้มข้นเฉลี่ย เช่น ในการคำนวณความสามารถที่จะกำจัดน้ำเสีย หรือประสิทธิภาพของเครื่องจักรใน

โรงงานกำจัดน้ำเสีย แทนที่จะทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง แยกทุกตัวอย่าง แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยของผล อาจจะทำตัวอย่างรวมของตัวอย่างแยกเหล่านี้ แล้วทำการวิเคราะห์ครั้งเดียว เป็นการประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายได้อย่างมาก สำหรับการวิเคราะห์ทั่วไปมักใช้ตัวอย่างรวมในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงเป็นมาตรฐาน แต่ถ้าต้องการผลเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำทึบ อาจต้องการตัวอย่างรวมที่เป็นตัวแทนของตัวอย่างในช่วงที่มีการปล่อยน้ำทึบนั้น ตัวอย่างรวมที่ได้ถือเป็นตัวอย่างเฉลี่ยภายในได้สภาวะดังกล่าว จะตัดปัญหาเกี่ยวกับเวลาทักเทิน (Detention Time) ไปได้โดยที่แต่ละตัวอย่างน้ำที่เก็บขึ้นอยู่กับแฟกเตอร์เดียว คือ อัตราการไหล ณ เวลานั้น (คือผสมกันตามอัตราส่วนปริมาณการไหล)

ในการวิเคราะห์ส่วนประกอบบางอย่างของน้ำ เช่น ก๊าซที่ละลายในน้ำ คลอรินตกค้าง อุณหภูมิและพื้นที่ เค้าเหล่านี้เปลี่ยนแปลง ได้ยากเมื่อเก็บรักษาตัวอย่างไว้ ดังนั้นจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้ตัวอย่างรวม ตัวอย่างรวมแบบ Composite ใช้เฉพาะการหาค่าส่วนประกอบที่ทราบได้ແเนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนแปลงภายในได้สภาวะของการเก็บและรักษาตัวอย่างเท่านั้น ให้น้ำแต่ละส่วนของตัวอย่างที่ทำการเก็บโดยใช้วัดปากกว้าง ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางของตัวอย่างน้อย 35 mm และจุ่นได้ออย่างน้อย 120 mm เก็บแต่ละส่วนเหล่านี้ทุกชั่วโมง บางกรณีอาจจะทุกครั้งชั่วโมง หรือทุก 5 นาที และนำมาผสมกันในขวดใบใหญ่ชุดเดียว เมื่อสิ้นสุดเวลาการเก็บตัวอย่างแล้ว ถ้าต้องใช้สารช่วยรักษา (Preservatives) ให้เติมลงในขวดเริ่มต้นทุกขวดก่อนทำการเก็บ ปกติมักทำการรวมแต่ละตัวอย่างในปริมาตรที่เป็นสัดส่วนกับปริมาตรที่ไหล สำหรับน้ำโสโครก (Sewage) น้ำทึบจากการระบบน้ำจัดน้ำเสีย (Effluent) และน้ำเสีย (Wastewater) แล้ว ปริมาตรสุดท้าย 2-3 ลิตร นับว่าพอเพียง ถ้าจะใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างชนิดอัตโนมัติ ควรเติมสารช่วยรักษาลงไปก่อน ทำความสะอาดเครื่องมือที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างรวมทั้งขวดในแต่ละวัน เพื่อกำจัดการเจริญเติบโตทางชีวะและการเกาะของตะกอน

### 3) ตัวอย่างรวมแบบ Integrated (Integrated Samples)

หมายถึงส่วนผสมของตัวอย่างแยก ที่เก็บจากจุดต่างๆ กัน ในเวลาเดียวกันหรือในเวลาที่ใกล้กันที่สุด ตัวอย่างที่จำเป็นต้องเก็บโดยวิธีนี้ได้แก่ แม่น้ำ ลำธาร ซึ่งคุณภาพแปรผันตามความกว้างและลึก ในการประเมินค่าส่วนประกอบเฉลี่ยหรือปริมาณสารทั้งหมด (Total Loading) ที่ต้องใช้ของผสมของตัวอย่าง ที่เป็นตัวแทนของจุดต่างๆ ในส่วนตัด (Cross Section) ของแหล่งน้ำซึ่งเป็นสัดส่วนกับการไหล

การเครื่ยมตัวอย่างรวมแบบ Integrated นี้ ต้องการเครื่องมือพิเศษในการเก็บตัวอย่าง จากจุดที่ทราบความลึกโดยไม่มีการประปนจากน้ำเบื้องบนเลย นอกจากนี้ควรทราบเกี่ยวกับปริมาตร การเกลื่อนไหวและส่วนประกอบต่างๆ ของน้ำ ที่จะทำการเก็บก่อนด้วย จะเห็นได้

ว่าการเก็บตัวอย่างรวมแบบนี้ยุ่งยากและมีขั้นตอนพิเศษกว่าแบบอื่น (สำนักวิจัย พัฒนาและอุทก  
วิทยา กรมทรัพยากรน้ำ, 2555)

### 2.6.2 การเก็บตัวอย่างดิน

ผลของการวิเคราะห์ดินจะมีความถูกต้อง และแน่นอนเพียงใด ขึ้นอยู่กับ ตัวอย่าง  
ดินที่เก็บมา ถ้าเก็บตัวอย่างดินไม่ดี และไม่ถูกต้อง แม้ว่าจะทำการ วิเคราะห์ละเอียดสักเพียงใดก็ตาม  
ผลการวิเคราะห์ที่ได้ออกมา ก็ไม่เป็นที่ใช้ วิเคราะห์โดยเปล่าประโยชน์ ดังนั้นการเก็บตัวอย่างดินที่  
ถูกต้องควรจะดำเนินถึง ปัจจัยต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

(1) ช่วงเวลาที่เหมาะสม การเก็บตัวอย่างดินสามารถทำได้ตลอดปี แต่ช่วงเวลาที่  
เหมาะสมที่สุดคือภายในหลังจากเก็บเกี่ยวพืชผลไปแล้วหรือตอนปลายฤดูหนาว

(2) ความชื้นในดิน ไม่ควรเก็บตัวอย่างดินในขณะที่ดินยังเปียกมาก หรือมีน้ำขังอยู่  
 เพราะจะยากแก่การคลุกเคล้าดินให้เข้ากัน ได้สนิท ความชื้นที่เหมาะสม แก่การคลุกเคล้าดินให้เข้า  
 กัน ได้สนิท ความชื้นที่เหมาะสมแก่การเก็บ ตัวอย่างดิน อาจสังเกตได้ คือ เอาท์เดินนั้นมาบีบและกำให้  
 แห่น เมื่อบีบมือออก ดินจะไม่ติดมือ คงจับกันเป็นก้อนและเมื่อบีบออกจะร่วน

(3) สถานที่เก็บตัวอย่างดิน ไม่ควรเก็บตัวอย่างดินในบริเวณที่เป็น บ้านเก่า คอก  
 สัตว์เก่า หรือบริเวณที่มีปุ๋ยตกค้างอยู่ เพราะจะทำให้ได้ตัวอย่างที่ไม่แน่นอน

(4) เครื่องมือที่ใช้เก็บตัวอย่างดิน เป็นเครื่องมือที่หาได้ทั่วไป ตามบ้านเรือน เช่น  
 พลั่ว ขอบ และ เสียม หรือ เตรื่องมือสำหรับเจาะเก็บ ตัวอย่างดินโดยเฉพาะ เช่น สว่านเจาะ หลอด  
 เจาะ และกระบอกเจาะ เป็นต้น ภาชนะสำหรับเก็บตัวอย่างดิน ได้แก่ ถัง กระบุง ฯลฯ สำหรับเก็บ  
 รวบรวมตัวอย่างดิน ที่บุคคลแต่ละคนและกล่องกระดาษแข็ง หรือถุงพลาสติก สำหรับบรรจุตัวอย่าง  
 ดิน เพื่อส่งไป ให้หน่วยงาน หรือห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน

เครื่องมือที่ใช้บุคคลนั้น หลากหลายรูปแบบ จะต้องสะอาดไม่มีคืน ปุ๋ย ยาฆ่าแมลง  
 ยาปราบศัตรูพืช และวัชพืช หรือผงสกปรกอื่น ๆ ติดอยู่ แม้จะเข้าไปปะปนเพียงน้อยนิดก็ตาม

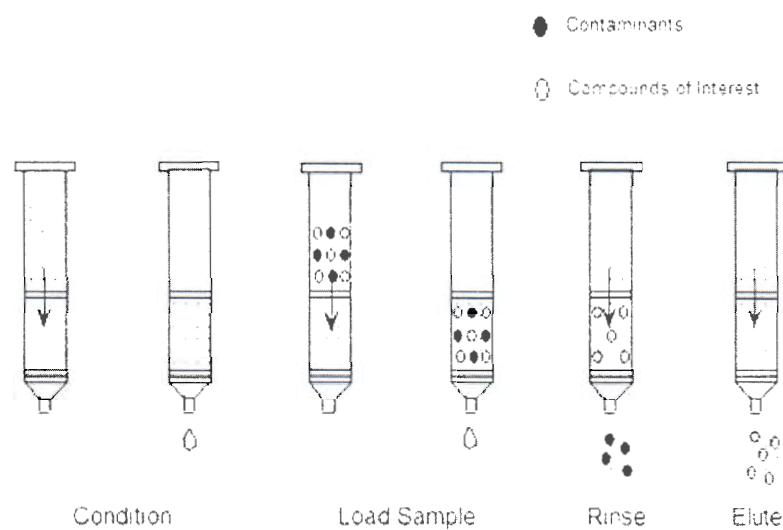
(5) ขนาดของแปลงที่จะเก็บตัวอย่างดิน ไม่จำกัดขนาดที่แน่นอน พื้นที่ที่มีความ  
 ลาดเทแตกต่างกัน ไม่จำกัดขนาด ที่แน่นอน พื้นที่ที่มีความลาดเทแตกต่างกัน บุคคลพืชต่างชนิดกัน  
 เคยใส่ปุ๋ยหรือ หินปูนต่างกัน (หรือกรณีที่มีเนื้อที่มาก) ต้องเก็บแยกกันเป็นคนละตัวอย่าง โดยแบ่ง  
 พื้นที่เป็นแปลงแปลงละ 10-20 ไร่

วิธีการเก็บตัวอย่างดิน ต้องถางหญ้าหรือภาชนะเศษพืชและใบไม้ที่ คลุมดินอยู่  
 ออกทิ้งเสียก่อน แล้วใช้ขอบเสียม หรือพลั่วบุคคลนั้นเป็นรูปตัว V ลึกประมาณ 6 นิ้วฟุต จากผิวดิน  
(สำหรับการบุคคลพืชทุกชนิด) หลังจากนั้น แล้วจึงใช้เอารินข้างด้านหนึ่งหนาประมาณ 2-3 cm จาก  
 ปากหลุม บนานลงไปตามหน้าดินที่ บุคคลพืชถึงกันหลุม แล้วจัดเรียง ดินที่ต้องการก็จะ ติดตามมาบน

ผลว่า ขอบหรือเสียง เอากินนี่ใส่ถัง หรือ กระบุงไว้ ทำอย่างนี้จนครบทุกหลุม โดยปกติแปลง ขนาดเนื้อที่ 10-20 ໄร์ ควรบุคประมาณ 10-20 หลุม ในที่ต่าง ๆ กัน ให้กระจายทั่วแปลง หลังจากบุคดินครบทุกหลุมตามที่ต้องการแล้ว ทำดินเหล่านี้ให้เป็น ก้อนเล็ก ๆ คลุกเคล้าให้ทั่วสนิมเสมอแล้วแบ่งดินออกประมาณ 1 กิโลกรัม ใส่กล่องใส่ล่องกระดาษแข็ง หรือถุงพลาสติกพร้อมกับเขียนรายละเอียดต่าง ๆ ใส่ไว้ข้างในและปิดข้างนอกกล่อง หรือถุงพลาสติกด้วย (สถานีพัฒนาที่ดินพังงา, 2555)

## 2.7 เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid Phase Extraction, SPE)

เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง อาศัยหลักการแบ่งสารละลายของสารที่สนใจระหว่างของแข็ง (absorbent ที่อยู่ในแท่ง SPE) กับของเหลวหรือ solvent ที่ใช้เป็นตัวช่วย (Eluting) ซึ่งแสดงภาพการสกัดได้ดังภาพที่ 2.12



ภาพที่ 2.12 ขั้นตอนของ SPE (Abacus-lab, 2012)

ขั้นตอนการใช้ SPE มีขั้นตอนดังนี้ (ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาลัยสงขลานครินทร์, 2555)

2.7.1 condition เป็นการเตรียม sorbent หรือ packing ที่บรรจุอยู่ในแท่ง SPE ให้พร้อมรองรับตัวอย่าง โดยการใส่ solvent ที่เหมาะสมลงไปใน SPE เมื่อได้เวลาที่เหมาะสม ให้ปล่อย solvent ทิ้ง โดยให้มี solvent เหลือไว้ใน sorbent สูงขึ้นจาก sorbent ของ SPE ประมาณ 0.5 cm ก่อนโหลดตัวอย่างในขั้นตอนถัดไป

2.7.2 Load เป็นการใส่ตัวอย่างลงไปเพื่อให้จับกับ sorbent โดยขั้นตอนนี้จะต้อง load ให้เรียบร้อย

2.7.3 Rinse เป็นการขัดเอาสารที่จับกับ sorbent ได้น้ำยาหรือจับอยู่ที่ผิวของ sorbent ออก

2.7.4 Elution เป็นการดึงเอาสารที่สนิมไว้คราบที่เกาะกับ sorbent ออก เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป โดยใช้ solvent ซึ่งที่เหมาะสม สารที่สนิมออกมา

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

###### 3.1.1 เครื่องมือ

###### ตารางที่ 3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

ชื่ออุปกรณ์	ชื่อรุ่นที่ผลิต	ชื่อบริษัทผู้ผลิต
Capillary Electrophoresis Instrument	<sup>3D</sup> Capillary Electrophoresis Instrument	Agilent Technologies, Deutshland, Germany
Fused silica capillary	50 µm i.d. × 64 cm	Polymicro Technologies (Arizona, USA)
pH meter	Cyber Scan 500 <sup>pH</sup>	Eutech Cybernatics, Singapore
0.45 µm Nylon Filter membrane	NY 504700	Lida manufacturing coporation
Hyperclean Syringe Filter	Top Syringe	Top coporation Tokyo. Japan
Filter paper No.	Ashless	Whatman international Ltd., England
Hot plate & Stirrer	Jenway 1000	Jenway Ltd. Fesited, England
Ultrasonic cleaner	575HT	CREST ULTRASONICS CORP, USA

###### 3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 Volumetric flask ขนาด 5, 10, 20, 25, 100 และ 250 ml

- 3.1.2.2 Beaker ขนาด 25, 50, 100 และ 250 ml
- 3.1.2.3 Pipette ขนาด 1, 2, 5, 10, 20 และ 25 ml
- 3.1.2.4 Micropipette ขนาด 0.5-1,000  $\mu$ l
- 3.1.2.5 Stirring rod
- 3.1.2.6 Cylinder ขนาด 10, 25 และ 50 ml
- 3.1.2.7 Water bottle
- 3.1.2.8 Spectular
- 3.1.2.9 Pipette pump
- 3.1.2.10 Label paper

### 3.1.3 สารเคมี

ตารางที่ 3.2 รายชื่อสารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรโมเลกุล	เกรด
2,4-Dichlophenoxyacetic acid, ~ 95%	$C_8H_6Cl_2O_3$	Laboratory
2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid, 97%	$C_8H_5Cl_3O_3$	Laboratory
4-Chloro-2-methylphenoxyacetic acid, 95-97%	$C_9H_9ClO_3$	Laboratory
2-(2,4-Dichlophenoxy)-propionic acid, 95%	$C_9H_8Cl_2O_3$	Laboratory
Acetic acid glacial	$CH_3COOH$	ACS for analysis
Sodium acetate	$CH_3COONa$	ACS ISO for analysis
Boric acid	$H_3BO_3$	ACS for analysis
Sodium tetraborate	$Na_2B_4O_7$	ACS ISO for analysis
Sodium dihydrogen phosphate	$NaH_2PO_4$	ACS for analysis
Di-sodium hydrogen phosphate anhydrous	$Na_2HPO_4$	ACS for analysis
Sodium lauryl sulfate	$CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$	ACS for analysis
Sodium hydroxide anhydrous pellets	$NaOH$	ACS ISO for analysis
Methanol	$CH_3OH$	Plus for HPLC
Orthophosphoric acid 85%	$H_3PO_4$	ACS ISO for analysis

### 3.2 วิธีการทดลอง

#### 3.2.1 การเตรียมสารละลายน้ำในการทดลอง

3.2.1.1 การเตรียมสารละลายน้ำตระหานของสารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด ความเข้มข้น 1,000 ppm ใน methanol ปริมาตร 100 ml

1) สารละลาย 2,4-Dichlophenoxyacetic acid (2,4-D ; MW = 221.04 g/mol)

ชั้ง 2,4-D 0.1 g ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 ml ละลายด้วย methanol จากนั้นเทสารละลายใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

2) สารละลาย 2,4,5-Trichlophenoxyacetic acid (2,4,5-T ; MW = 256.54 g/mol)

ชั้ง 2,4,5-T 0.1 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 ml ละลายด้วย methanol จากนั้นเทสารละลายใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

3) สารละลาย 4-Chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA; MW=200.60 g/mol)

ชั้ง MCPA 0.1 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 ml ละลายด้วย methanol จากนั้นเทสารละลายใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

4) สารละลาย 2-(2,4-Dichlophenoxy)propionic acid (2,4-P; MW=221.04 g/mol)

ชั้ง MCPA 0.1 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 ml ละลายด้วย methanol จากนั้นเทสารละลายใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

3.2.1.2 การเตรียมสารละลายอิเล็กโทรโอล็อกต์ความเข้มข้น 200 mM ปริมาตร 250 ml

1) สารละลาย stock acetate buffer และ สารละลาย acetate buffer

เตรียมจาก sodium acetate ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , Mw=136.08 g/mol) และ acetic acid ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  99%, Mw=60 g/mol, D=1.0499 g/cm<sup>3</sup>) โดยชั้ง Sodium acetate 3.4020 g และตวง acetic acid มา 1.43 ml ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 ml ละลายสารทั้งสองด้วย deionized water จากนั้นเทสารละลายทั้งสองลงใน volumetric flask ขนาด 250 ml ขวดเดียวกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 250 ml ด้วย deionized water จนครบปริมาตร

เตรียมสารละลาย acetate buffer ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 50 ml

เพื่อใช้ในการทดลอง โดยปีเปตจากสารละลาย stock acetate buffer มา 12.5 ml ลงในบีกเกอร์ขนาด

100 ml เติม deionized water ลงไป ปรับ pH (4.5) ด้วย acetic acid จากนั้นเทสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 50 ml ปรับปริมาตรด้วย deionized water จนครบปริมาตร

