

การประยุกต์ใช้อนุพันธ์ฟลูออเรสเซนซ์เพื่อกำหนดปริมาณปรอท 00 ตีว
 สอนานซ์ของน้ำดื่มที่ดื่มโดยทั่วๆไปร่วมกับวิธีการฉีดตัวอย่างต่อเนื่องด้วยเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตริก
 ฟลูออโรเมตริก

APPLICATION OF FLUORESCENIN DERIVATIVE FOR MERCURY (II)
 DETERMINATION BY SEQUENTIAL INJECTION COUPLED WITH
 SPECTROFLUOROMETRIC DETECTION



วิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สาขาวิชา เคมี

ศาสตราจารย์ ดร. ศาสตราจารย์ ดร.

ศาสตราจารย์ ดร. โฉมฉาย อรุณฉาน

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-SC-M-012-007

การประยุกต์ใช้อนุพันธ์ของฟลูออเรสซินเพื่อหาปริมาณปรอท (II) ด้วย
ระบบซีเควนเชียลอินเจคชันร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปคโตร
ฟลูออโรเมทรี



T144001

APPLICATION OF FLUORESCENIN DERIVATIVE FOR MERCURY (II)
DETERMINATION BY SEQUENTIAL INJECTION COUPLED WITH
SPECTROFLUOROMETRIC DETECTION

อัจฉรา เพชรชำนาญ

ATCHARA PHETCHAMNAN

สาขา..... 144001
เลขทะเบียน.....
วันเดือนปี 10 ต.ค. 2559

b.00267035

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เคมี

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-SC-M-012-007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

APPLICATION OF FLUORESCEIN DERIVATIVE FOR MERCURY (II)
DETERMINATION BY SEQUENTIAL INJECTION COUPLED WITH
SPECTROFLUOROMETRIC DETECTION



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2016
KMITL-2016-SC-M-012-007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2016

FACULTY OF SCIENCE

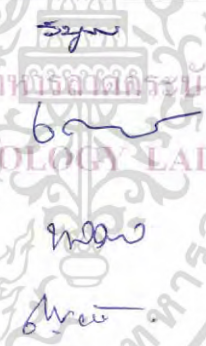
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ “การประยุกต์ใช้อนุพันธ์ของฟลูออเรสซินเพื่อหาปริมาณปรอท(II)ด้วยระบบซีควนเชียลอินเจกชันร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี”
 “APPLICATION OF FLUORESCIN DERIVATIVE FOR MERCURY (II) DETERMINATION BY SEQUENTIAL INJECTION COUPLED WITH SPECTROFLUOROMETRIC DETECTION”

ชื่อนักศึกษา นางสาวอัจฉรา เพชรชำนาญ
รหัสประจำตัว 55651001
ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขาวิชาเคมี)
ภาควิชา เคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการ ผศ.ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง อาจารย์บัณฑิตประจำ (ในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง) ผศ.ดร.นवलละออ รัตนวิมานวงศ์ ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกสถาบันฯ ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	

วัน/ เดือน/ ปี ที่สอบ 25 เมษายน พ.ศ. 2559 เวลา 12.30-14.30 น.
 สถานที่สอบ ณ ห้อง 308 อาคารพระจอมเกล้า ชั้น 3

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ ดร.ดุขณี ธนะบริพัฒน์)
 คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษา วันที่... 23 ...เดือน... 59 ...พ.ศ.... 59 ...ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประยุกต์ใช้ออนุพันธ์ของฟลูออเรสซินเพื่อหาปริมาณปรอท (II) ด้วยระบบซีควอนเซียลอินเจคชันร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี
นักศึกษา	นางสาวอัจฉรา เพชรชำนาญ
รหัสประจำตัว	55651001
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมี
พ.ศ.	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐฉา เชิงชั้น

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ นำเสนอการประยุกต์ใช้ออนุพันธ์ของฟลูออเรสซินสำหรับหาปริมาณปรอท (II) โดยใช้เทคนิคซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาลิซิส (เอสไอเอ) และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี หลักการตรวจวัดอาศัยการเกิดปฏิกิริยาควENCHING ของสารฟลูออโรฟอร์เมื่อทำปฏิกิริยากับควENCHER คือ ไอออนของโลหะปรอท (II) และจะติดตามค่าการเรืองแสงที่ลดลงเมื่อใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้นเท่ากับ 450 นาโนเมตร และความยาวคลื่นในการเรืองแสงเท่ากับ 516 นาโนเมตร จะสร้างกราฟเส้นตรงตามความสัมพันธ์ของ Stern-Volmer ซึ่งกล่าวว่าอัตราส่วนการเรืองแสงในสถานะที่ไม่มีควENCHER (I_0) และมีควENCHER (I) จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของควENCHER ผลจากการศึกษาพบว่า ระบบเอสไอเอที่พัฒนาขึ้น ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของปรอทตั้งแต่ 0.01 ถึง 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตรของปรอท (II) ($I_0/I = 1.483[\text{Hg (II)}] + 1.051$, $R^2 = 0.992$) มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (3SD of blank / slope) และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (10SD of blank / slope) เป็น 0.015 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ยังพบอีกว่า มีความแม่นยำและความเที่ยงสูง (ค่าร้อยละของการวิเคราะห์ที่คืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 91.2 – 106.5 และค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 2.43) เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตัวอย่าง ได้แก่ น้ำดื่ม น้ำประปา น้ำทะเล และน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่าผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์แบบ Batch ($t_{\text{stat}} 2.24 < t_{\text{critical}} 4.30$)

คำสำคัญ: ปรอท, อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน, สเปกโทรฟลูออโรเมทรี, ซีควอนเซียลอินเจคชัน

Thesis Title	Application of Fluorescein Derivative for Mercury (II) Determination by Sequential Injection Coupled with Spectrofluorometric Detection
Student	Miss Atchara Phetchamnan
StudentID	55651001
Degree	Master of Science
Program	Chemistry
Year	2016
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

ABSTRACT

This work presents an application of fluorescein derivative to determination of mercury (II) by sequential injection analysis (SIA) with spectrofluorometric detection. Detection principle is based on quenching of the fluorophore by mercury (II). Decreasing in the fluorescence intensity is monitored (λ_{ex} : 450 nm and λ_{em} : 516 nm). Calibration curve is the linear plot accordingly to the Stern-Volmer's relationship where is ratio of fluorescence intensity (without (I_0) and with quencher (I) is directly proportional to concentration of the quencher. Results from the SIA demonstrates good linearity in the concentration from 0.01 to 1.00 mg Hg (II)/L ($I_0/I = 1.483[\text{Hg (II)}] + 1.051$, $R^2 = 0.992$). Limit of detection (3SD of blank /slope) and limit of quantitation (10SD of blank / slope) was 0.015 and 0.05 mg/L, respectively. The method provides high accuracy with high precision (Recovery = 91.2 – 106.5%, RSD = 2.43%). The developed method was applied to water samples i.e. drinking water, tap water and sea water. The results by the developed method were not significant difference at 95 % confidence with the results by batchwise method ($t_{\text{stat}} 2.24 < t_{\text{critical}} 4.30$).

Keywords: Mercury; Fluorescence derivative; Spectrofluorometry; Sequential Injection

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยได้รับความกรุณาจาก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในทุกๆ ขั้นตอนของการทำวิทยานิพนธ์นี้อย่างใกล้ชิด ซึ่งผู้เขียนต้องขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์ เวียงคำ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภาคย์ อีราทรง ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์จากภายนอก คือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นวลละออ รัตนวิมานวงศ์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์

ขอขอบพระคุณ ดร. ภาณุมาศ ทองอยู่ และนางสาวขวัญชนก จันทลักษณ์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ สำหรับความอนุเคราะห์ในการส่งเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

ขอขอบพระคุณ นางสาวอรฉัตร เลิศอิทธิพร ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับความอนุเคราะห์ในการศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทโดยใช้ Job's method

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่สนับสนุนและให้กำลังใจผู้เขียน ด้วยดีเสมอมา

นางสาวอัจฉรา เพชรชำนาญ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญรูป.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับปรอท.....	6
2.1.1 การปนเปื้อนของปรอทในแหล่งน้ำและการสะสมในห่วงโซ่อาหาร.....	6
2.1.2 ผลกระทบและอันตรายจากการปนเปื้อนของปรอท.....	7
2.1.3 ค่ามาตรฐานความปลอดภัยและปริมาณปรอทที่อนุญาตให้มีได้.....	7
2.2 องค์ประกอบของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์.....	9
2.3 เทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี.....	10
2.3.1 หลักการของเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี.....	10
2.3.2 เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์.....	12
2.4 หลักการของ Stern – Volmer’s Reletionship.....	14
2.5 หลักการของ Job’s method.....	15
2.6 ซีควนเซียสอินเจคชัน.....	16
2.6.1 หลักการของ SIA.....	16
2.6.2 องค์ประกอบของระบบ SIA.....	17
2.7 หลักการตรวจวัดของงานวิจัยนี้.....	19
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
2.8.1 งานวิจัยที่ใช้วิธีมาตรฐานในการตรวจวัดปรอท.....	20
2.8.2 งานวิจัยที่ใช้ฟลูออโรฟอรั ในการตรวจวัดปรอท.....	21
2.8.3 งานวิจัยที่ใช้ฟลูออโรฟอรั ในการตรวจแคตไอออนอื่นๆ.....	23

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.8.4 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคที่อาศัยการไหลในการตรวจวัดปรอท.....	24
1. เทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส.....	24
2. เทคนิคซีเคเวนเซียลอินเจคชันอะนาลิซิส.....	25
3. เทคนิคที่อาศัยการไหลแบบอื่นๆ.....	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	34
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	34
3.1.1 สารเคมี.....	35
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด.....	35
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	36
3.2.1 วิธีการสังเคราะห์ฟลูออเรสซินและอนุพันธ์ของฟลูออเรสซิน.....	36
3.2.2 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	37
3.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทสำหรับการวิเคราะห์แบบไม่ต่อเนื่อง.....	37
3.2.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทสำหรับระบบซีเคเวนเซียลอินเจคชันอะนาลิซิส.....	38
3.2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทและไอออนอื่นๆ สำหรับการศึกษ selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	39
3.2.6 การเตรียมตัวอย่าง.....	40
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	40
3.3.1 การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	40
3.3.2 การศึกษาสมบัติการเรืองแสงของฟลูออเรสซิน.....	40
3.3.3 ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลาย.....	41
3.3.4 ศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทโดยใช้ Job's method.....	41
3.3.5 ศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท.....	42
3.3.6 ศึกษา Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทและไอออนอื่นๆ.....	43
3.3.7 ศึกษาพีเอชของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	43
3.3.8 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้อนุพันธ์ฟลูออเรสซินเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยการวิเคราะห์แบบ Batch.....	43
3.3.9 ออกแบบระบบซีเคเวนเซียลอินเจคชันอะนาลิซิสและลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์.....	44

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.3.10 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง.....	45
1. ความเข้มข้นของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	45
2. ลำดับในการทำปฏิกิริยา.....	45
3. อัตราการไหล.....	46
4. ความยาวของมิกซิงคอยล์.....	46
3.3.11 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม.....	46
3.3.12 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์.....	47
3.3.13 ทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณ ปรอทในตัวอย่างโดยวิธีแบบ Batch.....	48
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.....	49
4.1การศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสงและการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออ เรสซิน.....	49
4.2 การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลาย..	50
4.3 การศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอนุพันธ์ฟลูออเรส ซินกับปรอทโดยใช้ Job's method.....	51
4.4 ศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท(II)	53
4.5 ศึกษา Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทและไอออนอื่นๆ..	54
4.6 ศึกษาพีเอชของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	56
4.7 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้อนุพันธ์ฟลูออเรสซินเพื่อการวิเคราะห์ ปริมาณปรอทโดยการวิเคราะห์แบบ Batch.....	57
4.8 ออกแบบระบบซีเควนเซียลอินเจคชันอะนาลิซิส.....	60
4.9 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง.....	60
4.9.1 ความเข้มข้นของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	60
4.9.2 ลำดับในการทำปฏิกิริยา.....	62
4.9.3 อัตราการไหล.....	63
4.9.4 ความยาวของมิกซิงคอยล์.....	64
4.10 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม.....	66
4.11 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์.....	67
4.11.1 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์.....	67
4.11.2 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์.....	68
4.11.3 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)	68
4.12 การทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณ ปรอทโดยวิธีแบบ Batch	69

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	71
เอกสารอ้างอิง	73
ภาคผนวก ภาคผนวก ก สถานการณ์การปนเปื้อนของปรอทในประเทศไทย.....	77
ภาคผนวก ข มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม.....	82
ภาคผนวก ค การประยุกต์ใช้ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ในแง่มุมอื่นๆ.....	87
ภาคผนวก ง วิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของฟลูออเรสซินตัวอื่นๆ.....	91
ภาคผนวก จ กราฟมาตรฐานจากการศึกษาจลนศาสตร์.....	94
ภาคผนวก ฉ ผลการทดลองเพิ่มเติม ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลทดลอง.....	96
ภาคผนวก ช ผลการทดลองเพิ่มเติม การประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์.....	106
ภาคผนวก ซ ผลการทดลองเพิ่มเติม การทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยวิธีแบบ Batch.....	109
ประวัติผู้เขียน	113

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ค่ามาตรฐานความปลอดภัยของปรอท.....	8
ตารางที่ 2.2 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยวิธีมาตรฐาน.....	28
ตารางที่ 2.3 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วย Fluorophore Based-method.....	29
ตารางที่ 2.4 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วย Flow/Sequence injection analysis.....	32
ตารางที่ 3.1 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทอื่นๆ.....	38
ตารางที่ 3.2 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทอื่นๆ.....	38
ตารางที่ 3.3 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทและไอออนอื่นๆ ความเข้มข้น 75 ไมโครโมลาร์	39
ตารางที่ 3.4 แสดงอัตราส่วนจำนวนโมลและปริมาตรสารละลายที่ปิเปตเพื่อศึกษาด้วย Job's method.....	42
ตารางที่ 4.1 ค่าการเรืองแสงของ อนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับปรอท (II) ที่อัตราส่วนจำนวนโมลต่างๆ (Mole fraction) ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II)	51
ตารางที่ 4.2 ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) ที่เวลาต่างๆ.....	53
ตารางที่ 4.3 ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) และไอออนอื่นๆ ความเข้มข้น 75 ไมโครโมลาร์.....	55
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ใช้เมทานอลและสารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวทำละลายเมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆปรอท (II)	56
ตารางที่ 4.5 ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) โดยการวิเคราะห์แบบ batch.....	58
ตารางที่ 4.6 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้ความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่แตกต่างกัน.....	61
ตารางที่ 4.7 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้ลำดับปฏิกิริยาที่ต่างกัน.....	63
ตารางที่ 4.8 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้อัตราการไหลที่ต่างๆ กัน.....	64
ตารางที่ 4.9 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้ความยาวของมิกซิงคอลลัมต่างๆ กัน.....	65
ตารางที่ 4.10 สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับระบบ SIA ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีควอนเซียลอินเจคชัน.....	65

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 4.11 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท.....	67
ตารางที่ 4.12 สรุปคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควนเซียลอินเจกชัน.....	69
ตารางที่ 4.13 ผลการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยการวิธีแบบ Batch และเทคนิค SIA ที่พัฒนาขึ้น.....	69



สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 แสดงการปนเปื้อนของโลหะหนักในแม่น้ำ แอนิเมส เมืองคูร์ังโก รัฐโคโลราโด ประเทศสหรัฐอเมริกา.....	2
รูปที่ 2.1 แสดงการปนเปื้อนของปรอทสู่สิ่งแวดล้อมและห่วงโซ่อาหาร.....	6
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์บางชนิด.....	9
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ประกอบด้วยส่วน ฟลูออโรฟอร์ และไอโอโนฟอร์เชื่อมต่อกันสำหรับตรวจวัดไอออนโลหะบางชนิด.....	9
รูปที่ 2.4 แสดงระดับชั้นพลังงานต่างๆ (Jablonski's diagram) ของโมเลกุลในสถานะพื้นและสถานะกระตุ้น.....	10
รูปที่ 2.5 แสดงส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์.....	12
รูปที่ 2.6 แสดงความสัมพันธ์ตามสมการของ Stern – Volmer	14
รูปที่ 2.7 แสดงตัวอย่างของกราฟที่ได้จาก Job's method	16
รูปที่ 2.8 แสดงระบบการวิเคราะห์แบบซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาลิซิสอย่างง่าย.....	17
รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของ Syringe pump.....	17
รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของ Multi-selection valve.....	18
รูปที่ 2.11 แสดงลักษณะของ Mixing coil.....	18
รูปที่ 2.12 แสดงลักษณะของ Flow through cell ใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์.....	19
รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่อยู่ภายใต้สภาวะแสง แสงยูวีเมื่อไม่มีปรอทและเมื่อมีปรอท.....	20
รูปที่ 3.1 แสดงระบบซีควอนเซียลอินเจคชันที่ได้ออกแบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท	44
รูปที่ 3.2 แสดงหน้าจอของซอฟต์แวร์ MGC Auto-Pert Version 4 ซึ่งระบุลำดับขั้นตอนการ วิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาลิซิส.....	45
รูปที่ 3.3 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich.....	45
รูปที่ 3.4 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich.....	46
รูปที่ 4.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสเปกตรัมการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	49
รูปที่ 4.2 ภาพแสดงถึงลักษณะทางกายภาพของสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ละลายในเมทานอล ความเข้มข้นต่างๆ และสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ใช้ เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75, 85, 90 และ 100 โดยปริมาตรเป็นตัวทำ ละลาย.....	50
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับ ปรอทโดยใช้ Job's method.....	52
รูปที่ 4.4 แสดงจลนศาสตร์ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) ที่เวลาต่างๆ เป็นเวลา 3,600 วินาที.....	54
รูปที่ 4.5 กราฟแท่งแสดง Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทและไอออนอื่นๆ.....	55

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.6 แสดงค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวทำละลายกับปรอท (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	57
รูปที่ 4.7 แสดงค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) กับปรอท (II)	58
รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท (II) ช่วงความเข้มข้น 0.00 – 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 1.50 มิลลิกรัมต่อลิตร (วิธีแบบ Batch)	59
รูปที่ 4.9 ระบบซีควนเซียลอินเจกชันที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ได้สังเคราะห์ขึ้น.....	60
รูปที่ 4.10 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.00–1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	61
รูปที่ 4.11 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.00–1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ลำดับการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน.....	62
รูปที่ 4.12 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.00–1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้อัตราการไหลที่แตกต่างกัน.....	63
รูปที่ 4.13 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.00–1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอลลี่ที่แตกต่างกัน.....	64
รูปที่ 4.14 สัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 0.01 –1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	66
รูปที่ 4.15 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.01 – 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	66

