

การศึกษาความผิดพลาดของการวิเคราะห์แบบเติมสารมาตรฐานโดยเทคนิคอะตอมมิก
แอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี
ยุทธพงษ์ อุดแน่น*

**Studies of the error of standard addition method for Atomic Absorption
Spectrophotometry**
Yuthapong Udnan*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 65000

*Corresponding author, E-mail: yuthapongu@nu.ac.th

บทคัดย่อ

ได้ทำการตั้งสมมุติฐานสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยเครื่องมือโดยวิธีการเติมสารมาตรฐานว่า ถ้าเครื่องมือหรือวิธีวิเคราะห์ชนิดใดก็ตามเมื่อทำการวิเคราะห์โดยการทำการกราฟมาตรฐานแล้วพบว่าเส้นกราฟไม่ผ่านศูนย์จะส่งผลทำให้การวิเคราะห์สารชนิดเดียวกันโดยวิธีเติมสารมาตรฐานมีความผิดพลาดไปด้วย จึงได้ทดสอบสมมุติฐานดังกล่าวโดยทำการศึกษาความผิดพลาดของการวิเคราะห์แบบการเติมสารมาตรฐาน สำหรับหาปริมาณแคลเซียมและสังกะสีในตัวอย่างสังเคราะห์และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และตัวอย่างมาตรฐานอ้างอิง โดยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี เปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์แบบการทำการกราฟมาตรฐาน จากผลการศึกษาพบว่าในสภาวะการทดลองใดๆ ก็ตามที่ไม่สามารถทำให้กราฟมาตรฐานผ่านจุดศูนย์ได้ (แม้ว่าสัญญาณของแบลด์ค้จะเป็นศูนย์แล้วก็ตาม) จะมีผลทำให้การวิเคราะห์แบบการเติมสารมาตรฐานมีความคลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริงตั้งสมมุติฐานที่ตั้งไว้ และทำให้ผลของการวิเคราะห์โดยการทำการกราฟมาตรฐานและใช้การเติมสารมาตรฐานให้ค่าที่แตกต่างกันทั้งตัวอย่างของแคลเซียมและสังกะสี โดยทำให้ผลที่ได้จากการวิเคราะห์แบบเติมสารมาตรฐานจะมีความคลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริงมากกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้

คำสำคัญ: การวิเคราะห์โดยวิธีเติมสารมาตรฐาน อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี

Abstract

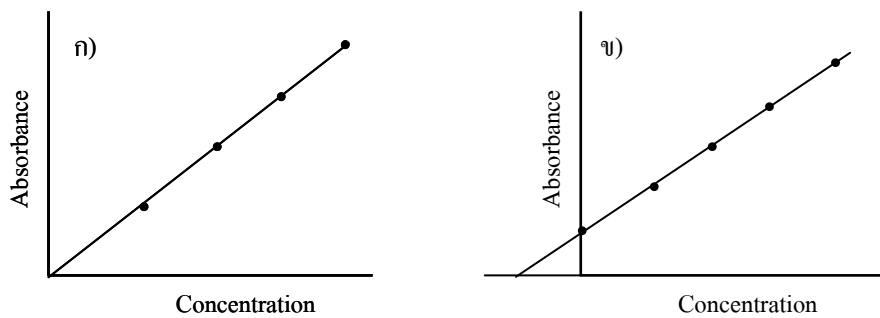
The hypothesis for the instrumental chemical analysis by standard addition method was proposed that if the calibration graph of the standard curves produced by any instrument does not pass through the origin (0,0) the error of standard addition method for the same sample will be occurred. To proof this hypothesis the error of standard addition method for the determination of calcium and zinc in synthetic sample, supplement tablets and references material by atomic absorption spectrophotometry was external evaluated along with the calibration method. From the study it was found that if the calibration graph of the standard curves does not pass through the origin the error of standard addition method for the sample was occurred as the proposed hypothesis. Moreover, it was found that the results from calibration method and standard addition method were different both in calcium and zinc samples. The error from standard addition method was higher than the analytical criteria to be accepted.