2) สารละลาย stock borate buffer และสารละลาย borate buffer

เตรียมจาก boric acid ( $H_3BO_3$ , Mw=61.81 g/mol) และ sodium tetraborate ( $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ , Mw=381.37 g/mol) โดยชั่ง boric acid 1.5453 g และ sodium tetraborate 9.5343 g ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 ml ละลายสารทั้งสองด้วย deionized water จากนั้นเทสารละลายทั้งสองลงใน volumetric flask ขนาด 250 ml ขวดเดียวกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 250 mL ด้วย deionize water จนครบปริมาตร จะได้สารละลาย stock borate buffer ความเข้มข้น 200 mM

เตรียมสารละลาย buffer borate ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 50 ml โดยปีเปตจากสารละลาย stock borate buffer ที่มีความเข้มข้น 200 mM มา 12.5 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL เติม deionized water ลงไปประมาณ 40 mL ปรับ pH (9.30) ด้วย 3% NaOH จากนั้นเทสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วย deionized water จนครบปริมาตร

3) สารละลาย stock phosphate buffer และสารละลาย phosphate buffer

เตรียมจาก di-sodium hydrogen phosphate anhydrous ( $Na_2HPO_4$ , Mw = 141.96 g/mol) และ sodium di-hydrogen phosphate ( $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ , Mw = 137.99 g/mol) ชั่ง di-sodium hydrogen phosphate anhydrous 3.5491 g และ sodium di-hydrogen phosphate 3.4499 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 ml ละลายสารทั้งสองด้วย deionized water จากนั้นเทสารละลายทั้งสองลงใน Volumetric flask ขนาด 250 ml ขวดเดียวกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 250 ml ด้วย deionized water จนครบปริมาตร จะได้สารละลาย stock phosphate buffer ความเข้มข้น 200 mM

เตรียมสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 50 ml โดยปีเปตจากสารละลาย stock phosphate buffer ที่มีความเข้มข้น 200 mM มา 12.5 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL เติม deionized water ลงไปประมาณ 40 mL ปรับ pH (7.0) ด้วย phosphoric acid จากนั้นเทสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วย deionized water

4) สารละลาย stock surfactant ความเข้มข้น 200 mM ปริมาตร 100 mL

เตรียมจาก sodium lauryl sulfate (SDS) ( $CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$ , Mw=288.49 g/mol) ชั่ง SDS มา 5.7698 g ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL ละลายด้วย deionized water เทสารลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย deionized water จนครบปริมาตร

5) สารละลาย 50 mM Phosphate buffer + 100 mM Sodium lauryl sulfate (SDS), pH 7.00 ปริมาตร 50 mL

เตรียมจาก stock phosphate buffer ความเข้มข้น 200 mM และ SDS ความเข้มข้น 200 mM โดยปีเปตเอ่าสารละลายน้ำ 200 mM Phosphate buffer มา 12.5 ml และสารละลายน้ำ 200 mM SDS มา 25 ml ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 ml เติม deionized water ปรับ pH ให้ได้ 7.00 ด้วย 1 M NaOH จากนั้นเทสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 50 ml ปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ด้วย deionized water จนครบปริมาตร

### 3.2.2 วิธีการใช้เครื่อง CE

#### 3.2.2.1 การเตรียม capillary window สำหรับ optical cell detection

ตัด fused-silica capillary ความยาวทั้งหมด 64.5 cm จากนั้นตัดจากปลาย outlet เข้ามาประมาณ 8.5 cm จะได้แคปิลารี่ที่มี effective length เท่ากับ 56 cm นำมาลันไฟเพา polyimide ที่หุ้มอยู่ออกช่วงความยาวประมาณ 0.5 cm ทำความสะอาดด้วย Isopropanol จนได้ window ที่ใสและสะอาด ก่อนจะนำแคปิลารี่ไปใส่ใน cassette ซึ่งการตัด fused-silica capillary จะต้องคำนึงถึงความยาวของ แคปิลารี่ที่สามารถพันรอบ cassette ได้ ซึ่งสามารถตัดความยาวขั้นต่ำได้ 40.5 cm สามารถพันรอบ cassette ได้ 1 รอบ ซึ่งจำนวนในการพันรอบจะขึ้นอยู่กับความต้องการให้สารที่จะวิเคราะห์ออกมาน้ำหนึ่งหรือเร็ว และสามารถเกิดการแยกได้อย่างชัดเจนแค่ไหน

#### 3.2.2.2 การทำ preconditioning capillary ก่อนการทดลองและหลังการทดลอง

ล้างแคปิลารี่ใหม่ด้วยสารละลายน้ำ 1.0 M NaOH เป็นเวลา 5 นาที เพื่อเป็นการ regenerate SiO- groups บนผิวภายในของแคปิลารี่ เพื่อให้ได้ EOF mobility ที่คงที่ภายหลังการล้างด้วยสารละลายน้ำ 1.0 M NaOH แล้วล้างด้วยน้ำ DI เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้มั่นใจว่าเบสฤกษ์ล้างออกหมดแล้ว จากนั้นทำการ equilibrate แคปิลารี่ใหม่ด้วยสารละลายน้ำ 1.0 M NaOH 5 นาที เพื่อให้มีสารละลายน้ำ 1.0 M NaOH 5 นาที ตามด้วยน้ำ DI เป็นเวลา 5 นาที และผ่านอากาศเข้าไปในแคปิลารี่เป็นเวลา 5 นาที เพื่อเป็นการช่วยให้แคปิลารีมีอายุการใช้งานยาวนาน

### 3.2.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด

#### 3.2.3.1 การวิเคราะห์สารด้วยเทคนิค MEKC มีขั้นตอนการทดลองดังนี้

##### 1) ชนิดของสารละลายน้ำ 3 ชนิด คือ acetate

ศึกษาผลของชนิดของสารละลายน้ำ 3 ชนิด คือ acetate buffer borate buffer และ phosphate buffer เปรียบเทียบ electropherogram ของสารเพื่อเลือกใช้สารละลายน้ำ 3 ชนิดในการทดลองต่อไป

## 2) pH ของสารละลายอิเล็กโทรไอล์ต์

ศึกษาผลของ pH ของสารละลายอิเล็กโทรไอล์ต์ เลือกชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไอล์ต์ที่ให้ผลการทดลองดีที่สุดในข้อ 1) จากนั้นทดลองค่า pH ในช่วงที่เป็น good buffering capacity แล้วเปรียบเทียบ electropherogram ที่ได้เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

## 3) ความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไอล์ต์

ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไอล์ต์ เลือกชนิดของสารละลาย อิเล็กโทรไอล์ต์และค่า pH ที่ให้ผลการทดลองดีที่สุดในข้อ 1) และ 2) ตามลำดับ ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไอล์ต์ที่ความเข้มข้น 25 50 และ 75 mM เปรียบเทียบ electropherograms ที่ได้ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

## 4) ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว

ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (SDS) ความเข้มข้น 25 50 75 และ 100 mM ที่เติมในสารละลายอิเล็กโทรไอล์ต์ เปรียบเทียบ electropherograms ที่ได้

## 5) ความต่างศักย์ไฟฟ้า (Applied voltage)

ศึกษาผลของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ คือ +10 +20 และ +30 kV โดยใช้สภาวะที่ให้ผลการทดลองดีที่สุดมาทดลอง เปรียบเทียบ electropherograms ที่ได้

## 6) เวลาในการนีดสารตัวอย่าง

ศึกษาผลของเวลาในการนีดสารตัวอย่าง คือ 5 10 และ 20 วินาที เปรียบเทียบ electropherograms ที่ได้

## 7) การระบุ (identify) ตำแหน่งพิคของสารตัวอย่าง

โดยการเติมสารละลายน้ำตรฐานแต่ละชนิดลงไปในสารละลายตัวอย่าง ผสมทีละตัว

### 3.2.3.2 การเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

การเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยการทำ sample stacking 2 เทคนิค คือ Normal Stacking Mode (NSM) และ Field Amplified Sample Stacking (FASS) มีขั้นตอนการทดลองดังนี้

#### 1) Normal Stacking Mode (NSM)

แบ่งการทดลองด้วยเทคนิค NSM เป็น 3 ขั้นตอน ดังต่อไปนี้

- ละลายสารตัวอย่างด้วยน้ำ หรือสารละลายอิเล็กโทรไอล์ต์ที่เจือจากนานๆ โดยไม่มีสารลดแรงตึงผิวอยู่

- ศึกษาผลของเวลาในการนีดนำก่อนนีดสารตัวอย่างทำการทดลองผลของการนีดนำที่เวลา 5 10 20 40 และ 60 วินาที โดยใช้การนีดสารแบบ hydrodynamic ก่อนการนีดสารตัวอย่าง

- ศึกษาผลของเวลาของการนีดสารตัวอย่างทำการทดลองผลของเวลาของการนีดสารตัวอย่าง ที่เวลา 5 10 20 40 และ 60 วินาที โดยใช้การนีดสารแบบ hydrodynamic ด้วยแรงดัน 50 mbar

## 2) Field Amplified Sample Stacking (FASS)

แบ่งการทดลองด้วยเทคนิค FASS ออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังต่อไปนี้

- การเลือกใช้ศักย์ไฟฟ้าในการนีดสารตัวอย่าง โดยใช้ศักย์ไฟฟ้าที่ +5 +8 และ +10 kV

- ศึกษาผลของการนีดนำก่อนนีดสารตัวอย่าง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการเกิด stacking แบบ FASS และระยะเวลาที่เหมาะสมในการนีดน้ำ โดยใช้การนีดน้ำที่เวลา 5 10 20 40 และ 60 วินาที ใช้การนีดแบบ hydrodynamic ก่อนการนีดสารตัวอย่าง

- ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการนีดสารตัวอย่าง ทำการทดลองโดยใช้การนีดสารแบบ electrokinetic ด้วยความต่างศักย์ (voltage) ที่เวลา 5 10 20 40 และ 60 วินาที

### 3.2.4 การวิเคราะห์ habrimanสารกำจัดวัชพืชในตัวอย่างดินและน้ำ

#### 3.2.4.1 การเตรียมตัวอย่างดิน (Fu and et al., 2009)

1) เก็บดินจากบริเวณแปลงผัก จากนั้นทำการเลือกเศษไม้ ใบหญ้า รากไม้ รวมหิน ออกจากดินตัวอย่าง

2) นำดินตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ  $60^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3) นำดินที่ผ่านการอบแล้ว นำมาบดให้ละเอียด และร่อนผ่านตะแกรงให้ได้ขนาด  $300 \mu\text{m}$

4) ชั่งคินมา 2.5 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติม methanol 5 ml คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง Ultrasonic cleaner เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

5) นำหลอดทดลองที่ได้ไปใส่ในเครื่อง Centrifuge (2600 rpm/min) 3 นาที เท่ารัลลายใส่ที่อยู่ด้านบนใส่หลอดทดลอง จากนั้นนำไป  $\text{below N}_2$  เพื่อໄล์ตัวทำละลาย และทำให้เหลือสารน้อยที่สุด เติมน้ำ DI 1 ml

6) นำสารตัวอย่างที่เหลืออยู่ ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำ DI 1 ml

7) กรองสารละลายตัวอย่างด้วย  $0.45 \mu\text{m}$  nylon filter membrane ใส่ Vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง CE

### 3.2.4.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำ โดยใช้วิธี Solid phase extraction (SPE)

(Aleksandra and et al., 2008)

1) กรองตัวอย่างน้ำ ด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 ให้ได้ปริมาตร 500 ml



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการกรองตัวอย่างน้ำ

2) เตรียม Cartridge โดยผ่าน methanol 10 ml, DI water 10 ml



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการเตรียม cartridge

3) ผ่านน้ำตัวอย่าง ปริมาตร 500 ml



ภาพที่ 3.3 ขั้นตอนการผ่านตัวอย่างน้ำเข้าไปใน cartridge

4) dried cartridge 30 วินาที

5) ขั้นตอนการชำระสารตัวอย่าง โดยใช้ acetonitrile : methanol (1:1,v/v)

4 ml ตามด้วย methanol : ammonia (4:1,v/v) 50  $\mu$ l



ภาพที่ 3.4 ขั้นตอนการชำระสารตัวอย่างออกจาก cartridge

- 6) blow N<sub>2</sub> เพื่อไล่ตัวทำละลาย และทำให้เหลือสารน้อยที่สุด เติม DI water 1 ml



ภาพที่ 3.5 ขั้นตอนการ blow nitrogen gas

- 7) กรองสารละลายตัวอย่างด้วย 0.45  $\mu\text{m}$  nylon filter membrane ใส่ Vial นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง CE

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

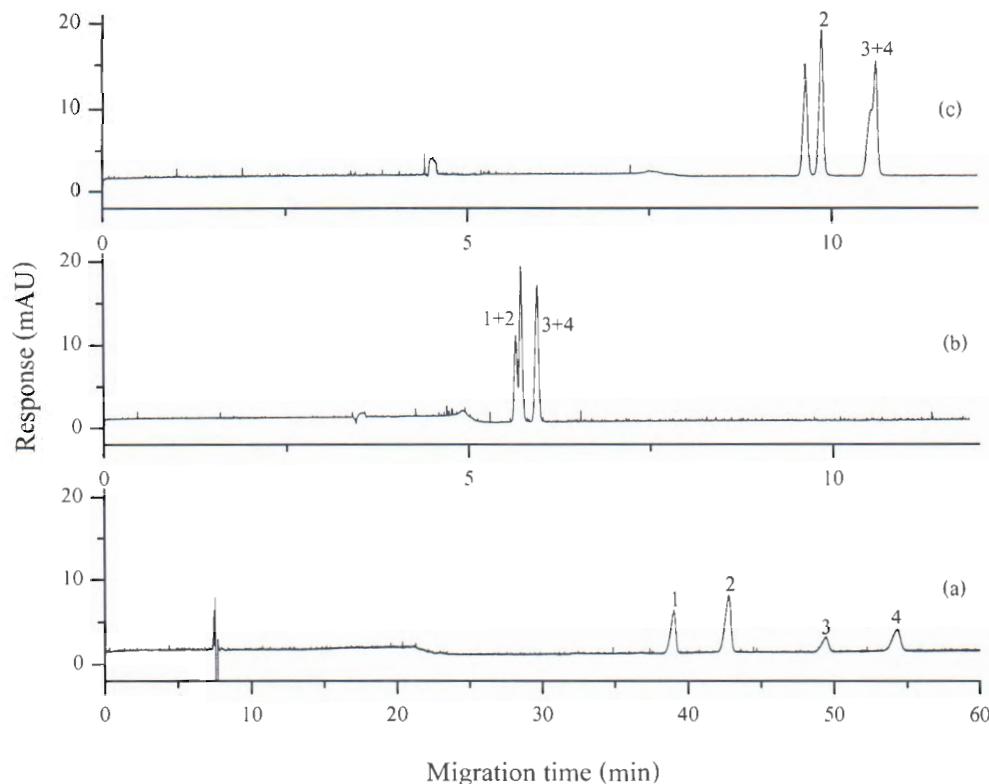
การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ห้าปริมาณสารกำจัดวัชพืช ด้วยเทคนิค CE นั้น จะต้องศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ เช่น ชนิด ความเข้มข้น pH ของสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ ศักย์ไฟฟ้าเวลาในการฉีดสาร และความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (SDS) โดยใช้หลักในการเลือกคือ การดูประสิทธิภาพในการแยก การกระจายตัวของพืช การแยกอย่างชัดเจน คุณภาพที่สารเคลื่อนที่ออกจากแคปิลารี ลักษณะของพืช เป็นต้น

#### 4.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช

##### 4.1.1 ชนิดของสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์

การเลือกสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์เป็นสิ่งที่สำคัญอย่างยิ่งต่อการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค capillary electrophoresis โดยจะต้องพิจารณาถึง pH ความเข้มข้นหรือความแรง ไอออนของสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ และสารลดแรงตึงผิวที่เติมในสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ เนื่องจากองค์ประกอบเหล่านี้มีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพการแยกสาร และความselectivity ต่อสาร (selectivity) สารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ดีควรให้ผลการแยกที่ดีและไม่รบกวนการแยกสาร มีความจุบฟเฟอร์สูง (buffer capacity) ในช่วง pH ที่กว้าง ไม่เปลี่ยนแปลง pH เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลง ไม่รบกวนการตรวจหา มีความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าใกล้เคียงกับสาร และสามารถละลายสารตัวอย่างได้ดี (ลิณ่า สุนทรสุข, 2550)

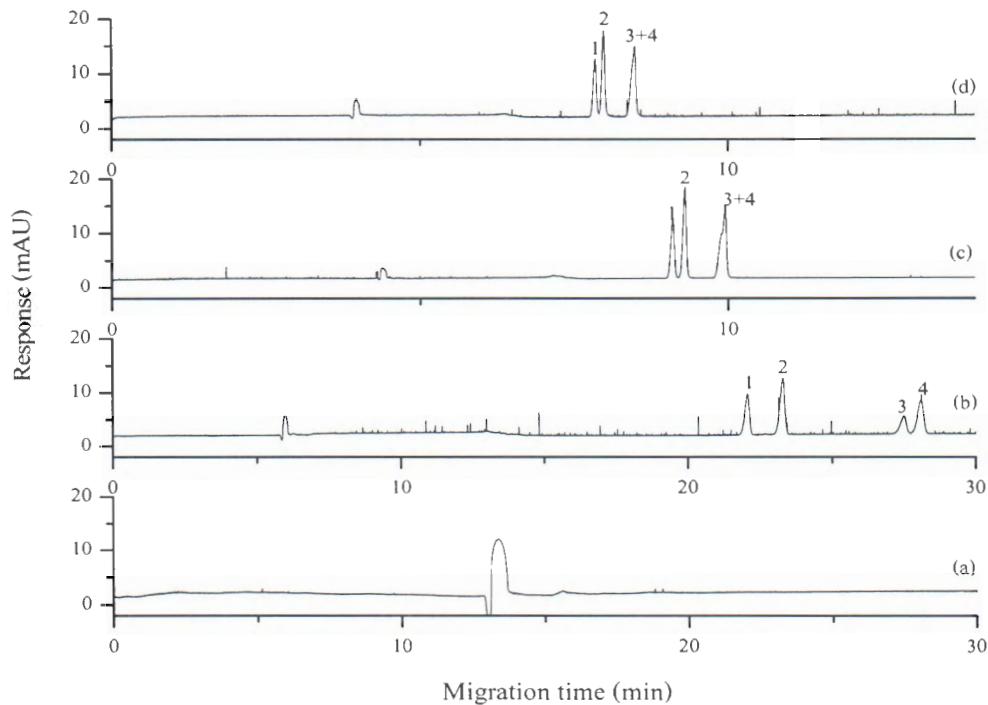
ในการทดลองได้ทำการทดลองโดยใช้สารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ 3 ชนิด ได้แก่ Phosphate buffer, Borate buffer และ Acetate buffer ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ Acetate buffer สามารถแยกสารได้ทั้งหมด มีการกระจายของพืชสูงทำให้พิคกว้าง ใช้เวลาในการแยกนาน Borate buffer สามารถแยกสารได้ 3 พืช และลักษณะของพืชจะซ้อนทับกัน ไม่สามารถแยกได้อย่างชัดเจน ส่วน Phosphate buffer สามารถแยกสารทั้ง 4 ชนิดได้ แต่พิคของ 2,4-D (3) และ 2,4,5-T (4) ยังซ้อนทับกัน เนื่องจากมีโครงสร้างที่ใกล้เคียงกันจึงแยกได้ยาก แต่มี migration time ที่สั้น และการกระจายตัวของพืชต่ำทำให้พิคแคบ แสดงดังภาพที่ 4.1 ดังนั้นจึงเลือก phosphate buffer เป็นสารละลายน้ำอิเล็กโทรไลต์ ที่จะใช้ในการทดลองต่อไป