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

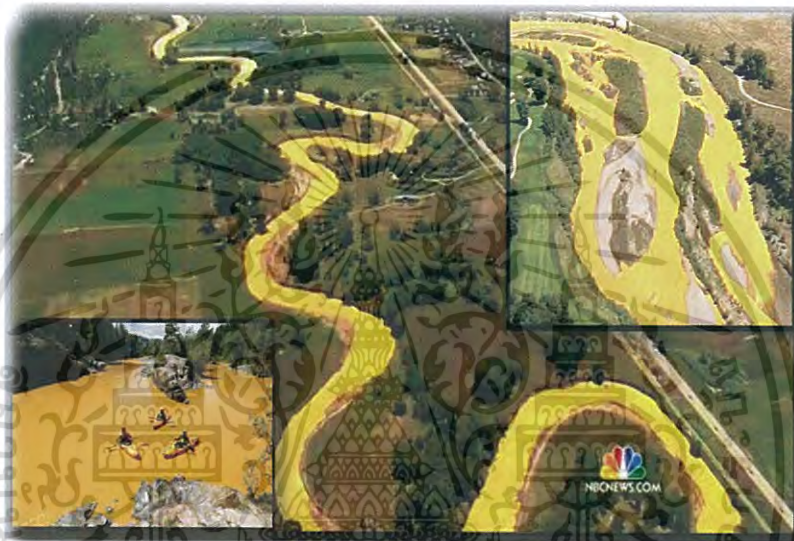
ปรอท (Mercury) เป็นธาตุที่นำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย เช่น อุตสาหกรรมการผลิตเครื่องวัดอุณหภูมิและความดัน การผลิตเยื่อกระดาษ พลาสติก เกสซ์ภัณฑ์ อุปกรณ์ไฟฟ้า สารฆ่าแมลง เป็นต้น ในปัจจุบันมีการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรมเหล่านี้เป็นจำนวนมาก ทำให้มีการปล่อยน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมจำนวนมากเช่นเดียวกัน เพิ่มความเสี่ยงของการปนเปื้อนของปรอทในแหล่งน้ำได้ หากน้ำทิ้งเหล่านั้นไม่ได้ผ่านกระบวนการบำบัดน้ำเสียหรือผ่านกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ไม่มีประสิทธิภาพ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศ แม้จะมีการปนเปื้อนในปริมาณที่ต่ำก็ตาม [1]

เมื่อปรอทปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำสามารถพบได้ 3 รูปแบบได้แก่ สารประกอบอนินทรีย์ปรอท (Inorganic divalent mercury) สารประกอบอินทรีย์ปรอท (Organic mercury) และโลหะปรอท (Metallic mercury) ปรอทเหล่านี้จะสะสมอยู่ในสัตว์น้ำและถ่ายทอดสู่สิ่งมีชีวิตอื่นผ่านทางห่วงโซ่อาหาร ซึ่งเป็นอันตรายมากโดยเฉพาะมนุษย์ที่อยู่ในลำดับสุดท้ายของห่วงโซ่ [2] เมื่อมนุษย์ได้รับสารปรอทจะทำให้เกิดอันตรายต่อระบบประสาทและกล้ามเนื้อ มีอาการป่วยเป็น “โรคมินามาตะ” ซึ่งเกิดขึ้นเป็นครั้งแรกกับชาวประมงในประเทศญี่ปุ่นที่เมืองมินามาตะในปี ค.ศ.1959 [3]

สำหรับสถานการณ์การปนเปื้อนของปรอทในประเทศไทยและทั่วโลก จะพบเป็นระยะๆ ดังเช่น เมื่อต้นปี พ.ศ. 2556 พบการปนเปื้อนของปรอท ในแหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างจากคลองชะลอกวาง ตำบลท่าตุม อำเภอศรีมหาโพธิ จังหวัดปราจีนบุรี ใกล้กับสวนอุตสาหกรรม 304 ผลจากการวิเคราะห์โดยสถาบันวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ หรือ บิอาร์ไอ สหรัฐอเมริกา ระบุชัดเจนว่ามีค่าปรอทตกค้างเกินกว่าค่าอ้างอิง นอกจากนี้ยังพบปริมาณปรอทตกค้างในตัวอย่างเส้นผมของประชากรที่อาศัยในละแวกนั้นและพบในตัวอย่างปลาด้วย [3] และเมื่อวันที่ 27กรกฎาคม พ.ศ. 2556 เกิดเหตุน้ำมันดิบรั่วไหลลงสู่ทะเล ห่างจากท่าเรือมาบตาพุด จังหวัดระยอง คราบน้ำมันกระจายตัวไปถึงพื้นที่ชายฝั่งบริเวณอ่าวพร้าวและด้านเหนือของเกาะเสม็ด สร้างผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมชายฝั่งทะเลเป็นอย่างมาก จากผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำของกรมควบคุมมลพิษ พบปรอทในน้ำทะเลบริเวณอ่าวพร้าว มีค่าสูงเกินกว่าค่ามาตรฐานถึง 29 เท่า คือ สูงถึง 2.9 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ที่ 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร [4] ล่าสุดเมื่อวันที่ 21 สิงหาคม พ.ศ. 2558 เกิดการรั่วไหลของน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักเช่น เหล็ก สังกะสี ทองแดง และปรอท กว่า 3 ล้านแกลลอนจากเหมืองทองแห่งหนึ่งลงในแม่น้ำ แอนิเมส เมืองคูริงโก รัฐโคโลราโด ประเทศสหรัฐอเมริกา สำนักงานป้องกันสิ่งแวดล้อม (EPA) ของรัฐบาลกลางสหรัฐอเมริกา ได้ทำการแจ้งเตือนประชาชนเรื่องการรั่วไหลของน้ำเสียและประกาศภาวะฉุกเฉินสั่งปิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิงหาคม พ.ศ. 2558 เกิดการรั่วไหลของน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักเช่น เหล็ก สังกะสี ทองแดง และปรอท กว่า 3 ล้านแกลลอนจากเหมืองทองแห่งหนึ่งลงในแม่น้ำ แอนิเมาส เมืองดัวร์งโก รัฐโคโลราโด ประเทศสหรัฐอเมริกา สำนักงานป้องกันสิ่งแวดล้อม (EPA) ของรัฐบาลกลางสหรัฐอเมริกา ได้ทำการแจ้งเตือนประชาชนเรื่องการรั่วไหลของน้ำเสียและประกาศภาวะฉุกเฉินสั่งปิดแม่น้ำ ห้ามประชาชนบริโภคหรือทำกิจกรรมใดๆ ที่แม่น้ำแอนิเมาส เพื่อลดผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนในระยะยาว โดยการสัมผัสกับสารโลหะหนักระดับสูง อาจก่อให้เกิดโรคต่างๆ ตั้งแต่มะเร็งจนถึงโรคไตและปัญหาอื่นๆ ในเด็ก



รูปที่ 1.1 แสดงการปนเปื้อนของโลหะหนักในแม่น้ำ แอนิเมาส เมืองดัวร์งโก รัฐโคโลราโด ประเทศสหรัฐอเมริกา

เพื่อเป็นการควบคุมและป้องกันการปนเปื้อนของปรอทในแหล่งน้ำ ดังนั้นจึงได้มีประกาศของกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม โดยอนุญาตให้ตรวจพบปริมาณปรอทได้ไม่เกิน 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร (หรือ 0.005 พีพีเอ็ม) [2] และได้กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล โดยอนุญาตให้ตรวจพบปริมาณปรอททั้งหมดได้ไม่เกิน 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร (หรือ 0.0001 พีพีเอ็ม) [2] ดังนั้นเพื่อเป็นการเฝ้าระวังและควบคุมคุณภาพน้ำให้ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและให้สอดคล้องกับมาตรฐานที่กำหนด การวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในแหล่งน้ำจึงเป็นเรื่องสำคัญอย่างยิ่ง วิธีวิเคราะห์จะต้องให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ เพื่อให้สามารถนำผลวิเคราะห์ไปใช้เผยแพร่และอ้างอิงได้

ในปัจจุบันวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทคือวิธี Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry (CV-AAS) ซึ่งได้รับการยอมรับว่าให้ผลการวิเคราะห์ถูกต้อง น่าเชื่อถือ แม้อุปกรณ์แพงและต้องบำรุงรักษาอย่างดี แต่ก็มีข้อดีคือไม่ต้องใช้สารเคมีอันตราย ค่าใช้จ่ายไม่แพงเกินไป อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูง และยังมีงานวิจัยจำนวนน้อยที่รายงานการใช้ฟลูออเรสซิน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณปรอท (II) รวมถึงไอออนโลหะอื่นๆ [5] และโดยวิธีดังกล่าวเป็นวิธีวิเคราะห์แบบไม่ต่อเนื่อง (Batch analysis) มีข้อจำกัดคือ ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน เนื่องจากขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ไม่เป็นอัตโนมัติ จึงไม่เหมาะสมในกรณีที่มีตัวอย่างน้ำเป็นจำนวนมาก

เพื่อเป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอท (II) ในแหล่งน้ำ ให้มีความสะดวก ใช้งานง่าย และมีประสิทธิภาพในการตรวจวัด ในงานวิจัยนี้จึงพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปรอทขึ้นมาใหม่ โดยอาศัยปฏิกิริยาควENCHING ของอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินโดยไอออนของปรอท (II) ซึ่งจะทำให้การเรืองแสงของอนุพันธ์ลดลง โดยอนุพันธ์ดังกล่าวนี้เป็นสารเคมีที่จะสังเคราะห์ขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีที่ไม่ยุ่งยากและยังไม่มีรายงานการวิจัยใดกล่าวถึงสารอนุพันธ์นี้ในการวิเคราะห์ไอออนของปรอท (II) และของไอออนโลหะอื่นๆ มาก่อน ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์จะอาศัยเทคนิคซีควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส (Sequential Injection Analysis, SIA) [6] ในการผสมและนำส่งของเหลวไปตรวจวัดอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ ใช้งานง่าย และรู้ผลเร็ว

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

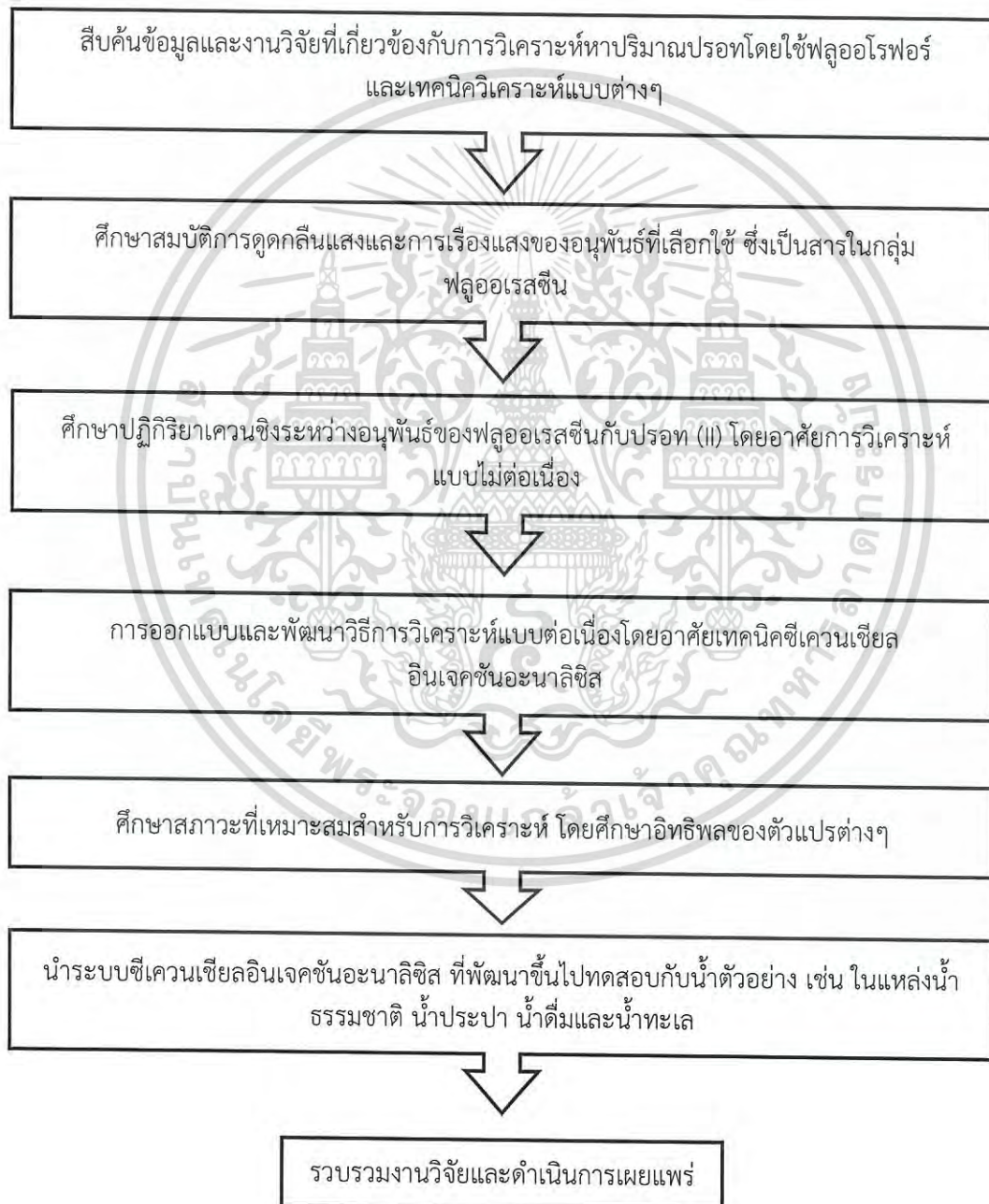
1.2.1 เพื่อพัฒนาระบบซีควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส ร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรีสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (II) โดยอาศัยปฏิกิริยาควENCHING ระหว่างอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินกับปรอท (II)

1.2.2 เพื่อประยุกต์ใช้ระบบซีควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิสที่พัฒนาขึ้น สำหรับวิเคราะห์ปริมาณปรอท (II) ในแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำประปา น้ำดื่มและน้ำทะเล

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ เริ่มจากทบทวนและศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท โดยใช้ฟลูออโรฟอร์และเทคนิควิเคราะห์แบบต่างๆ จากนั้นจึงนำอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินซึ่งสังเคราะห์ขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ และได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.ภานุมาศ ทองอยู่ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ มาศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงและการเรืองแสง โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ตามลำดับ และศึกษาปฏิกิริยาควENCHING ระหว่างอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินกับปรอท (II) โดยอาศัยการวิเคราะห์แบบไม่ต่อเนื่อง (Batch analysis) โดยพิจารณาว่าการลดลงของการเรืองแสงของฟลูออเรสซินเมื่อถูกควENCHING ด้วยปรอทมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงตามสมการของ Stern-Volmer [7] หรือไม่ เมื่อพบว่าฟลูออเรสซินมีแนวโน้มความเป็นไปได้ในการตรวจวัดปริมาณปรอท ลำดับต่อไปเป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบต่อเนื่องโดยอาศัยเทคนิคซีควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส เมื่อทำการออกแบบระบบแล้ว จึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ (Optimization) โดยศึกษาอิทธิพลของตัวแปร

ต่างๆ ทั้งทางเคมีและทางกายภาพที่ส่งผลต่อความไวและเวลาในการวิเคราะห์ เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้ว จึงประเมินคุณลักษณะในการวิเคราะห์ของระบบที่พัฒนาขึ้น เช่น ความเที่ยง ความแม่นยำ และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ เป็นต้น จากนั้นจึงจะนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปทดสอบกับน้ำตัวอย่าง เช่น น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น น้ำคลอง และน้ำทะเล น้ำดื่มและน้ำประปา รวมถึงจะทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Method validation) โดยเปรียบเทียบกับวิธีแบบ Batch แล้วศึกษาว่าผลวิเคราะห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ โดยใช้วิธีทางสถิติ คือ Paired t-test เป็นกลไกในการเปรียบเทียบ ขั้นสุดท้ายจะดำเนินการเผยแพร่งานวิจัยต่อไป จากขอบเขตงานวิจัยดังกล่าวสามารถสรุปเป็นแผนภาพได้ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถพัฒนาเทคนิคซีเควนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิส ที่มีความเป็นอัตโนมัติ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของปรอท (II) โดยอาศัยปฏิกิริยาเควนชิงระหว่างอนุพันธ์ของฟลูออเรสซินกับปรอท (II) ได้เป็นผลสำเร็จ

1.4.2 สามารถประยุกต์ใช้วิธีการที่พัฒนาขึ้น ในการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) ในแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำประปา น้ำดื่มและน้ำทะเล ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

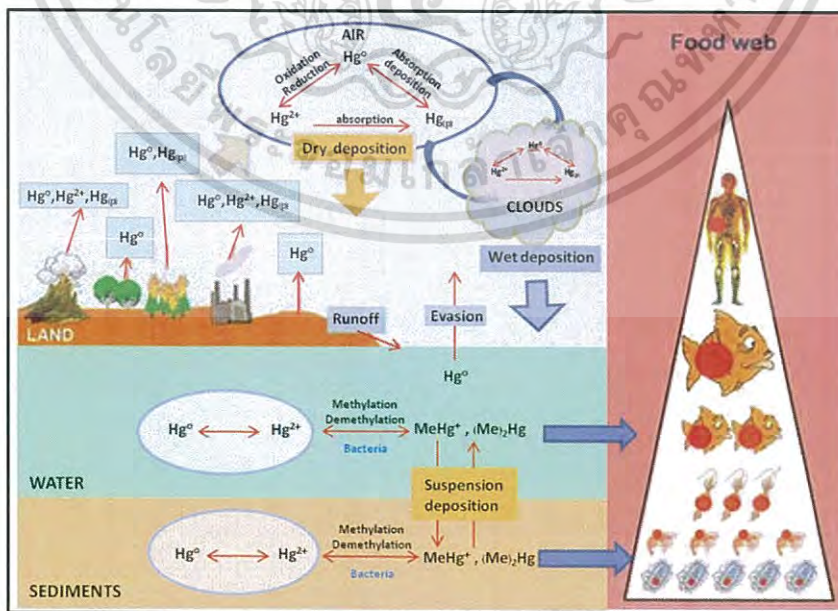
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับปรอท [2]

2.1.1 การปนเปื้อนของปรอทในแหล่งน้ำและการสะสมในห่วงโซ่อาหาร

ปรอท (Mercury, Hg) เป็นธาตุโลหะหนักชนิดหนึ่ง มีลักษณะสีขาวคล้ายเงิน เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง มีความหนาแน่นสูง ขยายตัวได้เมื่อได้รับความร้อนและระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย สามารถรวมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ได้ดี ในธรรมชาติจะพบในรูปแบบของแร่ Cinnabar ore (HgS) เมื่อนำมาสกัดจะได้เป็นโลหะปรอทซึ่งมี 3 รูป คือ รูปธาตุบริสุทธิ์ (Elemental mercury, Hg^0) รูปสารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic mercury, $HgCl_2$) และรูปสารประกอบอินทรีย์ (Organic mercury, Alkyl และ Aryl mercury) [7] ในธรรมชาติจะพบปรอทจากการระเบิดของภูเขาไฟ ส่วนการปนเปื้อนจากมนุษย์ จะพบจากการทำเหมืองแร่ การเผาไหม้ น้ำมันเชื้อเพลิงและถ่านหิน และจากภาคอุตสาหกรรมบางประเภท เป็นต้น โดยพบว่าโรงงานอุตสาหกรรม เป็นแหล่งที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของปรอทไปสู่แหล่งน้ำมากที่สุด ทำให้ปรอทสะสมใน ปลา หอย หมึก เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่ปนเปื้อนปรอท จะไม่สามารถขับออกจากร่างกายได้ การปนเปื้อนของสารปรอทในห่วงโซ่อาหาร (Food chain) แสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงการปนเปื้อนของปรอทสู่สิ่งแวดล้อม (ซ้าย) และห่วงโซ่อาหาร (ขวา) [8]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ผลกระทบและอันตรายจากการปนเปื้อนของปรอท [9-12]

