



การสกัดแบบจุดขุ่น: ทฤษฎีและการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิว
ในทางเคมีวิเคราะห์

Cloud-Point Extraction: Theory and Applications of Surfactants
in Analytical Chemistry

ญาณวรรณ แสนตลาดชัยกิตติ¹

บทคัดย่อ

เทคนิคการสกัดแบบจุดขุ่นเป็นวิธีการสกัด และเพิ่มความเข้มข้นสารของเป้าหมายโดยใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวสกัด เช่น สารลดแรงตึงผิวแบบไม่มีประจุ และสารลดแรงตึงผิวแบบประจุลบ เป็นต้น ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิ ความดัน ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว และเกลือ สารละลายของสารลดแรงตึงผิวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายจะมีลักษณะขุ่น และมีการแยกเฟสเป็นสองเฟส (ชั้นสารละลายน้ำ และชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น) สารเป้าหมายจะถูกสกัดและเพิ่มความเข้มข้นได้ในชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น วิธีการสกัดแบบจุดขุ่นนี้ เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ให้ประสิทธิภาพสูงในการสกัด และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม บทความปริทัศน์นี้ได้รวบรวมทฤษฎี และหลักการเบื้องต้นของการสกัดแบบจุดขุ่น นอกจากนี้ได้นำเสนอการประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดแบบจุดขุ่นสำหรับการวิเคราะห์สารเป้าหมายต่าง ๆ ไปด้วย

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000

ABSTRACT

Cloud-point extraction is the extraction and preconcentration of target analytes using surfactants as extractant such as non-ionic and anionic surfactants etc. Under the optimum conditions including temperature, pressure, concentration of surfactant and salt, the aqueous surfactant solution becomes clouding and separating into two phases (i.e., aqueous and surfactant-rich phases). The target analytes are extracted and concentrated into surfactant-rich phase. The cloud-point extraction is simple, rapid, high extraction efficiency and environmentally friendly. This review includes theory and principle of cloud-point extraction as well as its application for the analysis of various analytes.

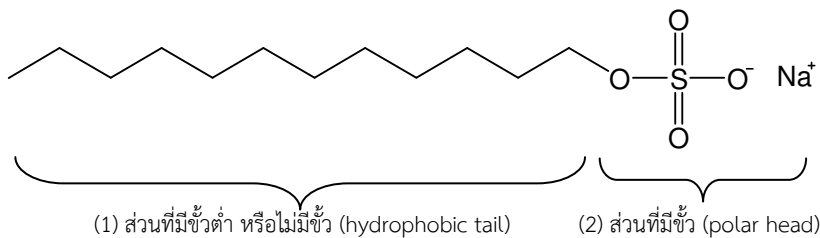
คำสำคัญ: การสกัดแบบจุดขุ่น สารลดแรงตึงผิว ทฤษฎี การประยุกต์ใช้

Keywords: Cloud-point extraction, Surfactant, Theory, Application

บทนำ

สารลดแรงตึงผิว (surfactants) เป็นสารที่มีสมบัติแอมฟิฟิลล์ (amphiphilic property) นั่นคือ โมเลกุลประกอบไปด้วยส่วนที่มีขั้ว (polar head group) ซึ่งเป็นส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และส่วนที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ (hydrophobic tail) โดยในโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวนั้น ส่วนที่มีขั้วอาจมีหมู่ฟังก์ชันเป็นซัลโฟเนต ($-\text{SO}_3^-$) ซัลเฟต ($-\text{SO}_4^-$) หรือคาร์บอกซิเลต ($-\text{COO}^-$) เป็นต้น และส่วนที่ไม่มีขั้วโดย

ส่วนใหญ่จะเป็นสายโซ่ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon chain) ที่มีจำนวนอะตอมของคาร์บอนที่แตกต่างกันไปในแต่ละสารลดแรงตึงผิว ซึ่งอาจจะเป็นสายโซ่ตรง (linear) หรือ เป็นกิ่งก้าน (branch) ก็ได้ และในบางกรณีอาจจะมีวงอะโรมาติก (aromatic ring) ในโครงสร้างนั้นได้เช่นกัน รูปที่ 1 แสดงตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิว โซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate หรือ SDS) ที่ระบุส่วนที่มีขั้ว และมีขั้วต่ำในโครงสร้างโมเลกุล



รูปที่ 1 แสดงส่วนที่มีขั้ว และไม่มีขั้วในโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4\text{Na}$)

การแบ่งประเภทของสารลดแรงตึงผิว โดยทั่วไปจะแบ่งตามส่วนที่มีขั้วหรือส่วนที่ชอบน้ำ

(hydrophilic) โดยพิจารณาประจุในโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวที่ ซึ่งสามารถแบ่งสารลดแรงตึงผิวได้ 4 ประเภท ดังนี้

(1) แบบไม่มีประจุ (non-ionic surfactants) (4) แบบมีประจุบวกและลบ (amphoteric หรือ zwitterionic surfactants)

(2) แบบประจุบวก (cationic surfactants) ซึ่งลักษณะเฉพาะตัวบางประการ และตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวทั้ง 4 ประเภทข้างต้น แสดงดังตารางที่ 1

(3) แบบประจุลบ (anionic surfactants)

ตารางที่ 1 ประเภทและลักษณะเฉพาะตัวเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวประเภทต่าง ๆ (ที่มา: Bezerra et al., 2005)