**ภาพที่ 4.1** Electropherograms แสดงการผลการแยกของสารละลายน้ำตราชูนในสารละลายน้ำอิเล็กโทรฟอยล์ทั้ง 3 ชนิด Condition: (a) 50 mM acetate buffer, pH 4.5 (b) 50 mM borate buffer, pH 9.0 (c) 50 mM phosphate buffer, pH 7.0, separation voltage +30 kV, temperature 25 °C, sample injection time (50 mbar) 5 sec, capillary length 64.5 cm x 50  $\mu$ m i.d., effective length 56 cm, Peak identification: (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

#### 4.1.2 pH ของสารละลายน้ำอิเล็กโทรฟอยล์

pH ของสารละลายน้ำอิเล็กโทรฟอยล์ ไลต์มีผลต่อการแตกตัวเป็นไออกอนของสาร เนื่องจากสารจะแตกตัวให้ประจุไม่เท่ากันที่ pH แตกต่างกัน จึงทำให้ผลรวมของประจุแตกต่างกันที่แตกต่าง pH ซึ่งมีผลต่อกำลังความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของสาร การเพิ่ม pH ของสารอิเล็กโทรฟอยล์ทำให้ EOF เพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามหากลด pH ของสารละลายน้ำอิเล็กโทรฟอยล์ EOF ก็จะลดลง จากการทดลองสารละลายน้ำอิเล็กโทรฟอยล์ที่ pH 2.5 6.0 7.0 และ 8.0 อธิบายผลการทดลองดังภาพที่ 4.2



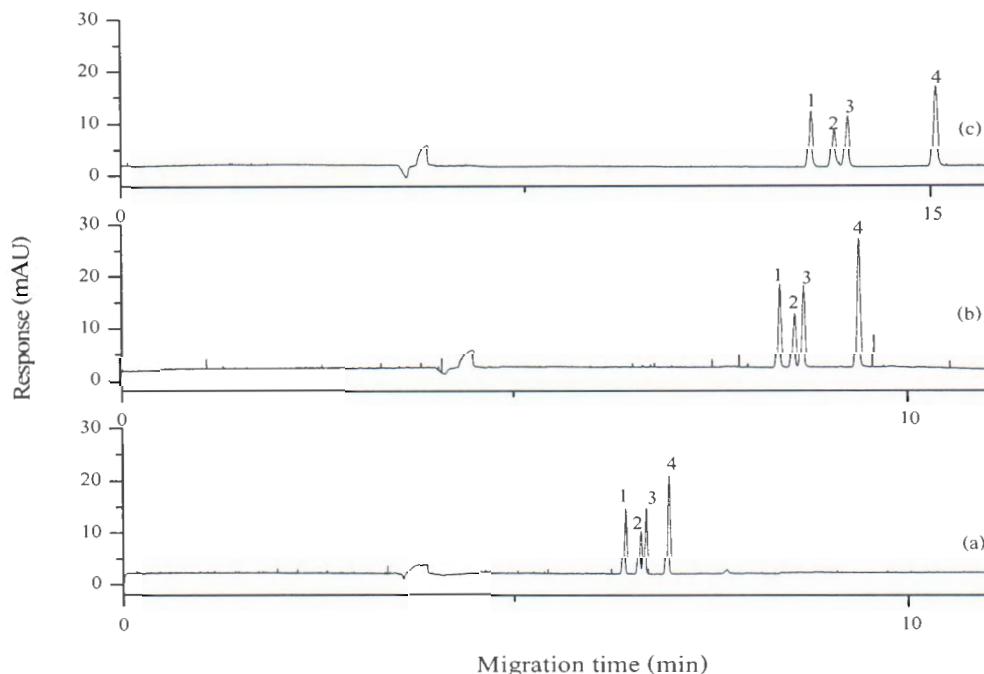
**ภาพที่ 4.2** Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำตามค่า pH phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ **Condition:** buffer composition: (a) 50 mM phosphate buffer, pH (a) 2.5 (b) 6.0 (c) 7.0 (d) 8.0, separation voltage +30 kV, temperature 25 °C, sample injection time (50 mbar) 5 sec, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm, **Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

จากการที่ 4.2 พบว่า ที่ pH 6.0 พีคของสารเกิดการแยกอย่างชัดเจน การกระจายของพีคสูง ทำให้พีคกว้างและ migration time ของสารนาน ส่วนที่ pH 7.0 และ 8.0 จะเกิดการแยกที่คล้ายกัน และมี migration time ที่ใกล้เคียงกัน แต่พีค 2,4-D (3) และ 2,4,5-T (4) จะซ้อนทับกันและรวมเป็นพีคเดียวกันที่ pH 8.0 ดังนั้นจึงเลือกสารละลายน้ำอิเล็กโทร ไอล์ต์ที่มี pH 7.0 เนื่องจากมีพีคแคบ มี migration time ที่ไม่นานเกินไป และเกิดการแยกให้เห็นทั้ง 4 พีค แต่ที่ซึ้งมีบางส่วนที่ซ้อนทับกัน ซึ่งจะทำการทดลองในขั้นต่อไปเพื่อทำให้เกิดการแยกอย่างชัดเจน

#### 4.1.3 ความเข้มข้นหรือความแรงไอออนของสารละลายน้ำอิเล็กโทร ไอล์ต์

ความแรงไอออนของสารละลายน้ำอิเล็กโทร ไอล์ต์มีผลต่อประสิทธิภาพในการแยกสาร การแยกชัด และสภาพ ไฟของวิธีวิเคราะห์ การเปลี่ยนความแรงไอออนของสารละลายน้ำอิเล็กโทร ไอล์ต์ทำ

ได้โดยการเปลี่ยนความเข้มข้นหรือชนิดของสารละลายน้ำอิเล็กโทรไฟต์ ซึ่งมีผลต่อ EOF และความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าตามลำดับ

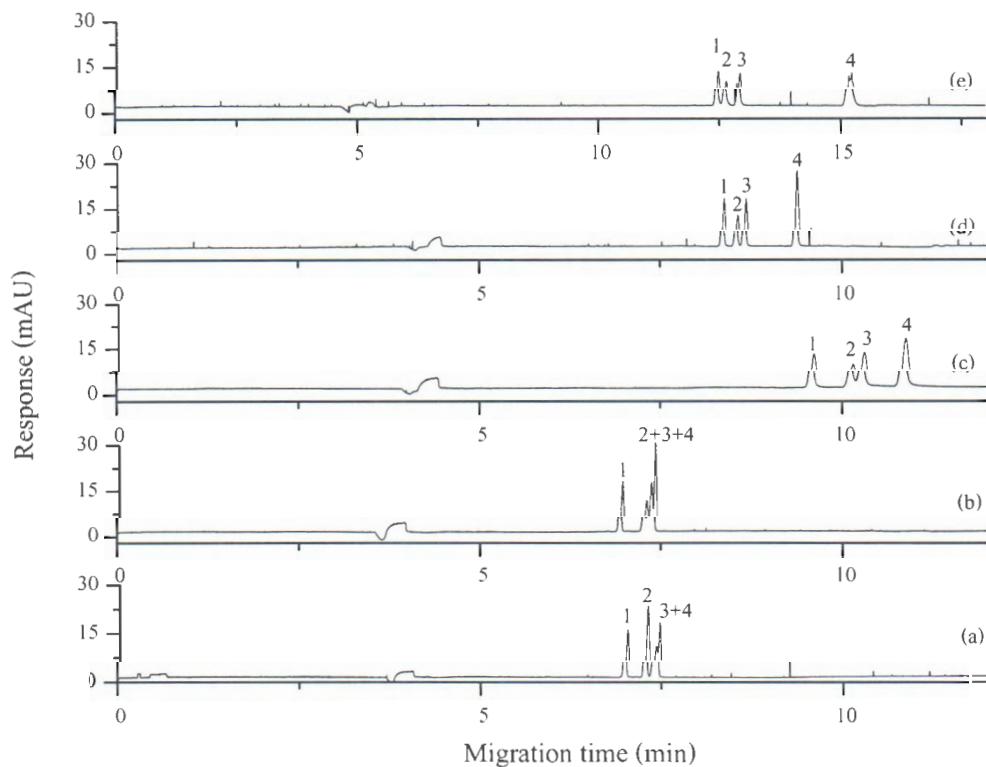


ภาพที่ 4.3 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำในสารละลายน้ำ phosphate buffer ที่ความเข้มข้นต่างๆ Condition: buffer composition: phosphate buffer (a) 25 mM (b) 50 mM (c) 75 mM, pH 7.0, separation voltage +30 kV, temperature 25 °C, sample injection time (50 mbar) 5 sec, capillary length 64.5 cm x 50 μm i.d., effective length 56 cm, Peak identification: (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

ภาพที่ 4.3 แสดงผลการทดลองที่ได้ศึกษาผลของการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายน้ำ phosphate buffer ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 75 mM พนวณค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 50 mM ให้ผลการทดลองที่ดีที่สุด คือสามารถแยกได้อย่างชัดเจน พีกแคบ และใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นหรือมี migration time ที่ไม่นานเกินไป เมื่อเทียบกับความเข้มข้นที่ 25 และ 75 mM ซึ่งทั้งสองความเข้มข้นก์สามารถแยกสารได้ทั้ง 4 ชนิด เช่น กัน แต่ที่ความเข้มข้น 25 mM พีกที่ 2,3 เกิดการซ้อนทับกันบางส่วน และที่ความเข้มข้น 75 mM ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และพีกกว้าง

#### 4.1.4 ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (Surfactants (Sodium lauryl sulfate; SDS))

การเติม SDS ลงในสารละลายน้ำ phosphate buffer เพื่อควบคุม EOF เพิ่มประสิทธิภาพ และความเฉพาะต่อสาร ลดอันตรายริยาระหว่างสารและผนังด้านในแคปิลารี ช่วยเพิ่มการละลายของสารตัวอย่างและเพิ่มการแยกชัด จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่า 2,4-D (3) กับ MCPA (2) จะแยกจากกันได้ยาก ดังนั้นจึงต้องเติมสารลดแรงตึงผิวลงไปในสารละลายน้ำได้ก่อนเพื่อช่วยให้เกิดการแยกได้อย่างชัดเจน ซึ่งในการทดลองนี้ได้ศึกษาผลของการลดแรงตึงผิว คือ SDS ที่ความเข้มข้น 25 50 75 100 และ 125 mM ดังภาพที่ 4.4 พบว่าความเข้มข้นของ SDS ที่ 100 mM สามารถแยกสารตัวอย่างทั้ง 4 ชนิดได้อย่างชัดเจน มีการกระจายของพิกัดสำหรับพิกัดแบบ และใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น

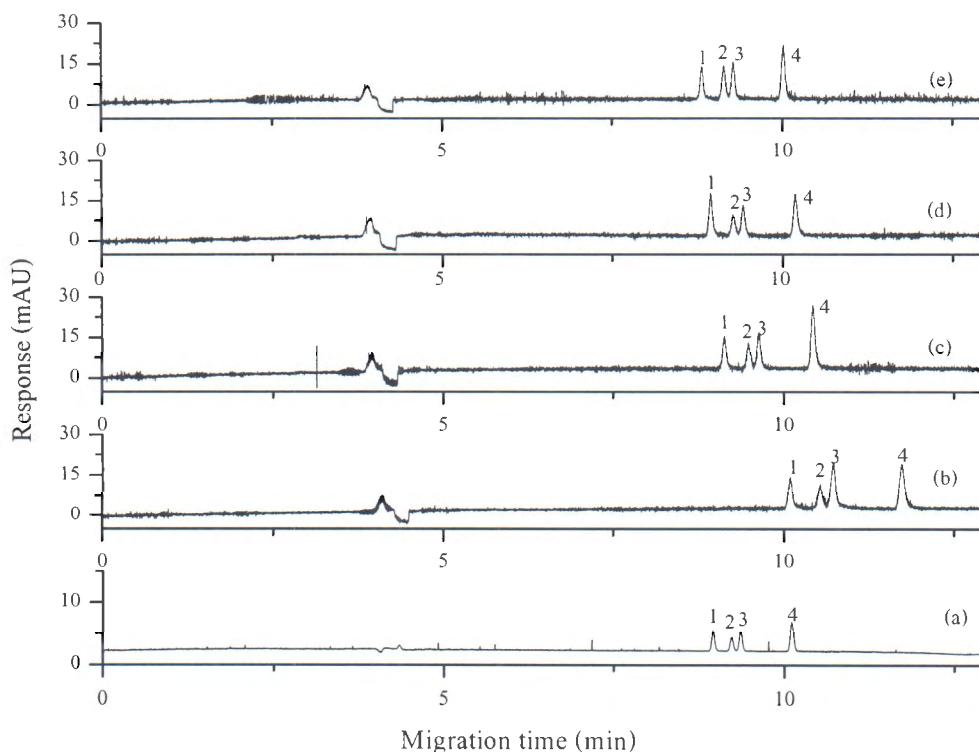


ภาพที่ 4.4 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำตามความเข้มข้นต่างๆ โดยเติมสาร buffer additive

(SDS) ลงในสารละลายน้ำ phosphate buffer ที่ความเข้มข้นต่างๆ Condition: buffer composition: 50 mM phosphate buffer + SDS (a) 25 mM (b) 50 mM (c) 75 mM (d) 100 mM and (e) 125 mM, pH 7.0, separation voltage +30 kV, temperature 25 °C, sample injection time (50 mbar) 5 sec, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm, Peak identification: (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

#### 4.1.5 การระบุ (identify) ตำแหน่งของสารตัวอย่าง

การระบุตำแหน่งของสารตัวอย่างทำได้ 2 วิธี คือการเปรียบเทียบเวลาของการเคลื่อนที่ของสาร (migration time) และการทำ spiking ซึ่งในการทดลองนี้ได้ระบุว่า วิธีการทำ spiking เมื่อจากสามารถระบุตำแหน่งที่แน่นอน ให้ความแม่นยำของข้อมูลมากกว่าการเปรียบเทียบเวลาของการเคลื่อนที่ของสาร การทำ spiking สารตัวอย่างผสม ด้วยการเติม stock standard solution ของสารแต่ละชนิดลงในสารละลายน้ำอย่างผสม แล้วนำไปปั่นกระหึ่ดด้วยเครื่อง capillary electrophoresis พิจฉาชีวนาดใหญ่ซึ่งหมายถึงปริมาณสารที่มากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อพิกตำแหน่งอื่น จากการทำ spiking สามารถทราบตำแหน่งของสารทั้ง 4 ชนิด คือ พิกตำแหน่งที่ (1) Dichloroprop พิกตำแหน่งที่ (2) MCPA พิกตำแหน่งที่ (3) 2,4-D และพิกตำแหน่งที่ (4) 2,4,5-T ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.5



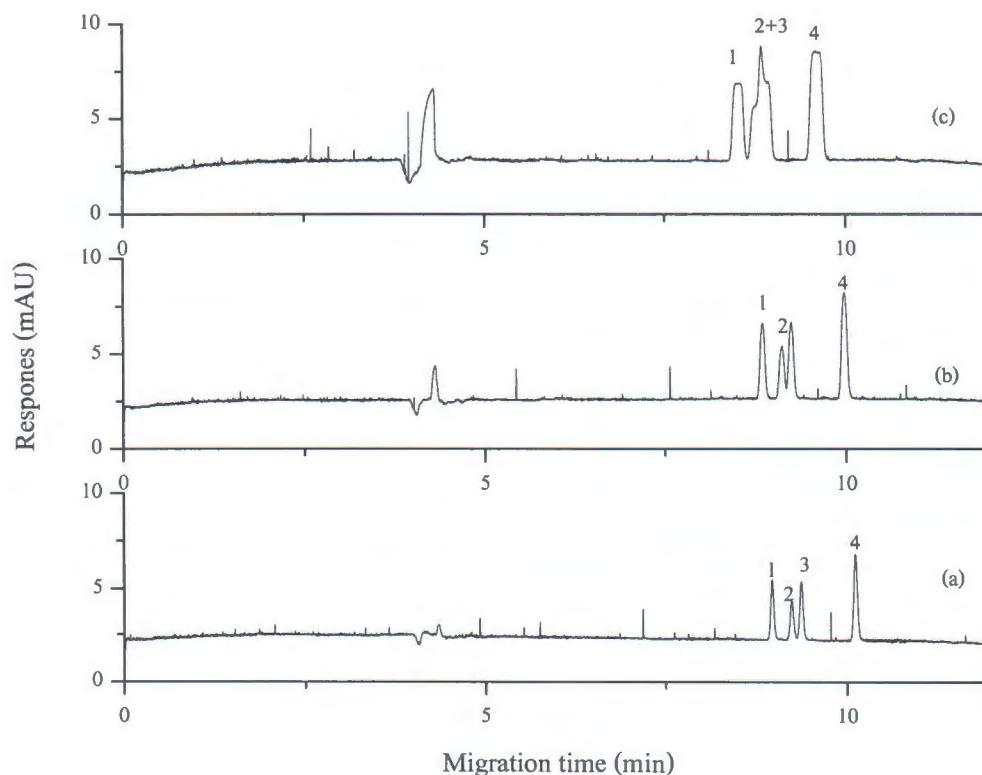
ภาพที่ 4.5 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำตามรูปแบบระบุตำแหน่งของสารแต่ละชนิด

**Condition:** Spiking Sample (a) no spiking (b) spiking 2,4-D (c) spiking 2,4,5-T (d) spiking MCPA (e) spiking Dichloroprop , buffer composition : 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, separation voltage +30 kV, temperature 25 °C, sample injection time (50mbar) 5 sec, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm,