การสะสมของสารปรอทในร่างกายจะมีอันตรายต่อสมองและอวัยวะต่างๆ ส่งผลกระทบต่อระบบประสาท ทำให้สมองฝ่อ แขนขาอ่อนแรง คล้ายคนพิการ ปรอทสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง เช่นเดียวกับสารพิษอื่นๆ คือ

1. โดยการรับประทานจากอาหารและน้ำดื่มที่มีการปนเปื้อนของสารปรอท
2. โดยการหายใจสูดเอาผงหรือไอระเหยของปรอทซึ่งเป็นอันตรายมากที่สุด
3. โดยผิวหนัง หากสัมผัสไอระเหยหรือฝุ่นละอองของปรอท ทำให้เกิดการระคายเคือง

ปรอทสามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ทั้งในแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อระบบการทำงานของอวัยวะในร่างกายหลายๆ ระบบ เช่น ทำปฏิกิริยากับหมู่ Sulfhydryl (SH) เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำให้เกิดความผิดปกติของเยื่อหุ้มเซลล์ มีอาการไอ อาเจียน ปวดศีรษะอย่างรุนแรง หายใจติดขัด เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อ ปวดท้องรุนแรง ท้องร่วง อุจจาระเป็นเลือด หมดสติ และเสียชีวิตในที่สุด ซึ่งปริมาณเฉลี่ยที่ทำให้เสียชีวิตได้คือประมาณ 0.02 กรัม จากการศึกษาพบว่ากว่าร้อยละ 90 ของสารปรอทที่สะสมในร่างกายมนุษย์คือ Elemental mercury และ Organic mercury ในรูปของ Methyl mercury (CH_3Hg) ซึ่งเป็นรูปที่เป็นพิษมากที่สุด ร่างกายสามารถดูดซึม Methyl mercury ได้ถึงร้อยละ 95 - 98 ทำให้เกิดอันตรายต่อระบบประสาทส่วนกลาง เสียการควบคุมการเคลื่อนไหวแขน ขา กล้ามเนื้อกระตุก เกิดอาการทางจิต โมโห ฉุนเฉียว และหุดหงิดง่าย ส่วน Inorganic mercury จะทำให้ระคายเคืองผิวหนังอักเสบเป็นผื่นแดง และหนาขึ้น เกิดการกระตุกของเปลือกตา บางรายอาจมีอาการลำไส้ใหญ่อักเสบ ถ่ายเป็นมูกเลือด

2.1.3 ค่ามาตรฐานความปลอดภัยและปริมาณปรอทที่อนุญาตให้มีได้

กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ได้ตีพิมพ์ประกาศในราชกิจจานุเบกษา กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำตามแหล่งต่างๆ ได้แก่ น้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำทิ้งจากโรงงาน อุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม และมาตรฐานอาหาร อากาศและสภาพแวดล้อมในการทำงาน ที่อนุญาตให้ตรวจพบปริมาณปรอทได้ตามค่ามาตรฐานความปลอดภัยของปรอท ดังแสดงในตารางที่

2.1

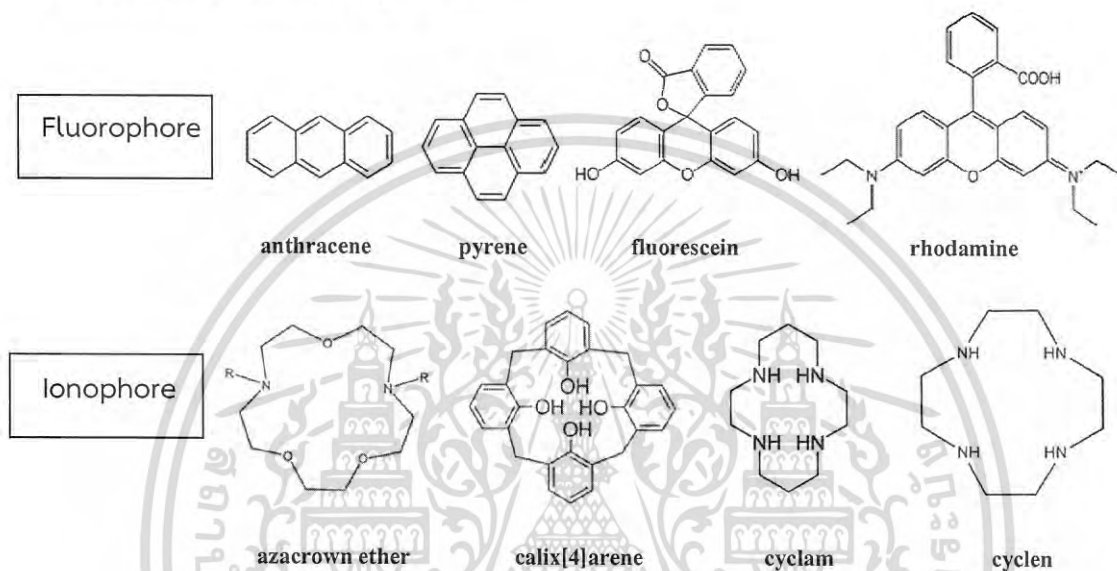
ตารางที่ 2.1 ค่ามาตรฐานความปลอดภัยของปรอท [9-12]

ประเภท	ค่ามาตรฐาน/ค่าที่ยอมให้มีได้สูงสุด	ที่มา
น้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติ		
น้ำผิวดิน	ปรอททั้งหมดไม่เกิน 0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร	ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 พ.ศ. 2537
น้ำทะเล	ปรอททั้งหมดไม่เกิน 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร	ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 27 พ.ศ. 2549
น้ำใต้ดิน	ต้องไม่เกิน 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร	ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 20 พ.ศ. 2543
น้ำบาดาลที่ใช้บริโภค	ต้องไม่มีเลย/สูงสุด 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร	ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม พ.ศ. 2551
น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม	ไม่เกิน 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้นโรงงานถลุงสังกะสี ไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร	ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 พ.ศ. 2539
น้ำสำหรับอุปโภค		
น้ำดื่มในภาชนะบรรจุที่มีฝาปิด	สูงสุด 0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร	ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524
ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค (น้ำประปา)	ไม่เกิน 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร	ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 332 พ.ศ. 2521
อาหาร		
อาหารทั่วไป	ไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529
อาหารทะเล	ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	
อากาศและสภาพแวดล้อมในการทำงาน		
ความปลอดภัยในการทำงาน	ไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร	ประกาศกระทรวงมหาดไทย ฉบับที่ 103 พ.ศ. 2520
อากาศที่ระบายจากโรงงาน	ไม่เกิน 3 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร	ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ออกตาม พรบ.โรงงานฉบับที่ 2 พ.ศ. 2536

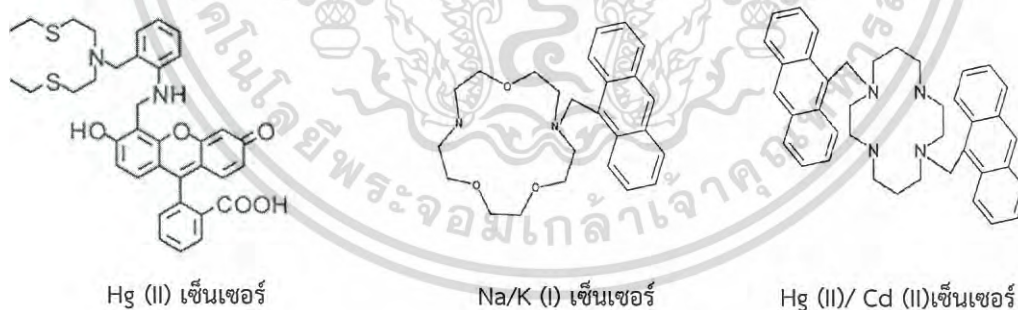
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 องค์ประกอบของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ (Fluorescence Sensor) [13-16]

โครงสร้างของเซ็นเซอร์จะประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก 2 ส่วน ได้แก่ (1) ฟลูออโรฟอร์ (Fluorophore) เป็นส่วนที่สามารถเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ และ (2) ไอโอโนฟอร์ (Ionophore) เป็นส่วนที่สามารถดักจับไอออนโลหะ ตัวอย่างของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์เป็นดังรูปที่ 2.2 โดยทั่วไปแล้วทั้งสองส่วนจะต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ ดังนั้นระบบฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จึงมักถูกเรียกว่า ฟลูออโรไอโอโนฟอร์ (Fluoroionophore) ตัวอย่างของฟลูออโรไอโอโนฟอร์ สำหรับตรวจวัดไอออนของโลหะบางชนิดเป็นดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์บางชนิด [18-21]



รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่ประกอบด้วยส่วน ฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์เชื่อมต่อกันสำหรับตรวจวัดไอออนโลหะบางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

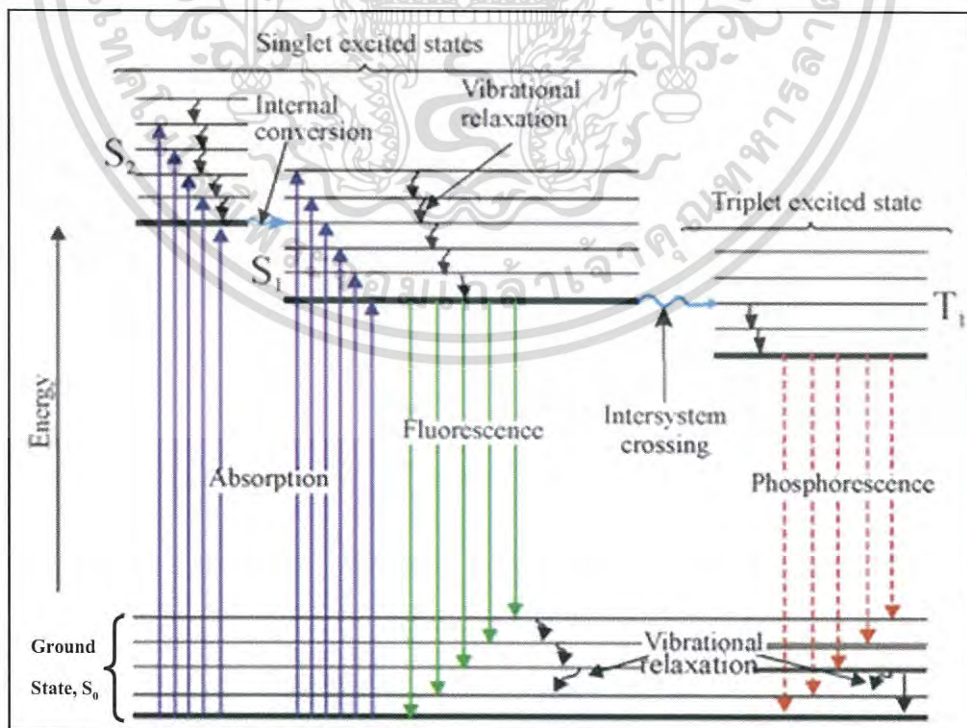
ในปัจจุบันมีการพัฒนาฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์อย่างต่อเนื่อง ซึ่งการปรับปรุงศักยภาพของเซ็นเซอร์ทำได้โดย (1) ปรับเปลี่ยนโครงสร้างไอออนฟออร์ ซึ่งเป็นส่วนที่เกิดการดักจับไอออนโลหะให้มีความจำเพาะเจาะจงมากขึ้น และ (2) เลือกใช้ชนิดของฟลูออโรฟอร์ที่การเรืองแสงได้ดี วัตถุประสงค์

2.3 เทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมตรี [17]

2.3.1 หลักการของเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมตรี

สเปกโทรฟลูออโรเมตรี เป็นเทคนิควิเคราะห์ที่วัดการเรืองแสงที่เกิดจากกระบวนการโฟโตลูมิเนสเซนซ์ โดยอะตอมหรือโมเลกุลในสถานะพื้น ดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าแล้วถูกกระตุ้นขึ้นไปยังสถานะกระตุ้นแล้วกลับสู่สถานะพื้น โดยคายพลังงานส่วนเกินในรูปของโฟตอน ถ้ากระบวนการนี้เกิดขึ้นเกือบทันที ใช้เวลา 10^{-5} วินาที หรือน้อยกว่า เรียกว่า ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) และถ้าใช้เวลานานเป็นนาที่หรือชั่วโมง เรียกว่า ฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence)

กระบวนการเกิดโฟโตลูมิเนสเซนซ์สามารถแสดงด้วย แผนภาพแสดงระดับพลังงาน (Jablonski's diagram) ดังรูปที่ 2.4



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในรูปที่ 2.4 เมื่ออิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะพื้นลำดับที่ต่ำสุด (S_0) ถูกกระตุ้นด้วยแสง UV-Vis จะดูดกลืนพลังงานแล้วขึ้นไปอยู่ในสถานะกระตุ้นลำดับที่หนึ่ง (S_1) หรือลำดับที่สอง (S_2) แล้วอิเล็กตรอนจะพยายามกลับคืนสู่สถานะพื้นอีกครั้ง โดยกระบวนการคืนกลับสู่สถานะพื้น (Deactivation process) ซึ่งสามารถแยกออกได้เป็น 2 ประเภท คือ กระบวนการที่เกิดแสง และกระบวนการที่ไม่เกิดแสง

1.) กระบวนการที่เกิดแสง

กระบวนการที่เกิดแสง สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) เกิดขึ้นเมื่อโมเลกุลเกิดการสูญเสียพลังงานในขั้นตอน Vibrational relaxation และ Internal conversion ทำให้อิเล็กตรอนลดระดับพลังงานจาก S_1 ไปยัง S_0 และเกิดการปลดปล่อยแสงออกมาและหยุดทันทีเมื่อหยุดกระตุ้น ซึ่งความยาวคลื่นของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์นั้น จะมีมากกว่าความยาวคลื่นของการกระตุ้น เนื่องจากความต่างของลำดับชั้นพลังงานของการสั่นต่ำสุดของสถานะเชิงเดี่ยวในสถานะกระตุ้น ($V = 0, S = 1$) เทียบกับลำดับชั้นพลังงานของการสั่นต่ำสุดของสถานะพื้น มีค่าน้อยกว่าค่าการกระตุ้นที่เกิดจากอิเล็กตรอนชั้นต่ำสุดของการสั่นในสถานะพื้น ($V = 0, S = 0$) ไปยังลำดับชั้นพลังงานการสั่นชั้นอื่นๆ ที่สูงกว่า ในสถานะกระตุ้น ($V = 1, 2, 3, \dots, S = 1, 2, 3, \dots$) ช่วงอายุของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์นั้นจะอยู่ในช่วงประมาณ $10^{-9} - 10^{-7}$ วินาที

2. ฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence) เกิดขึ้นเมื่ออิเล็กตรอนจากลำดับชั้นพลังงานของการสั่นต่ำสุดของสถานะที่สาม T_1 ไปยัง S_0 และเกิดการเรืองแสง ช่วงอายุของการเกิดฟอสฟอเรสเซนซ์นั้น จะอยู่ในช่วงประมาณ $10^{-3} - 10$ วินาที และการเรืองแสงจะดำเนินต่อไป แม้หยุดการกระตุ้นแล้วก็ตาม เนื่องจากกระบวนการฟอสฟอเรสเซนซ์มีช่วงอายุของการเกิดยาวกว่ากระบวนการอื่นๆ ทำให้โอกาสเกิดฟอสฟอเรสเซนซ์มีน้อย โดยทั่วไปจะไม่พบการเกิดฟอสฟอเรสเซนซ์

2.) กระบวนการที่ไม่เกิดแสง

กระบวนการที่ไม่เกิดแสง สามารถแยกออกได้เป็นประเภทต่างๆ ดังนี้

1. Vibrational Relaxation เป็นกระบวนการที่อิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะกระตุ้นของการสั่นในลำดับที่สูงกว่าพยายามที่จะกลับสู่สถานะพื้นของการสั่น กระบวนการดังกล่าวจะสูญเสียพลังงานออกมาในรูปของความร้อน หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งคือ Thermal Relaxation นั้นเอง ช่วงอายุของการเกิดนั้นจะอยู่ในช่วงประมาณ 10^{-12} วินาที

2. Internal Conversion เป็นการย้ายระดับชั้นพลังงานของอิเล็กตรอนจากสถานะกระตุ้นในลำดับชั้นที่สูงกว่าลงมาสู่ลำดับที่ต่ำกว่าที่มีค่าพลังงานเท่ากัน กระบวนการนี้จะไม่มีการสูญเสียพลังงานเกิดขึ้น ช่วงอายุของการเกิดนั้นจะอยู่ในช่วงประมาณ 10^{-12} วินาที

3. External Conversion กระบวนการนี้ส่วนใหญ่เป็นผลเนื่องจากการถ่ายทอดพลังงานระหว่างโมเลกุลที่ถูกกระตุ้นกับตัวทำละลาย หรือสารอื่นที่อยู่ในสารละลายที่ไม่ทำให้เกิดแสง

กระบวนการนี้มีผลอย่างมากต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ หาก External Conversion เกิดมาก การเกิดฟลูออเรสเซนซ์จะน้อย

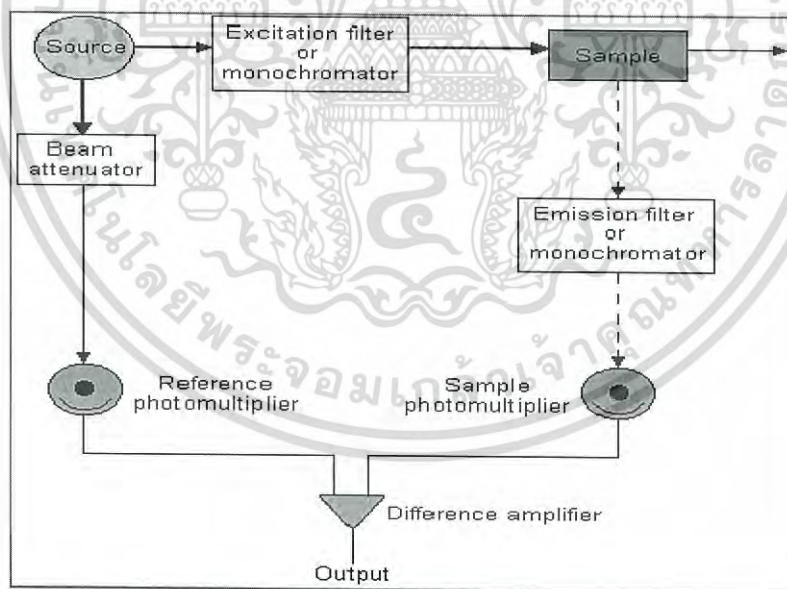
4. Intersystem Crossing เป็นกระบวนการที่โมเลกุลในสถานะกระตุ้นเกิดการเปลี่ยนแปลงการหมุนของอิเล็กตรอน แล้วทำให้เกิดการย้ายระดับชั้นพลังงานจากสถานะเชิงเดี่ยว (Singlet state) ไปยังสถานะที่สาม (Triplet state) ทั้งนี้โอกาสการเกิดจะมีเพิ่มขึ้น เมื่อลำดับชั้นพลังงานกระตุ้นทั้งสองซ้อนทับกัน