Keywords: Standard addition, Atomic absorption spectrophotometry

บทนำ

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้เครื่องมือมีความจำเป็นที่จะต้องเตรียมกราฟมาตรฐาน (Calibration graph) สำหรับใช้ในการคำนวณและวิเคราะห์ผล ซึ่งกราฟมาตรฐาน หมายถึง กราฟที่สร้างระหว่างสัญญาณที่วัดได้โดยเครื่องมือกับความเข้มข้นของสารนั้น ปกติแล้วจะเตรียมกราฟมาตรฐานโดยนำสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแล้วประมาณ 4-5 ความเข้มข้น มาวัดสมบัติของสารตัวอย่าง เช่น ในสเปกโทรโฟโตเมตรีจะสร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่สารดูดกลืนแสงในช่วงแสงยูวี-วิสิเบิล โดยกำหนดให้เป็นแกน y และแกน x คือ ความเข้มข้นของสารละลายดังรูปที่ 1(ก) และเมื่อเตรียมกราฟมาตรฐาน เรียบร้อยแล้วจะทราบความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้โดยนำค่าที่วัดได้ของสารตัวอย่างมาเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยเทียบเป็นมุมฉากกับเส้นตรง (แกน x)

อย่างไรก็ตามปัจจัยต่าง ๆ ที่เลือกใช้ในการวิเคราะห์ก็มีผลต่อความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน บางครั้งระยะเวลาที่ใช้ก็มีผลต่อความเป็นเส้นตรงที่ได้ ในการเตรียมกราฟมาตรฐานต้องการให้กราฟออกมาเป็นเส้นตรง ซึ่งปกติแล้วกราฟมาตรฐานจะสร้างจุดที่ชัดเจน ซึ่งจะทำให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงมากขึ้น นอกจากนี้ความละเอียดของช่วงความเข้มข้นต้องไม่สูงหรือต่ำเกินไป อย่างไรก็ตามความเข้มข้นสารตัวอย่างสามารถอ่านได้โดยตรงจากกราฟมาตรฐาน (แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม, 2534; Skoog *et al.*, 2007)

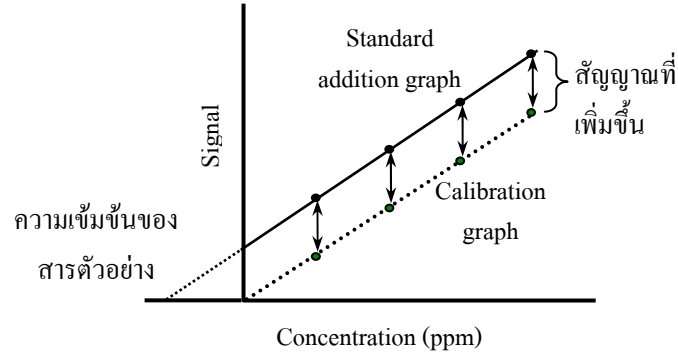


รูปที่ 1 กราฟมาตรฐาน (ก) และ Standard addition graph (ข)

ในการวิเคราะห์โดยการทำการมาตรฐานในบางครั้งที่มีสารตัวอย่างมีองค์ประกอบอื่นๆ ปนอยู่ด้วยมีผลทำให้การวิเคราะห์ผิดพลาดได้ เนื่องจากองค์ประกอบของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างแตกต่างกันค่อนข้างมาก สัญญาณที่ได้จากสารละลายตัวอย่างจึงไม่ได้เกิดจากสารที่ต้องการวิเคราะห์เพียงอย่างเดียว แต่อาจเกิดจากองค์ประกอบอื่นๆ ด้วย ดังนั้นจึงทำให้ผลการวิเคราะห์คลาดเคลื่อนได้ ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับ matrix effects และ interferences จึงควรใช้วิธีการเติมสารมาตรฐาน ซึ่งทำได้โดยแบ่งสารละลายตัวอย่างออกเป็น 4-5 ส่วน และนำแต่ละส่วนมาเติมสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันลงไปจำนวนปริมาตรเท่ากัน ส่วนสารละลายสุดท้ายนำมาเติมเฉพาะตัวทำละลายให้มีปริมาตรเท่ากันแล้วนำไปวัดสัญญาณ และนำมาเขียนกราฟเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป ความเข้มข้นของสารตัวอย่างหาได้จากการลากเส้นตรงต่อจากเส้นกราฟไปตัดแกน x (แกนความเข้มข้น) การวิเคราะห์โดยวิธีนี้จะเห็นว่าสารละลายทุกขวดมีลักษณะเหมือนกัน ถ้าการวิเคราะห์มี matrix effect ก็จะมี effect เหมือนกันหมดด้วยจึงหักล้างกันไป การวิเคราะห์ โดยวิธีเติมสารมาตรฐานเป็นวิธีที่ใช้บ่อยมากสำหรับการวิเคราะห์โดยเทคนิคอะตอมมิก แอปซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรีและแก๊สโครมาโตกราฟี (Standard addition, 2009)