ประเภท	ลักษณะเฉพาะตัวบางประการ	ตัวอย่าง
ไม่มีประจุ (Non-ionic)	หมู่ฟังก์ชันที่ชอบน้ำไม่แสดงประจุ แต่สามารถละลายน้ำได้ค่อนข้างดี เนื่องจากมีหมู่ฟังก์ชันที่มีความเป็นขั้วสูงในโมเลกุล เช่น หมู่โพลีออกซิเอทีลีน (-CH ₂ CH ₂ O-) หรือ หมู่โพลีออลที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) มากกว่า 1 ตำแหน่งในโมเลกุล	(1) CH ₃ (CH ₂) ₁₁ (OCH ₂ CH ₂) ₂₃ OH Polyoxyethylene (23) dodecanol หรือ Brij 35 (2) (C ₂ H ₄ O) _n C ₁₄ H ₂₂ O, n = 7 or 8 Polyethylene glycol tert-octylphenyl ether หรือ Triton X-114
ประจุบวก (Cationic)	หมู่ฟังก์ชันที่ชอบน้ำแสดงประจุบวก เช่น สารกลุ่มเกลือ quaternary ammonium halides (R ₄ N ⁺ X ⁻)	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ N ⁺ (CH ₃) ₃ Br ⁻ Cetyl trimethyl ammonium bromide หรือ CTAB
ประจุลบ (Anionic)	หมู่ฟังก์ชันที่ชอบน้ำแสดงประจุลบ เช่น หมู่คาร์บอกซิเลต (RCOO ⁻), ซัลโฟเนต (RSO ₃ ⁻), หรือซัลเฟต (ROSO ₃ ⁻)	CH ₃ (CH ₂) ₁₁ SO ₄ ⁻ Na ⁺ Sodium dodecyl sulfate หรือ SDS
มีทั้งประจุบวกและลบ (Amphoteric หรือ Zwitterionic)	โมเลกุลจะแสดงทั้งประจุลบและบวก ขึ้นกับพีเอช (pH) ของสารละลาย ซึ่งอาจจะแสดงประจุบวกหรือลบหรือเป็นกลางก็ได้	CH ₃ (CH ₂) ₁₁ N ⁺ (CH ₃) ₂ CH ₃ COO ⁻ 4-(Dodecyl dimethyl ammonium) butyrate หรือ DAB

การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิว สำหรับสกัดสารเป้าหมายด้วยวิธีที่เรียกว่า “การสกัดแบบจุดขุ่น (cloud-point extraction หรือ CPE)” เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดี และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม อาจเรียกว่าเป็นตัวทำละลายสีเขียว (green solvent) ก็ได้ เพราะไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษ เมื่อ

เทียบกับการสกัดแบบดั้งเดิมที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (solvent extraction) ดังนั้น เพื่อให้เข้าใจในเทคนิคการสกัดแบบจุดขุ่นมากขึ้น ในบทความนี้จึงได้รวบรวมทฤษฎี และหลักการสำคัญของการสกัดแบบจุดขุ่น ตลอดจนได้เสนอตัวอย่างการประยุกต์ใช้เทคนิคการสกัดนี้สำหรับการวิเคราะห์สารเป้าหมายหลากหลายประเภทไว้ด้วย

ทฤษฎี และหลักการของการสกัดแบบจุดขุ่น

การสกัดแบบจุดขุ่น (CPE) เป็นวิธีการที่ใช้สารลดแรงตึงผิวโดยเฉพาะการใช้สารลดแรงตึงผิวแบบไม่มีประจุเป็นตัวสกัด ซึ่งสารละลายของสารลดแรงตึงผิวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย (aqueous solution) นั้นมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่สังเกตเห็นเป็นสารละลายที่มีลักษณะขุ่น (cloudy solution) และมีการแยกเป็นสองเฟส ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ ความดัน หรือ มีการเติมสารบางตัวที่เหมาะสมลงไป สารละลายนั้น ๆ การที่สังเกตเห็นปรากฏการณ์ความขุ่นของสารละลายของสารลดแรงตึงผิว เกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสูงกว่าค่าความเข้มข้นวิกฤติความเป็นไมเซลล์ (critical micellar concentration หรือ CMC) และอุณหภูมิของระบบที่ศึกษาสูงกว่าค่าอุณหภูมิจุดขุ่น (cloud-point temperature หรือ TC) ของสารลดแรงตึงผิวนั้น ๆ ณ สภาวะดังกล่าวนี้ การละลายของสารลดแรงตึงผิวมีค่าต่ำลง และในขณะเดียวกันกลุ่มก้อนไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวจะมีขนาดใหญ่ขึ้น และอยู่ในสภาพคอลลอยด์ การกระเจิงของแสงที่ตกกระทบสารละลายดังกล่าวนี้ จึงเห็นเป็นสารละลายที่มีลักษณะขุ่น เมื่อสารละลายแยกเป็นสองเฟสอย่างสมบูรณ์ จะได้สารละลายเฟสที่เรียกว่า ชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น (surfactant-rich phase หรือ SRP) เป็นชั้นที่ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็นส่วนใหญ่ และปริมาตรของชั้นนี้จะน้อยมาก (อาจมีปริมาตรตั้งแต่ระดับไมโครลิตร จนถึงระดับมิลลิลิตร ขึ้นกับสภาวะการทดลองนั้น ๆ) เมื่อเทียบกับชั้นสารละลายน้ำ (aqueous phase หรือ AQP) ซึ่งเป็นชั้นที่ประกอบด้วยน้ำเป็นส่วนใหญ่ และมีบางส่วนเป็นสารลดแรงตึงผิวปนอยู่ด้วย แต่ความเข้มข้นของสารลดแรง

ตึงผิวที่มีอยู่ในชั้นนี้จะมีค่าประมาณ หรือใกล้เคียงค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวนั้น ๆ โดยที่ชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้นอาจจะปรากฏอยู่ที่ส่วนล่างหรือส่วนบนของสารละลายก็ได้ ซึ่งจะนำเฉพาะชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้นเท่านั้นไปวิเคราะห์โดยเครื่องมือต่อไป

การอธิบายปรากฏการณ์จุดขุ่น (cloud point phenomena) และการแยกเฟส (phase separation) มีสมมติฐาน (hypothesis) ที่ยอมรับโดยกว้างขวาง 3 สมมติฐาน (Purkait et al., 2006) คือ