5. Quenching เป็นปรากฏการณ์การลดลงของความเข้มของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence intensity) ซึ่งอาจเกิดจากองค์ประกอบของสารละลายเอง (เรียกว่า เกิด Self-quenching) และหรือสารอื่นที่อยู่ในสารละลายนั้น หรือเรียกว่า Quencher (Q) โดยกระบวนการควENCHING จะทำให้อิเล็กตรอนไม่กลับคืนสู่สถานะพื้น

Quencher คือสารที่สามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับสารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ ทำให้คุณสมบัติในการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนไป เรียกว่า Static quencher หรือสารที่ลดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ โดยการชนกับโมเลกุลของสารทำให้เกิดการสูญเสียพลังงานในรูปความร้อน เรียกว่า Collisional quencher

2.3.2 เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

ส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 แสดงส่วนประกอบของเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ [18]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source)

ทำหน้าที่ให้แสง เพื่อกระตุ้นโมเลกุลที่ต้องการวิเคราะห์โดยแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้มีหลายชนิด ได้แก่ หลอดควิเทอเรียม หลอดไฟซีนอน หลอด Mercury vapor และเลเซอร์

2. ส่วนเลือกความยาวคลื่น (Wavelength selector)

ทำหน้าที่แยกความยาวคลื่น โดยมีสองโมโนโครเมเตอร์ คือ Excitation Monochromator ทำหน้าที่แยกและส่งผ่านความยาวคลื่นสำหรับทำให้เกิดการกระตุ้น และ Emission Monochromator ทำหน้าที่แยก emitted radiation ซึ่งมีความยาวคลื่นเท่ากับฟลูออเรสเซนซ์ ออกไปซึ่งจะต้องอยู่ในตำแหน่ง 90 องศา ของกันและกัน เพื่อลดความคลาดเคลื่อนในการวัด อันเนื่องมาจากการกระเจิงแสงในทุกทิศทางของสารละลายและผนังเซลล์

3. ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (Cell หรือ Cuvette)

ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ จะเลือกใช้เป็นควอตซ์ (100-800 นาโนเมตร) ที่ใสทั้ง 4 ด้าน

4. ตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector)

ตัวตรวจวัดที่ใช้ในสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ มี 2 ชนิด คือ Photomultiplier tube (PMT) ทำหน้าที่ตรวจวัดกระแสไฟฟ้า เมื่อแสงตกกระทบกับปโตไดโอด ภายในหลอด และ Photodiode (PD) ทำหน้าที่ ตรวจวัดปริมาณแสงที่แตกต่างกันตลอดช่วงความยาวคลื่นจะได้เป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของสารนั้นออกมา

5. ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (Signal Processor และ Data Read Out)

ทำหน้าที่ขยายสัญญาณ และแปรผลสัญญาณให้ออกมาในมาตราส่วนแบบล็อก (log scale) โดย สัญญาณที่ได้จากเครื่องจะผ่านเข้าวงจรอิเล็กทรอนิกส์ แล้วแสดงผลออกมาอาจเป็นอย่างไรอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างก็ได้ดังต่อไปนี้

- Meter or Digital Meter เป็นการแสดงผลแบบมิเตอร์หรือแบบตัวเลข อาจแสดงถึงปริมาณทางไฟฟ้าได้หลายประเภท เช่น ปริมาณกระแส ความจุไฟฟ้า เป็นต้น
- Recorder or Printer เป็นการแสดงผลแบบบันทึกข้อมูลหรือการพิมพ์เป็น กราฟ ตัวอักษร ตัวเลข แผนภูมิ สเปกตรัม เป็นต้น
- Computer or Microprocessor เป็นการแสดงผลด้วยคอมพิวเตอร์หรือหน่วยที่ทำหน้าที่ควบคุม ในระบบของ Microcomputer ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นบาง ขนาดเล็ก ทำหน้าที่สำหรับจดจำข้อมูล คำนวณผล และทำงานตามคำสั่ง

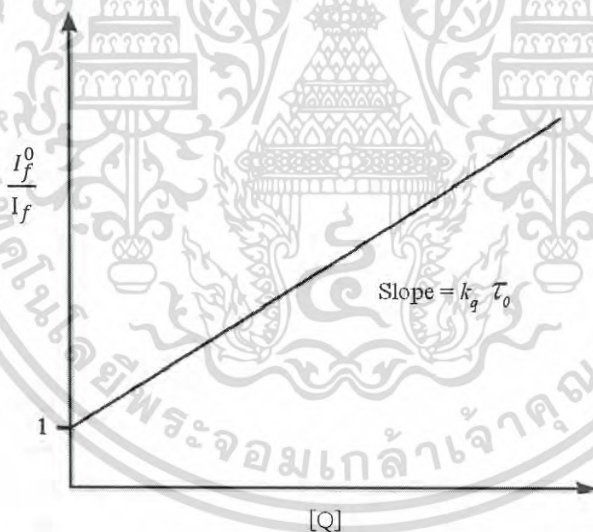
2.4 หลักการของ Stern – Volmer's Relationship [19]

Stern-Volmer equation เป็นสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence intensity) กับความเข้มข้นของไอออนที่มีผลต่อการลดการเรืองแสง (Quencher) ตามความสัมพันธ์ดังสมการที่ 1

$$\frac{I_f^0}{I_f} = 1 + k_q \tau_0 [Q] \dots \dots \dots (1)$$

- เมื่อ
- I_f^0 คือ Fluorescence intensity เมื่อไม่มี Quencher [Q]
 - I_f คือ Fluorescence intensity เมื่อมี Quencher [Q]
 - k_q คือ Quencher rate coefficient
 - τ_0 คือ Fluorescence lifetime ของสาร เมื่อไม่มี Quencher
 - [Q] คือ ความเข้มข้นของ Quencher

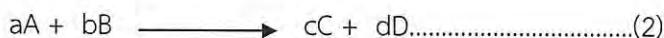
จากสมการ สามารถสร้างกราฟ Stern-Volmer ให้เป็นกราฟเส้นตรงได้ดังรูปที่ 2.6 โดยจุดตัดแกน y (y-intercept) จะเท่ากับ 1 เสมอ และสามารถประยุกต์ใช้กราฟและสมการเส้นตรงดังกล่าวในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis) เพื่อหาความเข้มข้นของตัว Quencher ใดๆ ได้



รูปที่ 2.6 แสดงความสัมพันธ์ตามสมการของ Stern – Volmer [19]

2.5 หลักการของ Job's method [20]

โดยทั่วไปปฏิกิริยาที่อยู่ในสถานะสมดุลสามารถเขียนได้ ดังสมการที่ 2



เมื่อ a, b, c, d คือค่าสัมประสิทธิ์แสดงจำนวนโมลของการเข้าทำปฏิกิริยา สำหรับสารประกอบ A, B, C, D ตามลำดับ

Foley และ Anderson (ค.ศ. 1948 และ 1949) ได้ทำการศึกษาหาอัตราส่วนของการเข้าทำปฏิกิริยาดังสมการที่ 2 โดยทำการวัดค่าความเข้มของสเปกตรัมที่ได้ออกจากการผสมกันของสารตั้งต้นในอัตราส่วนของจำนวนโมลที่แตกต่างกัน ซึ่งวิธีการหาสูตรอย่างง่ายของสารประกอบในลักษณะนี้เรียกว่าวิธีของ Job (Job's method)

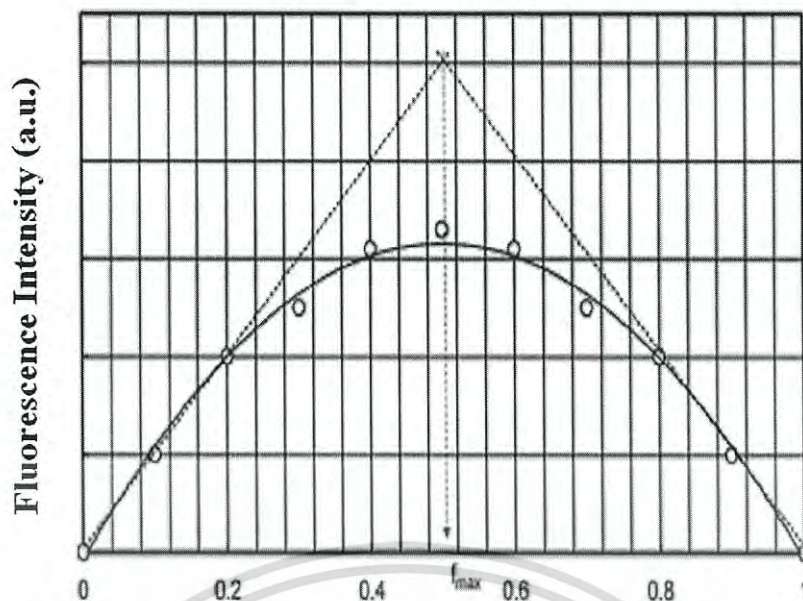
วิธีของ Job สามารถนำมาใช้ในการหาสูตรอย่างง่ายของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอออนตัวกลาง (M) กับ ลิแกนด์ (L) ซึ่งเกิดปฏิกิริยาได้ดังสมการที่ 3



เมื่อ m และ n คือ จำนวนโมลของการเข้าทำปฏิกิริยาพอดีของ M และ L ตามลำดับ ดังนั้นเศษส่วนโมลของลิแกนด์ในสารประกอบเชิงซ้อน คือ

$$f_L = \frac{n}{m+n} \dots \dots \dots (4)$$

ขั้นตอนการทดลองตามวิธีของ Job ทำได้โดยผสมสารละลายของสารตั้งต้นทั้งสองชนิดที่มีความเข้มข้นเท่ากันในหลายๆ อัตราส่วนที่แตกต่างกัน นั่นคือ ทำการเปลี่ยนแปลงเศษส่วนโมลของสารตั้งต้นทั้งสองชนิดนั่นเอง จากนั้นทำการวัดปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นซึ่งในที่นี้ทำได้โดยการวัดค่าการเรืองแสงของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นในสารละลาย โดยนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างค่าการเรืองแสงของสารประกอบเชิงซ้อน (Fluorescence intensity) กับเศษส่วนโมลของสารตั้งต้น (f_L) แสดงได้ดังกราฟรูปที่ 2.7 จากนั้นทำการหาค่าเศษส่วนโมลที่ให้ค่าการเรืองแสงสูงสุด (f_{max}) โดยหาได้จากการลากเส้นผ่านจุดจากทั้งสองข้างของกราฟให้ไปตัดกัน ซึ่ง f_{max} จะแสดงถึงอัตราส่วนของจำนวนโมลของสารตั้งต้นทั้งสองชนิดที่เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ค่า f_{max} ที่ได้จากกราฟรูปที่ 2.7 เท่ากับ 0.5 ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารตั้งต้นเข้าทำปฏิกิริยากันพอดีที่สัดส่วน 1:1 และสามารถเขียนสูตรอย่างง่ายของสารประกอบเชิงซ้อน เป็น [ML]



รูปที่ 2.7 แสดงตัวอย่างของกราฟที่ได้จาก Job's method [20]

2.6 ซีควนเชียลอินเจกชัน (Sequential Injection Analysis, SIA) [21]

SIA เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่อาศัยการไหลของของเหลวแบบต่อเนื่องภายในท่อขนาดเล็ก ซึ่งพัฒนาต่อยอดมาจากเทคนิคโฟลอินเจกชันอะนาลิซิส (Flow injection analysis หรือ FIA) [34] โดยมีการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการควบคุมการทำงานของวาล์วและปั๊ม เพื่อควบคุมระบบนำส่งของเหลวให้เป็นอัตโนมัติ เทคนิคนี้ให้ความแม่นยำและถูกต้องในการวิเคราะห์ อีกทั้งยังสะดวก รวดเร็ว จึงได้รับความนิยมนำมาประยุกต์ใช้กับงานวิเคราะห์ด้านต่างๆ เช่น ด้านการแพทย์ เภสัชกรรม อุตสาหกรรม สิ่งแวดล้อม การเกษตร และอื่นๆ

2.6.1 หลักการของ SIA [22]

การวิเคราะห์แบบซีควนเชียลอินเจกชันอาศัยหลักการ 3 หลักการดังนี้

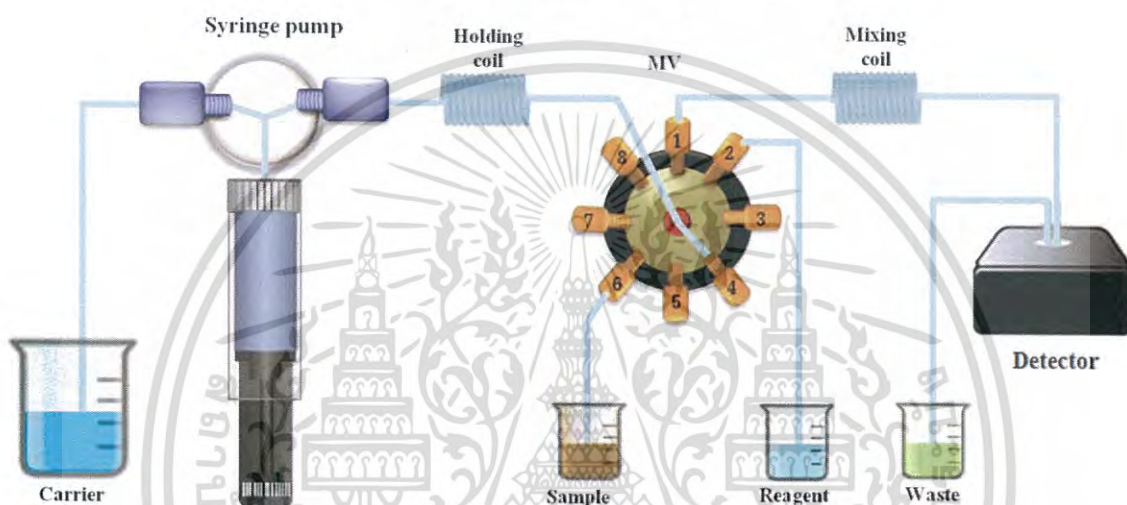
1. การไหลตัวอย่างเข้าสู่ระบบ (Sample injection) อาศัยคอมพิวเตอร์ในการควบคุม วาล์วและปั๊มในการหมุนเพื่อไหลตสารเข้าสู่ระบบพักไว้ที่โฮลดิ้งคอยล์ (Holding coil) ต่อจากนั้นจึงมีการไหลตรีเอเจนต์เข้าสู่ระบบ
2. การควบคุมการแพร่กระจายของของเหลว (Controlled dispersion) เมื่อผลึกท่อนโซน (สารตัวอย่างและรีเอเจนต์) ที่ได้จากการไหลตสาร เข้าสู่มีกซิงคอยล์ (Mixing coil) จะเกิดการแพร่กระจายของท่อนโซนในกระแสน้ำของตัวพา (Stream carrier) ในระหว่างการนำส่งสารไปยังเครื่องตรวจวัด (Detector) ต้องควบคุมการแพร่กระจายของของเหลวภายในระบบ ให้เหมือนกันในทุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่วิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ต้องการควบคุม เช่น อัตราเร็วในการตรวจวัด ความยาวท่อโฮลดิ้ง คอยด์และมิกซิงคอยด์ ลักษณะการขดโฮลดิ้งคอยด์และมิกซิงคอยด์ (เป็นรูปทรงกลมหรือเรขาคณิตอื่นๆ) เป็นต้น

3. ระยะเวลาที่ใช้ทำการตรวจวัดซ้ำๆ ได้ (Reproducible timing) เนื่องจากการวิเคราะห์แบบซีควนเซียลอินเจกชันเป็นระบบนำส่งของเหลวที่เป็นอัตโนมัติ และควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ทั้งระบบ จึงทำให้ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มฉีดสาร จนก่อนสารเคลื่อนที่ไปถึงเครื่องตรวจวัดจะคงที่เท่าๆ กันทุกครั้ง ทำให้มีความเที่ยงในการวิเคราะห์สูง

ระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสอย่างง่ายแสดงดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 แสดงระบบการวิเคราะห์แบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสอย่างง่าย; MV คือ มัลติซีเล็คชันวาล์ว (Multi-selection valve)

2.6.2 องค์ประกอบของระบบ SIA

1. ระบบขับเคลื่อน (Propulsion system) ทำให้เกิดการไหลของของเหลวไปยังส่วนต่างๆ ของระบบด้วยอัตราการไหลที่คงที่โดยใช้ไซริงค์ บีบ (Syringe pump)



รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของ Syringe pump [22]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ยืมได้หน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ระบบฉีด (Injection system) จะใช้ มัลติซีเล็คชันวาล์ว (Multi-selection valve) ซึ่งจะมีช่องตรงกลางทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างปั๊มกับช่องอื่นๆที่อยู่ล้อมรอบ ช่องที่อยู่ล้อมรอบนี้ อาจมีจำนวนช่องเป็น 4, 6 หรือ 8 ช่อง ช่องเหล่านี้จะใช้สำหรับดูดสารละลายตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ทำปฏิกิริยา (รีเอเจนต์) เข้ามาสู่ระบบ นอกจากนี้ ช่องตรงกลางยังทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างปั๊มกับเครื่องตรวจวัด เพื่อเป็นเส้นทางนำส่งสารผลิตภัณฑ์เข้าสู่เครื่องตรวจวัดอีกด้วย



รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของ Multi-selection valve [22]

3. ระบบการผสม (Mixing system) ระบบของการผสมสารละลาย จะประกอบด้วย ไฮลิตคอยด์ และมิกซิงคอยด์ ซึ่งสร้างขึ้นจากการนำท่อพลาสติกมาขดเป็นวงกลม (หรืออาจขดเป็นรูปทรงเรขาคณิตอื่นๆ) โดยหลังจากที่สารละลายตัวอย่างและรีเอเจนต์ ถูกดูดผ่านวาล์วเข้ามาและพักเก็บไว้ที่ไฮลิตคอยด์ จะทำให้ของเหลวเกิดการผสมกันเบื้องต้น (Pre-mixing) เมื่อท่อนโซนของเหลวทั้งหมดถูกผลักผ่านมิกซิงคอยด์ จะเกิดการผสมกันมากขึ้น เพราะโดยปกติ มิกซิงคอยด์ จะมีความยาวมากกว่า ไฮลิตคอยด์



รูปที่ 2.11 แสดงลักษณะของ Mixing coil [23]

4. ระบบตรวจวัด (Detection system) จะใช้ โฟลทรูเซลล์ (Flow through cell) โดยบรรจุอยู่ในเครื่องตรวจวัด โฟลทรูเซลล์นี้จะต้องมีรูปร่างลักษณะเหมาะสมกับชนิดของเครื่องตรวจวัดที่ใช้
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



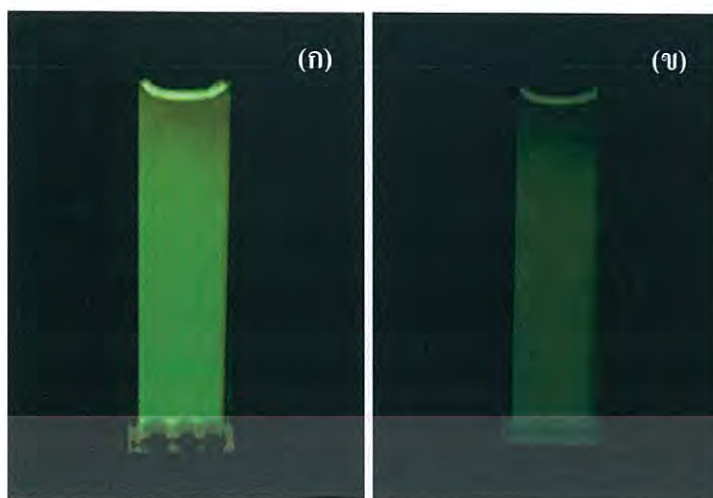
รูปที่ 2.12 แสดงลักษณะของ Flow through cell ใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ [23]