ดังเหตุผลที่กล่าวมาแล้วข้างต้นอาจทำให้นักเคมีวิเคราะห์ส่วนใหญ่มักจะคิดว่าการวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน น่าจะให้ผลของการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องสูงกว่าการวิเคราะห์แบบการทำกราฟมาตรฐาน เนื่องจากสามารถลดผลของตัวรบกวน (Interference) และผลของแมทริกซ์ แต่จากผลการทดลองพบว่าความคิดดังกล่าวไม่เป็นความจริงเสมอไป

การวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐานนั้นถ้าพิจารณาจริงๆ ก็คือการเพิ่มสัญญาณของสารตัวอย่างเข้าไปในกราฟมาตรฐานดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 การหาความเข้มข้นสำหรับการวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน

การหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างสามารถทำได้โดยการต่อเส้นกราฟไปตัดที่แกนความเข้มข้นดังแสดงในรูปที่ 2

จากการทดลองพบว่ามีบ่อยครั้งที่ผลจากการทดลองที่ได้จากทั้งสองวิธีนี้มีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์จะมีตัวรบกวนน้อยมากๆ ก็ตาม นักเคมีวิเคราะห์ส่วนใหญ่จะมองข้ามตรงจุดนี้ไป ซึ่งอาจจะเป็นเหตุทำให้ผลของการวิเคราะห์ผิดพลาดได้ และอาจส่งผลถึงการนำผลการทดลองที่ได้ไปใช้ผิดพลาดตามไปด้วย สำหรับสาเหตุของความผิดพลาดของการวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐานนั้น ผู้ทำวิจัยได้ตั้งสมมุติฐานว่าน่าจะมีสาเหตุมาจาก

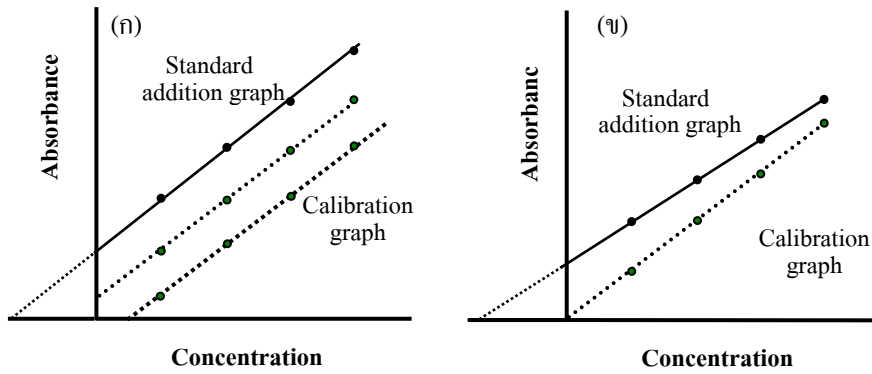
- 1) กราฟมาตรฐานไม่ผ่านจุด 0,0 ดังรูปที่ 3 (ก)

จากสมการของ Beer ที่ว่า (Skoog *et al.*, 2007)

$$A = \epsilon bC$$

จะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงสัมพันธ์กับความเข้มข้นแบบเชิงเส้น โดยไม่มี intercept ดังนั้นการวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐานควรจะเริ่มต้นด้วยกราฟมาตรฐานที่ลากผ่านจุด 0,0 ก่อน จึงจะทำให้ผลที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐานมีความถูกต้อง