(1) การเกิดอันตรกิริยาในชั้นไมเซลล์ ซึ่งจะเกิดการผลักกัน (repulsive) ระหว่างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ณ สภาวะอุณหภูมิต่ำ แต่จะดึงดูดกัน (attractive) ในสภาวะอุณหภูมิสูงขึ้น

(2) เกิดกระบวนการดึงน้ำออก (dehydration) ที่บริเวณชั้นผิวหน้ารอบนอก (external layer) ของกลุ่มก้อนไมเซลล์ที่สภาวะอุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) ของน้ำลดลงอย่างมาก และสมบัติความมีขั้วของน้ำลดลง (ความสามารถในการละลายต่ำ) จึงทำให้เกิดการแยกเฟสขึ้น

(3) จำนวนและขนาดของกลุ่มก้อนไมเซลล์มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในสภาวะอุณหภูมิสูง เป็นผลทำให้เกิดการแยกเฟสขึ้น

ชนิดของการสกัดแบบจุดขุ่นที่นิยมใช้

1. การสกัดแบบจุดขุ่นที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ

การใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุนี้ นิยมใช้มากกว่าสารลดแรงตึงผิวชนิดอื่น ๆ เนื่องจากว่า การเกิดสารละลายในสภาพขุ่นสามารถทำได้ง่าย โดยการทำการทดลองที่สภาวะอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิจุดขุ่น (cloud point temperature) ของแต่ละสารลดแรงตึง

ผิวนั้น ๆ ในทางปฏิบัติ เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดสารเป้าหมาย การสกัดแบบจุดขุ่นมักทำที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิจุดขุ่น ประมาณ 20–30 องศาเซลเซียส (Santalad et al., 2009) สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้ที่นิยมศึกษาเพื่อเป็นตัวสกัดสารเป้าหมาย เช่น polyoxyethylene-9,5-octylphenylether หรือ Triton X-114 (Santalad et al., 2009), polyoxyethylene-7,5-octylphenylether หรือ Triton X-100 (Zhu et al., 2008; Liu et al., 2007) และ polyethylene glycol monoalkyl ether หรือ Genapol X-080 (Zhou et al., 2008) เป็นต้น ซึ่งในกรณีของ Triton X-114 นั้น มีอุณหภูมิจุดขุ่น (23–25 องศาเซลเซียส) ซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง ดังนั้นการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดนี้สามารถเกิดสภาพจุดขุ่นได้เลย ณ อุณหภูมิทั่วไป โดยไม่ต้องอาศัยอุณหภูมิจากระบบภายนอก แต่อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสกัดของแต่ละสารลดแรงตึงผิวจำเป็นต้องศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมเป็นกรณีไป

2. การสกัดแบบจุดขุ่นที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ

การสกัดในลักษณะนี้ จะแตกต่างจากการสกัดแบบแรก โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ เช่น โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) และสภาพขุ่นจะเกิดได้ดีในสภาวะความเป็นกรดสูง ซึ่งปกติจะใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้นประมาณ 5–7 โมลาร์ การสกัดแบบจุดขุ่นนี้สามารถทำการสกัดได้ทุกสภาวะไม่ขึ้นกับอุณหภูมิเหมือนกับการสกัดแบบใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุข้างต้น ประสิทธิภาพการสกัดสามารถประเมินจากความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SDS และ HCl แม้ว่าการสกัดแบบนี้จะสามารถทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็วก็ตาม แต่มีข้อเสียบางประการ คือ เฟสชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้นที่เตรียมได้มีความเป็น

กรดค่อนข้างสูง (นั่นคือ pH น้อยกว่า 3) ซึ่งไม่ค่อยสะดวกนักในการนำไปวิเคราะห์สารเป้าหมายโดยเครื่องมือ เช่น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) เนื่องจากอาจจะมีผลต่อสภาพเฟสอยู่หนึ่งในคอลัมน์ และอาจเกิดการกัดกร่อนข้อต่อต่าง ๆ ในระบบของเครื่องมือได้ ดังนั้น การประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์สารเป้าหมายต่าง ๆ จึงมีจำนวนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับกรณีแรก

ขั้นตอนพื้นฐานในการสกัดแบบจุดขุ่น

การสกัดแบบจุดขุ่น ประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญ ๆ 2 ขั้นตอน คือ

1. การละลายของสารเป้าหมายในสารละลายไมเซลล์ (solubilization of solutes in aqueous micells)

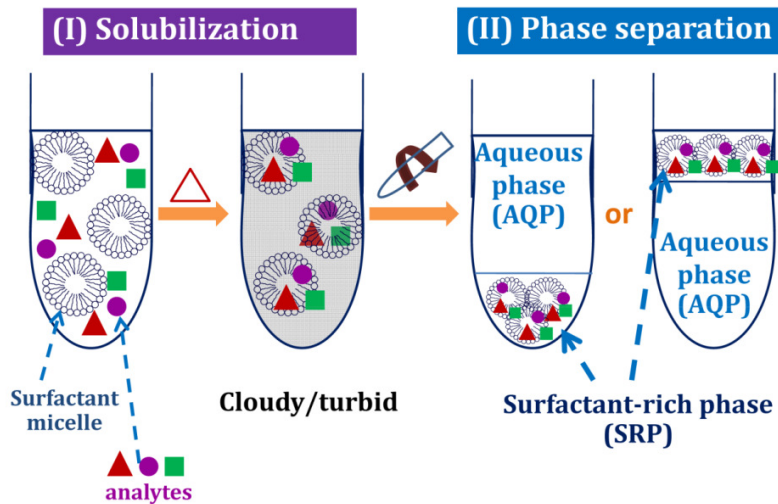
การกระจายหรือการพาร์ทิชัน (partition) ของสารเป้าหมายในสารละลายน้ำ (aqueous solution) เข้าไปในกลุ่มก้อนไมเซลล์ จะเกิดขึ้นตั้งแต่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว (ความเข้มข้นมากกว่าค่า CMC) ลงไปในสารละลายของสารเป้าหมาย การที่สารเป้าหมายมีการเคลื่อนเข้าไปในกลุ่มก้อนไมเซลล์ได้ อาศัยสมบัติ “like dissolve like” ซึ่งจะเรียกกระบวนการนี้ว่า solubilization และกระบวนการดังกล่าวจะเกิดได้มากขึ้นเมื่อสารละลายนี้มีการเพิ่มอุณหภูมิเข้าไปในระบบให้สูงขึ้น (อุณหภูมิสูงกว่าค่า TC) ซึ่ง ณ สภาวะนี้สารละลายสารลดแรงตึงผิวจะมีลักษณะขุ่น (cloudy solution) ดังรูปที่ 2 การกระจายระหว่างเฟสสองเฟสนี้สัมพันธ์กับสมบัติความไม่มีชีวิต หรืออาจเรียกว่า ขั้นตอนการละลาย “dissolved state” ในแกนกลางของกลุ่มก้อนไมเซลล์ และสมบัติความมีชีวิต หรืออาจเรียกว่า ขั้นตอนการดูดซับ “adsorbed state” ที่อยู่ระหว่างผิวหน้า (interface) ของชั้น