การทำงานของอุปกรณ์ต่างๆ ในระบบ SIA จะถูกควบคุมโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ กระบวนการวิเคราะห์จะเริ่มจากดูดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบไปพักไว้ยังโหนดคอยด์ แล้วหมุนวาล์วอีกครั้ง ไปยังตำแหน่งรีเอเจนต์เพื่อดูดรีเอเจนต์เข้าสู่ระบบไปพักที่โหนดคอยด์ ซึ่งมีท่อนโซนของสารตัวอย่างถูกเก็บไว้ก่อนหน้านี้แล้ว จากนั้นปั๊มจะทำงานโดยผลักโซนของสารตัวอย่างและโซนของรีเอเจนต์ไปยังมิกซิงคอยด์ เกิดเป็นโซนของสารผลิตภัณฑ์เกิดขึ้น ซึ่งจะไหลต่อไปยังเครื่องตรวจวัด เพื่อทำการตรวจวัดต่อไป

2.7 หลักการตรวจวัดของงานวิจัยนี้ [24]

หลักการของการตรวจวัดระหว่างปรอท (II) กับฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์หรือฟลูออโรไอโอโนฟอร์ อาศัยการเกิดโคออดิเนต (coordination interaction) และการสร้างพันธะระหว่างอะตอมของปรอท (II) ซึ่งจัดเป็น soft acid กับฟลูออโรไอโอโนฟอร์ซึ่งจัดเป็น soft base โดยอะตอมของปรอท (II) มีขนาดใหญ่ทำให้เกิดโพลาไรซ์ได้ง่ายส่วนฟลูออโรไอโอโนฟอร์ จะมีหมู่ฟังก์ชันที่มีอะตอมไนโตรเจนและอะตอมซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ทำหน้าที่ให้คู่อิเล็กตรอนแก่ปรอท (II) เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างฟลูออโรไอโอโนฟอร์กับปรอท (II) ซึ่งกระบวนการตรวจจับปรอท (II) ของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ในงานวิจัยนี้จะให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในลักษณะการเปิด-ปิดสวิตช์ไฟ (On-off system) ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ในสภาวะที่สารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ไม่มีปรอท (II) เซ็นเซอร์สามารถให้ค่าการเรืองแสงออกมาในปริมาณความเข้มแสงสูง แต่เมื่อมีปรอท (II) อยู่ในสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ ปรอท (II) จะจับกับสารละลายฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ ทำให้ค่าการเรืองแสงของเซ็นเซอร์ลดลง ดังรูปที่ 2.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่อยู่ภายใต้สภาวะแสงแสงยูวีเมื่อไม่มีปรอท (ก) และเมื่อมีปรอท (ข)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.8.1 งานวิจัยที่ใช้วิธีมาตรฐานในการตรวจวัดปรอท

สำนักงานคุ้มครองสิ่งแวดล้อม สหรัฐอเมริกา (Environmental Protection Agency, USEPA) [25] USEPA ได้กำหนดวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทคือวิธี Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry (CV-AAS) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (Method 245.7) ฉบับที่ EPA-821-R-05-001 ประจำเดือนกุมภาพันธ์ 2005 ซึ่งวิธี CV-AAS เป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับว่าให้ผลการวิเคราะห์ถูกต้องน่าเชื่อถือ จากวิธีการนี้จะใช้หาปริมาณปรอทสำหรับน้ำดื่ม น้ำทะเล น้ำกร่อย น้ำอุปโภคบริโภค รวมถึงน้ำเสียจากอุตสาหกรรมในประเทศสหรัฐอเมริกา เอกสารฉบับนี้ได้กล่าวถึงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง หลักการตรวจของวิธี CV-AAS การหาปริมาณปรอททั้งหมด (Total mercury) จากปรอทสปีชีส์ต่างๆ เช่น CH_3HgCl , $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ และ $\text{C}_6\text{H}_5\text{HgOOCCH}_3$ เป็นต้น โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวรีดิวซ์ คือ SnCl_2 พบว่ามีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 1.8 นาโนกรัมต่อลิตร เมื่อทำการสอบเทียบมีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 5 - 100 นาโนกรัมต่อลิตร การวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วง 63 - 111 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในประเทศไทย กรมควบคุมมลพิษก็ใช้วิธี CV-AAS เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทเช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2 งานวิจัยที่ใช้ฟลูออโรฟอร์ ในการตรวจวัดปรอท

W. J. Qu และคณะ [26] ทำการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) เซ็นเซอร์ดังกล่าวคือ (E)-1-((5-(4-nitrophenyl)furan-2-yl) methylene) semicarbazone (BI) โดยสังเคราะห์จาก 5-(4-nitrophenyl)-2-furan และเคมีคาร์บาไซด์ นำมาใช้ในการตรวจวัดปรอท (II) ในน้ำ และใช้สารละลายบัฟเฟอร์ HEPES พีเอช 7.4 มีค่าการดูดกลืนแสงและการคายแสงเป็น 417 และ 568 นาโนเมตรตามลำดับ เมื่อ BI เกิดปฏิกิริยากับปรอท (II) จะทำให้ยึดเกาะกันเองและเกิด supramolecular ได้น้อยลง ขนาดก็ลดลง ทำให้ค่าการเรืองแสงมีค่าต่ำลง และมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 2.084 นาโนโมลาร์ จากการศึกษพบว่า BI เซ็นเซอร์สามารถตรวจวัดปรอท (II) ซ้ำได้ถึง 10 ครั้ง และสามารถนำ BI กลับมาใช้ใหม่โดยการใช้ไอออนของไอโอดีน เพื่อดึงปรอท (II) ออกจาก BI เซ็นเซอร์

Y. Y. และคณะ [27] ได้ทำการพัฒนาฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) เซ็นเซอร์ดังกล่าวคือ Perylene - 3, 4, 9, 10 - tetracarboxylic dianhydride ซึ่งเป็นรงควัตถุอินทรีย์ โดยการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ จะอาศัยกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ระหว่างไฮโดรเจนซัลไฟด์กับเซ็นเซอร์ ภายใต้สภาวะสารละลายบัฟเฟอร์ HEPES พีเอช 7.4 โดยเซ็นเซอร์จะให้แสงฟลูออเรสเซนต์สีเขียว มีค่าการดูดกลืนแสงและการคายแสงเป็น 400 และ 499 นาโนเมตรตามลำดับ และทำการตรวจวัดปรอท (II) โดยอาศัยการควENCHING กล่าวคือ เมื่อฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จับกับปรอท (II) ปรอทจะไปแย่งจับกับกลุ่มกำมะถันของเซ็นเซอร์ได้ดีกว่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ จึงทำให้ค่าการเรืองแสงมีค่าลดลง มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 25 นาโนโมลาร์ และประยุกต์ใช้ในตัวอย่างชีวภาพได้อย่างดี

Y. Y. และคณะ [28] ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) โดยใช้เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ชื่อว่า Pyrene-based Mercury (II) Sensor (PMS) ซึ่งสังเคราะห์มาจาก 2,3,3-trimethylindolenine และมีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปรอท (II) มากกว่าแคตไอออนตัวอื่นๆ อาทิเช่น โพแทสเซียม (I), โซเดียม (I), แคลเซียม (II), แมกนีเซียม (II), ตะกั่ว (II) และ ทองแดง (II) จึงเหมาะกับการใช้เป็นเซ็นเซอร์ สำหรับตรวจวัดปรอท (II) ในน้ำหรือสารละลายมีขุ่นอื่นๆ โดยมีค่าการดูดกลืนแสงและการคายแสงเป็น 340 และ 381 นาโนเมตรตามลำดับ พบว่าเมื่อปริมาณของปรอทเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่าความเข้มแสงลดลงคือเกิดกระบวนการควENCHING (Quenching) เนื่องจากเกิดการเคลื่อนที่แลกเปลี่ยนระหว่างปรอท และ PMS ซึ่งจะเรียกว่าผลของอะตอมหนัก (heavy atom effect)

H. Dai และ H. Xu [29] ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) โดยใช้ 1,8-naphthalimide ซึ่งเป็นเซ็นเซอร์ที่เป็นสารไดโอะเลฟินส์ จากการตรวจวัดพบว่า เซ็นเซอร์มีความจำเพาะเจาะจงสูง สามารถตรวจวัดได้ทั้งแบบวัดการเรืองแสงด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ และวัดการเปลี่ยนสีด้วยตาเปล่า ในการตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์จะออกแบบให้เซ็นเซอร์มีลักษณะทำงานแบบ donor-acceptor-donor มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปรอท (II) มากกว่าไอออนโลหะตัวอื่นๆ โดยทำการติดตามที่ค่าการดูดกลืนแสงและการคายแสงเป็น 424 และ 562 นาโนเมตรตามลำดับ

X. M. Meng และคณะ [30] ได้พัฒนาสีย้อมเพื่อใช้เป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ คือ FS1 และ FS2 สำหรับใช้ในการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) ในตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้ง่ายและมีความเสถียร โดยเตรียมขึ้นจาก N,N-bis-(chloroethyl) aniline ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน dimethylformamide และ phosphorus oxychloride หลังจากนั้นเติม 4-chlororesorcinol ในกรด methanesulfonic และขั้นตอนสุดท้ายเติมสารละลาย sodium dimethylcarbamodithioate ใน ethanol ตามลำดับ ภายใต้สภาวะที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 พบว่าค่าความยาวคลื่นสูงสุดที่เรืองแสงสูงสุดของ FS1 และ FS2 เป็น 488 และ 505 นาโนเมตร และมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 20 ± 5 นาโนโมลาร์ (ประมาณ 4.0 ไมโครกรัมต่อลิตร)

N. Aksuner และคณะ [31] ได้ทำการสังเคราะห์และ พัฒนาการเชื่อมพันธะของ triazine-thione เป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) โดยทำการสังเคราะห์ 4-ethyl-5-hydroxyl-5,6-di-pyridin-2-yl-4,5-dihydro-2H-[1,2,4]triazine-3-thione ขึ้น พบว่ามีความจำเพาะเจาะจงต่อปรอท (II) สูง โดยสามารถวิเคราะห์ปริมาณปรอทได้ในช่วง 5.0×10^{-10} - 5.0×10^{-5} โมลต่อลิตร มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเป็น 1.8×10^{-10} โมลต่อลิตร และได้นำเซ็นเซอร์นี้ไปใช้ในตัวอย่างน้ำประปาและเส้นผม และประเมินความน่าเชื่อถือของวิธีนี้เทียบกับวิธี CV-AFS

Q. Lin และคณะ [32] ได้ทำการสังเคราะห์ให้มือนุพันธ์ชนิดใหม่ของ Squaraine (SQ) เพื่อใช้เป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยออกแบบให้มีการผูกติด (Tagging) SQ กับปรอท (II) สำหรับตรวจวัดหาปริมาณ Cysteine (Cys) ในตัวอย่างเครื่องดื่มที่มีกรดอะมิโน โดยอาศัยการแย่งจับระหว่าง Cys และปรอท (II) กับ SQ นำไปสู่การการเรืองแสงและการดูดกลืนแสงของ SQ การจับของ Cys กับ SQ ส่งผลให้ค่าการคายแสงของ SQ เพิ่มขึ้น ความยาวคลื่นแสงการกระตุ้นและการคายแสงเป็น 630 และ 664 นาโนเมตร ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์หัวสุดอ้างอิงเป็นร้อยละ 0.59 และมีร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วง 100.3-102.8

N. Wanichacheva และคณะ [33] ได้พัฒนาคัลเลอรีเมตริกเซ็นเซอร์และฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ โดยทำการสังเคราะห์ 2-[3-(2-aminoethylthio) propylthio]ethanamine เพื่อสร้างอนุพันธ์กับ Rhodamine-B ซึ่งเซ็นเซอร์ทั้ง 2 แบบนี้ โดยเฉพาะฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ จะมีสภาพไวสูงและมีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปรอท (II) ซึ่งตรวจวัดการเปลี่ยนสีของสารละลายโดยใช้ตาเปล่า (เปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูถึงสีแดง) มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) เป็น 10 ไมโครกรัมต่อลิตร ในแง่ของการเป็นฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์พบว่า เกิดการควENCHING เมื่อจับกับปรอท (II) และมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดปริมาณปรอท (II) เป็น 20 ไมโครกรัมต่อลิตร

L. D. Chebrolu และคณะ [34] ได้ทำการพัฒนาเซ็นเซอร์ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ทั้งทองแดง (II) และปรอท (II) เซ็นเซอร์ดังกล่าวมาคือ diethylamino quinolinecarboxal dehyde (AQC) ซึ่งสามารถตรวจสอบทั้งสองไอออนได้ สภาพไวสูงและมีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจจับปรอท (II) มากกว่าทองแดง (II) โดยจะเปลี่ยนจากสารละลายสีเหลืองเป็นใสไม่มีสีและสีชมพูถึงสีแดงเมื่อจับกับทองแดง (II) และปรอท (II) ตามลำดับ มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 25 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 360 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยสามารถติดตามค่าการดูดกลืนแสงของทองแดง (II) เป็น 412 และ 530 นาโนเมตร และปรอท (II) เป็น 412 และ 537 นาโนเมตร ซึ่ง AQC สามารถเคลือบบนพื้นผิวแก้วเพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ง่ายๆ ที่สามารถนำมาใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์ไอออนทั้งสองในตัวอย่างน้ำและสารละลายได้

2.8.3 งานวิจัยที่ใช้ฟลูออโรฟอร์ ในการตรวจแคตไอออนอื่นๆ

D. Wang และคณะ [35] ได้พัฒนาฟลูออเรสเซนซ์โดยสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซินเพื่อตรวจวัดสังกะสีในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยฟลูออโรฟอร์ที่ได้ มีการดูดกลืนแสงและคายแสงในช่วงความยาวคลื่น 346 และ 400 นาโนเมตร ตามลำดับ พบว่าการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจะ เปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลือง และเมื่อปริมาณของสังกะสีเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่าความเข้มแสงเพิ่มขึ้นตามไปด้วย และมีปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 30 ไมโครโมลต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มี เอทานอลต่อ HEPES บัฟเฟอร์ (1: 1 v/v) พีเอช 7.2

C. Khwanchanok และคณะ [36] ได้ทำการพัฒนาฟลูออเรสเซนซ์โดยสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน โดยทำการสังเคราะห์ azo-fluorescein เพื่อตรวจวัดสังกะสีในสิ่งแวดล้อม เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของสังกะสีกับ azo-fluorescein โดยฟลูออโรฟอร์ที่ได้ มีการดูดกลืนแสงและคายแสงในช่วงความยาวคลื่น 490 และ 517 นาโนเมตร ตามลำดับ พบว่าการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลือง และเมื่อปริมาณของสังกะสีเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่าความเข้มแสงเพิ่มขึ้นตามไปด้วย และมีปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 1.2 ไมโครโมลต่อลิตร

2.8.4 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคที่อาศัยการไหลในการตรวจวัดปรอท

1. เทคนิคโพลอินเจกชันอะนาลิซิส

N. Aminin และคณะ [37] ได้เสนอวิธีการหาปริมาณปรอท (II) ในน้ำด้วยระบบโพลอินเจกชันอะนาลิซิสที่มีแก๊สดีฟฟิวชันเมมเบรน (Teflon membrane) ในการแยกไอปรอทและตรวจวัดด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี การวิเคราะห์ทำได้โดยฉีดน้ำตัวอย่างลงไปในการละลายสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1.5 โมลต่อลิตร (สารละลายตัวพา) หลังจากนั้น น้ำตัวอย่างจะไหลมาผสมกับสารละลายสแตนด์สแตนดาร์ดเข้มข้นร้อยละ 0.6 โดยปริมาตร (สารละลายตัวรีดิวซ์) เกิดเป็นไอปรอท (Hg(0)) โดยไอปรอทที่เกิดขึ้นจะแพร่ผ่านแก๊สดีฟฟิวชันเมมเบรนลงไปในการละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 1.75×10^{-4} โมลต่อลิตร สารละลายตัวรับและตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโพแทสเซียม ซึ่งจะลดลงเมื่อปริมาณปรอท (II) เพิ่มขึ้น และอีกงานวิจัยหนึ่งของ N. Aminin และคณะ [38] ได้เสนอวิธีการหาปริมาณปรอท (II) ในน้ำด้วยระบบโพลอินเจกชันอะนาลิซิสที่มีแก๊สดีฟฟิวชันเมมเบรนในการแยกไอปรอทเช่นเดียวกัน แต่จะทำการตรวจวัดหาปริมาณปรอท (II) ด้วยวิธีเคมีลูมิเนสเซนซ์สเปกโตรเมทรี การตรวจวัดทำได้โดยเมื่อไอปรอทที่แพร่ผ่านเมมเบรนลงมาในการละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ไอปรอทจะถูกออกซิไดส์กลับกลายเป็นปรอท (II) แล้วจะไหลไปรวมกับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide; H_2O_2) และสารละลายลูมินอล (Luminol) ตามลำดับ เกิดปฏิกิริยา Luminol- H_2O_2 reaction ซึ่งจะเกิดแสงเคมีลูมิเนสเซนซ์เกิดขึ้นโดยปรอท (II) โดยความเข้มของแสงจะแปรผันตามปริมาณปรอท (II)

M. Andae และคณะ [39] ได้พัฒนาระบบโพลอินเจกชันอะนาลิซิสอย่างง่ายและตรวจวัดการเรืองแสง โดยใช้เมอเร็กไซด์ (Murexide หรือ Ammonium purpurate) เป็นฟลูออโรฟอร์ในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (II) ในตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมและตัวอย่างยา การตรวจวัดจะอาศัยการลดลงของความเข้มของการเรืองแสงของเมอเร็กไซด์ที่ความยาวคลื่นในการเรืองแสงเท่ากับ 435 นาโนเมตร

O. Wurl และคณะ [40] ได้พัฒนาระบบโพลอินเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเทคนิค Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry (CVAAS) ในการตรวจวัดปริมาณปรอททั้งหมด (total mercury) ในน้ำทะเล ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่า กราฟมาตรฐานเป็น $p = 0.039c + 0.0813$ (p คือ พื้นที่พีค และ c คือ ความเข้มข้น) $r = 0.9996$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์ปรอทความเข้มข้น 0.5 นาโนกรัมต่อลิตรเป็นร้อยละ 3.8 ค่าเบี่ยงเบน

มาตรฐานสัมพัทธ์ในการทำซ้ำ (Reproducibility) ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมงเป็นร้อยละ 6.2 มีร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับ มากกว่า 90 ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 6 นาทีต่อตัวอย่าง

2. เทคนิคซีควอนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิส

J.F. van Staden และคณะ [41] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (II) และไอออนของโลหะอื่นๆ เช่น ตะกั่ว (II), ทองแดง (II), สังกะสี (II), โคบอลต์ (II), แคดเมียม (II) และเหล็ก (III) โดยระบบซีควอนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิส ใช้ร่วมกับฟิล์มบางในการสกัดและใช้เทคนิค Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry ในการตรวจวัด โดยสามารถวิเคราะห์ปริมาณปรอทได้ในช่วง $1.0 - 10.0 \times 10^{-3}$ กรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเป็น 1.0×10^{-3} กรัมต่อลิตร และมีความเร็วในการวิเคราะห์เป็น 27 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