2) Slope ของกราฟมาตรฐานและ Standard addition graph ไม่เท่ากัน (Littlejohn *et al.*, 1985) ซึ่งในความเป็นจริงการหาความเข้มข้นของตัวอย่างโดยการต่อเส้นกราฟไปตัดแกนความเข้มข้นได้นั้น สัญญาณที่เพิ่มขึ้นจากสารตัวอย่างบนกราฟมาตรฐานควรจะเท่ากันทุกจุด ซึ่งก็หมายความว่า Slope ของกราฟมาตรฐานและ Standard addition graph จะต้องเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน



รูปที่ 3 สาเหตุของความผิดพลาดที่อาจเกิดจากการวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน

(ก) กราฟมาตรฐานไม่ผ่านจุด 0,0 (ข) Slope ของกราฟมาตรฐานและ Standard addition graph แตกต่างกันมาก

การวิเคราะห์โดยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรีเป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในงานวิจัยต่างๆ (Quina *et al.*, 1999) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเป็นการทดลองเพื่อทดสอบสมมุติฐานที่ได้ตั้งไว้แล้วข้างต้น โดยใช้เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรีเป็นหลัก

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย

- 1) Calcium standard solution: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, A.R. grade, Merck, Germany
- 2) Nitric acid: HNO_3 65%, A.R. grade, Merck, Germany
- 3) Calmate 600, บริษัท เคนยา (ประเทศไทย), Thailand
- 4) Calcalcin, บริษัท ซาโต ฟาร์มาซูติคอล, Japan
- 5) Blackmores calcium, บริษัท แบลคมอร์ส จำกัด, Australia
- 6) Calplus MZ, ห้างหุ้นส่วนจำกัด เวสโก ฟาร์มาซูติคอล
- 7) Zinc standard solution: ZnNO_3 , A.R. grade, Merck, Germany
- 8) DSP Zinc Gluconate, T Man Pharma Ltd.,Part., Thailand
- 9) Chelated Zinc Tablet, บริษัท อังกฤยตราวุ (แอล.พี.) จำกัด, Thailand
- 10) Blackmores Bio Zinc, บริษัท แบลคมอร์ส จำกัด, Australia
- 11) Multiple vitamins USP, shop and shop, USA
- 12) LUTS-1, National Research Council Canada, Canada
- 13) Montana Soil, National Institute of Standards & Technology, USA

อุปกรณ์

เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Varian, Model Spectra AA – 220, Australia)

วิธีการ

การเตรียมสารละลาย

สารละลายมาตรฐานแคลเซียมและสังกะสีเตรียมโดยการเจือจางจากสารละลายมาตรฐาน 1000 mg/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ และ 1000 mg/L $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ตามลำดับโดยใช้สารละลาย 0.5 M HNO_3 เป็นตัวทำละลาย ในทำนองเดียวกันกับสารละลายตัวอย่างสังเคราะห์ก็เตรียมในลักษณะเดียวกัน

การเตรียมสารตัวอย่าง

ผลิตภัณฑ์เสริมแคลเซียม

ชั่งผลิตภัณฑ์เสริมแคลเซียมที่ผ่านการบดให้ละเอียดแล้วให้น้ำหนักตามที่คำนวณไว้ใส่ลงในบีกเกอร์ เติมกรดไนตริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ตามด้วยกรดไนตริก 0.5 M 10 มิลลิลิตร เมื่อตัวอย่างละลายแล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ลงขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 0.5 M

ผลิตภัณฑ์เสริมสังกะสี

ซึ่งผลิตภัณฑ์เสริมสังกะสีที่ผ่านการบดให้ละเอียดแล้วให้น้ำหนักตามที่คำนวณไว้ใส่ลงในบีกเกอร์ เติมกรดไนตริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ทำการให้ความร้อนเมื่อตัวอย่างละลายแล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 0.5 M ทำการเจือจางสารละลาย 250 เท่าด้วยกรดไนตริก 0.5 M ก่อนนำไปใช้