**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

#### 4.1.6 เวลาในการฉีดสาร (Injection time)

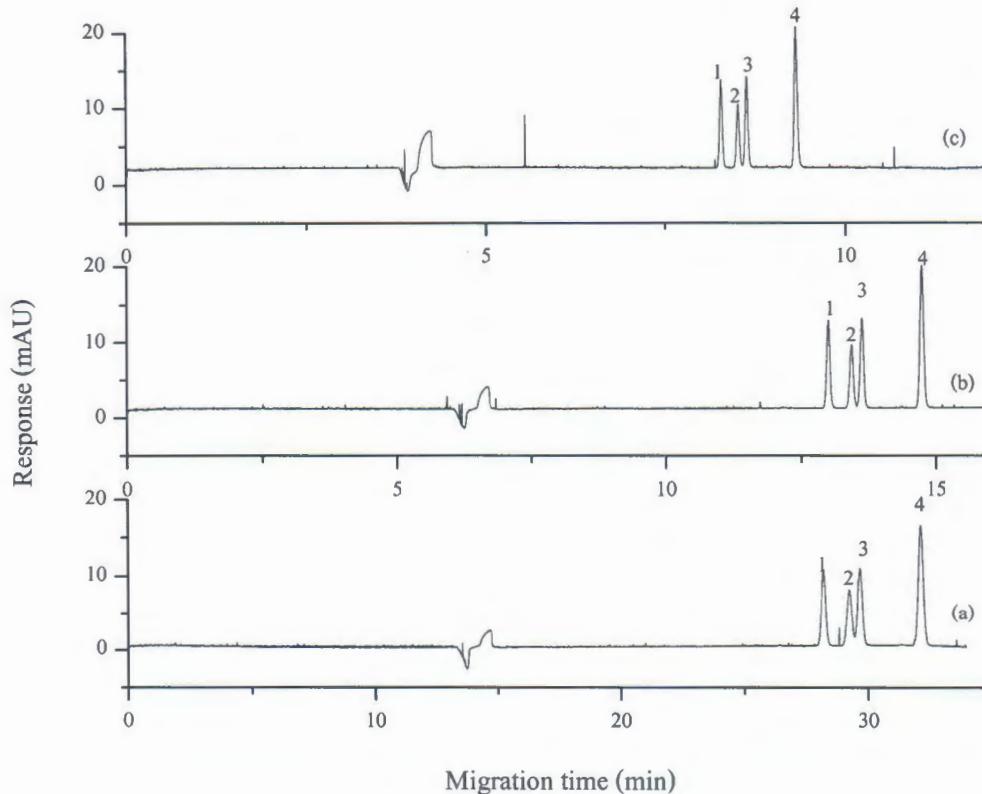
ผลของเวลาในการฉีดสาร มีผลต่อการกระจายของพีค และประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ หากเวลาในการฉีดสารเพิ่มขึ้นจะกระจายมากขึ้นและประสิทธิภาพในการแยกลดลง ในการทดลองนี้ได้ศึกษาผลของการฉีดสารที่เวลา 5 10 20 40 และ 60 วินาที พบร่วมกับเวลา 5 วินาที สารตัวอย่างจะแยกกันได้อย่างชัดเจน เมื่อเพิ่มเวลาการฉีดสารนานขึ้น จะทำให้ MCPA (2) และ 2,4-D (3) เริ่มซ้อนทับกัน และจะซ้อนทับกันได้อย่างชัดเจนเมื่อฉีดสารมากกว่า 20 วินาที ดังนั้นจึงเลือกเวลาการฉีดสารที่ 5 วินาที และแสดงดังภาพที่ 4.6



**ภาพที่ 4.6** Electropherograms และแสดงการแยกของสารละลายน้ำรูปฐาน ที่ใช้เวลาในการฉีดสารตัวอย่างต่างกัน Condition: sample injection time (50mbar) : (a) 5 sec (b) 10 sec and (c) 20 sec, buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, separation voltage +30 kV, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm, Peak identification: (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

#### 4.1.7 ความต่างศักย์ไฟฟ้า (Applied Voltage)

ความต่างศักย์ไฟฟ้ามีผลต่อประสิทธิภาพในการแยกสาร เมื่อเพิ่มความต่างศักย์ไฟฟ้าสารจะเคลื่อนที่ออกจากแคปิลารีเร็วขึ้น เนื่องจากความเร็วในEOFและความเร็วอิเล็กโทรโฟรีติกเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับความเร่งของสนามไฟฟ้า รวมทั้งทำให้การแพร่ของสารลดลงใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น จากการศึกษาผลของการตั้งแต่ +10 +20 และ +30 kV แสดงดังภาพที่ 4.7 พบว่า ทั้งสามความต่างศักย์ไฟฟ้าสามารถแยกสารได้อย่างชัดเจน แต่ที่ +30 kV จะใช้เวลาในการเคลื่อนที่ของสารน้อยกว่า และพีคเคน ดังนั้นจึงเลือกความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ +30 kV



ภาพที่ 4.7 Electropherograms แสดงการแยกของสารละลายน้ำตราชูน ที่ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า

ต่างๆ **Condition:** separation voltage (a) +10 kV (b) +20 kV (c) +30 kV; buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, sample injection time (50mbar) 5 sec, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 μm i.d., effective length 56 cm, **Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

#### 4.1.8 การหาค่า Limit of detection (LOD)

การหาค่า Limit of detection (LOD) หาจากสภาวะการทดลองที่ดีที่สุด โดยทำการลดความเข้มข้นของสารตัวอย่างลงเรื่อยๆ เพื่อหาจุดจำกัดต่ำสุดที่เครื่องสามารถวิเคราะห์ได้ ผลการศึกษาที่ได้จากการทดลองนี้ คือ 0.5 mg/l ดังตารางที่ 4.1 แสดงค่า migration time และค่า peak area ของสารตัวอย่างเมื่อลดความเข้มข้นลงไปเรื่อยๆ จนครึ่งองไม่สามารถตรวจสอบได้

ตารางที่ 4.1 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (ppm)	Migration time (min)				Peak area (mAU*s)			
	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T
20	8.284	8.518	8.638	9.320	31.933	24.978	34.492	58.889
5	9.561	9.780	9.942	11.023	11.457	10.996	15.776	16.110
2.5	8.984	9.219	9.357	10.170	3.971	2.991	4.528	7.467
1	8.873	9.099	9.244	9.998	2.420	2.059	2.341	4.438
0.5	8.892	9.132	9.265	10.041	1.210	1.017	1.432	1.975

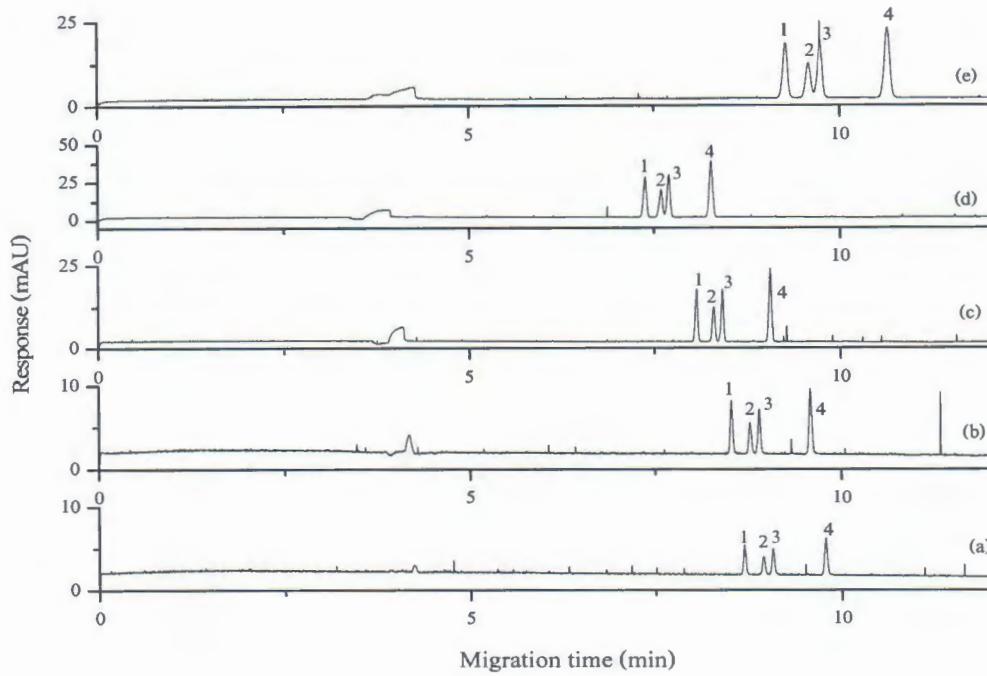
#### 4.2 การเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (Sample preconcentration)

Sample stacking เป็นเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายแบบ On-line concentration ซึ่งเป็นวิธีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายที่ทำได้ง่าย และสะดวกภายในแคปิลารี ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการทดลอง 2 เทคนิค คือ เทคนิค Normal Stacking Mode (NSM) และเทคนิค Field Amplified Sample Stacking (FASS)

##### 4.2.1 Normal Stacking Mode (NSM)

###### 4.2.1.1 ผลของเวลาของการฉีดสารตัวอย่าง

จากการศึกษาผลของเวลาในการฉีดสารตัวอย่าง ที่เวลา 5,10,20,40 และ 60 วินาที แสดงดังภาพที่ 4.8 พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการฉีดสารตัวอย่างจะทำให้ peak area เพิ่มขึ้นตามเวลาในการฉีดสาร เมื่อฉีดสารต่ำกว่า 40 วินาที สารจะแยกออกจากกันชัดเจน แต่เมื่อ peak area ต่ำ เมื่อฉีดสารมากกว่า 40 วินาที พิกของ MCPA (2) และ 2,4-D (3) เริ่มซ้อนทับกัน ทำให้เลือกเวลาที่เหมาะสมในการฉีดสารตัวอย่างคือ 40 วินาที ซึ่งสารตัวอย่างสามารถแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน และมีค่า peak area สูง ดังตารางที่ 4.2



ภาพที่ 4.8 Electropherograms และแสดงผลของเวลาในการฉีดสารตัวอย่าง Condition: sample injection

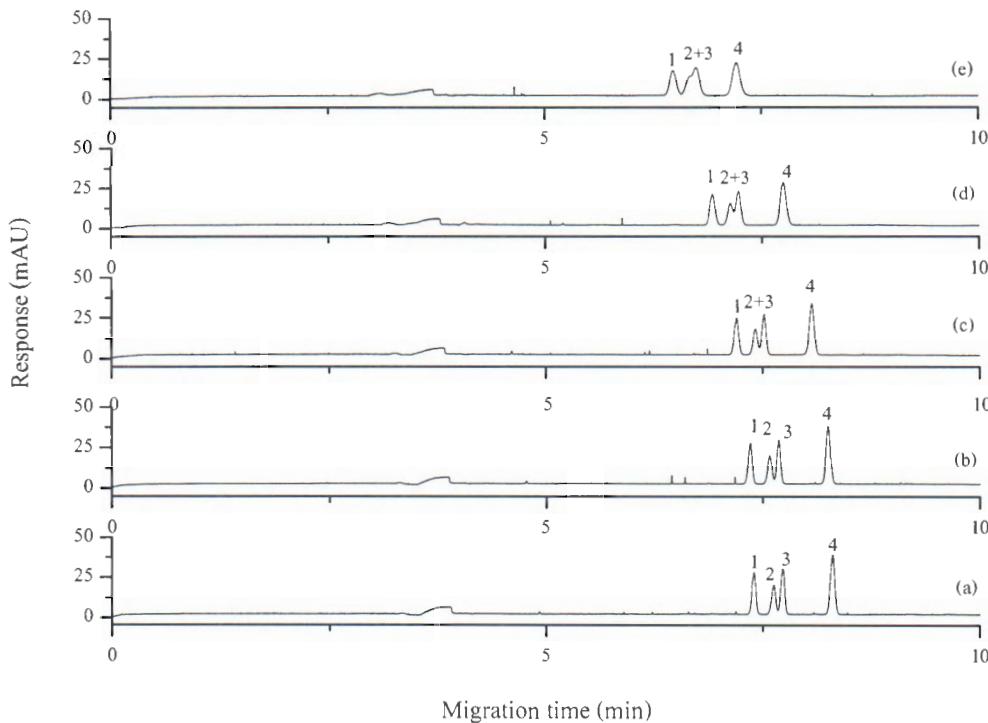
(a) 5 sec (b) 10 sec (c) 20 sec (d) 40 sec and (e) 60 sec; buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 μm i.d., effective length 56 cm, Peak identification: (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

ตารางที่ 4.2 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของเวลาในการฉีดสาร ตัวอย่าง

เวลาของการฉีด สารตัวอย่าง (sec)	Migration time (min)				Peak area (mAU*s)			
	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T
5	8.693	8.949	9.075	9.785	17.882	15.396	16.008	21.334
10	8.527	8.775	8.899	9.585	17.426	11.624	16.602	24.541
20	8.066	8.301	8.417	9.058	40.543	31.141	40.985	60.496
40	7.383	7.597	7.702	8.272	90.123	63.053	91.291	131.012
60	6.985	7.184	7.280	7.798	136.924	97.471	137.174	215.619

#### 4.2.1.2 ผลของเวลาของการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง

จากการศึกษาผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง ที่เวลา 5 10 20 40 และ 60 วินาที แสดงดังภาพที่ 4.9 พบว่า เมื่อฉีดน้ำมากกว่า 10 วินาที พีคของสารตัวอย่างจะมีค่า peak area สูงขึ้นตามเวลาในการฉีดสาร และพีคของ MCPA (2) และ 2,4-D (3) จะเริ่มช้อนทับกัน เมื่อฉีดสารน้อยกว่า 10 วินาที พีคของสารตัวอย่างจะแยกอย่างชัดเจน แต่มีค่า peak area ต่ำ ดังนั้นจึง เลือกเวลาในการฉีดสารตัวอย่างที่ 10 วินาที เนื่องจากพีคของสารตัวอย่างเกิดการแยกได้อย่างชัดเจน และมี peak area สูง ค้างตาระที่ 4.3



ภาพที่ 4.9 Electropherograms แสดงผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง

**Condition:** water injection time (a) 5 sec (b) 10 sec (c) 20 sec (d) 40 sec and (e) 60 sec, sample injection 40 sec, buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm,

**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

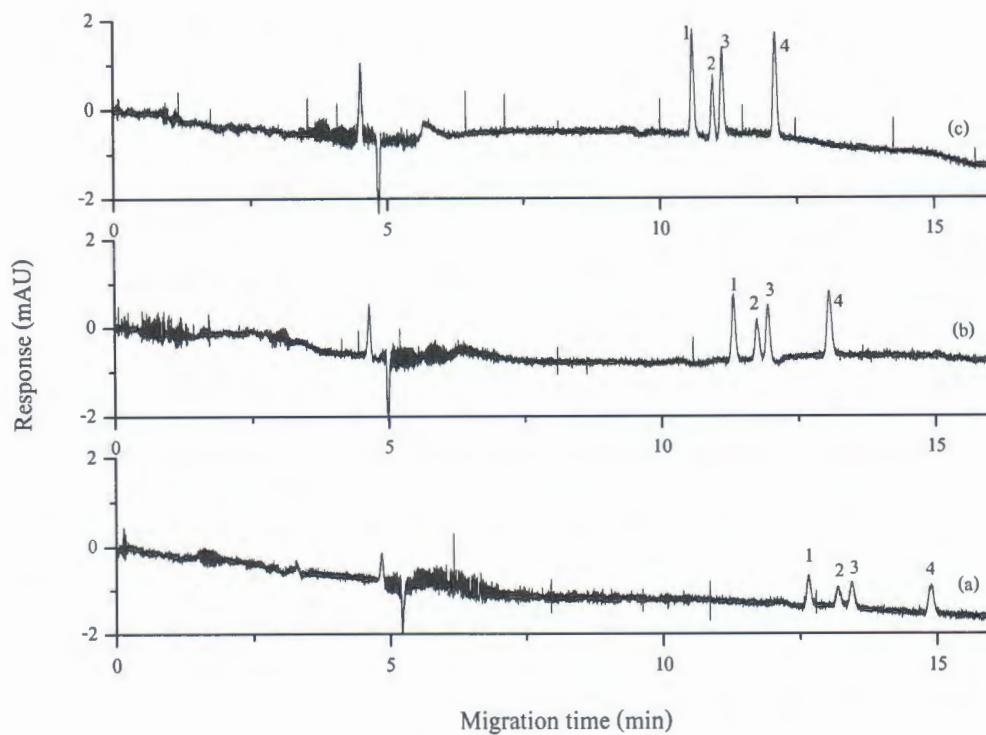
ตารางที่ 4.3 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อน ฉีดสารตัวอย่าง

เวลาของ การฉีดน้ำ (sec)	Migration time (min)				Peak area (mAU*s)			
	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T
5	7.401	7.625	7.730	8.302	90.289	63.538	89.965	135.189
10	7.360	7.583	7.687	8.255	91.760	67.526	92.605	136.209
20	7.205	7.422	7.522	8.067	110.109	81.878	106.175	174.755
40	6.937	7.143	7.235	7.748	109.924	75.126	106.384	164.491
60	6.487	6.753		7.215	120.584		187.804	178.998

#### 4.2.2 Field Amplified Sample Stacking (FASS)

##### 4.2.2.1 การเลือกใช้ศักย์ไฟฟ้าในการฉีดสารตัวอย่าง

จากการศึกษาการเลือกใช้ศักย์ไฟฟ้าในการฉีดสารตัวอย่าง โดยใช้ ศักย์ไฟฟ้าปริมาณต่ำ คือ +5,+8 และ +10 kV เป็นระยะเวลาสั้นๆ ในการทดลองนี้จะใช้เวลาในการ ฉีดสารนาน 5 วินาที ดังภาพที่ 4.10 ปริมาณสารที่ถูกฉีดเข้าไปขึ้นอยู่กับความสามารถในการ เคลื่อนที่ภายในไฟฟ้า ความสามารถในการเคลื่อนที่ภายในไฟฟ้าของ EOF และความ เข้มข้นของสารตัวอย่าง พบว่าการฉีดสารตัวอย่างด้วยศักย์ไฟฟ้า สารสามารถแยกออกจากกันได้ อย่างชัดเจน และมี peak area เพิ่มขึ้น เมื่อมีการเพิ่มศักย์ไฟฟ้าในการฉีดสาร ในกราฟทดลองนี้เลือก ศักย์ไฟฟ้าที่ +10 kV เนื่องจากสามารถแยกสารได้อย่างชัดเจนและมี peak area สูง ดังตารางที่ 4.4