C. Fernandez และคณะ [42] ได้พัฒนาแนวคิดใหม่สำหรับการวิเคราะห์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยประยุกต์ใช้ระบบซีควอนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสร่วมกับเครื่อง High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) เพื่อตรวจวัดปริมาณเมทิลเมอร์คิวรี ฟีนิลเมอร์คิวรี และไดฟีนิลเมอร์คิวรี ในตัวอย่างน้ำและปัสสาวะแบบออนไลน์ และใช้เทคนิค Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry ในการตรวจวัด ซึ่งการใช้ เทคนิค SIA/HIFU/FIA จะสามารถนำสารเคมีที่ใช้แล้วไปใช้ซ้ำได้ ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเป็น 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมลิตร และมีความเร็วในการวิเคราะห์เป็น 9 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

A. N. Anthemidis และคณะ [43] ได้พัฒนาวิธีที่ง่ายและมีประสิทธิภาพสูงในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (II) ในน้ำตามธรรมชาติและตัวอย่างทางชีวภาพ ด้วยระบบซีควอนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสและตรวจวัดด้วยวิธี Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry โดยทำการดูดและผลึกสารละลายตัวอย่างรวมทั้งรีเอเจนต์ซึ่งเป็นตัวรีดิวส์ คือ SnCl_2 ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เข้าไปใน gas-liquid separator ในสภาวะกรดและจะถูกแยกไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยแก๊สอาร์กอน วิธีนี้สามารถวิเคราะห์หาตัวอย่างได้สูงถึง 25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.05-5.00 ไมโครกรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดของการตรวจวัดเป็น 0.02 ไมโครกรัมต่อลิตร และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นร้อยละ 2.6 ที่ความเข้มข้นปรอท (II) เป็น 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร

F.M. Bauza de Miraco และคณะ [44] ได้เสนองานวิจัยเรื่องการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (II) ในเนื้อปลาและตะกอนดินทะเลด้วยระบบซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิส ตรวจวัดด้วยวิธี Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry โดยจะใช้ Crison automatic Compact Titrator ดูดและผลึกสารละลายตัวอย่างรวมทั้งรีเอเจนต์เข้าไปใน gas-liquid separator ไอปรอทที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างปรอท (II) กับสารละลายสแตนนัสคลอไรด์ในสภาวะกรดจะถูกแยกและพาไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยแก๊สไนโตรเจนโดยสามารถวิเคราะห์ปริมาณปรอทได้ในช่วง $2.0 - 5.0 \times 10^{-6}$ กรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเป็น 0.34×10^{-6} กรัมต่อลิตร และมีความเร็วในการวิเคราะห์เป็น 30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

Y. Zhang และคณะ [45] ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิสร่วมกับเทคนิค Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry พบว่าวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ถึง 180 ตัวอย่างต่อชั่วโมง มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเป็น 0.2-0.3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถวิเคราะห์ปรอทได้ในช่วง 0-60 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ปริมาตรสารตัวอย่าง 0.2-0.6 มิลลิลิตร โลหะอื่นๆไม่ส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ การวิเคราะห์ตัวอย่างตะกอนดินและวัสดุอ้างอิงมีร้อยละการวิเคราะห์คืนกลับเฉลี่ยเท่ากับ 101.2 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงเป็นร้อยละ 1.8

O. Elsholtz และคณะ [46] ได้พัฒนาการตรวจวัดหาปริมาณปรอท ด้วยระบบระบบซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิส ขั้นตอนการวิเคราะห์จะมีการย่อยตัวอย่าง โดยใช้แบเรียมคลอไรด์กับการฉายรังสียูวีแบบออนไลน์ และใช้เทคนิค Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry ในการตรวจวัด ควบคุมระบบทั้งหมดด้วยซอฟต์แวร์ "FIMS-Master" สามารถวิเคราะห์ปรอทได้ในช่วง 20-1000 นาโนกรัมต่อลิตร ระยะเวลาในการเปลี่ยนสลับวาล์ว 1 วินาที วิเคราะห์ได้ 9 ตัวอย่าง และระบบการวิเคราะห์แบบฉีดเป็นลำดับนี้ สามารถตรวจสอบหาปริมาณปรอทปนเปื้อนในแม่น้ำ Schnackenburg และ Schmilka ของเยอรมัน ซึ่งยาวถึง 474.5 และ 4.0 กิโลเมตรได้ตามลำดับ

3. เทคนิคที่อาศัยการไหลแบบอื่นๆ

L.O. Leal และคณะ [47] ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบ Multi Syringe Flow Injection ร่วมกับเทคนิค Cold- Vapor Atomic Absorption Spectrometry สารตัวอย่าง สารรีดิวซ์ (1.1% SnCl₂ ใน 3% HCl) และสารละลายตัวพา carrier (3% HCl) ที่จะถูกส่งเข้าสู่ Separation cell โดย Multisyringe burette ที่เชื่อมต่อกับ Three-way solenoid valve ด้วยปริมาตรที่คงที่ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม สามารถวิเคราะห์ปรอทได้ในช่วง 50-5000 นาโนกรัมต่อลิตรมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเป็น 5 นาโนกรัมต่อลิตรค่าเบี่ยงเบน

มาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์ปรอทความเข้มข้น 250 นาโนกรัมต่อลิตรเป็นร้อยละ 1.4 สามารถวิเคราะห์หาตัวอย่างได้สูงถึง 11 ตัวอย่างต่อชั่วโมง โดยสามารถวิเคราะห์ปริมาณปรอทได้ในช่วง 5.0×10^{-10} - 5.0×10^{-6} กรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเป็น 5.0×10^{-19} กรัมต่อลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยวิธีมาตรฐาน

เทคนิค	ตัวอย่าง	คุณลักษณะเด่นในการวิเคราะห์ (Analytical performances)					Through put (sample h ⁻¹)	หมายเหตุ	อ้างอิง
		Organic dye	Linear working range	LOD	% RSD	% Recovery			
CV-AAS	น้ำดื่ม น้ำทะเล	-	5.0 – 100.0 ng L ⁻¹	1.8 ng L ⁻¹	-	63 – 111	-	เกณฑ์คุณภาพน้ำเพื่อคุ้มครองสุขภาพมนุษย์ ของ Environmental Protection Agency (USEPA) Method 245.7 ฉบับที่ EPA-821-R-05-001	[25]

ตารางที่ 2.3 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วย Fluorophore-based method

เทคนิค	ตัวอย่าง	คุณลักษณะเด่นในการวิเคราะห์ (Analytical performances)						หมายเหตุ	อ้างอิง
		Organic dye	Linear working range	LOD	% RSD	% Recovery	Through put (sample h ⁻¹)		
Fluorometry using fluorophore / organic dye	น้ำธรรมชาติ	(E)-1-((5-(4-nitrophenyl) furan-2-yl) methylene) semicarbazone (BI)	-	2.084 nmol L ⁻¹	-	-	-	อาศัยหลักการซูพราโมเลกุลาร์ (Supramolecular) สามารถตรวจวัดปรอท (II) ซ้ำได้ถึง 10 ครั้ง	[26]
	น้ำธรรมชาติ	perylene - 3, 4, 9, 10 - tetracarboxylic dianhydride	-	25 nmol L ⁻¹	-	-	-	อาศัยกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ระหว่างไฮโดรเจนซัลไฟด์กับโพรบ	[27]
	น้ำธรรมชาติ	Pyrene-based Mercury (II) Sensor (PMS)	0-2.0×10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	5.0×10 ⁻⁷ mol L ⁻¹	-	-	-	กระบวนการควอนซิง เนื่องจากการเกิดการเคลื่อนที่	[28]

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

เทคนิค	ตัวอย่าง	คุณลักษณะเด่นในการวิเคราะห์ (Analytical performances)					หมายเหตุ	อ้างอิง
		Organic dye	Linear working range	LOD	% RSD	% Recovery		
Fluorometry using fluorophore / organic dye	น้ำธรรมชาติ	1,8-naphthalimide-based	$0-5.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$1.9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	-	-	-	แบบเซ็นเซอร์ให้เป็นระบบ donor-acceptor-donor [29]
	น้ำธรรมชาติ	FS1 และ FS2	-	$4 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	-	-	-	เซ็นเซอร์ FS1 และ FS2 มี $\lambda_{em} = 488$ และ 505 นาโนเมตร [30]
	น้ำประปา และเส้นผม	4-ethyl-5-hydroxy-6-(2-pyridin-2-yl)-4,5-dihydro-2H-[1,2,4]triazine-3-thione	$5.0 \times 10^{-10} - 5.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$1.8 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$	-	-	-	% Relative error < 5 [31]

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

เทคนิค	ตัวอย่าง	คุณลักษณะเด่นในการวิเคราะห์ (Analytical performances)					หมายเหตุ	อ้างอิง
		Organic dye	Linear working range	LOD	% RSD	% Recovery		
Fluorometry using fluorophore / organic dye	เครื่องดื่มที่มีกรดอะมิโน	Squaraine (SQ)	-	-	0.59	100.3-102.8	-	ออกแบบให้ SQ ติดกับโปรท(II) และหาปริมาณ Cysteine [32]
	น้ำธรรมชาติ	2-[3-(2-aminoethylthio)propylthio]ethanamine	-	$10 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	-	-	-	สร้างอนุพันธ์กับ Rhodamine-B [33]
	น้ำประปาและเส้นผม	diethylamino quinolinecarboxaldehyde (AQC)	-	$25 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	-	-	-	สามารถวัดได้ทั้งทองแดง (II) และโปรท (II) [34]

ตารางที่ 2.4 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วย Flow/Sequence injection analysis

เทคนิค	ตัวอย่าง	คุณลักษณะเด่นในการวิเคราะห์ (Analytical performances)						หมายเหตุ	อ้างอิง
		ชนิดของ organic dye	ช่วงความเป็นเส้นตรง	LOD	% RSD	% Recovery	อัตราการตรวจวัด		
Flow injection analysis CVAAS	น้ำธรรมชาติ	-	$20.0 - 200 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	$4 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	1.5	97- 99	8 h^{-1}	-	[37]
	เนื้อปลา	-	$50-5000 \times 10^{-9} \text{ g L}^{-1}$	$5 \times 10^{-9} \text{ g L}^{-1}$	1.4	-	11 h^{-1}	-	[47]
	น้ำทะเล	-	$0.5 - 5 \times 10^{-9} \text{ g L}^{-1}$	$0.5 \times 10^{-9} \text{ g L}^{-1}$	< 7	> 90	10 h^{-1}	-	[40]
Sequence injection analysis CVAAS	น้ำประปาและปัสสาวะ	-	$1-10 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$	$1 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$	-	-	27 ตัวอย่างต่อชั่วโมง	ใช้ Thin-film Sequential Injection Extraction (SIE) ในการสกัด	[41]
	น้ำประปาและปัสสาวะ	-	-	$30 \times 10^{-3} \text{ g Kg}^{-1}$	-	-	9 ตัวอย่างต่อชั่วโมง	ใช้ร่วมกับเครื่อง High Intensity Focused Ultrasound (HIFU)	[42]

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

เทคนิค	ตัวอย่าง	คุณลักษณะเด่นในการวิเคราะห์ (Analytical performances)						หมายเหตุ	อ้างอิง
		ชนิดของ organic dye	ช่วงความเป็นเส้นตรง	LOD	% RSD	% Recovery	อัตราการตรวจวัด		
Sequence injection analysis CVAAS	น้ำธรรมชาติ	-	$0.05-5.00 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	$0.02 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	2.6	-	25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง	ใช้ 2.5 เปอร์เซ็นต์ SnCl_2 เป็นตัวรีดิวส์ ร่วมกับ gas-liquid separator	[43]
	น้ำธรรมชาติ	-	$2-50 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	$0.34 \times 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$	0.95	-	30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง	ใช้ Crison automatic Compact Titrator ดูดและผลึกสารละลายเข้าไปใน gas-liquid separator	[44]
	น้ำธรรมชาติ	-	$0-60 \times 10^{-9} \text{ g L}^{-1}$	$0.2-0.3 \times 10^{-9} \text{ g L}^{-1}$	1.8	101.2	-	ใช้แบเรียมคลอไรด์กับการฉายรังสียูวีแบบออนไลน์	[45]
	น้ำประปาและปัสสาวะ	-	$20-1000 \text{ ng L}^{-1}$	$1 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$	-	-	9 ตัวอย่างต่อชั่วโมง	ใช้ ซอฟต์แวร์ “FIMS-Master”	[46]

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน* (E)-2-(6-hydroxy-3-oxo-5((3-sulphophenyl)diazenyl)-4,4a-dihydro-3H-xanthen-9-yl)benzoic acid	-	-	-
ปรอทคลอไรด์ (Mercury chloride) (AR)	HgCl ₂	99.0	Carlo Erba, Italy
เมทานอลบริสุทธิ์ (Absolute Methanol) (AR)	CH ₃ OH	99.0	Carlo Erba, Italy
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) (AR)	NaOH	98.0	Rankem, India
กรดซิตริก (Citric acid) (AR)	C ₆ H ₈ O ₇ •2H ₂ O	99.5	Carlo Erba, Italy
ไดโซเดียมฟอสเฟต (Disodium phosphate) (AR)	Na ₂ HPO ₄ •7H ₂ O	98.0-102.0	Fisher, UK

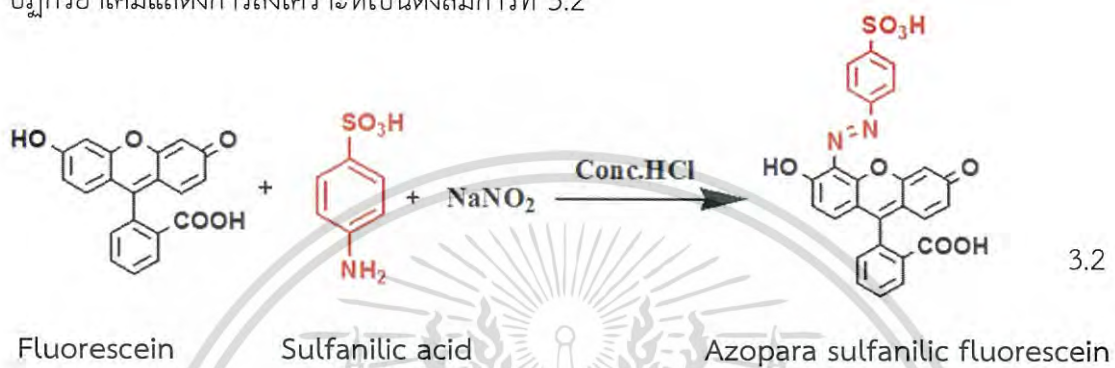
หมายเหตุ * ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.ภาณุมาศ ทองอยู่ และนางสาวขวัญชนก จันทลักขณา ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. ปีกเกอร์
3. ปิเปต และไมโครปิเปต
4. หลอดหยด
5. กระจบอกลง
6. นาฬิกาจับเวลา
7. หลอดทดลองพร้อมที่วาง
8. เครื่องวัด pH-Metrohm, 827 pH Lab Meter, USA
9. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง – Shimadzu, China
10. เครื่องเขย่าสาร – Vortex, Genie 2, USA
11. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์- Jasco V630, USA
12. เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ - Jasco FP-8000, USA
13. ฟลูออเรสเซนต์เซลล์ สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ปริมาตรภายใน 5 มิลลิลิตร- Jasco, Japan
14. อุปกรณ์สำหรับสร้างระบบซีเควนเซียลอินเจคชัน ได้แก่
 - 14.1 Syringe pump - HAMILTON PSD 4, Switzerland
 - 14.2 8-port Multi-selection valve-HAMILTON, Serial MVP, Switzerland
 - 14.3 Flow through cell สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ปริมาตรภายใน 25 ไมโครลิตร- Hellma, 176.052-QS, USA
 - 14.4 PTFE tube ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.0 มิลลิเมตร- Vici AG International, JR-T6807-M 25, Switzerland
15. ซอฟต์แวร์สำหรับควบคุมระบบซีเควนเซียลอินเจคชัน – MGC, Auto-Pert Version 4, Japan

2.1.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

จะใช้สารละลายที่เตรียมได้จากหัวข้อ 2.2.1 การสังเคราะห์เริ่มจากค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ลงในสารละลายซัลฟานิลิกแอซิด ทำการปั่นกววน ประมาณ 10-15 นาที แล้วค่อยๆ เติมสารละลายฟลูออเรสซิน ทำการปั่นกววนต่อประมาณ 30 นาที ตามลำดับ หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก โดยจะได้ผลึกสีส้มเหลืองถึงส้มอิฐ ปฏิกริยาเคมีแสดงการสังเคราะห์เป็นดังสมการที่ 3.2



3.2.2 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

1. เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน 0.0025 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอลบริสุทธิ์เป็น 50.00 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจากสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรจากหัวข้อ 1 มา 3.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลบริสุทธิ์เป็น 100.00 มิลลิลิตร

3.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทสำหรับการวิเคราะห์แบบไม่ต่อเนื่อง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (Stock solution) โดยชั่งเมอร์คิวรีคลอไรด์ 0.0338 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็น 25.00 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรที่เตรียมได้จากข้อ 1 มา 12.50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนเป็น 50.00 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1.00 – 25.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตรจากหัวข้อ 2 ปริมาตร ตามตาราง

3.1 โดยปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็น 50.00 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทอื่นๆ

ปริมาตรที่ปิเปต (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้ายในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร (มิลลิกรัมต่อลิตร)
200	1.00
1,000	5.00
2,000	10.00
3,000	15.00
4,000	20.00
5,000	25.00

3.2.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทสำหรับระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส

เตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 0.01 – 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดย ปิเปตจากสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เตรียมได้จากหัวข้อ 3.2.3 ข้อ 2 โดยปริมาตรที่ปิเปตและความเข้มข้นสุดท้ายเป็นดังตารางที่ 3.2 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็น 25.00 มิลลิลิตร

ตารางที่ 3.2 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทอื่นๆ

ปริมาตรที่ปิเปต (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้ายในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร (มิลลิกรัมต่อลิตร)
5.00	0.05
25.00	0.25
50.00	0.50
150.00	1.50
250.00	2.50
400.00	4.00
500.00	5.00

3.2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทและไอออนอื่นๆ สำหรับการศึกษา Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทและไอออนอื่นๆ ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (Stock solution) โดยชั่งเมอร์คิวรีคลอไรด์ 0.0338 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็น 25.00 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร (75 ไมโครโมลาร์) โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1000 มา 0.75 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนเป็น 50.00 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานไอออนอื่นๆ โดยให้มีค่าความเข้มข้นเท่ากับสารละลายมาตรฐานปรอทคือเท่ากับ 75 ไมโครโมลาร์ ตามตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทและไอออนอื่นๆ ความเข้มข้น 75 ไมโครโมลาร์