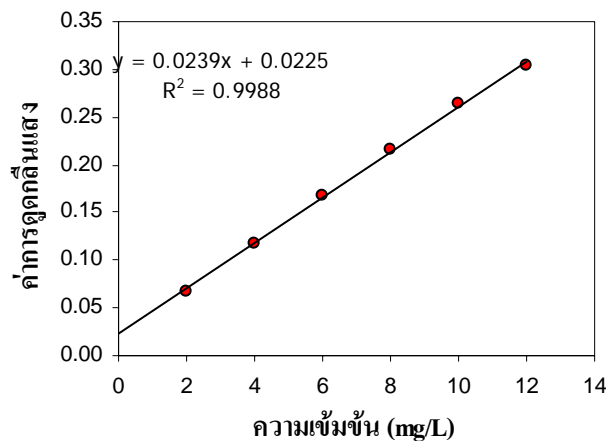
ตัวอย่างมาตรฐานอ้างอิง (Reference material)

ซึ่งตัวอย่างมาตรฐานอ้างอิง LUTS-1 2.4631 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมกรดไนตริก 3 มิลลิลิตร และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 30-45 นาที เมื่อสารละลายใสให้นำมาทิ้งไว้ให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ลงในขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริก 0.5 M

นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ทั้งหมดไปวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมและสังกะสีตามลำดับ โดยวิธีการทำกราฟมาตรฐาน และวิธีการเติมสารมาตรฐาน

ผลการทดลองและวิจารณ์

การหาปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างสังเคราะห์



รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานของแคลเซียม

ได้เตรียมสารละลายตัวอย่างสังเคราะห์ของแคลเซียมเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 mg/L โดยใช้กรดไนตริก 0.5 M เป็นตัวทำละลาย และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธีการทำกราฟมาตรฐาน และวิธีการเติมสารมาตรฐานด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมตรี โดยใช้สารละลายกรดไนตริก 0.5 M เป็นแบล็ก และใช้ mode ของการวัดเป็นแบบ Non-background correction ได้ผลดังรูปที่ 4 และตารางที่ 1 และ 2

จากผลการทำกราฟมาตรฐานของแคลเซียมโดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Varian Model Spectra AA-220) พบว่ากราฟมาตรฐานที่ได้มีความเป็นเส้นตรงดี แต่เส้นกราฟไม่ผ่านจุดศูนย์ โดยมีจุดตัดบนแกน y อยู่ที่ 0.0225 Abs. ซึ่งผลการวิเคราะห์เป็นดังตารางตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 สมการเส้นตรงของ Calibration กราฟ และ Standard addition กราฟของการหาปริมาณ แคลเซียม

เส้นแนวโน้ม	สมการเส้นตรง	R ²	หมายเหตุ
Calibration	$Y = 0.0239x + 0.0225$	0.9988	-
Addition 10	$Y = 0.0221x + 0.1238$	0.9968	Dilution factor = 2.5
Addition 20	$Y = 0.0222x + 0.1236$	0.9988	Dilution factor = 5.0
Addition 30	$Y = 0.0194x + 0.1887$	0.9983	Dilution factor = 4.2
Addition 40	$Y = 0.0221x + 0.121$	0.9986	Dilution factor = 10.0
Addition 50	$Y = 0.021x + 0.1268$	0.9971	Dilution factor = 12.5

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสังเคราะห์

ตัวอย่าง ที่	ความเข้มข้น จริง (mg/L)	ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ (mg/L)/Relative accuracy	
		Calibration	Standard addition
1	10	10.2/101.8	14.0/140.0
2	20	20.2/101.0	27.8/139.2
3	30	30.9/103.0	40.8/136.1
4	40	39.6/99.1	54.8/136.9
5	50	52.2/104.5	75.5/151.0

จากผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างวิธี Calibration และ Standard addition พบว่าวิธีการทำกราฟมาตรฐานให้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าจริงมากกว่าวิธี Standard addition โดยมี % recovery อยู่ระหว่าง 99.1-104.5 % ในขณะที่วิธีเดิมสารมาตรฐานมี Relative accuracy อยู่ระหว่าง 136.1-151.0 % ซึ่งในการวิเคราะห์โดยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมตรีถือว่าไม่สามารถยอมรับได้ และจากสมการของกราฟมาตรฐานจะเห็นว่าเส้นกราฟไม่ตัดผ่านศูนย์ โดยมี intercept อยู่ที่ 0.0225 Abs. ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งของความผิดพลาดดังกล่าว ส่วนความชันของกราฟมาตรฐาน และ Standard addition กราฟไม่แตกต่างกันมากดังนั้นสาเหตุของความผิดพลาดน่าจะมาจากสาเหตุแรกมากกว่า

การหาปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างจริง

ได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมแคลเซียมจำนวน 4 ตัวอย่างพร้อมทั้งสารมาตรฐานอ้างอิงอีก 2 ตัวอย่าง โดยวิธี Calibration และ Standard addition โดยใช้ mode ของการวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นแบบ background correction ได้ผลดังตาราง 3 และ 4

ตารางที่ 3 สมการเส้นตรงของ Calibration กราฟ และ Standard addition กราฟของการหาปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างจริง

เส้นแนวโน้ม	สมการเส้นตรง	R ²
Calibration (1)	Y = 0.0192x + 0.0187	0.9995
Blackmores	Y = 0.0182x + 0.1063	0.9959
Calplus MZ	Y = 0.0195x + 0.0863	0.9995
Calcalcin	Y = 0.0182x + 0.0812	0.9988
Calmate 600	Y = 0.0187x + 0.1088	0.9981
Calibration (2)*	Y = 0.022x + 0.0135	0.9993
LUTS-1(1)	Y = 0.0207x + 0.0705	0.9965
LUTS-1(2)	Y = 0.0209x + 0.0689	0.9958

* ใช้พิจารณาพร้อมกับตัวอย่าง LUTS-1(1) และ LUTS-1(2)

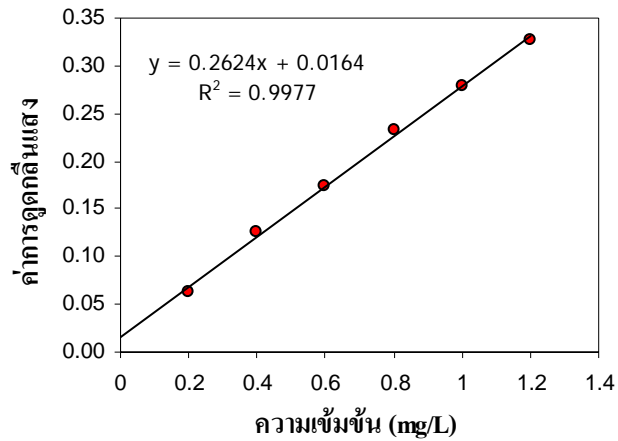
ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

ตัวอย่าง	ปริมาณที่ระบุไว้ (mg/Tab)	ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ (mg/Tab)/ Relative accuracy	
		Calibration	Standard addition
Blackmores	500	460.6/92.1	596.5/119.3
Calcium plus	500	501.6/100.3	541.5/108.3
Calcalcin	66.7	55.5/83.2	74.8/111.6
Calmate 600	600	566.8/94.5	672.9/112.2
LUTS-1 (1)	203	187.57(mg/kg)/92.4	288.06(mg/kg)/141.9
LUTS-1 (2)	203	184.53(mg/kg)/90.9	280.14(mg/kg)/138.0

จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมแคลเซียมและสารมาตรฐานอ้างอิงเปรียบเทียบระหว่างวิธี Calibration และ Standard addition พบว่าวิธีการทำกราฟมาตรฐานให้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าจริงมากกว่าวิธี Standard addition โดยมี Relative accuracy อยู่ระหว่าง 83.2-103.3 % ในขณะที่วิธีเติมสารมาตรฐานมี Relative accuracy อยู่ระหว่าง 108.3-141.9 % ซึ่งในการวิเคราะห์โดยเทคนิคอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมตรีถือว่าไม่สามารถยอมรับได้ ซึ่งสาเหตุหนึ่งของความผิดพลาดดังกล่าวน่าจะมาจากกราฟมาตรฐานที่ไม่ตัดผ่านศูนย์ ส่วนความชันของกราฟมาตรฐาน และ Standard addition กราฟไม่แตกต่างกันมากดังนั้นสาเหตุของความผิดพลาดน่าจะมาจากสาเหตุแรกมากกว่า