ภาพที่ 4.10 Electropherograms และผลของการนีคสารตัวอย่างแบบ Voltage

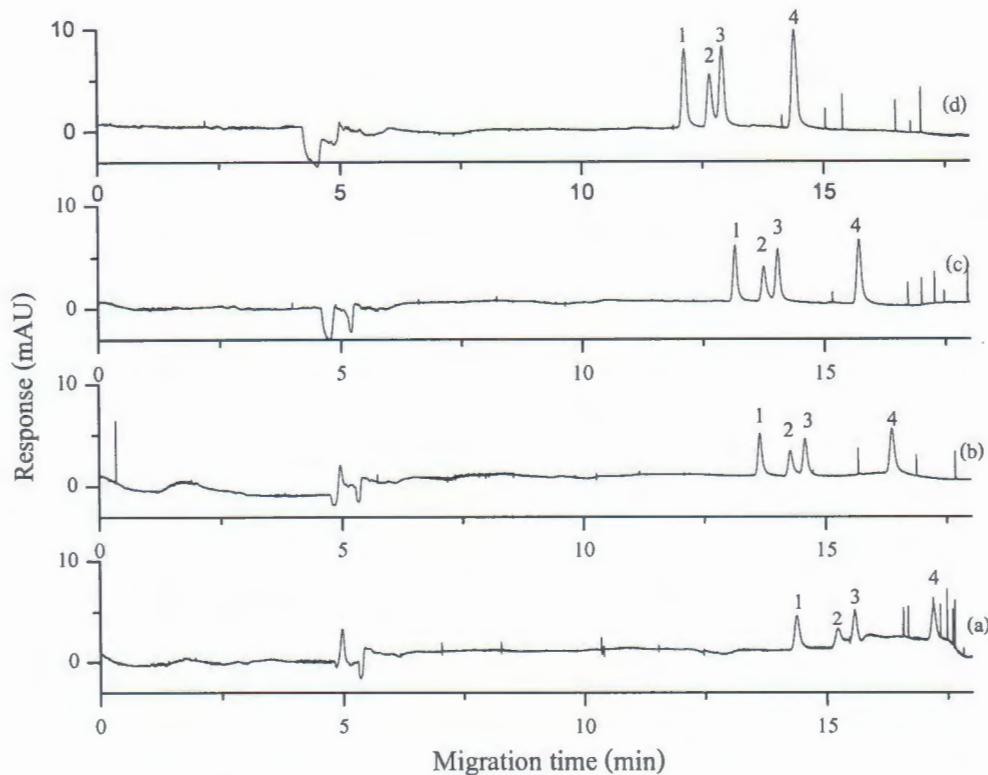
**Condition:** sample injection by voltage (a) +5 kV (b) +8 kV and (c) +10 kV, buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm, sample injection time 5 sec  
**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

ตารางที่ 4.4 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของเวลาในการนีคก่อนนีคสารตัวอย่าง

Voltage (kV)	Migration time (min)				Peak area (mAU*s)			
	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T
+5	12.642	13.193	13.424	14.886	6.048	3.680	4.391	6.0433
+8	11.317	11.740	11.946	13.055	8.545	4.965	7.100	10.257
+10	10.596	10.963	11.138	12.107	9.996	6.042	9.414	11.852

#### 4.2.2.2 ศึกษาผลของการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง

ผลของการฉีดน้ำที่เวลา 5 10 20 40 และ 60 วินาที ดังภาพที่ 4.11 ก่อนการฉีดสารตัวอย่าง +10 kV เป็นเวลา 10 วินาที พบว่า เมื่อเพิ่มเวลาในการฉีดนานกว่า 10 วินาที สารจะมี peak area ที่สูงขึ้น สารแยกจากกันชัดเจน แต่มีพิคของ MCPA (2) และ 2,4-D (3) จะเริ่มซ้อนทับกัน เมื่อฉีดนานขึ้นอยกว่า 10 วินาที สารสามารถแยกจากกันได้อย่างชัดเจน แต่มี peak area ต่ำ ในการทดลองนี้ได้เลือกเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่างที่ 10 วินาที ซึ่งสามารถแยกสารได้อย่างชัดเจนและมีค่า peak area สูง ดังตารางที่ 4.5



ภาพที่ 4.11 Electropherograms แสดงผลของเวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง

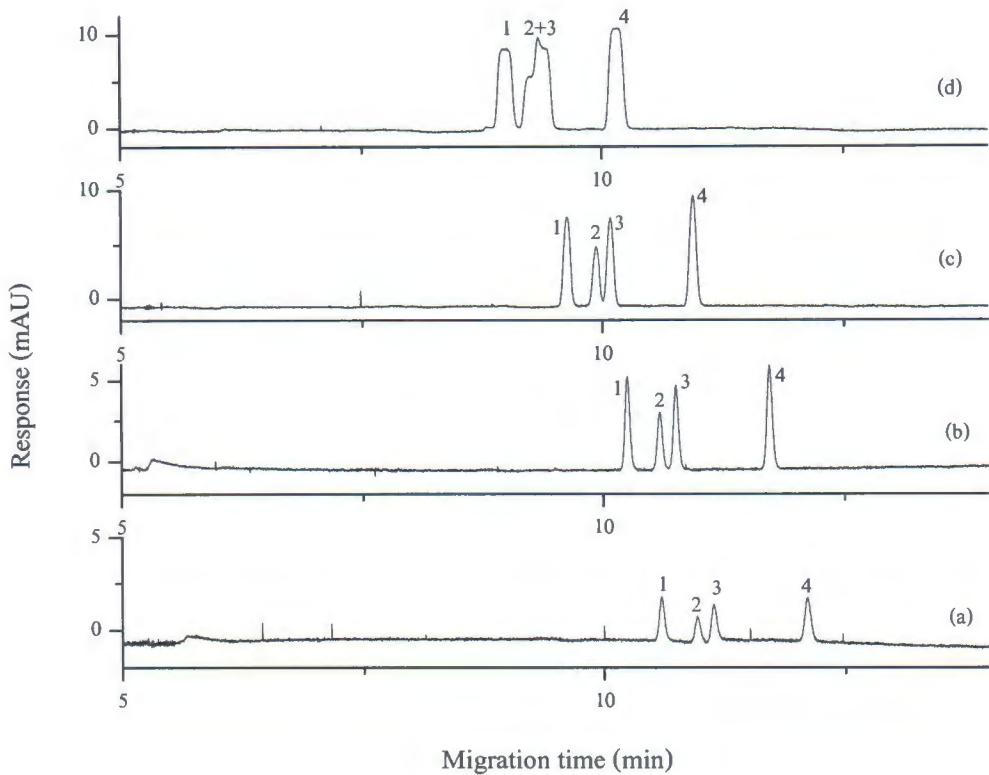
**Condition:** water injection time (50 mbar) (a) 5 sec (b) 10 sec (c) 20 sec and (d) 40 sec buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm, sample injection time (+10 kV) 10 sec **Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

ตารางที่ 4.5 ค่า migration time และ ค่า peak area ของสาร ในการศึกษาผลของเวลาในการฉีดนำก่อนฉีดสารตัวอย่าง

เวลาของ การฉีดนำ (sec)	Migration time (min)				Peak area (mAU*s)			
	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T	Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T
5	14.383	15.225	15.569	17.198	25.704	11.506	17.226	23.939
10	13.644	14.268	14.571	16.364	28.120	19.236	27.897	46.670
20	13.158	13.746	14.034	15.706	34.090	23.463	33.863	46.337
40	12.129	12.658	12.909	14.393	56.697	41.657	65.457	78.950

#### 4.2.2.3 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉีดสารตัวอย่าง

ผลของระยะเวลาในการฉีดสารตัวอย่างซึ่งฉีดสารโดยใช้ศักย์ไฟฟ้าที่ + 10 kV ที่เวลา 5, 10, 20, 40 และ 60 วินาที ดังภาพที่ 4.12 พบว่าการฉีดสารที่เวลามากกว่า 10 วินาที จะทำให้พีคของ MCPA (2) และ 2,4-D (3) เกิดการซ้อนทับกันทำให้ไม่สามารถแยกสารได้ เมื่อฉีดสารที่เวลาต่ำกว่า 10 วินาที สารสามารถแยกจากกันได้อย่างชัดเจน แต่มีค่า peak area ต่ำ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกเวลาในการฉีดสารตัวอย่างที่เวลา 10 วินาที ซึ่งสามารถแยกสารได้อย่างชัดเจนและมีค่า peak area สูง ดังตารางที่ 4.6 และ peak area ของสารตัวอย่าง เมื่อเพิ่มเวลาในการฉีดสารตัวอย่าง



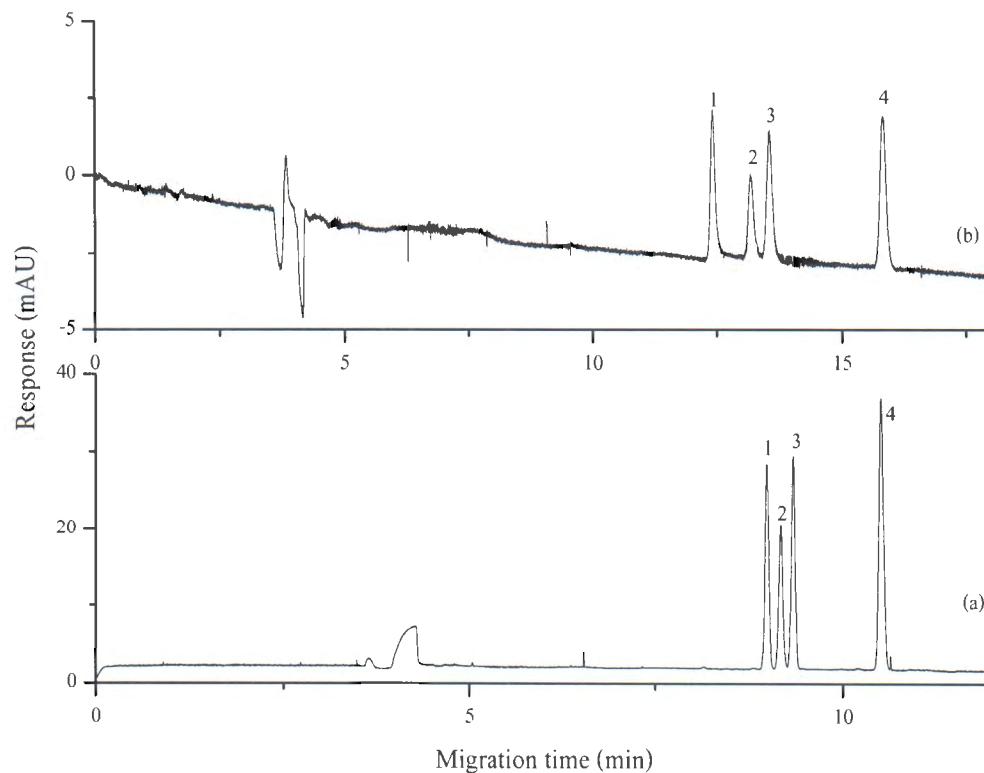
ภาพที่ 4.12 Electropherograms แสดงผลของเวลาในปัจจัยตัวอย่าง Condition: sample injection

(a) 5 sec (b) 10 sec (c) 20 sec and (d) 40 sec, buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm **Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

ตารางที่ 4.6 ค่า migration time และ ค่า peak area ของการศึกษาผลของเวลาในจีดสารตัวอย่าง

### 4.3 การเปรียบเทียบระหว่างเทคนิค Normal stacking mode (NSM) และ Field amplified sample stacking (FASS)

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้น 2 เทคนิค คือ Normal stacking mode (NSM) และ Field amplified sample stacking (FASS) โดยวิเคราะห์จาก electropherograms ของหั่งสองเทคนิค ดังภาพที่ 4.13 พบว่า เทคนิค NSM จะให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีกว่า เทคนิค FASS สารที่แยกได้จากเทคนิค NSM จะมี peak area สูงกว่า FASS ประมาณ 10 เท่า และสารแยกได้อย่างชัดเจน ซึ่งสามารถระบุตำแหน่งของสารได้อย่างชัดเจนและแม่นยำกว่า รวมทั้ง NSM มีค่า LOD คือ 0.05 ppm ที่ต่ำกว่า FASS คือ 0.5 ppm ซึ่งสภาวะการทดลองที่ดีที่สุดแสดงดัง ตารางที่ 4.7



ภาพที่ 4.13 Electropherograms แสดงผลของ sample stacking (a) NSM (b) FASS

**Condition:** buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm

**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

#### ตารางที่ 4.7 スペชีฟิคการทดลองที่ดีที่สุดในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด

Parameters	Condition used
Fused-silica capillary	50 $\mu\text{m}$ x 64.5 cm
Effective length	56 cm
Electrolyte	50 mM Phosphate buffer + 100 mM SDS
pH	7.0
Injection pressure	50 mbar
Sample injection time	40 sec
Water injection time	10 sec
Applied voltage	+30 kV
Temperature	25 °C
Detector	UV-Visible detector
Signal wavelength	214 nm
LOD	0.05 ppm

スペชีฟิคการทดลองที่ได้นี้จะนำไปใช้วิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชประเภท Chlorinate acid ในตัวอย่างคินและน้ำที่เก็บมาจากการพื้นที่การเกษตรของ บ้านกุดเปง อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

#### 4.4 การวิเคราะห์สารตัวอย่างในคินและน้ำ

ตัวอย่างคินและน้ำที่เก็บมาจากการเกษตรของ บ้านกุดเปง อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งเป็นพื้นที่มากกว่า 10 ไร่ ดังภาพที่ 4.14 มีการปลูกพืชผักนานาชนิดกว่า 50 ปี และมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชทั้ง สารกำจัดแมลง สารกำจัดวัชพืช รวมทั้งมีการใช้ปุ๋ยเคมีในเรื่อง การเจริญเติบโตของพืชผัก สารกำจัดศัตรูพืชที่นิยมใช้ เช่น กรัมมือกโซน อะบานีก็ติน อาเซนส์ โพธิ์เลิยม 400 ยาชุดคลุมคิน เป็นต้น ปัญหาที่ได้จากการสอบถามเกษตรกร พบว่า เมื่อใช้สารเหล่านี้ ไปนานๆ จะทำให้คุณภาพคินเสื่อมโทรม คินเป็นกรด และมีแก๊สเกิดขึ้นทำให้พืชผักไม่สามารถเจริญเติบโตได้ สารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิดจะมีสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบหลัก ดังตารางที่ 4.8

### ตารางที่ 4.8 ข้อมูลของสารกำจัดศัตรูพืช

ชื่อสารกำจัด วัชพืช	ชื่อสามัญ	คุณสมบัติหลัก และประโยชน์	หมายเหตุ
กรัมเม็อกโซน	พาราคลอตไดคลอไรด์ (paraquat dichloride)	เข้มข้น ฆ่าหญ้าลับไว/กำจัดวัชพืช ได้รวดเร็ว ระบะปลดผอนสัน ไม่มี ฤทธิ์ตอกค้างในดิน ปลดภัยต่อพืช ประชานรากพืช ช่วยลดการ พังทลายของหน้าดิน	ใช้เป็น ประจำใน การปลูก พืช
เอชโซนด์ ตราหมาแดง	2,4-ดี โซเดียมซอลต์ (2,4-D sodium salt)	กำจัดวัชพืชในกว้างและกอก ในนา ข้าว ไร่ข้าวโพด อ้อย เช่น ผักตบชวา ผักบุ้ง ขาเขี้ยด เทียนนา กอกนาก กอกราย หนวดปลาดุก	เคยใช้
อะบาเม็กติน	อะบาเม็กติน (abamectin 1.8% w/v)	ใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชต่างๆ ดังนี้ หนอนม้วนใบ หนอนไยผัก หนอนกระเทียม หนอนชอนใบ ส้ม เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ ไรสินิ ไร แดง แมลงหวีขาว	ยาฆ่า แมลงที่ใช้ ประจำ
โพธิ์เดียม400	คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) กลุ่มสารเคมี organophosphorus (o,o-diethyl 0-3,5,6- trichloro-2-pyridyl phosphorethioate)	กำจัด หนอนกอ หนอนเจาะต้น เพลี้ย ค้าง ปลวก	ยาฆ่า แมลงที่ใช้ ประจำ
ยาชุดคุณดิน <sup>1</sup> ประกอบด้วย ชนิดพง และชนิด น้ำ	ไม่ทราบแน่ชัด แต่คาด ว่าจะมีส่วนผสมของ MCPA และ 2,4-D	กำจัดวัชพืชก่อนปลูก ระหว่างปลูก	ใช้ประจำ



ภาพที่ 4.14 บริเวณพื้นที่การเก็บตัวอย่างคินและน้ำ

ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างจำนวน 5 ชุด ในพื้นที่การเกษตร ซึ่งแบ่งตัวอย่างออกเป็น ตัวอย่างน้ำ 3 ชุด และตัวอย่างคิน 2 ชุด แสดงดังภาพที่ 4.15 – 4.19 เพื่อจะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง โดยใช้เทคนิค NSM ในการวิเคราะห์สาร ซึ่งจะทำการระบุตำแหน่งของสารตัวอย่าง โดยการทำ spiking กือ การเติมสารละลายมาตรฐานลงไว้ในสารละลายตัวอย่าง จากการสำรวจข้อมูลเบื้องต้น คาดว่าสารที่จะสามารถตรวจสอบได้คือ 2,4-D ส่วนสาร 2,4,5-T ถูกห้ามใช้ในการผลิตสารกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากมีความเป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็ง สาร MCPA และ dichloroprop ไม่เป็นที่นิยมใช้ ซึ่งสามารถสรุปผลการวิเคราะห์ได้ดังนี้