ไมเซลล์ และชั้นน้ำ การกระจายระหว่างเฟสสองเฟสนี้ของสารเป้าหมายเป็นกระบวนการแบบไดนามิกส์ (Rubio and Pérez-Bendito, 2003)

2. การแยกเฟสของชั้นสารลดแรงดึงผิวเข้มข้น (phase separation)

ขั้นตอนนี้เป็นการแยกเฟสของชั้นสารลดแรงดึงผิวเข้มข้น (surfactant-rich phase หรือ SRP) ออกจากชั้นสารละลายน้ำ (aqueous phase หรือ AQP) ซึ่งกระบวนการแยกเฟสจะเกิดขึ้นเมื่อสมบัติการละลาย (solubility) ของสารลดแรงดึงผิว (มีทั้งสมบัติ hydrophobic และ hydrophilic ในโมเลกุล) มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในตัวทำละลายน้ำ หรือ อาจกล่าวได้ว่า มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วของกลุ่มก้อนไมเซลล์ก็ได้ ทัศนวิทยาการแยกเฟสสามารถอธิบายได้โดยใช้เฟสไดอะแกรม (phase diagram) ของสารลดแรงดึงผิวชนิดนั้นในสภาวะการทดลองเฉพาะกรณีไป

โดยทั่วไปในกรณีของสารลดแรงดึงผิวแบบไม่มีประจุ (non-ionic surfactant) เช่น Triton X-114 และ Triton X-100 พบว่า อุณหภูมิที่ทำให้เกิดการแยกเฟสนั้นจะขึ้นกับความเข้มข้นของสารลดแรงดึงผิวด้วย นั่นคือ เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงดึงผิวมากขึ้น อุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการแยกเฟสได้จะต้องทำในสภาวะที่อุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้ อีกปัจจัยหนึ่งที่สามารถช่วยให้เกิดการแยกเฟสได้ง่ายขึ้น นั่นคือ การเติมเกลือ เช่น โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) และโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) เป็นต้น ลงไปในสารละลายระหว่างทำการสกัดแบบจุดขุ่น ซึ่งบทบาทของเกลือจะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไป ในทางปฏิบัติ เพื่อให้การแยกเฟสเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ จะทำการปั่นเหวี่ยงสารละลายที่ความเร็วรอบสูง เช่น 3,500 หรือ 4,000 รอบต่อนาที เป็นต้น



รูปที่ 2 แสดงภาพรวมของการสกัดแบบจุดขุ่น (I) การละลายของสารเป้าหมายเข้าไปในกลุ่มก้อนไมเซลล์ (solubilization) และ (II) การแยกเฟสของชั้นสารละลาย (phase separation) เมื่อกำหนดสัญลักษณ์ Δ คือ มีอุณหภูมิเกี่ยวข้องกับระบบ และ  คือ กระบวนการปั่นเหวี่ยง

พารามิเตอร์ที่มีผลต่อการสกัดแบบจุดขุ่น

การศึกษาพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องในการสกัดแบบจุดขุ่นถือว่าเป็นหลักสำคัญเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุดภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยทั่วไปการประยุกต์ใช้วิธีการดังกล่าวนี้สำหรับการสกัดสารประกอบอินทรีย์ (organic species) อาจสามารถทำการสกัดได้โดยตรง แต่ในกรณีของสารประกอบอนินทรีย์ (inorganic species) เช่น โลหะไอออน ต้องอาศัยสมบัติความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ของสารประกอบเชิงซ้อน นั่นคือ การเลือกลิแกนด์ที่เหมาะสมเพื่อเตรียมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะที่สนใจ ถือเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณาลำดับแรกก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัดแบบจุดขุ่นต่อไป อย่างไรก็ตาม ทั้งในกรณีของสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์นั้น พารามิเตอร์ที่ศึกษาในกระบวนการสกัดแบบจุดขุ่นประกอบด้วย พีเอช (pH) ของสารละลาย ค่าความแรงของไอออนในสารละลาย (ionic strength) ชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว (type and concentration of surfactants) อุณหภูมิและเวลาในการสกัด (equilibration temperature and incubation time) และเวลาในการปั่นเหวี่ยง (centrifugation time) ซึ่งแต่ละพารามิเตอร์จะได้อธิบายในรายละเอียดเป็นลำดับ ๆ ไป