การหาปริมาณสังกะสีในตัวอย่างสังเคราะห์

ได้เตรียมสารละลายตัวอย่างสังเคราะห์ของสังกะสีเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 mg/L โดยใช้กรดไนตริก 0.5 M เป็นตัวทำละลาย และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธีการทำกราฟมาตรฐาน และวิธีการเติมสารมาตรฐานด้วยเทคนิคอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมตรี โดยใช้สารละลายกรดไนตริก 0.5 M เป็นแบล็ก และใช้ mode ของการวัดเป็นแบบ Non-background correction ได้ผลดังรูปที่ 5 และตารางที่ 5 และ 6



รูปที่ 5 กราฟมาตรฐานของสังกะสี

ในการทำงานเดียวกันกับกราฟมาตรฐานของแคลเซียมพบว่ากราฟมาตรฐานของสังกะสีจากเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Varian Model Spectra AA-220) ที่ได้มีความเป็นเส้นตรงดี แต่เส้นกราฟไม่ผ่านจุดศูนย์ โดยมีจุดตัดบนแกน y อยู่ที่ 0.0164 Abs. ซึ่งผลการวิเคราะห์เป็นดังตารางที่ 5 และ 6

ตารางที่ 5 สมการเส้นตรงของ Calibration กราฟ และ Standard addition กราฟของการหาปริมาณสังกะสี

เส้นแนวโน้ม	สมการเส้นตรง	R ²	หมายเหตุ
Calibration	Y = 0.2624x + 0.0164	0.9977	-
Addition 5	Y = 0.2311x + 0.1648	0.9984	Dilution factor = 10.0
Addition 10	Y = 0.201x + 0.3059	0.9980	Dilution factor = 10.0
Addition 15	Y = 0.2208x + 0.2035	0.9941	Dilution factor = 25.0
Addition 20	Y = 0.2086x + 0.253	0.9969	Dilution factor = 25.0
Addition 25	Y = 0.232x + 0.1639	0.9960	Dilution factor = 50.0

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสังเคราะห์

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นจริง (mg/L)	ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ (mg/L)/Relative accuracy	
		Calibration	Standard addition
1	5	5.4/107.0	7.1/142.6
2	10	10.2/102.4	15.2/152.2
3	15	15.9/105.8	23.0/153.6
4	20	20.4/101.8	30.3/151.6
5	25	26.3/105.3	35.3/141.3

จากผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างวิธี Calibration และ Standard addition พบว่าวิธีการทำกราฟมาตรฐานให้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าจริงมากกว่าวิธี Standard addition โดยมี Relative accuracy อยู่ระหว่าง 101.8-107.0 % ในขณะที่วิธีเติมสารมาตรฐานมี Relative accuracy อยู่ระหว่าง 141.3-153.6 % และจากสมการของกราฟมาตรฐานจะเห็นว่าเส้นกราฟไม่ตัดผ่านศูนย์เช่นเดียวกันกับกรณีของแคลเซียม ในขณะที่ความชันของกราฟมาตรฐาน และ Standard addition กราฟ ไม่แตกต่างกันมาก ดังนั้นสาเหตุของความผิดพลาดน่าจะมาจากสาเหตุแรกมากกว่า

การหาปริมาณสังกะสีในตัวอย่างจริง

ได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมสังกะสีจำนวน 4 ตัวอย่าง โดยวิธี Calibration และ Standard addition โดยใช้ mode ของการวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นแบบ background correction ได้ผลดังตาราง 7-8

ตารางที่ 7 สมการของ Calibration กราฟ และ Standard addition กราฟของการหาปริมาณสังกะสีในตัวอย่างจริง

ตัวอย่าง	สมการเส้นตรง	R ²
Calibration	$Y = 0.2487x + 0.0242$	0.9977
DSP	$Y = 0.2178x + 0.1817$	0.9966
Blackmores	$Y = 0.2202x + 0.1769$	0.9963
Chelated Zinc	$Y = 0.214x + 0.1842$	0.9953
Multiple Vitamins	$Y = 0.2123x + 0.1905$	0.9928

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

ตัวอย่าง	ปริมาณที่ระบุไว้ (mg / Tab)	ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ (mg/Tab) /Relative accuracy	
		Calibration	Standard addition
DSP	15	14.6/97.0	20.9/139.0
Blackmores	14.9	14.2/95.3	20.1/134.8
Chelated zinc	15	14.7/97.7	21.5/143.5
Multiple vitamins	15	14.6/97.0	22.4/149.5

จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมสังกะสีเปรียบเทียบระหว่างวิธี Calibration และ Standard addition พบว่าวิธีการทำกราฟมาตรฐานให้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าจริงมากกว่าวิธี Standard addition โดยมี Relative accuracy อยู่ระหว่าง 95.3-97.7 % ในขณะที่วิธีเดิมสารมาตรฐานมี Relative accuracy อยู่ระหว่าง 134.8-149.5 % ซึ่งสาเหตุหนึ่งของความผิดพลาดดังกล่าวน่าจะมาจากกราฟมาตรฐานที่ไม่ตัดผ่านศูนย์เช่นเดียวกันกับในกรณีของตัวอย่างสังเคราะห์ ในขณะที่ความชันของกราฟมาตรฐาน และ Standard addition กราฟ ไม่แตกต่างกันมาก ดังนั้นสาเหตุของความผิดพลาดน่าจะมาจากสาเหตุแรกมากกว่า

สรุปผลการทดลอง

จากผลของการวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมและสังกะสีทั้งในตัวอย่างสังเคราะห์และตัวอย่างจริงเปรียบเทียบระหว่างวิธีการทำกราฟมาตรฐานและ วิธีการเดิมสารมาตรฐาน พบว่าวิธีการทำกราฟมาตรฐานให้ผลของวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับค่าจริงมากกว่าวิธีการเดิมสารมาตรฐานเกือบทุกรูปแบบของสารตัวอย่าง โดยมี Relative accuracy เกินกว่า 120% เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งในการวิเคราะห์โดยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตเมตรีถือว่าไม่สามารถยอมรับได้ ซึ่งทั้งหมดนี้มีสาเหตุมาจากกราฟมาตรฐานที่ไม่ตัดผ่านศูนย์นั่นเอง

จากผลการทดลองอาจสรุปได้ว่าในสภาวะการทดลองใดๆ ก็ตามที่ไม่สามารถทำให้กราฟมาตรฐานผ่านจุดศูนย์ได้ จะมีผลทำให้การวิเคราะห์แบบการเติมสารมาตรฐานมีความคลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริงดังสมมุติฐานที่ตั้งไว้ และทำให้ผลของการวิเคราะห์โดยการทำกราฟมาตรฐานและใช้การเติมสารมาตรฐานให้ค่าที่แตกต่างกัน โดยผลที่วิเคราะห์ได้จากกราฟวิเคราะห์แบบเติมสารมาตรฐานจะมีความผิดพลาดมากกว่า ดังนั้นก่อนทำการวิเคราะห์โดยวิธีเติมสารมาตรฐาน ควรทำการตรวจสอบเสียก่อนว่ากราฟมาตรฐานผ่านจุดศูนย์หรือใกล้เคียงกับจุดศูนย์หรือไม่ และความชันของ

กราฟมาตรฐานกับกราฟของการเติมสารมาตรฐานต่างกันจนเกินที่จะยอมรับได้หรือไม่ ซึ่งจะได้หาวิธีปรับและแก้ไขให้ถูกต้องต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ ที่ให้การสนับสนุนทุนงบประมาณการวิจัยประจำปี 2550 รวมทั้งภาคีวิชาเคมีที่ให้ความอนุเคราะห์สำหรับการใช้เครื่องมือต่างๆ และขอขอบคุณ นายอาทิตย์ บุญมา นิสิตปริญญาตรีที่ให้ความช่วยเหลือในการทำการทดลองจนสำเร็จ ล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

แม่น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. (2534). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. พิมพ์ครั้งที่

1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชวนพิมพ์.

Standard addition (2009). Retrieved October 21, 2009, from http://en. Wikipedia.org/wiki/Standard_addition

Skoog, D. A., Holler, F. J. and Crouch, S. R. (2007). *Principles of Instrumental Analysis*. Cole: Thomson Brooks.

Littlejohn, D., Stephan, S.C. and Ottaway, J.M. (1985). Slurry sample introduction procedures for the analysis of foodstuffs by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry, *Analytical proceedings*, 20, 376-378.

Quina, S. P. and No, J. A. (1999). Direct determination of chromium in gelatine by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry, *Food Chemistry*, 64, 429-433.