ภาพที่ 4.15 จุดเก็บตัวอย่างน้ำจุดที่ 1



ภาพที่ 4.16 จุดเก็บตัวอย่างน้ำจุดที่ 2



ภาพที่ 4.17 จุดเก็บตัวอย่างน้ำจุดที่ 3

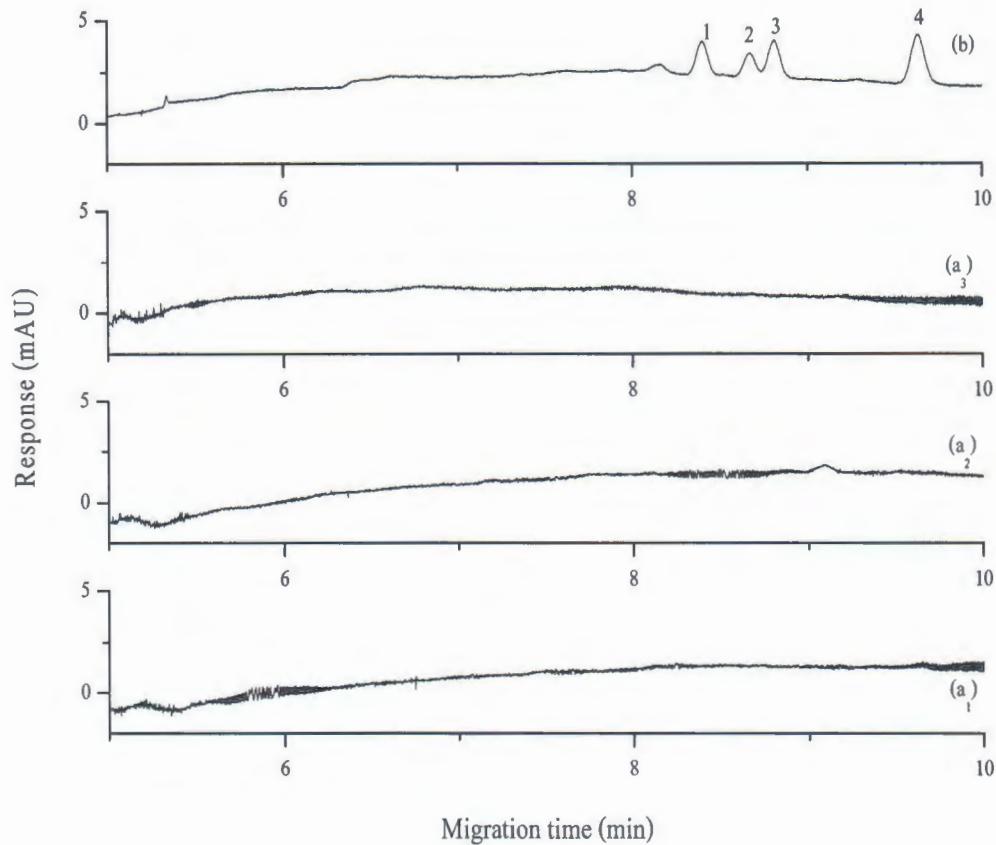


ภาพที่ 4.18 จุดเก็บตัวอย่างดินจุดที่ 1

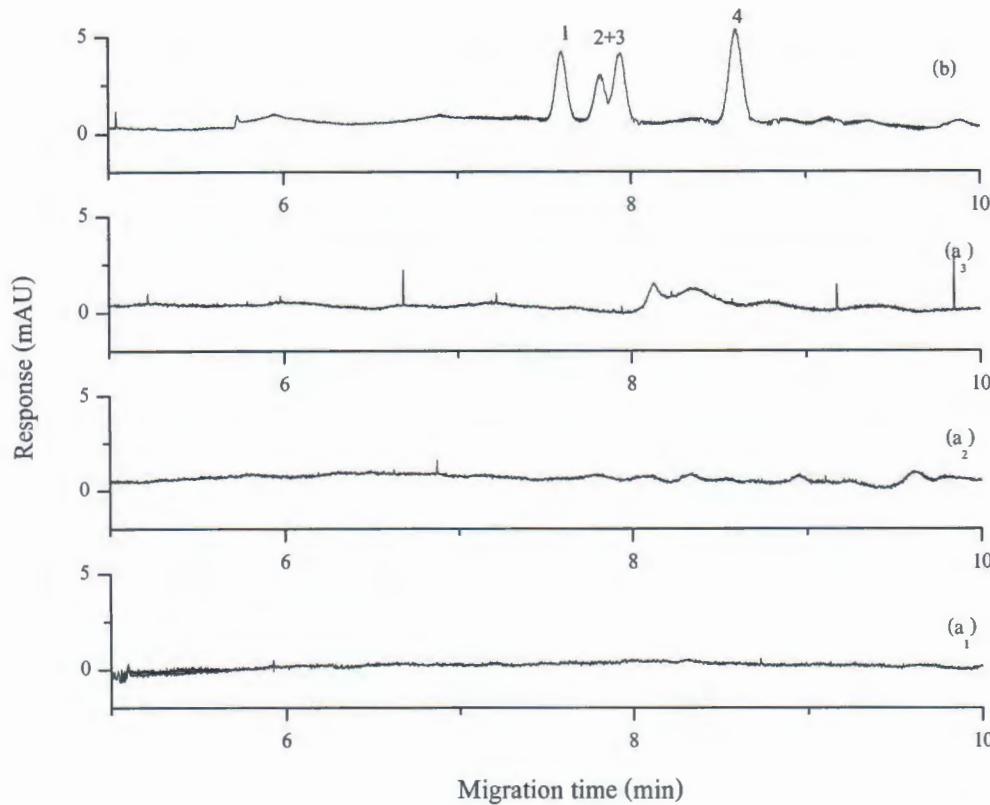


ภาพที่ 4.19 ชุดเก็บตัวอย่างดินชุดที่ 2

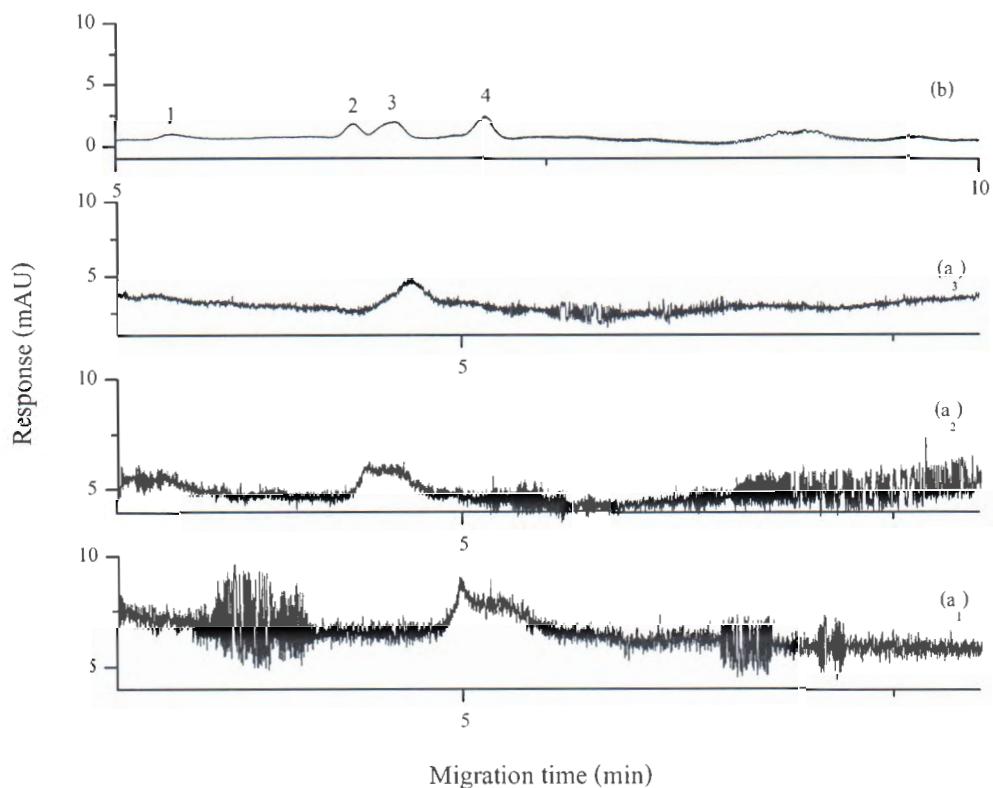
#### 4.4.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างนำ้



**ภาพที่ 4.20** Electropherograms ของตัวอย่างน้ำจุกที่ 1 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2, 3 (b) spiking standard  
**Condition:** buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 μm i.d., effective length 56 cm  
**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T



**ภาพที่ 4.21** Electropherograms ของตัวอย่างน้ำจุกที่ 2 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2, 3 (b) spiking  
**standard Condition:** buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS,  
pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50 µm i.d., effective length 56 cm  
**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

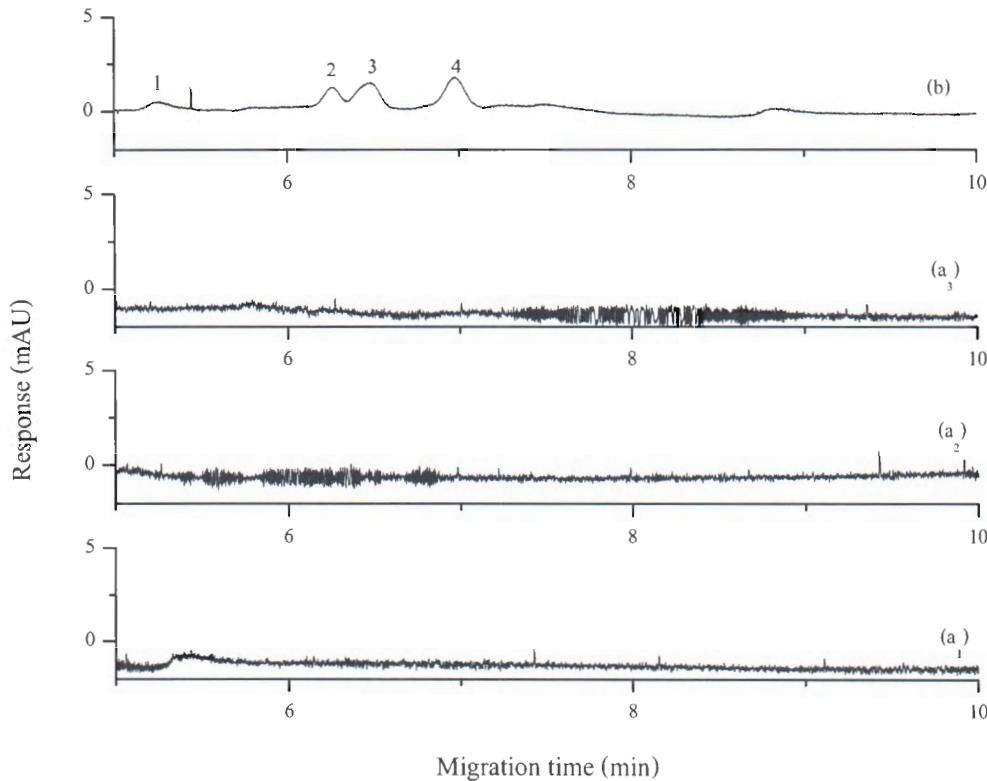


**ภาพที่ 4.22** Electropherograms ของตัวอย่างน้ำดูดที่ 3 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1, 2, 3 (b) spiking standard **Condition:** buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50  $\mu$ m i.d., effective length 56 cm  
**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

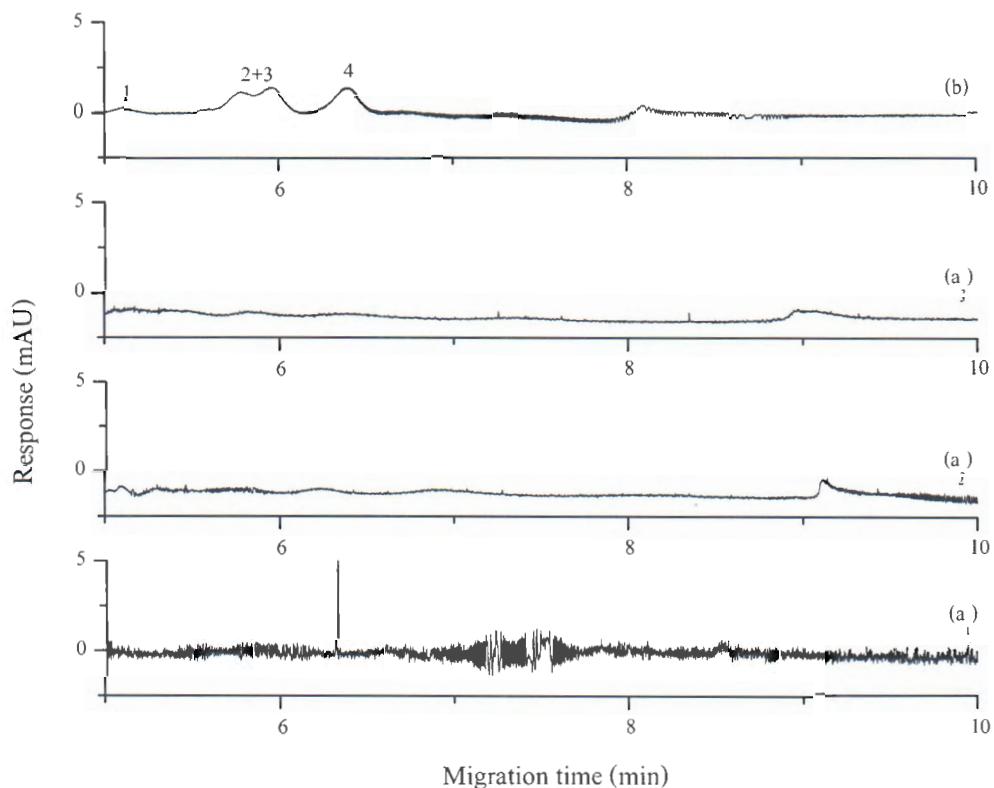
จากภาพที่ 4.20 - 4.22 เมื่อทำการวิเคราะห์หาสารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ในตัวอย่างน้ำทั้ง 3 จุด ด้วยเทคนิค NSM ซึ่งจะทำการทดลอง 3 ครั้ง พบร่วมกับปรากฏพิคของสารทั้ง 4 ชนิด เนื่องจากในพื้นที่เก็บตัวอย่างมีความหลากหลายในการใช้สารเคมี และสารกำจัดศัตรูพืช นอกจากนี้สารอาจถูกย่อสลายด้วยจุลินทรีย์ที่อยู่ในดิน และแสง ซึ่งทำเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสาร ทำให้ไม่สามารถตรวจพบสารเหล่านี้ได้

#### 4.4.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างดิน

เมื่อทำการวิเคราะห์หาสารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ในตัวอย่างดินทั้ง 2 ชุด พบว่า ในชุดเก็บตัวอย่างดินชุดที่ 1 (ภาพที่ 4.23) ไม่ปรากฏพิกของสารทั้ง 4 ชนิด ส่วนในชุดเก็บตัวอย่างดินชุดที่ 2 (ภาพที่ 4.24) พบ dichloroprop และ 2,4-D แต่เนื่องจากความสูงของพีค มีค่าต่ำกว่าสัญญาณรบกวนทำให้ไม่สามารถทราบผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารได้ นอกจากนี้สารอาจถูกย่อยลายด้วยจุลทรรศ์ที่อยู่ในดิน และแสลง ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสาร ทำให้ไม่สามารถตรวจพบสารได้



**ภาพที่ 4.23** Electropherograms ของตัวอย่างดินชุดที่ 1 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2, 3 (b) spiking standard **Condition:** buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm X 50 µm i.d., effective length 56 cm  
**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T



**ภาพที่ 4.24** Electropherograms ของตัวอย่างคืนจุดที่ 2 ( $a_1, a_2, a_3$ ) วิเคราะห์ครั้งที่ 1,2, 3 (b) spiking standard **Condition:** buffer composition: 50 mM phosphate buffer + 100 mM SDS, pH 7.0, temperature 25 °C, capillary length 64.5 cm x 50  $\mu$ m i.d., effective length 56 cm  
**Peak identification:** (1) = Dichloroprop (2) = MCPA (3) = 2,4-D (4) = 2,4,5-T

จากผลการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ซึ่งสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลของการวิเคราะห์ตัวอย่างดินและน้ำที่เก็บจากพื้นที่การเกษตร

ชนิดของตัวอย่าง	จุดเก็บตัวอย่าง	ชนิดของสารกำจัดวัชพืช			
		Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T
น้ำ	จุดที่ 1	ND	ND	ND	ND
	จุดที่ 2	ND	ND	ND	ND
	จุดที่ 3	ND	ND	ND	ND
ดิน	จุดที่ 1	ND	ND	ND	ND
	จุดที่ 2	ND	ND	ND	ND

ND = no detect

## บทที่ 5

### สรุปผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผล และอภิปรายผลการวิจัย

การวิเคราะห์หาสารกำจัดวัชพืช กลุ่ม Chlorinated Acid ด้วยเทคนิค Sample Stacking โดยใช้เครื่อง Capillary Electrophoresis เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด ได้แก่ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), 4-chloro-2-methyphenoxyacetic acid (MCPA) และ 2-(2,4-dichlorophenoxy)propionic acid (Dichloroprop) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ คือ ชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ความเข้มข้นของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ pH ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (SDS) ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ และเทคนิคที่ใช้ในการแยก ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิค MEKC ใน การวิเคราะห์สารเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์และใช้เป็นสภาวะในการเพิ่มความเข้มข้นแบบ sample stacking ดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช ด้วยเทคนิค MEKC

Parameters	Condition used
Fused-silica capillary	50 $\mu$ m x 64.5 cm
Effective length	56 cm
Electrolyte	50 mM Phosphate buffer + 100 mM SDS
pH	7.0
Injection pressure	50 mbar
Sample injection time	5 sec
Applied Voltage	+30 kV
Temperature	25 °C
Detector	UV-Visible detector
Signal wavelength	214 nm
LOD	0.5 ppm

การเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่างด้วยเทคนิค Sample Stacking 2 เทคนิค คือ Normal Stacking Mode (NSM) และ เทคนิค Field Amplified Sample Stacking (FASS) โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยก ดังนี้ เวลาในการฉีดสารตัวอย่าง เวลาในการฉีดน้ำก่อนฉีดสารตัวอย่าง ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการฉีดสาร (เฉพาะเทคนิค FASS) จากการทดลองพบว่า สภาวะที่ดีที่สุดในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 5.2 (NSM) และตารางที่ 5.3 (FASS)

**ตารางที่ 5.2 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชด้วยเทคนิค NSM**

Parameters	Condition used
Fused-silica capillary	50 $\mu$ m x 64.5 cm
Effective length	56 cm
Electrolyte	50 mM Phosphate buffer + 100 mM SDS
pH	7.0
Injection pressure	50 mbar
Sample injection time	40 sec
Water injection time	10 sec
Applied voltage	+30 kV
Temperature	25 °C
Detector	UV-Visible detector
Signal wavelength	214 nm
LOD	0.05 ppm

**ตารางที่ 5.3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชด้วยเทคนิค FASS**

Parameters	Condition used
Fused-silica capillary	50 $\mu$ m x 64.5 cm
Effective length	56 cm
Electrolyte	50 mM Phosphate buffer + 100 mM SDS
pH	7.0
Injected voltage	+10 kV
Sample injection time	10 sec
Water injection time	10 sec
Applied Voltage	+30 kV
Temperature	25 °C
Detector	UV-Visible detector
Signal wavelength	214 nm
LOD	0.5 ppm

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดลอง พบร่วมกันที่เหมาะสมในการแยกสารกำจัดวัชพืชก็คือ NSM ซึ่งสารกำจัดวัชพืชสามารถแยกออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ มีค่า peak area ที่สูง และสามารถวิเคราะห์สารได้ในปริมาณที่ต่ำ ( $LOD = 0.05 \text{ ppm}$ ) ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้นำวิธีนี้ไปวิเคราะห์หาสารกำจัดวัชพืชตอกก้างในตัวอย่างดินและน้ำ ซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ได้สรุปดังตารางที่ 5.4

**ตารางที่ 5.4 ผลของการวิเคราะห์ตัวอย่างดินและน้ำที่เก็บจากพื้นที่การเกษตร**

ชนิดของตัวอย่าง	จุดเก็บตัวอย่าง	ชนิดของสารกำจัดวัชพืช			
		Dichloroprop	MCPA	2,4-D	2,4,5-T
น้ำ	ชุดที่ 1	ND	ND	ND	ND
	ชุดที่ 2	ND	ND	ND	ND
	ชุดที่ 3	ND	ND	ND	ND
ดิน	ชุดที่ 1	ND	ND	ND	ND
	ชุดที่ 2	ND	ND	ND	ND