1. พีเอช (pH) ของสารละลาย

ในกรณีสารประกอบอินทรีย์ พีเอชของสารละลายจะมีผลค่อนข้างมากโดยเฉพาะกลุ่มสารที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ในสภาวะต่าง ๆ ซึ่งจะมีผลต่อการพาร์ทิชันของสารประกอบอินทรีย์นั้น ๆ จากเฟสสารละลายน้ำไปสู่ชั้นเฟสของสารลดแรงตึงผิว สารประกอบอินทรีย์กลุ่มดังกล่าวนี้ เช่น ฟีนอลและเอมีน ประสิทธิภาพการสกัดสารกลุ่มนี้จะสูงขึ้นเมื่อทำการสกัดในสภาวะที่สารกลุ่มดังกล่าวไม่แสดงประจุ (uncharged form) ซึ่งจะเป็นการเพิ่มการละลายของ

สารเป้าหมายเข้าไปในกลุ่มก้อนไมเซลล์ได้มากขึ้น วิธีการเลือกหนึ่งอาจใช้สารลดแรงตึงผิวแบบมีประจุแทนแบบไม่มีประจุในกรณีนี้ได้

ในกรณีของสารประกอบอนินทรีย์ พบว่า ค่าพีเอชของสารละลายมีผลค่อนข้างน้อยต่อประสิทธิภาพการสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ เนื่องจากสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวไม่มีโครงสร้างขนาดใหญ่เป็นกลุ่มก้อน (bulky) ไม่มีประจุ และยึดกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ ซึ่งทำให้โครงสร้างแข็งแรง การถูกไอออนซ์ (ionized) จึงยากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ในกรณีของโลหะโครเมียม (III) จะต้องเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนในสภาวะที่เป็นเบส จึงจะให้ประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี นอกจากนี้ พีเอชของสารละลายยังมีผลต่อปฏิกิริยาในการตกตะกอนของโลหะแต่ละตัวแตกต่างกัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการแยกโลหะออกจากกันได้โดยการปรับพีเอชของสารละลายให้เหมาะสม

2. ชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว

การเลือกใช้ชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสม สามารถพัฒนาและปรับปรุงประสิทธิภาพการสกัดสารเป้าหมายได้ดีขึ้น สารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดนั้นมีสมบัติที่แตกต่างกัน เช่น โครงสร้าง และมีอุณหภูมิจุดขุ่น เป็นต้น สารเป้าหมายบางชนิดไม่สามารถทำการสกัดได้ในสภาวะอุณหภูมิสูง ดังนั้นจำเป็นต้องเลือกสารลดแรงตึงผิวให้เหมาะสมกับสารเป้าหมายแต่ละชนิด

นอกจากนี้ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ก็มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัดเช่นกัน เนื่องจาก ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุดของสารเป้าหมายจะพบอยู่ในช่วงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในช่วงหนึ่งเท่านั้น การใช้ความเข้มข้นที่สูงมากเกินไปจะมีผลทำให้ปริมาตรของเฟสสารลดแรงตึงผิว

เข้มข้น (SRP) มีมากขึ้น ซึ่งจะทำให้สัญญาณการตรวจวัดต่ำลง โดยปกติแล้ว ปริมาตรของชั้น SRP จะเพิ่มเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่มีอยู่ในระบบ การที่ปริมาตรของชั้น SRP มากขึ้นจะกระทบโดยตรงต่อค่าแฟคเตอร์การเพิ่มความเข้มข้น (preconcentration factor หรือ FC) ซึ่ง $FC = (VAQP / VSRP)$ โดย VSRP และ VAQP คือปริมาตรของชั้น SRP และชั้นสารละลายน้ำ ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามการใช้สารลดแรงตึงผิวที่เข้มข้นที่ต่ำเกินไป ปริมาตรของชั้น SRP จะค่อนข้างน้อยตามไปด้วย ซึ่งจะทำให้ไม่สามารถแยกเฟสดังกล่าวออกจากชั้นสารละลายน้ำได้ หรือทำได้ยากยิ่งขึ้น ซึ่งจะทำให้ความถูกต้อง และความแม่นยำต่ำ ในทางปฏิบัติ มักไม่เลือกทำการสกัดที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวต่ำ ๆ แม้ว่าจะให้ประสิทธิภาพการสกัด หรือ ให้สัญญาณการตรวจวัดของสารเป้าหมายสูงกว่าก็ตาม

3. อุณหภูมิและเวลาในการสกัด

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารเป้าหมาย และให้ประสิทธิภาพการสกัดสารสูงสุด มักจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิจุดขุ่น (cloud-point temperature) ประมาณ 20–30 องศาเซลเซียส จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น ประสิทธิภาพการสกัดจะสูงขึ้นด้วย (Santalad et al., 2009) เนื่องจาก เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเหนืออุณหภูมิจุดขุ่น จะทำให้ขนาดของกลุ่มก้อนไมเซลล์เพิ่มมากขึ้น แล้วเกิดการดึงโมเลกุลน้ำ (dehydration) ออกจากชั้นของสารลดแรงตึงผิวได้มากขึ้น ซึ่งทำให้เกิดการละลาย (solubilization) ของสารเป้าหมายเข้าไปในกลุ่มก้อนไมเซลล์ได้ดีขึ้นนั่นเอง แต่อย่างไรก็ตาม การเพิ่มอุณหภูมิที่มากเกินไป อาจจะทำให้ประสิทธิภาพการสกัดลดลง เนื่องจากอาจมีผลต่อความเสถียรของสารเป้าหมายและกลุ่มก้อนไมเซลล์

เวลาในการสกัดที่อุณหภูมิที่เหมาะสมนั้น พบว่า มีผลค่อนข้างน้อยต่อประสิทธิภาพการสกัด (Santalad et al., 2009) โดยทั่วไปเวลาในการสกัดจะอยู่ในช่วง 10–20 นาทีโดยประมาณ แต่สำหรับกรณีของโลหะที่มีการเตรียมผ่านสารประกอบเชิงซ้อนกับลิแกนด์ที่เหมาะสม จะต้องพิจารณาเวลาที่ใช้สำหรับการทำปฏิกิริยา และเวลาในการที่สารประกอบเชิงซ้อนมีการพาร์ทิชันเข้าไปในกลุ่มก้อนไมเซลล์ด้วย อย่างไรก็ตาม โดยทั่วไปแล้ว เวลาประมาณ 10 นาที ก็เพียงพอต่อการสกัดที่จะให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดี

4. ผลของความแรงไอออนของเกลือ (ionic strength of salts additive)

การเพิ่ม ionic strength ในระบบการสกัดแบบจุดขุ่น ด้วยการเติมเกลืออิเล็กโทรไลต์ชนิดต่าง ๆ เช่น โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) เป็นต้น บทบาทของเกลือเหล่านี้ ช่วยให้การแยกเฟสระหว่างชั้น SRP และ AQP ออกจากกันได้ดีขึ้น และยังพบว่า สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้ดีขึ้นด้วย เมื่อความเข้มข้นของเกลือในระบบสารละลายมีค่ามากขึ้น จะมีผลทำให้ขนาดของไมเซลล์เพิ่มขึ้น และกลุ่มก้อนไมเซลล์มีจำนวนมากขึ้นด้วย ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้ จะช่วยทำให้สารเป้าหมายที่มีขั้วต่ำ หรือไม่มีขั้ว (non-polar analytes) ละลายได้น้อยในชั้นสารละลายน้ำ แล้วทำให้สารเป้าหมายสามารถเข้าไปละลายในกลุ่มก้อนไมเซลล์ได้ดีขึ้นนั่นเอง ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้ เรียกว่า salting out effect (Chen et al., 2010) แม้ว่า การเติมเกลือในระบบการสกัดจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้สูงขึ้นก็ตาม การเติมเกลือลงไป ในปริมาณที่มากเกินไป พบว่า มีผลต่อตำแหน่งของชั้น SRP โดยมีแนวโน้มจะปรากฏในตอนล่างแล้วย้ายไปอยู่ส่วนบนของสารละลาย (Santalad et al., 2009) และยังมีผลต่อการลดลงของปริมาตรชั้น SRP ด้วย

นอกเหนือจากนั้น ยังมีผลทำให้ชั้น SRP จับกันเป็นก้อนเล็กๆ ซึ่งยากต่อการแยกออกจากชั้นสารละลายน้ำ ดังนั้น การเลือกปริมาณเกลือที่เหมาะสมในระบบการสกัด จะช่วยทั้งในแง่การเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด และช่วยให้การแยกเฟสได้ดียิ่งขึ้น

5. เวลาในการปั่นเหวี่ยง

แม้ว่าเวลาในการปั่นเหวี่ยงจะมีผลกระทบต่อขนาดของอนุภาคต่อประสิทธิภาพการสกัดสารในระบบสกัดแบบจุดขุ่น (Santalad et al., 2009) แต่ยังเป็นขั้นตอนที่จำเป็นเสมอ เพราะจะช่วยให้การแยกเฟสของทั้งสองเฟสออกจากกันได้สมบูรณ์ และยังช่วยในการแยกเฟสได้ง่ายขึ้น โดยทั่วไปแล้ว เวลาการปั่นเหวี่ยง 5-10 นาที ก็เพียงพอต่อการแยกเฟส และไม่เสียเวลามากจนเกินไป

6. การเลือกลิแกนด์ที่เหมาะสม (สำหรับกรณีการวิเคราะห์โลหะ)

การเลือกลิแกนด์ที่เหมาะสม ถือเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการสกัดโลหะ โดยเตรียมผ่านสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ หรือละลายน้ำได้ต่ำ ซึ่งจะช่วยให้ความสามารถในการพาร์ทิชันของสารเป้าหมาย เข้าไปในกลุ่มก้อนไมเซลล์ได้ดีขึ้นนั่นเอง ลิแกนด์ที่นิยมใช้ เช่น ลิแกนด์ที่เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบคาร์บาเมต (carbamates) ไพริดีลเอโซ (pyridylazo) ควิโนลีน (quinoline) และ แนฟทอล (naphthol) เป็นต้น หลักการสำคัญคือ ลิแกนด์ที่เลือกใช้ควรมีสมบัติไม่ละลายน้ำ หรือละลายน้ำได้ต่ำ จึงจะทำให้ได้ประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี

ประสิทธิภาพของการสกัดแบบจุดขุ่น

การประเมินประสิทธิภาพของการสกัด (extraction efficiency) แบบจุดขุ่นสามารถพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์การพาร์ทิชัน (partition coefficient) หรือ ค่าคงที่สมดุล (equilibrium

constant) ของการสกัดแบบจุดขุ่นนี้ แม้ว่าไม่มีการกำหนดค่านิยามอย่างแน่ชัด แต่อาจจะกำหนดค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย (distribution coefficient หรือ ค่า D) เพื่อใช้แทนได้ ซึ่งจะช่วยให้ทราบว่า สารเป้าหมายมีการพาร์ทิชันมากน้อยเพียงใดจากชั้นสารละลายน้ำเข้าไปละลายอยู่ในกลุ่มก้อนไมเซลล์ในชั้นของสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น (SRP) โดยที่ D คำนวณได้จากสมการข้างล่างนี้ (Rubio and Pérez-Bendito, 2003)

$$D = \frac{[A]_{SRP}}{[A]_{AQP}}$$

เมื่อ $[A]_{SRP}$ และ $[A]_{AQP}$ เป็นค่าความเข้มข้นของสารเป้าหมายที่อยู่ในชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น และชั้นสารละลายน้ำ ตามลำดับ จากสมการดังกล่าวนี้ สามารถใช้คำนวณค่าแฟคเตอร์การเพิ่มความเข้มข้น (preconcentration factor หรือ F_C) ได้ (Hung et al., 2007) นั่นคือ

$$F_C = \frac{[A]_{SRP}}{[A]_{AQP}} \quad \text{หรือ} \quad F_C = \frac{C_{SRP}}{C_{AQP}}$$