ขวดที่	ไอออนต่างๆ	ชั่งมา (กรัม) (Stock solution)	ปริมาตรที่ปิเปตจาก Stock solution (ไมโครลิตร)	Stock solution 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร	ความเข้มข้นสุดท้ายในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร (ไมโครโมลาร์)
1	Hg (II)	0.0338	375.00	ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็น 25.00 มิลลิลิตร	75
2	Pb (II)	0.0339	387.40		
3	Ba (II)	0.0445	256.75		
4	Cd (II)	0.0608	210.13		
5	Ag (I)	0.0394	201.63		
6	Zn (II)	0.0521	122.25		
7	Cu (II)	0.0422	118.75		
8	Co (II)	0.1009	110.13		
9	Ni (II)	0.1012	109.75		
10	Cr (III)	0.1278	97.25		
11	Ca (II)	0.1473	74.88		
12	Mg (II)	0.1164	45.50		
13	Na (I)	0.0635	43.00		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6 การเตรียมสารตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำทั้งหมดแบ่งออกเป็น 4 ประเภท คือ 1. น้ำประปา 2. น้ำดื่ม 3. น้ำคลอง และ 4. น้ำทะเล ตัวอย่างน้ำทุกชนิดจะถูกกรองผ่านไนลอนเมมเบรน ขนาด 0.22 ไมโครเมตร (Agela Technologies, USA) แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบซีเคาน์เซียมอินเจกชันอะนาไลซิสและแบบ Batch

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

1. เทสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในควอร์ทเซิลล์ วัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200 – 800 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลบริสุทธิ์ในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero)
2. บันทึกผลการทดลองและนำผลการทดลองที่ได้มาสร้าง Absorption spectrum

3.3.2 การศึกษาสมบัติการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

1. เปิดสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 4.00 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชา แล้วจึงเปิดน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที แล้วเทรีเอเจนต์แบบคลั่งในควอร์ทเซิลล์ วัดค่าการเรืองแสง ณ นาที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 – 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลบริสุทธิ์ในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero)
2. บันทึกผลการทดลองและนำผลการทดลองที่ได้มาสร้าง Emission spectrum

หมายเหตุ: การตั้งค่าพารามิเตอร์ของเครื่อง Spectrofluorometer ของทุกครั้งที่ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง เป็นดังนี้

Slid Width = 5 นาโนเมตร

Excitation wavelength = 450 นาโนเมตร

Detection wavelength = 455 นาโนเมตร

Scan speed = 1000 นาโนเมตรต่อนาที

Mode of sensitivity = Medium mode

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลาย

1. เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามหัวข้อที่ 3.2.2 ข้อที่ 1 แต่ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 25, 50, 60, 65, 75, 85, 90, 100 โดยปริมาตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ

2. เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจากสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรจากหัวข้อ 1 มา 3.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลความเข้มข้นต่างๆ คือร้อยละ 25, 50, 60, 65, 75, 85, 90, 100 โดยปริมาตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร ตามลำดับ

3. ปิเปตสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินในสารละลายเมทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 25 โดยปริมาตร จำนวน 4.00 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชาตามด้วยสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และทำรีเอเจนต์แบลคโดยใช้ น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทน สารละลายมาตรฐานปรอท จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที เทสารละลายลงในควอร์ทเซลล์ นำไปวัดค่าการเรืองแสง ณ นาฬิกาที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 - 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลในการปรับค่าศูนย์ (Auto - zero) ทำเช่นเดียวกันแต่เปลี่ยนมาศึกษาด้วยสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4. บันทึก Emission spectrum แล้วนำผลที่ได้มา Overlay และสร้างกราฟมาตรฐานตามความสัมพันธ์ของ Stern - Volmer หาสมการเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสั้นใจ

5. ทำการทดลองเหมือนกับหัวข้อ 3 และ 4 แต่เปลี่ยนมาใช้สารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่เตรียมในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 - 100 โดยปริมาตร แทน

6. สร้างกราฟแสดงการเปรียบเทียบอิทธิพลของตัวทำละลาย

3.3.4 ศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารเชิงซ้อนของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทโดยใช้

Job's method

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (10 ไมโครโมลาร์) โดยปรับปริมาตรด้วยบัฟเฟอร์ pH 7

2. เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 5.17 มิลลิกรัมต่อลิตร (10 ไมโครโมลาร์)

3. จากนั้นผสมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์และสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ลงในหลอดทดลองแล้วปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 ปริมาตร 4.8 มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังอัตราส่วนตามตารางที่ 3.3 จำนวนทั้งหมด 11 หลอด

4. จากนั้นเขย่าสารละลายที่ได้ด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที วัดค่าการเรืองแสง ณ นาฬิกาที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 – 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร

ตารางที่ 3.4 แสดงอัตราส่วนจำนวนโมลและปริมาตรสารละลายที่ปิเปตเพื่อศึกษาด้วย Job's method

ขวดที่	Mole fraction of sensor	Mole fraction of ion	สารละลายเซนเซอร์ (ไมโครลิตร)	สารละลายปรอท (ไมโครลิตร)	สารละลายบัฟเฟอร์ (มิลลิลิตร)
1	1.0	0.0	200	0	4.8
2	0.9	0.1	180	20	
3	0.8	0.2	160	40	
4	0.7	0.3	140	60	
5	0.6	0.4	120	80	
6	0.5	0.5	100	100	
7	0.4	0.6	80	120	
8	0.3	0.7	60	140	
9	0.2	0.8	40	160	
10	0.1	0.9	20	180	
11	0.0	1.0	0	200	

3.3.5 ศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท

1. ปิเปตสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 4.00 มิลลิลิตรลงในขวดสีชา แล้วจึงปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที และทำรีเอเจนต์แบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายมาตรฐานปรอท จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที เทสารละลายลงในควอร์ทเซลล์ นำไปวัดค่าการเรืองแสง ณ นาฬิกาที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 – 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero)

2. ทำเช่นเดียวกันกับข้อ 1 แต่ทำการวัดต่อเนื่องเป็นเวลา 3,600 วินาที

3.3.6 ศึกษา Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทและไอออนอื่นๆ

1. ปิเปตสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 4.00 มิลลิลิตรลงในขวดสีชา แล้วจึงปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร (75 ไมโครโมลาร์) ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที และทำรีเอเจนต์แบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายมาตรฐานปรอท จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที เทสารละลายลงในควอร์ทเซลล์ นำไปวัดค่าการเรืองแสง ณ นาฬิกาที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 – 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero)

2. ทำเช่นเดียวกันกับข้อ 1 แต่ทำการเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร (75 ไมโครโมลาร์) ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตรเป็นสารละลายไอออนอื่นๆ แทน

6. สร้างกราฟแสดงการเปรียบเทียบ Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทและไอออนอื่นๆ

3.3.7 ศึกษาพีเอชของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

ทำการศึกษาพีเอชของ Britton Robinson บัฟเฟอร์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยพีเอชที่เลือกศึกษาคือ 2, 4, 6, 7.2 และ 8 ตามลำดับ โดยใช้บัฟเฟอร์เป็นตัวทำละลายสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน และทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ในหัวข้อ 3.3.6

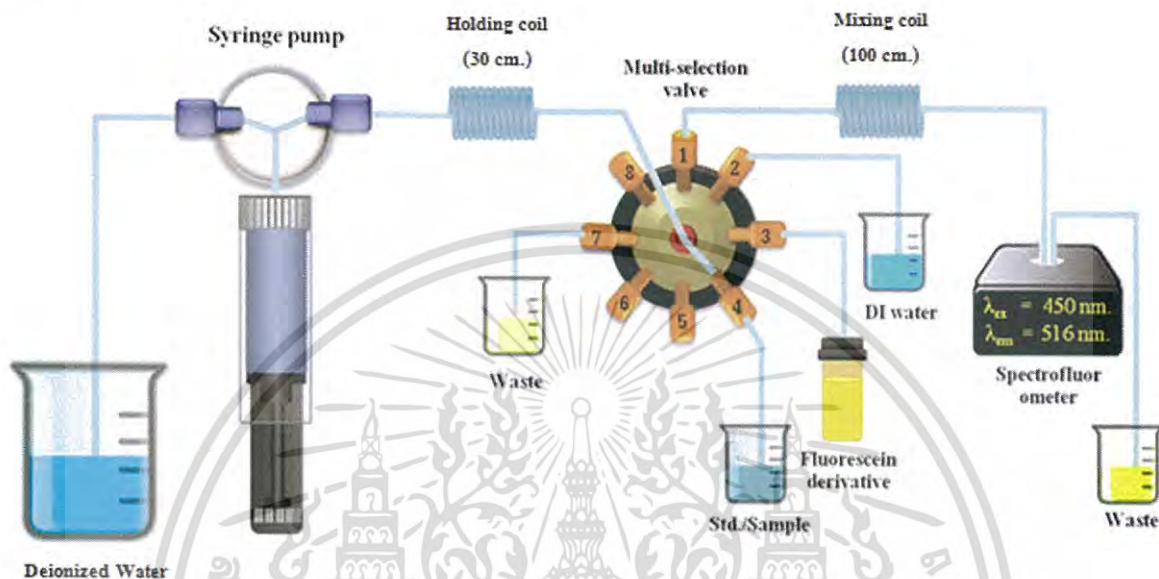
3.3.8 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้อนุพันธ์ฟลูออเรสซินเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยการวิเคราะห์แบบ Batch

1. ปิเปตสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 4.00 มิลลิลิตรลงในขวดสีชาแล้วจึงปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที แล้วเทรีเอเจนต์ลงในควอร์ทเซลล์ วัดค่าการเรืองแสง ณ นาฬิกาที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 – 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero)

2. สร้างกราฟมาตรฐานตามความสัมพันธ์ของ Stern – Volmer และหาสมการเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจ

3.3.9 ออกแบบระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสและลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์

ได้ทำการออกแบบระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส แสดงดังรูปที่ 3.1 โดยระบบนี้จะใช้เพื่อการศึกษาในหัวข้ออื่นๆ ต่อไป โดยระบบนี้สร้างขึ้นด้วยท่อ PTFE ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.00 มิลลิเมตร ทั้งระบบ



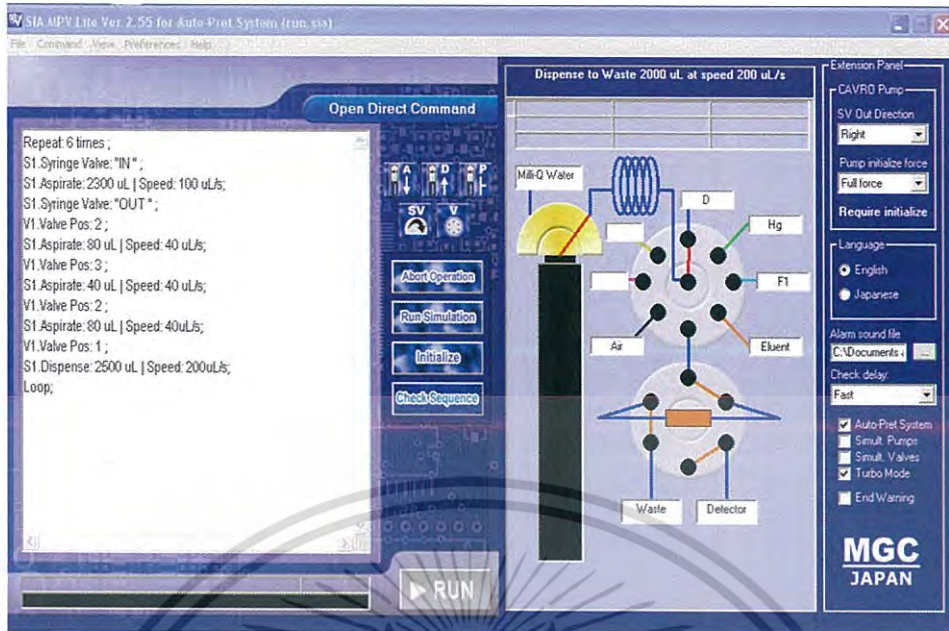
รูปที่ 3.1 แสดงระบบซีควนเซียลอินเจกชันที่ได้ออกแบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท

ลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส

การวิเคราะห์ปริมาณปรอทมีลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

1. ดูดน้ำกลั่นปราศจากไอออนซึ่งใช้เป็นสารละลายตัวพาเข้าสู่ระบบ
2. ดูดสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินปริมาตร 80 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
3. ดูดสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้นต่างๆ หรือตัวอย่างน้ำประเภตต่างๆ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบ โดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
4. ดูดสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินปริมาตร 80 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
5. ผลักสารผลิตภัณฑ์ไปยังเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ เพื่อตรวจวัดค่าการเรืองแสง โดยใช้อัตราเร็ว 200 ไมโครลิตรต่อวินาที ลำดับขั้นตอนดังกล่าว สามารถแสดงเป็นคำสั่ง

ในโปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส ได้ดังรูปที่ 3.2 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 แสดงหน้าจอของซอฟต์แวร์ MGC Auto-Perf Version 4 ซึ่งระบุลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีควเอนเชียลอินเจคชันอะนาไลซิส

3.3.10 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการทดลอง

1. ความเข้มข้นของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน ที่ส่งผลต่อ ความไวในการวิเคราะห์ โดยความเข้มข้นที่เลือกศึกษาคือ 0.15, 0.30, 1.50, 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับโดยมีลำดับการวิเคราะห์เช่นเดียวกับลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์

2. ลำดับในการทำปฏิกิริยา

ทำการศึกษาลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยลำดับที่เลือกศึกษาคือ

1. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich ดูดสารละลาย อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน 160 ไมโครลิตร เข้ามาก่อน ตามด้วยดูดปรอท 40 ไมโครลิตรโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที โดยสามารถแสดงเป็นรูปภาพได้ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich ดูดสารละลายอนุพันธ์ ฟลูออเรสซิน 80 ไมโครลิตร, โปรท 40 ไมโครลิตรและสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน 80 ไมโครลิตร ตามลำดับโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาทีโดยสามารถแสดงเป็นรูปภาพได้ดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich

3. อัตราการไหล

ทำการศึกษาอัตราการไหลของสารในขณะที่ผลึกท่อนของสารละลายเข้าสู่เครื่องตรวจวัดว่าจะส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์มากน้อยเพียงใด โดยอัตราการไหลที่ศึกษาคือ 100, 200 และ 300 ไมโครลิตรต่อวินาที โดยสารละลายทุกชนิดจะถูกดูดเข้าสู่ระบบในปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อวินาทีโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาทีและใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich

4. ความยาวของมิกซิงคอยล์

ทำการศึกษาความยาวของมิกซิงคอยล์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอยล์เป็น 50, 80 และ 100 เซนติเมตรโดยสารละลายทุกชนิดจะถูกดูดเข้าสู่ระบบในปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อวินาทีโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาทีใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich และใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่ส่งเข้าสู่ระบบตรวจวัดเป็น 200 ไมโครลิตรต่อวินาที

3.3.11 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรทโดยอาศัยระบบซีควนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิสแล้ว จึงได้ทำการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรทโดยสารละลายทั้งหมดจะถูกดูดเข้าสู่ระบบโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาทีใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich และใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่ส่งเข้าสู่ระบบตรวจวัดเป็น 200 ไมโครลิตรต่อวินาที ทำการศึกษาสารละลายโปรทในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 – 1.00 มิลลิกรัม

ต่อลิตร และความเข้มข้นของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินเป็น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.12 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

1. ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ในการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์จะประเมินจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรลงไป จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) ตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{spiked sample-sample}}{\text{standard}}$$

เมื่อ spiked sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน
sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง
standard คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

2. ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, % RSD) โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 5 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ RSD} = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 \bar{X} คือ ค่าเฉลี่ย

3. ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) [48]

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ ของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

$$\text{LOD} = 3\text{SD of blank /slope}$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD of blank /slope}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ	SD of blank	คือ	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบลงค์
	slope	คือ	ค่าความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

3.3.13 ทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่าง โดยวิธีแบบ Batch

ทำการตรวจวัดปริมาณปรอทในตัวอย่าง น้ำดื่ม น้ำประปา น้ำทะเล และน้ำคลอง ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จาก วิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีแบบ Batch ด้วยวิธีการทางสถิติ ดังขั้นตอนต่อไปนี้

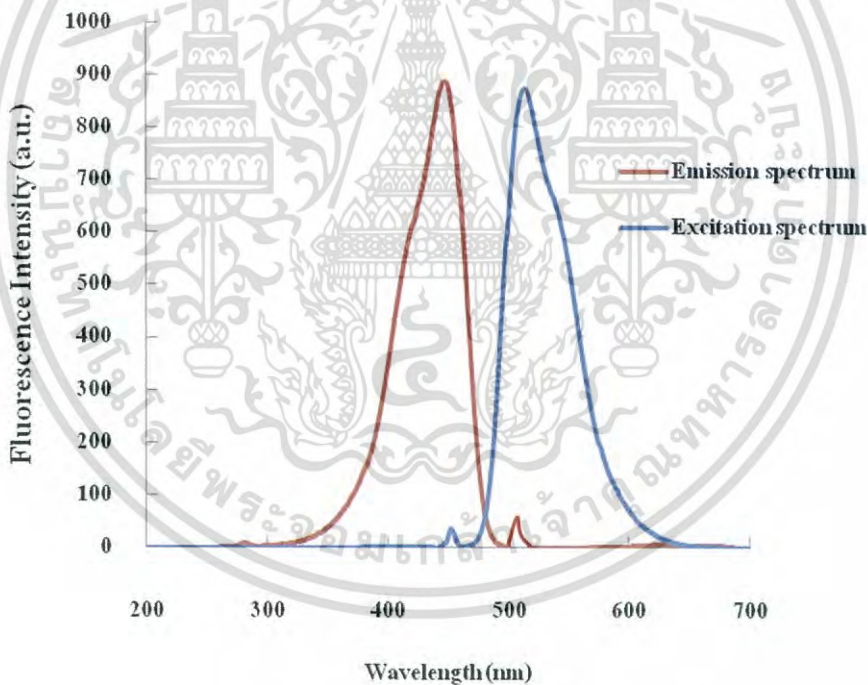
1. เปิดน้ำตัวอย่างปริมาตร 80.00 มิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐานปรอท ความเข้มข้น 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 10.00 และ 16.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100.00 มิลลิลิตร จากนั้น ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 100.00 มิลลิลิตร
2. เปิดน้ำตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน 4.00 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่ลงในขวดสีชา และทำรีเอเจนต์แบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทน สารละลายมาตรฐานปรอท จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที แล้วสารละลายลงใน ควอร์ทเชลล์ สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ แล้วนำไปวัดค่าการเรืองแสง ณ นาที่ที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 - 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลในการปรับค่าศูนย์ (Auto - zero)
3. คำนวณหาปริมาณปรอทโดยแทนค่าลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟ มาตรฐานตามความสัมพันธ์ของ Stern - Volmer

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสงและการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

เมื่อนำอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่สังเคราะห์ขึ้น มาศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนแสงและการเรืองแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ ตามลำดับ พบว่าค่าความยาวคลื่นสูงสุดในการดูดกลืนแสง (λ_{max}) และการเรืองแสง (λ_{em}) เป็น 450 และ 516 นาโนเมตร แสดงดังรูปที่ 4.1 ดังนั้นจึงใช้ความยาวคลื่นดังกล่าวเป็นความยาวคลื่นสำหรับกระตุ้นและสำหรับติดตามการเรืองแสง เพื่อใช้ติดตามปฏิกิริยาการ Quenching ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินด้วยปรอทต่อไป