ND = no detect

นอกจากนี้แคปิลารีอิเล็กโทร โฟร์ซีสสามารถทำการทดสอบได้สะคลาน มีความรวดเร็ว  
เนื่องจากสามารถวิเคราะห์สารได้ภายใน 20 นาที และยังใช้ปริมาณสารตัวอย่างและสารละลายอิเล็กโทร ไลต์ในปริมาณที่น้อย ทำให้ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ต่ำ และก่อให้เกิดของเสียน้อย และไม่เพิ่มปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม ดังนั้นแคปิลารีอิเล็กโทร โฟร์ซีสจึงเป็นอีกเทคนิคนึงที่เหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้วิเคราะห์สารตัวอย่าง

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาการพัฒนาเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้นในแบบต่างๆ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช

5.2.2 ควรศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารกำจัดวัชพืช และมีการพัฒนาเทคนิคที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง

5.2.3 ควรศึกษานิคของสาร electrolyte additive (สารลดแรงตึงผิว) ชนิดอื่นๆ ว่ามีผลต่อการแยกสารกำจัดวัชพืชหรือไม่

5.2.4 เพื่อให้การทดลองมีความแม่นยำมากขึ้น ควรเปลี่ยนสารละลายอิเล็กโทร ไลต์ใหม่ทุกๆ 2 ครั้ง

เอกสารอ้างอิง

## เอกสารอ้างอิง

- ประพันธ์ เชิดชูงาม. “สารเคมีกำจัดวัชพืชกลุ่มคลอโรฟิลน์ออกซีเตท”, พิษสารเคมีกำจัดวัชพืช (Herbicide). <http://prapanc.tripod.com>. มีนาคม, 2555.
- ลีณ่า สุนทรสุข. ตำราแคปิตาริโอเล็กโกร โพร์เชส. กรุงเทพมหานคร : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2550.
- ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. “เทคนิคการสกัดด้วยตัวคุบชั้บของแข็ง Solid phase Extraction (SPE)”, เทคนิคการสกัดด้วยตัวคุบชั้บของแข็งSolid phase Extraction (SPE). <http://share.psu.ac.th/blog/sci-discus/16587>. พฤษภาคม, 2555.
- ศูนย์พัฒนานโยบายแห่งชาติด้านสารเคมี. “Chemical safety academy”, ฐานข้อมูล ICSC ภาษาไทย. <http://ipcs.fda.moph.go.th/csnetnew/icsc.php>. มกราคม, 2555.
- สถานีพัฒนาที่ดินพังงา. “วิธีเก็บตัวอย่างดิน”, วิธีเก็บตัวอย่างดิน. <http://www.ldd.go.th>. มีนาคม, 2555.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. “ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชปี 2545-2552”, ปัจจัยการนำเข้า. <http://www.oae.go.th>. มกราคม, 2554.
- สำนักวิจัย พัฒนาและอุทกวิทยา กรมทรัพยากรน้ำ. “การเก็บและรักษาตัวอย่างน้ำ”, ทฤษฎีการเก็บตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. <http://www.waterlabdwr.com>. มีนาคม, 2555.
- Abacus. “Solid Phase Extraction (SPE)”, Solid Phase Extraction (SPE). [http://www.abacus-lab.com/analytical-chemistry/extraction/solid-phase-extraction-\(spe\).aspx](http://www.abacus-lab.com/analytical-chemistry/extraction/solid-phase-extraction-(spe).aspx). May, 2012.
- Aleksandra, N.K. and et al. “Determination of dimethoate,2,4- dichlorophenoxy acetic acid, mecoprop and linuron pesticides in environmental waters in republic of Macedonia by high performance liquid chromatography”, Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 27: 25-33, 2008.
- Answers. “Capillary electrophoresis”, Electrophoresis. <http://www.answers.com/topic/electrophoresis>. March, 2012.

### ເອກສາຮ້ອງອິງ (ຕ່ອ)

- Chatterjee, D.K., and et al. “Biodegradation of 2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid in soil by a pure culture of *Pseudomonas cepacia*”, Applied and Environmental Microbiology. 44: 514-516, 1982.
- Cugat, M. J. and et al. “Comparative Study of Capillary Zone Electrophoresis and Micellar Electrokinetic Chromatography for the Separation of Twelve Aromatic Sulphonate Compounds”, Chromatographia. 46: 204-208, 1997.
- Dinelli, G. and et al. “Detection and quantitation of sulfonylurea herbicides in soil at the ppb level by capillary electrophoresis”, Journal of Chromatography A. 700: 201-207, 1955.
- Farran, A. and et al. “Three different approaches for the separation of MCPA and 2,4-D by capillary electrophoresis”, Journal of Chromatography A. 835: 209-215, 1999.
- Fu, F. and et al. “Study on the Degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2-methyl-4-chloro-phenoxyacetic sodium (MCPA -sodium) in natural agriculture-soils of Fuzhou, China using capillary electrophoresis”, Science of the Total Environment. 407: 1998-2003, 2009.
- Gregus, Z. and et al. “Effect of chlorophenoxyacetic acid herbicides on glycine conjugation of benzoic acid”, Xenobiotica. 29: 547-559, 1999.
- Henry, J. and et al. “Management of poisoning”, WHO: Geneva. 123-126, 1997.
- Kartsova, L. A. and et al. “Electrophoretic Separation of Tea Flavanoids in the Modes of Capillary (Zone) Electrophoresis and Micellar Electrokinetic Chromatography”, Russian Journal of Applied Chemistry. 79: 1110-1114, 2006.
- Kim, J.B. and et al. “On-line sample concentration in micellar electrokinetic chromatography using cationic surfactants”, Journal of Chromatography A. 916: 123-130, 2001.

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Komarova, N.V. and et al. “Optimizing Separation Conditions for Chlorophenoxycarboxylic Acid Herbicides in Natural and Potable Water Using Capillary Zone Electrophoresis”, Journal of Analytical chemistry. 57: 644-650, 2002.
- Komarova, N. V. and et al. “Determination of Herbicides of the Chlorophenoxycarboxylic Acid Type in Natural and Drinking Water by Capillary Zone Electrophoresis”, Russian Journal of Applied Chemistry. 76: 238-243, 2003.
- Mechref, Y. and et al. “Capillary electrophoresis of herbicides II. Evaluation of alkylglucoside chiral surfactants in the enantiomeric separation of phenoxy acid herbicides”, Journal of Chromatography A. 757: 263-273, 1997.
- Reddy, G.V.B. and et al. “Degradation of chlorophenoxyacetic acids by the lignin-degrading fungus *Dichomitus squalens*”, Microbiology. 143: 2353-2360, 1997.
- Silva, C.L.D. and et al. “Investigation of Preconcentration strategies for the trace analysis of multi-residue pesticides in real by capillary electrophoresis”, Journal of Chromatography A. 1014: 109-116, 2003.
- The Swiss Laboratory for Doping Analyses (LAD). “Capillary electrophoresis”, Instrumentation. [http://www.doping.chuv.ch/en/lad\\_home/lad-prestations-laboratoire/lad-prestations-laboratoire-appareils/lad-prestations-laboratoire-appareils-ec.htm](http://www.doping.chuv.ch/en/lad_home/lad-prestations-laboratoire/lad-prestations-laboratoire-appareils/lad-prestations-laboratoire-appareils-ec.htm). March, 2012.
- Wikipedia. “Capillary electrophoresis”, Capillary electrophoresis. [http://en.wikipedia.org/wiki/Capillary\\_electrophoresis](http://en.wikipedia.org/wiki/Capillary_electrophoresis). March, 2012.
- . “Micell”, Micell. <http://en.wikipedia.org/wiki/Micelle>. March, 2012.
- . “Micellar electrokinetic chromatography”, Micellar electrokinetic chromatography. [http://en.wikipedia.org/wiki/Micellar\\_electrokinetic\\_chromatography](http://en.wikipedia.org/wiki/Micellar_electrokinetic_chromatography). May, 2012.

### ເອກສາຣອ້າງອີງ (ຕ່ອ)

Yu, L. and et al. "Ionic liquids as additives for separation of benzoic acid and chlorophenoxy acid herbicides by capillary electrophoresis", Analytical Chimica Acta. 547: 165-171, 2005.

Zerbinati, O. and et al. "Optimization of the cyclodextrin-assisted capillary electrophoresis separation of the enantiomers of phenoxy acid herbicide", Journal of Chromatography A. 875: 423-430, 2000.

Zhu,L. and et al. "On-Line Concentration of Acidic Compounds by Anion-selective Exhaustive Injection- Sweeping - Micellar Electrokinetic Chromatography", Analytical Chemistry. 74: 5820-5825, 2002.

Zykova, E. V. and et al. "Determining ascorbic acid in medicinal preparations by capillary zone electrophoresis and micellar electrokinetic chromatography", Pharmaceutical Chemistry Journal. 44: 50-52, 2010.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
การเตรียมสารเคมี

## การเตรียมสารเคมี

**1. การคำนวณการเตรียม Stock standard solution ของสารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ความเข้มข้น 1,000 ppm (mg/L)**

**1.1 สารละลายน้ำ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D ; MW = 221.04 g/mol) ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 100 mL**

Methanol ปริมาตร 1,000 mL มีเนื้อสาร 2,4-D 1,000 mg

$$\text{ถ้า Methanol ปริมาตร } 100 \text{ mL จะมีเนื้อสาร } 2,4\text{-D} = \frac{100 \text{ mL} \times (1,000 \times 10^{-3} \text{ g})}{1,000 \text{ mL}} = 0.1 \text{ g}$$

นั่นคือ ชั่ง 2,4-D 0.1000 g ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL ละลายด้วย methanol จากนั้นเทสารละลายน้ำส่องใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

**1.2 สารละลายน้ำ 2,4,5-T Trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T ; MW = 256.54 g/mol) ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 100 mL**

Methanol ปริมาตร 1,000 mL มีเนื้อสาร 2,4,5-T 1,000 mg

$$\text{ถ้า Methanol ปริมาตร } 100 \text{ mL จะมีเนื้อสาร } 2,4,5\text{-T} = \frac{100 \text{ mL} \times (1,000 \times 10^{-3} \text{ g})}{1,000 \text{ mL}} = 0.1 \text{ g}$$

นั่นคือ ชั่ง 2,4,5-T 0.1000 g ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL ละลายด้วย methanol จากนั้นเทสารละลายน้ำส่องใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

**1.3 สารละลายน้ำ 4-Chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA ; MW = 200.60 g/mol) ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 100 mL**

Methanol ปริมาตร 1,000 mL มีเนื้อสาร MCPA 1,000 mg

$$\text{ถ้า Methanol ปริมาตร } 100 \text{ mL จะมีเนื้อสาร } MCPA = \frac{100 \text{ mL} \times (1,000 \times 10^{-3} \text{ g})}{1,000 \text{ mL}} = 0.1 \text{ g}$$

นั่นคือ ชั่ง MCPA 0.1000 g ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL ละลายด้วย methanol จากนั้นเทสารละลายน้ำส่องใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

**1.4 สารละลายน้ำ 2-(2,4-Dichlorophenoxy)-propionic acid (Dichloroprop ; MW = 221.04 g/mol) ความเข้มข้น 1,000 ppm ปริมาตร 100 mL**

Methanol ปริมาตร 1,000 mL มีเนื้อสาร Dichloroprop 1,000 mg

$$\text{ถ้า Methanol ปริมาตร } 100 \text{ mL จะมีเนื้อสาร Dichloroprop} = \frac{100 \text{ mL} \times (1,000 \times 10^{-3} \text{ g})}{1,000 \text{ mL}} \\ = 0.1 \text{ g}$$

นั่นคือ ชั้ง Dichloroprop 0.1000 g ใส่ลงในบิกเกอร์ขนาด 50 mL ละลายด้วย methanol จากนั้นเทสารละลายน้ำส่องใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

**2. การคำนวณการเตรียม mixture standard solution: 2,4-D, 2,4,5-T, MCPA และ Dichloroprop ความเข้มข้น 50 ppm**

เตรียมจากสารละลายน้ำ stock standard ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm ในปริมาตร 50 mL ดังนี้ ถ้าจะเตรียมสารละลายน้ำ 2,4-D, 2,4,5-T, MCPA และ Dichloroprop ความเข้มข้น 50 ppm จะต้องใช้ปริมาตร

$$\text{จากสมการ } C_1 V_1 = C_2 V_2$$

เมื่อ  $C_1$  = ความเข้มข้นของสารละลายน้ำ stock standard (1,000 ppm)

$C_2$  = ความเข้มข้นของสารละลายน้ำ mixture standard ที่ต้องการ (200 ppm)

$V_1$  = ปริมาตรของสารละลายน้ำ stock standard ที่ต้องนำมาเจือจาง

$V_2$  = ปริมาตรของสารละลายน้ำ mixture standard ที่ต้องการ (100 mL)

แทนค่าลงในสมการ

$$(1,000 \text{ ppm})V_1 = (50 \text{ ppm})(50 \text{ mL})$$

$$V_1 = \frac{(50 \text{ ppm})(50 \text{ mL})}{1,000 \text{ mL}}$$

$$V_1 = 2.5 \text{ mL}$$

นั่นคือ สามารถเตรียมสารละลายน้ำ mixture standard ของ 2,4-D, 2,4,5-T, MCPA และ Dichloroprop โดย pipette เอาสารละลายน้ำ stock standard ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm ของแต่ละชนิด มา 2.5 mL ลงใน volumetric flask ขนาด 50 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบปริมาตร

### 3. การคำนวณการเตรียม working solution : 2,4-D, 2,4,5-T, MCPA และ Dichloroprop ความเข้มข้น 20 ppm

เตรียมจากสารละลาย mixture standard ที่มีความเข้มข้น 50 ppm ในปริมาตร 5 mL

ดังนั้น ถ้าจะเตรียมสารละลาย 2,4-D, 2,4,5-T, MCPA และ Dichloroprop. ความเข้มข้น 20 ppm จะต้องใช้ปริมาตร

$$\text{จากสมการ } C_1V_1 = C_2V_2$$

เมื่อ  $C_1$  = ความเข้มข้นของสารละลาย mixture standard (200 ppm)

$C_2$  = ความเข้มข้นของ working solution ที่ต้องการ (50 ppm)

$V_1$  = ปริมาตรของสารละลาย mixture standard ที่ต้องนำมาเจือจาง

$V_2$  = ปริมาตรของสารละลาย working solution ที่ต้องการ (5 mL)

แทนค่าลงในสมการ

$$(50 \text{ ppm})V_1 = (20 \text{ ppm})(5 \text{ mL})$$

$$V_1 = \frac{(20 \text{ ppm})(5 \text{ mL})}{50 \text{ mL}}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

นั่นคือ สามารถเตรียม working solution ของ 2,4-D, 2,4,5-T, MCPA และ Dichloroprop. โดย pipette เอาสารละลาย mixture standard ที่มีความเข้มข้น 50 ppm มา 2 mL ลงใน volumetric flask ขนาด 5 mL จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายบวกเพอร์ที่ใช้จนครบปริมาตร

### 4. การคำนวณการเตรียมสารละลายอิเล็กโทรไลต์หรือบัฟเฟอร์

#### 4.1 สารละลาย stock acetate buffer ความเข้มข้น 200 mM ปริมาตร 100 mL

เตรียมจาก sodium acetate ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , Mw = 136.08 g/mol) และ acetic acid ( $\text{CH}_3\text{COOH}$  99%, Mw = 60 g/mol, D = 1.0499 g/cm<sup>3</sup>)

##### (1) 100 mM sodium acetate ปริมาตร 100 mL

$$\text{จากสมการ } \frac{g}{m} = \frac{cv}{1000}$$

เมื่อ  $g$  = ปริมาณของสาร (g)

$c$  = ความเข้มข้นของสาร (M)

$m$  = มวลโมเลกุลของสาร (g/mol)

$v$  = ปริมาตรของสาร (mL)

แทนค่าลงในสมการ

$$\begin{aligned} g &= \frac{(100 \times 10^{-3} \text{ g})(100 \text{ mL})(136.08 \text{ g/mol})}{1000} \\ g &= 1.3608 \text{ g} \end{aligned}$$

### (2) 100 mM acetic acid ปริมาตร 100 mL

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ } C &= \frac{10\%D}{M_w} \\ \text{เมื่อ } C &= \text{ความเข้มข้นของสาร (M)} \\ D &= \text{ความหนาแน่นของสาร (g/mL)} \\ M_w &= \text{มวลโมเลกุลของสาร (g/mol)} \end{aligned}$$

แทนค่าลงในสมการ

$$\begin{aligned} C &= \frac{10(99.9\%)(1.0499 \text{ g/mol})}{60 \text{ g/mol}} \\ C &= 17.48 \text{ M} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ } C_1 V_1 &= C_2 V_2 \\ \text{เมื่อ } C_1 &= \text{ความเข้มข้นของ acetic acid (17.48 M)} \\ C_2 &= \text{ความเข้มข้นของ acetic acid ที่ต้องการ (100 mM)} \\ V_1 &= \text{ปริมาตรของ acetic acid ที่ต้องนำมาเจือจาง} \\ V_2 &= \text{ปริมาตรของ acetic acid ที่ต้องการ (250 mL)} \end{aligned}$$

แทนค่าลงในสมการ

$$\begin{aligned} (17.48 \text{ M})V_1 &= (100 \times 10^{-3} \text{ M})(100 \text{ mL}) \\ V_1 &= \frac{(100 \times 10^{-3} \text{ g})(100 \text{ mL})}{17.48 \text{ M}} \\ V_1 &= 0.57 \text{ mL} \end{aligned}$$

$\therefore$  ใช้ Sodium acetate 1.3608 กรัม และตวง acetic acid มา 0.57 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL ละลายสารทั้งสองตัวด้วย deionized water จากนั้นเทสารละลายทั้งสองลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL ขาดเดียวกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ด้วย deionized water จนครบปริมาตร จะได้สารละลาย stock acetate buffer ความเข้มข้น 200 mM

#### 4.2 สารละลายน้ำ acetic acid buffer pH 4.50 ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 mL

เตรียมจาก stock acetate buffer ความเข้มข้น 200 mM

$$\text{จากสมการ } C_1V_1 = C_2V_2$$

เมื่อ  $C_1$  = ความเข้มข้นของสารละลายน้ำ acetic acid stock buffer (200 mM)

$C_2$  = ความเข้มข้นของสารละลายน้ำ acetic acid ที่ต้องการ (50 mM)

$V_1$  = ปริมาตรของสารละลายน้ำ acetic acid stock buffer ที่ต้องนำมาเจือจาง

$V_2$  = ปริมาตรของสารละลายน้ำ acetic acid ที่ต้องการ (100 mL)

แทนค่าลงในสมการ

$$(200 \text{ mM})V_1 = (50 \text{ mM})(100 \text{ mL})$$

$$V_1 = \frac{(50 \text{ mM})(100 \text{ mL})}{200 \text{ mM}}$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