เมื่อ C_{SRP} และ C_{AQP} เป็นค่าความเข้มข้นของสารเป้าหมายที่อยู่ในชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น และชั้นสารละลายน้ำ ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม สามารถอนุมานโดยการคำนวณค่า F_C จากอัตราส่วนของปริมาตรชั้นสารละลายน้ำ (V_{AQP}) และปริมาตรชั้นสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น (V_{SRP}) หรือ R_V (Hung et al., 2007) นั่นคือ

$$F_C \approx R_V = \frac{V_{AQP}}{V_{SRP}}$$

นอกเหนือจากนี้แล้ว เพื่อความถูกต้องยิ่งขึ้น ควรคำนวณประสิทธิภาพการสกัด (extraction

efficiency หรือ %E) จากสมการข้างล่างนี้ (Wang, 2009)

$$\%E = \left[1 - \frac{1}{(R_v + 1)} \frac{C_{AQP}}{C_{SRP}} \right] \times 100$$

การประยุกต์ใช้การสกัดแบบจุดขุ่นในการวิเคราะห์สารเป้าหมายชนิดต่าง ๆ

1. การวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์

โดยส่วนมากแล้ว การวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ประเภทต่าง ๆ นั้น จะมีการใช้การสกัดแบบจุดขุ่นเพื่อสกัดและเพิ่มความเข้มข้นสารเป้าหมายด้วยสารลดแรงตึงผิว เช่น Triton X-114 Triton X-100 และ Genapol X-080 เป็นต้น ก่อนที่จะวิเคราะห์สารเป้าหมายที่สกัดได้ด้วยเครื่องมือต่อไป ซึ่งเครื่องมือหรือเทคนิคที่นิยมประยุกต์ใช้ร่วมกับการสกัดแบบจุดขุ่น คือ โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography หรือ HPLC) จากการสืบค้นงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า เทคนิคการสกัดแบบจุดขุ่นสามารถประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ได้หลากหลายประเภท เช่น สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมท (Santalad et al., 2009) สารปฏิชีวนะกลุ่มซัลโฟนาไมด์ (Zhang et al., 2011) และกลุ่มเพนนิซิลลิน (Kukusamude et al., 2010) สีย้อมกลุ่มซูดาน (Sudan dyes) (Liu et al., 2007) และสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds) (Chen et al., 2010) เป็นต้น นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC การวิเคราะห์สารกลุ่มสีอาหารสังเคราะห์ (synthetic food colors) เช่น carmoisine, brilliant blue FCF, Orange II และ Allura red ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี (spectrophotometry) ร่วมกับการสกัดแบบจุดขุ่นก็สามารถทำได้เช่นกัน (Pourreza et al., 2011;

Pourreza and Ghomi, 2011; Pourreza and Zareian, 2009)

2. การวิเคราะห์สารอนินทรีย์ (ไอออนบวกและไอออนลบ)

การวิเคราะห์ไอออนอนินทรีย์ แบ่งเป็นสองประเภท ได้แก่ การวิเคราะห์โลหะไอออนแบบระบุประจุเฉพาะตัว (speciation analysis) และการวิเคราะห์ไอออนลบหรือสารประกอบที่มีประจุลบ แต่ในทางปฏิบัติ การประยุกต์ใช้การสกัดจุดขุ่นสำหรับการวิเคราะห์ไอออนลบนั้น จะไม่ค่อยนิยมมากนัก เนื่องจากสารเป้าหมายดังกล่าวเป็นโมเลกุลมีขั้ว ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพการสกัดได้ไม่ดี แต่อย่างไรก็ตาม การสกัดแบบจุดขุ่นสำหรับไอออนลบจะต้องเปลี่ยนให้ไปอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนที่เป็นกลาง (ประจุสุทธิเป็นศูนย์) ก่อนที่จะผ่านเข้าสู่กระบวนการสกัดแบบจุดขุ่น โดยหลักการแล้วก็จะเหมือนกับกรณีของโลหะไอออน สำหรับการสกัดโลหะไอออนด้วยวิธีจุดขุ่นค่อนข้างนิยมมากกว่า เนื่องจากว่า สามารถหาลิแกนด์ (ligand หรือ complexing agent) หรือ รีเอเจนต์ที่เหมาะสมได้ง่าย สำหรับเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสมบัติความเป็นขั้วต่ำ ซึ่งจะเอื้อให้ประสิทธิภาพการสกัดดีขึ้น ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟเลมอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรเมทรี (flame atomic absorption spectrometry หรือ FAAS) ลิแกนด์ที่มีรายงานการใช้สำหรับวัตถุประสงค์ดังกล่าวนี้ เช่น การใช้ลิแกนด์ p-nitrophenylazoresorcinol (Magneson I) สำหรับการวิเคราะห์ Ni(II) และ Mn(II) (Sahin et al., 2010) และลิแกนด์ 1-phenylthiosemicarbazide (1-PTSC) สำหรับการวิเคราะห์ Pb(II) Cu(II) และ Co(II) (Citak et al., 2010) ในตัวอย่างน้ำและตัวอย่างอาหาร เป็นต้น

ข้อดีของการสกัดแบบจุดขุ่น

1. ให้ประสิทธิภาพในการสกัดสารเป้าหมายได้ค่อนข้างดี นั่นคือ มีเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (recovery) ที่สูง

2. ช่วยให้แฟกเตอร์การเพิ่มความเข้มข้น (preconcentration factor) ที่ดีเทียบเท่าหรือสูงกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดแบบอื่นในลักษณะเดียวกัน และสามารถปรับปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการสกัดได้ง่ายกว่า

3. การใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวสกัด เป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ถือว่าเป็นเคมีสีเขียวอีกแขนงหนึ่ง และปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการสกัดครั้งหนึ่ง ๆ นั้น น้อยกว่ามากเมื่อเทียบกับปริมาณการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แบบวิธีดั้งเดิม