นั่นคือ สามารถเตรียมสารละลายน้ำ acetic acid buffer โดย pipette เอาสารละลายน้ำ acetic acid stock buffer ที่มีความเข้มข้น 200 mM มา 25 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL เติม deionized water ลงไปประมาณ 80 mL ปรับ pH ให้ได้ 4.50 ด้วย acetic acid จากนั้นเทสารละลายน้ำ acetic acid ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วย deionized water จนครบปริมาตร

#### 4.3 สารละลายน้ำ borate buffer ความเข้มข้น 200 mM ปริมาตร 100 mL

เตรียมจาก boric acid ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ , Mw = 61.81 g/mol) และ Sodium tetraborate ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ , Mw = 381.37 g/mol)

##### (1) 100 mM boric acid ปริมาตร 250 mL

$$\text{จากสมการ } \frac{g}{m} = \frac{cv}{1000}$$

เมื่อ  $g$  = ปริมาณของสาร (g)

$c$  = ความเข้มข้นของสาร (M)

$m$  = มวลโมเลกุลของสาร (g/mol)

$v$  = ปริมาตรของสาร (mL)

แทนค่าลงในสมการ

$$g = \frac{(100 \times 10^{-3} \text{ g})(100 \text{ mL})(61.81 \text{ g/mol})}{1000}$$

$$g = 0.618 \text{ g}$$

**(2) 100 mM sodium tetraborate ปริมาตร 100 mL**

$$\text{จากสมการ} \quad \frac{g}{m} = \frac{cv}{1000}$$

เมื่อ  $g$  = ปริมาณของสาร (g)

$c$  = ความเข้มข้นของสาร (M)

$m$  = มวลโมเลกุลของสาร (g/mol)

$v$  = ปริมาตรของสาร (mL)

แทนค่าลงในสมการ

$$g = \frac{(100 \times 10^{-3} \text{ g})(100 \text{ mL})(381.37 \text{ g / mol})}{1000}$$

$$g = 3.813 \text{ g}$$

∴ ชั่ง boric acid 0.618 กรัม และ Sodium tetraborate 3.813 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL ละลายสารทึ้งสองด้วย deionized water จากนั้นเทสารละลายทึ้งสองลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL ขาดเดียว กัน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ด้วย deionized water จนครบปริมาตร จะได้สารละลาย stock borate buffer ความเข้มข้น 200 mM

**4.4 สารละลาย borate buffer pH 9.30 ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 mL**

เติร์นจาก stock borate buffer ความเข้มข้น 200 mM

$$\text{จากสมการ} \quad C_1 V_1 = C_2 V_2$$

เมื่อ  $C_1$  = ความเข้มข้นของสารละลาย stock borate buffer (200 mM)

$C_2$  = ความเข้มข้นของสารละลาย borate buffer ที่ต้องการ (50 mM)

$V_1$  = ปริมาตรของสารละลาย stock borate buffer ที่ต้องนำมาเจือจาง

$V_2$  = ปริมาตรของสารละลาย borate buffer ที่ต้องการ (100 mL)

แทนค่าลงในสมการ

$$(200 \text{ mM})V_1 = (50 \text{ mM})(100 \text{ mL})$$

$$V_1 = \frac{(50 \text{ mM})(100 \text{ mL})}{200 \text{ mM}}$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

นั่นคือ สามารถเตรียมสารละลายน้ำ borate buffer โดย pipette เอาสารละลายน้ำ stock borate buffer ที่มีความเข้มข้น 200 mM มา 25 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL เติม deionized water ลงไปประมาณ 80 mL ปรับ pH ให้ได้ 9.30 ด้วย 3% NaOH solution จากนั้นเทสารละลายน้ำลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วย deionized water จนครบปริมาตร

#### 4.5 สารละลายน้ำ stock phosphate buffer ความเข้มข้น 200 mM ปริมาตร 250 mL

เตรียมจาก di-sodium hydrogen phosphate anhydrous ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , Mw = 141.96 g/mol) และ sodium di-hydrogen phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , Mw = 137.99 g/mol)

##### (1) 100 mM di-sodium hydrogen phosphate anhydrous ปริมาตร 100 mL

$$\text{จากสมการ } \frac{g}{m} = \frac{cv}{1000}$$

เมื่อ g = ปริมาณของสาร (g)

c = ความเข้มข้นของสาร (M)

m = มวลโมเลกุลของสาร (g/mol)

v = ปริมาตรของสาร (mL)

แทนค่าลงในสูตร

$$g = \frac{(100 \times 10^{-3} \text{ g})(100 \text{ mL})(141.96 \text{ g / mol})}{1000}$$

$$g = 1.4196 \text{ g}$$

##### (2) 100 mM sodium di-hydrogen phosphate ปริมาตร 100 mL

$$\text{จากสมการ } \frac{g}{m} = \frac{cv}{1000}$$

เมื่อ g = ปริมาณของสาร (g)

c = ความเข้มข้นของสาร (M)

m = มวลโมเลกุลของสาร (g/mol)

v = ปริมาตรของสาร (mL)

แทนค่าลงในสูตร

$$g = \frac{(100 \times 10^{-3} \text{ g})(100 \text{ mL})(137.99 \text{ g / mol})}{1000}$$

$$g = 1.3799 \text{ g}$$

∴ ชั่ง di-sodium hydrogen phosphate anhydrous 1.4196 กรัม และ Sodium di-hydrogen phosphate 1.3799 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL ละลายสารทั้งสองด้วย deionized water จากนั้นเทสารละลายทั้งสองลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL ขวดเดียวกัน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ด้วย deionized water จนครบปริมาตร จะได้สารละลาย stock phosphate buffer ความเข้มข้น 200 mM

#### 4.6 สารละลาย phosphate buffer pH 7.00 ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 mL

เตรียมจาก stock phosphate buffer ความเข้มข้น 200 mM

$$\text{จากสมการ } C_1 V_1 = C_2 V_2$$

เมื่อ  $C_1$  = ความเข้มข้นของสารละลาย stock phosphate buffer (200 mM)

$C_2$  = ความเข้มข้นของสารละลาย phosphate buffer ที่ต้องการ (50 mM)

$V_1$  = ปริมาตรของสารละลาย stock phosphate buffer ที่ต้องนำมาเจือ

เจือ

$V_2$  = ปริมาตรของสารละลาย phosphate buffer ที่ต้องการ (100 mL)

แทนค่าลงในสูตร

$$(200 \text{ mM})V_1 = (50 \text{ mM})(100 \text{ mL})$$

$$V_1 = \frac{(50 \text{ mM})(100 \text{ mL})}{200 \text{ mM}}$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

นั่นคือ สามารถเตรียมสารละลาย phosphate buffer โดย pipette เอาสารละลาย stock phosphate buffer ที่มีความเข้มข้น 200 mM มา 25 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL เติม deionized water ลงไปประมาณ 80 mL ปรับ pH ให้ได้ 7.00 ด้วย phosphoric acid จากนั้นเทสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วย deionized water จนครบปริมาตร

#### 4.7 สารละลาย stock ของ Surfactant ความเข้มข้น 200 mM ปริมาตร 100 mL

เตรียมจาก sodium lauryl sulfate (SDS) ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$ , Mw = 288.49/mol)

$$\text{จากสมการ } \frac{g}{m} = \frac{cv}{1000}$$

เมื่อ  $g$  = ปริมาณของสาร (g)

$c$  = ความเข้มข้นของสาร (M)

$m$  = มวลโมเลกุลของสาร (g/mol)

$v$  = ปริมาตรของสาร (mL)

แทนค่าลงในสูตร

$$g = \frac{(200 \times 10^{-3} \text{ g})(100 \text{ mL})(288.49 \text{ g / mol})}{1000}$$

$$g = 5.7698 \text{ g}$$

หั้ง sodium lauryl sulfate มา 5.7698 g ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL ละลายด้วย deionized water ค่อยๆ ละลายเทสารละลายใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย deionized water จนครบปริมาตร

#### 4.8 สารละลาย 50 mM Phosphate buffer + 100 mM Sodium lauryl sulfate (SDS), pH 7.00

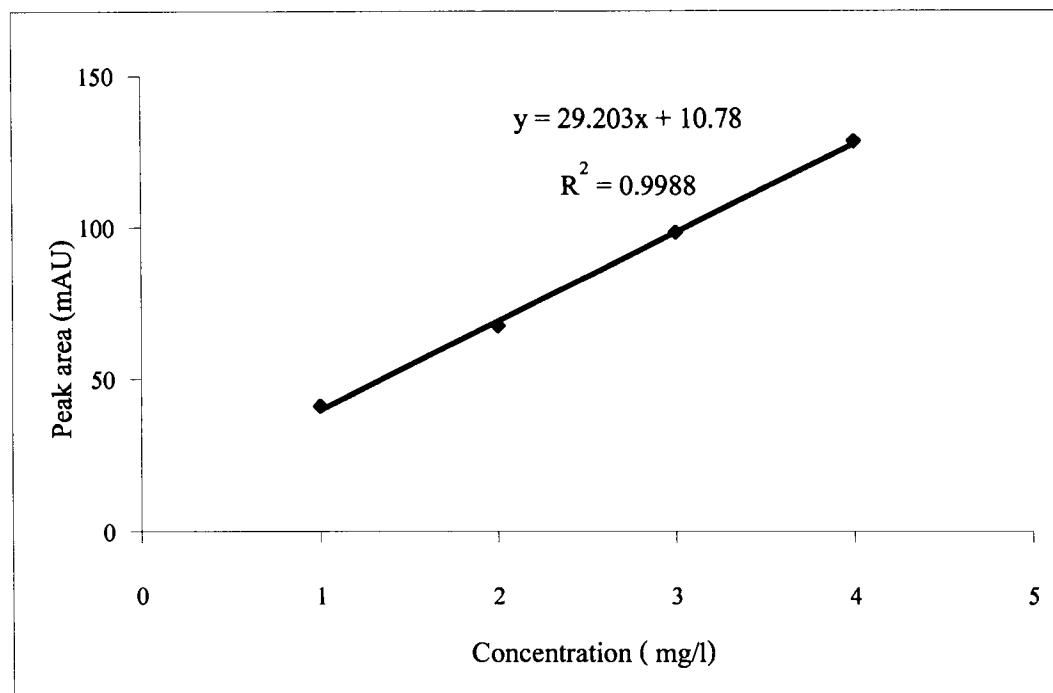
ปริมาตร 100 mL

เติร์ยมจาก stock phosphate buffer ความเข้มข้น 200 mM และ sodium lauryl sulfate (SDS) ความเข้มข้น 200 mM โดย pipette เอ้าสารละลาย 200 mM Phosphate buffer มา 25 mL และสารละลาย 200 mM SDS มา 50 mL (คำนวณจากสมการ  $C_1V_1 = C_2V_2$ ) ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL เติม deionized water ลงให้ได้ประมาณ 80 mL ปรับ pH ให้ได้ 7.00 ด้วย 1 M NaOH solution จากนั้นเทสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ด้วย deionized water จนครบปริมาตร

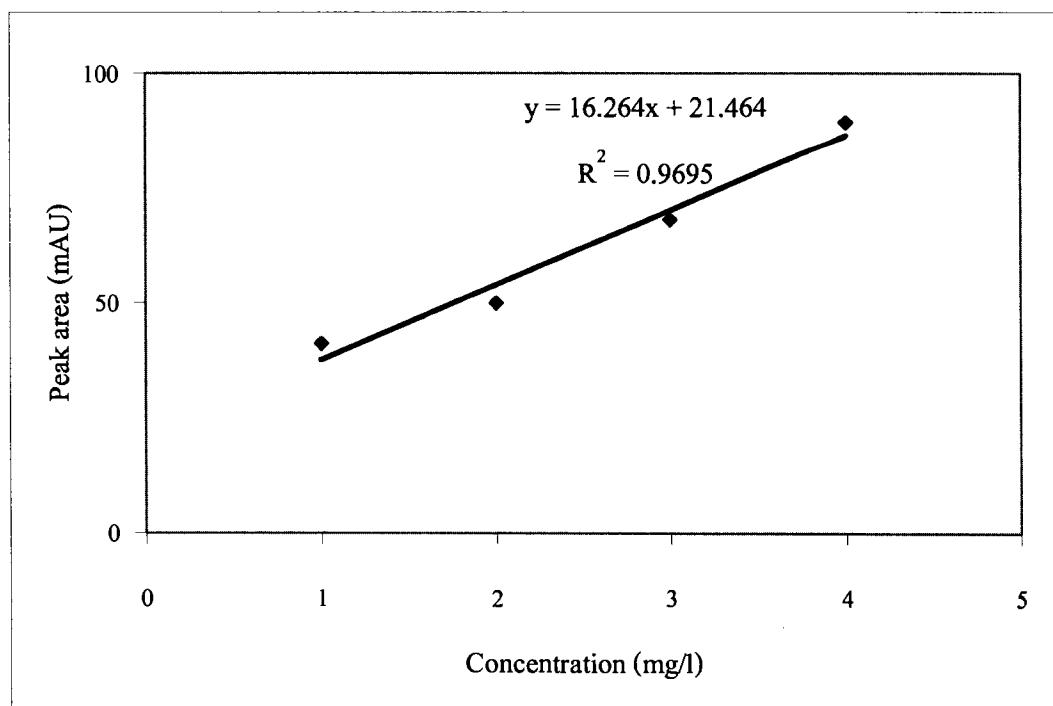
### ภาคผนวก ข

**Calibration curve ของ สารตัวอย่างมาตรฐาน**

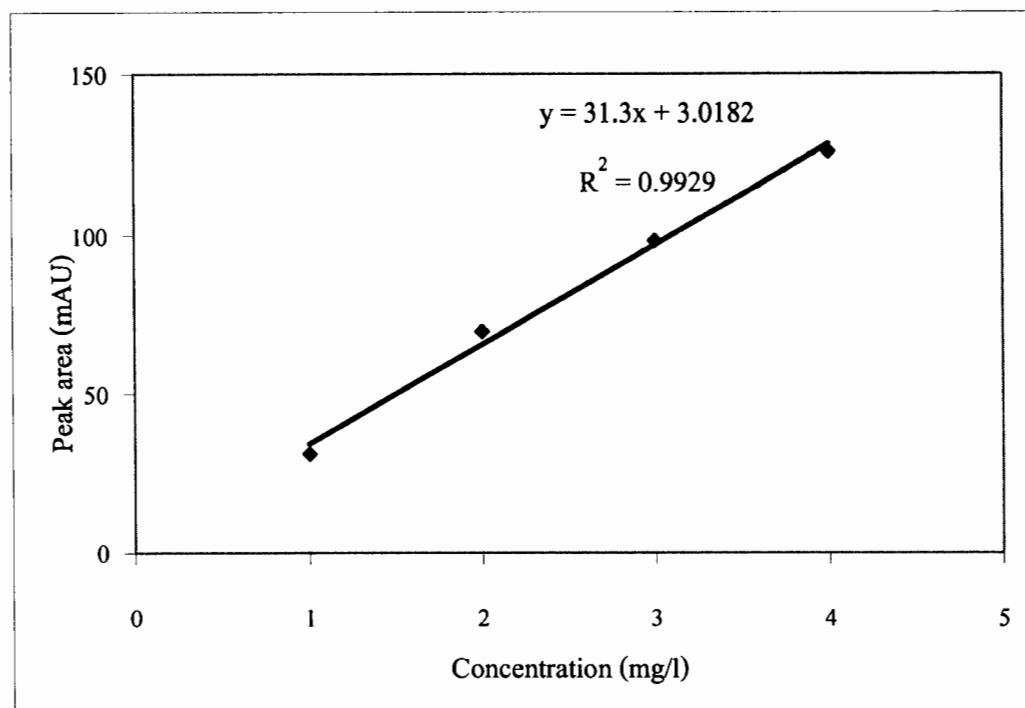
### Calibration curve ของ Standard solution



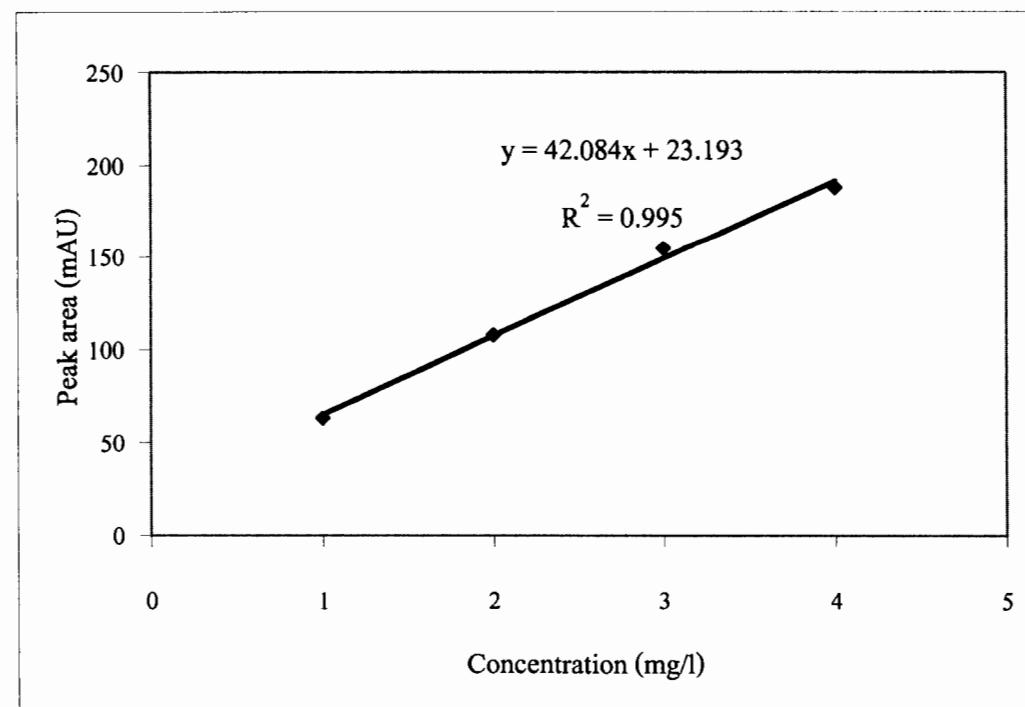
ภาพที่ ๘.๑ Calibration curve ของ dichloroprop



ภาพที่ ๘.๒ Calibration curve ของ MCPA



ภาพที่ ๔.๓ Calibration curve ของ 2,4-D



ภาพที่ ๔.๔ Calibration curve ของ 2,4,5-T

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ

ประวัติการศึกษา

ประวัติการทำงาน

นางสาวสุรัตดา ศรีสุวรรณ  
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี)  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
พ.ศ. 2552-2553

ผู้ช่วยวิจัย  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
พ.ศ. 2551

ผู้ช่วยโครงการวิจัย  
สำนักงานเลขานุการ คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
พ.ศ. 2549-2550

ผู้ช่วยโครงการวิจัย  
ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