4. สามารถเตรียมวิธีการสกัดที่อุณหภูมิไม่สูงมาก ตั้งแต่อุณหภูมิห้องถึงอุณหภูมิไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นวิธีการที่เหมาะสมกับการสกัดสารที่สลายตัวได้ง่าย หรือไม่ทนต่อความร้อน เช่น สารตัวอย่างทางชีวภาพ และสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ เป็นต้น

5. ชั้นของสารลดแรงตึงผิวเข้มข้นที่เตรียมได้สามารถฉีดเข้าระบบของเครื่องมือได้โดยตรง และสามารถละลายได้ดีในเฟสเคลื่อนที่ของระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง หรือสามารถละลายในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณเล็กน้อยได้ดีเช่นกัน ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้กับเครื่องมือวิเคราะห์ชนิดอื่น ๆ ได้ง่ายขึ้น

บทสรุป

วิธีการสกัดสารแบบจุดขุ่นด้วยการใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวสกัด สามารถทำการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นได้ในขั้นตอนเดียว นอกเหนือจากนี้ยังมีข้อดีอีกหลายประการที่ทำให้การสกัดแบบจุดขุ่นเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจสำหรับการวิเคราะห์สารเป้าหมายได้หลากหลายประเภท การทราบทฤษฎี

หลักการ และพารามิเตอร์ที่สำคัญของการสกัดแบบจุดขุ่น จะช่วยให้ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารเป้าหมายแต่ละชนิด และให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงขึ้น หลักการพื้นฐานการสกัดดังกล่าวนี้ นำไปสู่การพัฒนากระบวนการสกัดให้มีประสิทธิภาพ และใช้สกัดสารได้กว้างขวางยิ่งขึ้น โดยการใช้สารลดแรงตึงผิวแบบผสม เช่น แบบไม่มีประจุกับมีประจุ และแบบผสมที่มีประจุตรงกันข้าม เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- Bezerra, M.A., Arruda, M.A.Z. and Ferreira, S.L.C. (2005). Cloud point extraction as a procedure of separation and pre-concentration for metal determination using spectroanalytical techniques: A review. *Appl. Spectrosc. Rev.* 40: 269-299.
- Chen, L., Zhao, Q., Jin, H., Zhang, X., Xu, Y., Yu, A., Zhang, H. and Ding, L. (2010). Determination of xanthohumol in beer based on cloud point extraction coupled with high performance liquid chromatography. *Talanta* 81:692-697.
- Citak, D. and Tuzen, M. (2010). A novel preconcentration procedure using cloud point extraction for determination of lead, cobalt and copper in water and food samples using flame atomic absorption spectrometry. *Food Chem. Toxicol.* 48: 1399-1404.
- Hung, K.-C., Chen, B.-H. and Yu, L.E. (2007). Cloud-point extraction of selected polycyclic aromatic hydrocarbons by nonionic surfactants. *Sep. Purif. Technol.* 57: 1-10.
- Kukusamude, C., Santalad, A., Boonchiangma, S., Burakham, R., Srijaranai, S. and Chailapakul, O. (2010). Mixed micellecloud point

- extraction for the analysis of penicillin residues in bovine milk by high performance liquid chromatography. *Talanta* 81: 486-492.
- Liu, W., Zhao, W.J., Chen, J.B. and Yang, M.M. (2007). A cloud point extraction approach using Triton X-100 for the separation and preconcentration of Sudan dyes in chilli powder. *Anal. Chim. Acta* 605: 41-45.
- Pourreza, N. and Ghomi, M. (2011). Simultaneous cloud point extraction and spectrophotometric determination of carmoisine and brilliant blue FCF in food samples. *Talanta* 84: 240-243.
- Pourreza, N. and Zareian, M. (2009). Determination of Orange II in food samples after cloud point extraction using mixed micelles. *J. Hazard. Mater.* 165: 1124-1127.
- Pourreza, N., Rastegarzadeh, S. and Larki, A. (2011). Determination of Allura red in food samples after cloud point extraction using mixed micelles. *Food Chem.* 126: 1465-1469.
- Purkait, M.K., DasGupta, S. and De, S. (2006). Determination of design parameters for the cloud point extraction of congo red and eosin dyes using TX-100. *Sep. Purif. Technol.* 51: 137-142.
- Rubio, S. and Pérez-Bendito, D. (2003). Supramolecular assemblies for extracting organic compounds. *Trends Anal. Chem.* 22: 470-485.
- Sahin, C.A., Efecinar, M. and Satioglu, N. (2010). Combination of cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometry for preconcentration and determination of nickel and manganese ions in water and food samples. *J. Hazard. Mater.* 176: 672-677.
- Santalad, A., Srijaranai, S., Burakham, R., Glennon, J.D., and Deming, R.L. (2009). Cloud-point extraction and reversed phase high performance liquid chromatography for the determination of carbamate insecticide residues in fruits. *Anal. Bioanal. Chem.* 394: 1307-1317.
- Wang, Z. (2009). Predicting organic compound recovery efficiency of cloud point extraction with its quantitative structure-solubilization relationship. *Colloid Surf. A, Physicochem. Eng. Aspects* 349: 214-217
- Zhang, W., Duan, C. and Wang, M. (2011). Analysis of seven sulphonamides in milk by cloud point extraction and high performance liquid chromatography. *Food Chem.* 126: 779-785.
- Zhou, J., Sun X.L. and Wang, S.W. (2008). Micelle-mediated extraction and cloud-point preconcentration of osthole and imperatorin from *Cnidium monnieri* with analysis by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1200: 93-99.
- Zhu, H.-Z., Liu, W., Mao, J.-W. and Yang, M.-M. (2008). Cloud point extraction and determination of trace trichlorfon by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection based on its catalytic effect on benzidine oxidizing. *Anal. Chim. Acta* 614: 58-62.