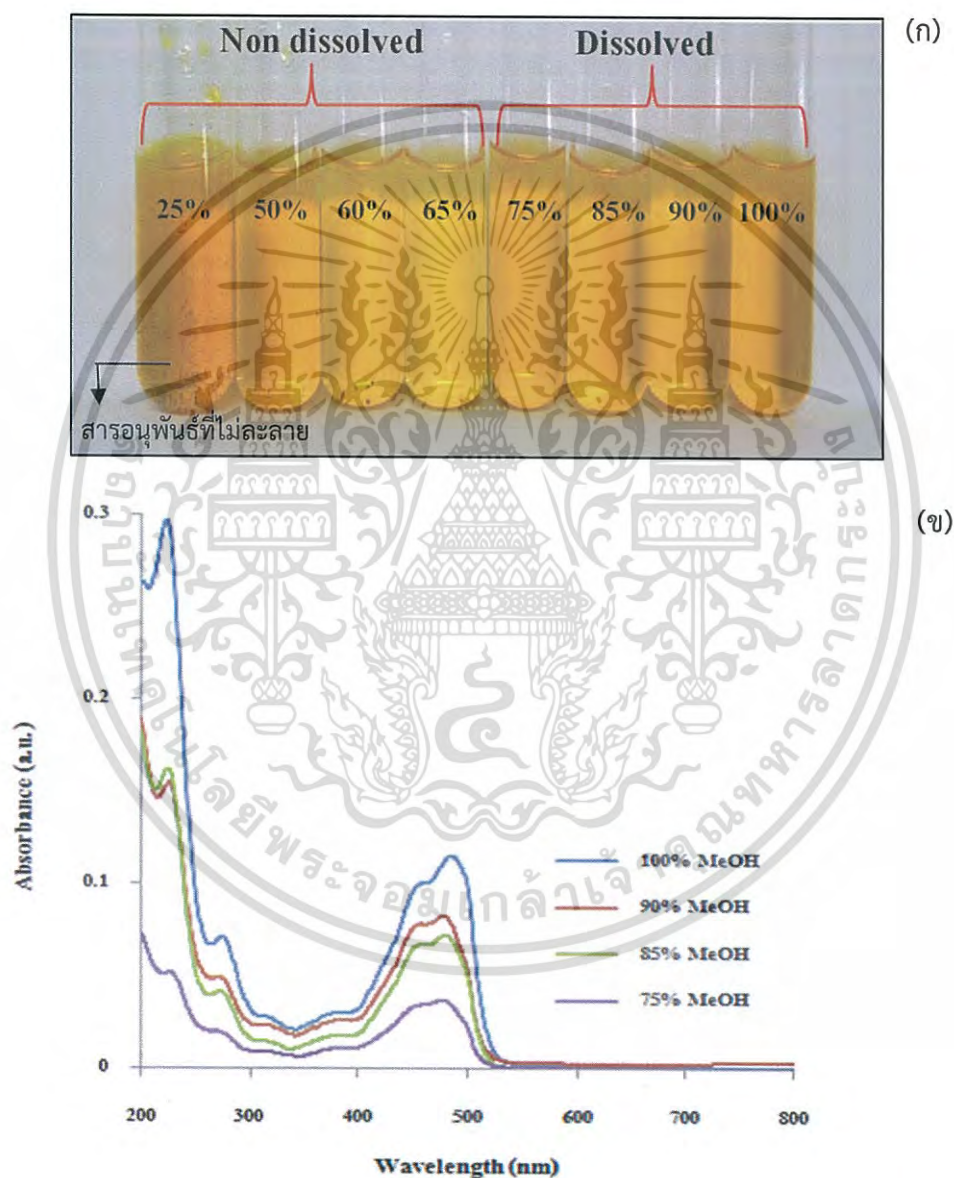


รูปที่ 4.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและสเปกตรัมการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลาย

ในการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน จะใช้เมทานอลความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 25, 50, 60, 65, 75, 85, 90 และ 100 โดยปริมาตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินเท่าๆ กันคือ เท่ากับ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.2 (ก) และ (ข)



รูปที่ 4.2 ภาพ (ก) แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ละลายในเมทานอลความเข้มข้นต่างๆ และ (ข) แสดงถึงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.2 (ก) พบว่าสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินสามารถละลายได้ดีในเมทานอลความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 75, 85, 90 และ 100 โดยปริมาตรขึ้นไป ซึ่งในเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 60 และ 65 นั้นสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินละลายได้ไม่เต็มที่ และจากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงในรูปที่ 4.2 (ข) พบว่า ที่ความเข้มข้นของเมทานอลร้อยละ 100 โดยปริมาตร (450 นาโนเมตร = 0.0961 a.u.) ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่มากที่สุด เหมาะสำหรับนำไปติดตามการลดลงของค่าการเรืองแสงซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างปรอทและสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ร้อยละ 100 โดยปริมาตร เพื่อการศึกษาในหัวข้ออื่นๆ ต่อไป

4.3 การศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทโดยใช้ Job's method

เมื่อนำอนุพันธ์ฟลูออเรสซินมาศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับปรอท (II) โดยใช้ Job's method และดัดแปลงวิธีการทดลองจาก [36] พบว่าได้ผลการทดลองตามตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.1 ค่าการเรืองแสงของ อนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับปรอท (II) ที่อัตราส่วนจำนวนโมลต่างๆ (Mole fraction) ระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II)

Mole fraction		Intensity at 516 nm			y	y'	av	SD	RSD
F	Hg (II)	no.1	no.2	ave.					
1	0.0	1317.64	1318.51	1318.08	0.44	-0.44	0.00	0.62	0.00
0.9	0.1	1321.58	1320.99	1321.29	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.8	0.2	1194.07	1194.23	1194.15	99.20	99.08	99.14	0.09	0.09
0.7	0.3	928.76	927.59	928.18	272.51	273.33	272.92	0.58	0.21
0.6	0.4	877.98	876.33	877.16	264.05	265.04	264.55	0.70	0.26
0.5	0.5	772.92	770.38	771.65	272.57	273.85	273.21	0.90	0.33
0.4	0.6	590.57	591.62	591.10	291.00	290.58	290.79	0.30	0.10
0.3	0.7	358.52	356.14	357.33	287.86	288.58	288.22	0.50	0.18
0.2	0.8	306.06	304.70	305.38	202.40	202.67	202.54	0.19	0.09

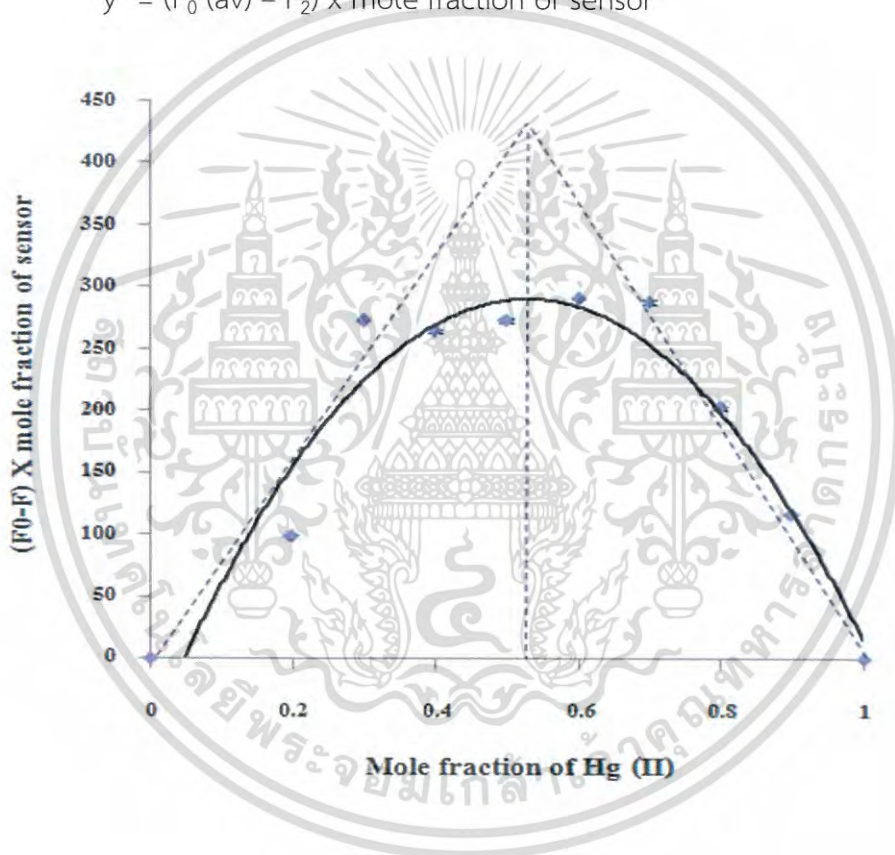
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

Mole fraction		Intensity at 516 nm			y	y'	av	SD	RSD
F	Hg (II)	no.1	no.2	ave.					
0.1	0.9	145.68	145.33	145.51	117.24	117.27	117.26	0.02	0.02
0.0	1.0	12.16	12.50	12.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ: $y = (F_0 (av) - F_1) \times \text{mole fraction of sensor}$

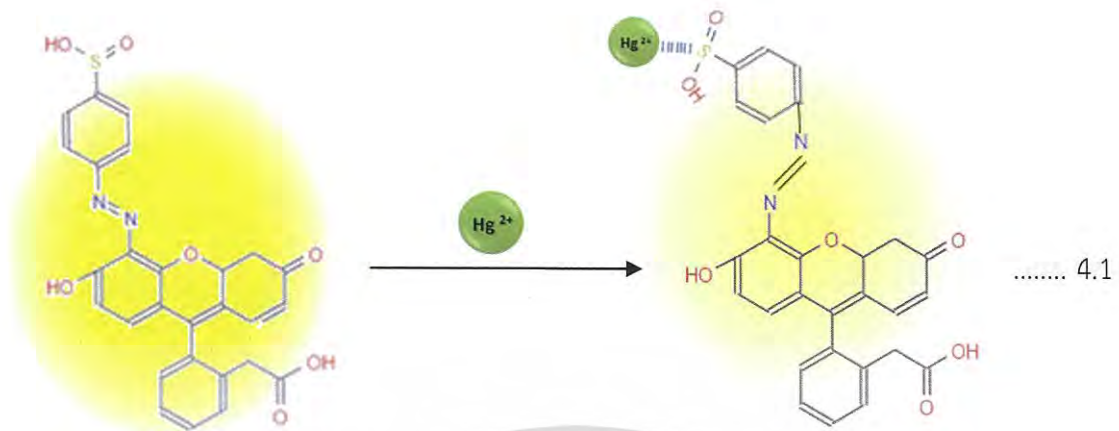
$y' = (F_0 (av) - F_2) \times \text{mole fraction of sensor}$



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทโดยใช้ Job's method

จากผลการทดลองจะเห็นว่า อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท เป็น 0.5 หรือปรอท 1 โมลทำปฏิกิริยาพอดีกับสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน 1 โมล ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน จึงเสนอสมการเคมีแสดงการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนดังสมการที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



4.4 ศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II)

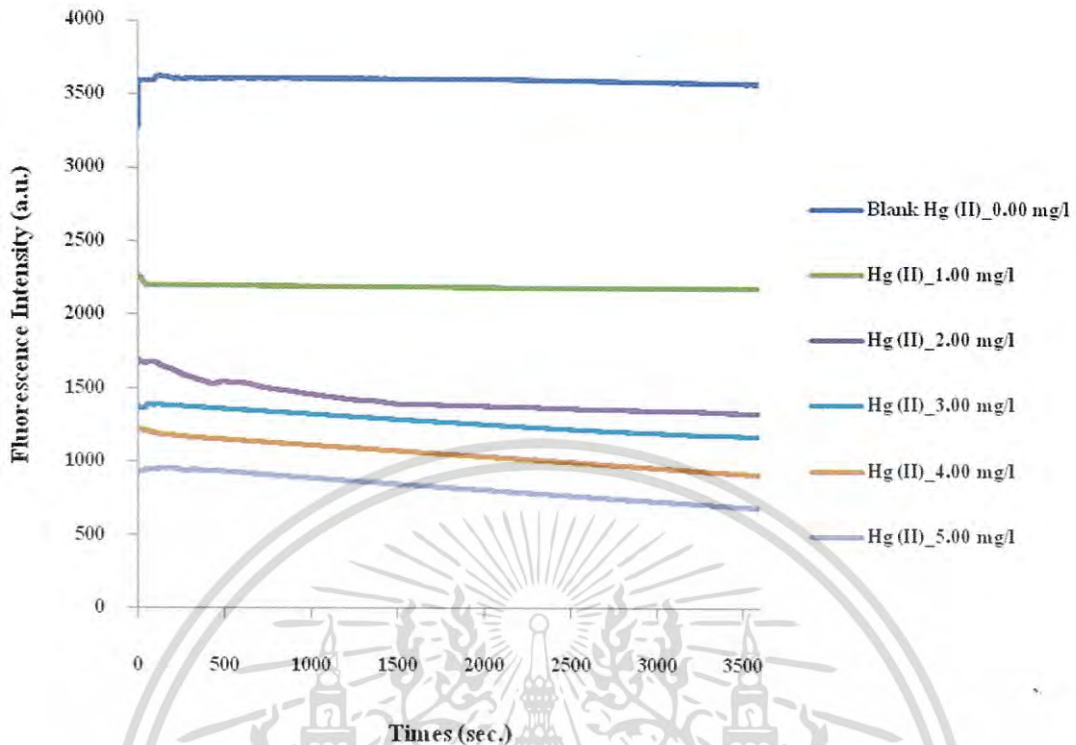
เมื่อนำอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่สังเคราะห์ขึ้น มาศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยากับปรอท (II) โดยทำการทดลองแบบ Batch เพื่อวัดค่าการเรืองแสงต่อเนื่องเป็นเวลา 3,600 วินาที พบว่าได้ผลการทดลองตามตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.2 ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) ที่เวลาต่างๆ

ความเข้มข้น ปรอท (มิลลิกรัม ต่อลิตร)	ค่าการเรืองแสงที่เวลาต่างๆ (วินาที)							
	0	600	900	1,200	1,800	2,400	3,000	3,600
1.00	2201.38	2197.81	2195.96	2192.77	2188.47	2184.17	2180.54	2181.52
2.00	1676.50	1537.99	1493.22	1428.19	1382.44	1366.31	1348.79	1332.48
3.00	1388.43	1353.54	1339.03	1310.37	1268.05	1228.22	1197.02	1171.61
4.00	1192.47	1143.59	1129.37	1097.98	1051.49	1005.45	957.88	911.22
5.00	950.69	925.42	906.22	873.42	823.33	775.85	730.95	686.14

หมายเหตุ : ค่าการเรืองแสงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $n = 2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงจลนศาสตร์ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) ที่เวลาต่างๆ เป็นเวลา 3,600 วินาที

วัตถุประสงค์ของการศึกษาจลนศาสตร์คือ เพื่อดูแนวโน้มในเบื้องต้นว่า เมื่อเวลาผ่านไป ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินเมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท มีค่าลดลงไปมาก-น้อยเพียงใด เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้สำหรับทำ “stopped-flow” ในระบบ SIA เพื่อเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ แต่จากผลการทดลองพบว่า ค่าการเรืองแสงเปลี่ยนแปลงไปน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อศึกษาที่ความเข้มข้นของปรอทต่ำๆ (เช่น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) สาเหตุที่ค่าการเรืองแสงเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไปอาจเป็นเพราะ ปฏิกิริยาเกิดขึ้นและดำเนินเข้าสู่สมดุลอย่างรวดเร็ว

4.5 ศึกษา Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทและไอออนอื่นๆ

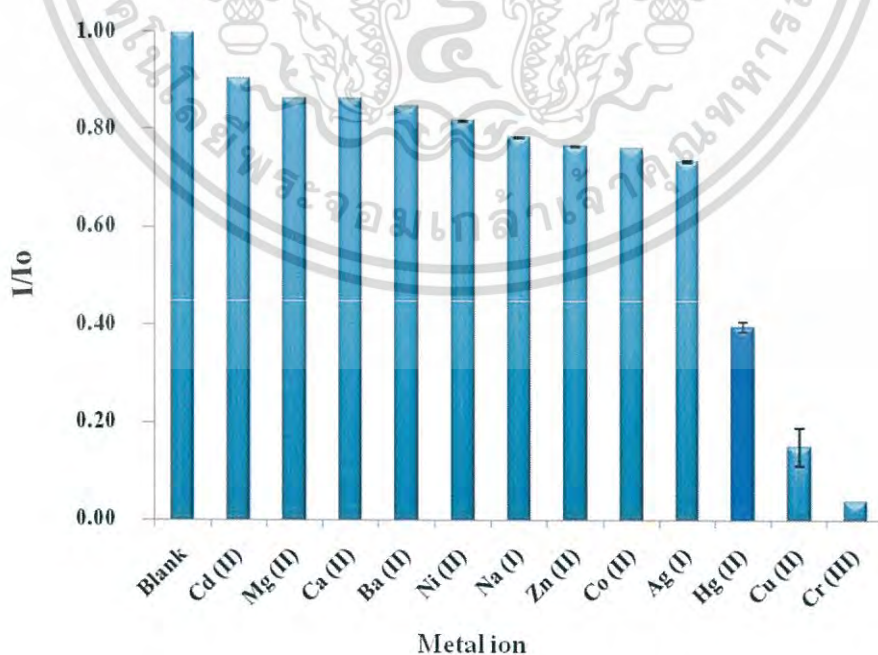
ทำการศึกษา Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทและไอออนอื่นๆ โดยใช้ความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินเท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำปฏิกิริยากับปรอท (II) และไอออนอื่นๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (75 ไมโครโมลาร์) โดยทำการศึกษาแบบ Batch พบว่าได้ผลการทดลอง

ดังตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) และไอออนอื่นๆ ความเข้มข้น 75 ไมโครโมลาร์

ไอออนต่างๆ	ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับไอออนต่างๆ		
	no.1	no.2	ave.
Blank	4553.72	4564.39	4559.06
Cd (II)	4116.52	4126.55	4121.54
Mg (II)	3934.63	3946.96	3940.79
Ca (II)	3932.24	3944.74	3938.49
Ba (II)	3857.54	3869.88	3863.71
Na (I)	3722.72	3732.34	3727.53
Ni (II)	3568.74	3579.47	3574.11
Zn (II)	3484.14	3496.80	3490.47
Co (II)	3466.75	3478.33	3472.54
Ag (I)	3343.74	3355.95	3349.85
Hg (II)	1797.45	1809.90	1803.68
Cu (II)	682.48	693.80	688.14
Cr (III)	176.04	186.46	181.25



รูปที่ 4.5 กราฟแท่งแสดง Selectivity ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอทและไอออนอื่นๆ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษา Selectivity ของการทำปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท เทียบกับไอออนอื่นๆ พบว่าค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินเมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท มีค่าลดลงเป็นอย่างมาก จึงอาจกล่าวได้ว่า อนุพันธ์ฟลูออเรสซินค่อนข้างมีความจำเพาะเจาะจงในการทำปฏิกิริยากับปรอท แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลอง พบว่ามีไอออนอื่นๆ คือ Cu (II) และ Cr (III) ที่ให้ค่าการเรืองแสงน้อยกว่าปรอท ซึ่งอาจต้องศึกษาวิธีการกำจัดไอออนที่รบกวนการวิเคราะห์คือ Cu (II) และ Cr (III) ต่อไป

4.6 ศึกษาพีเอชของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

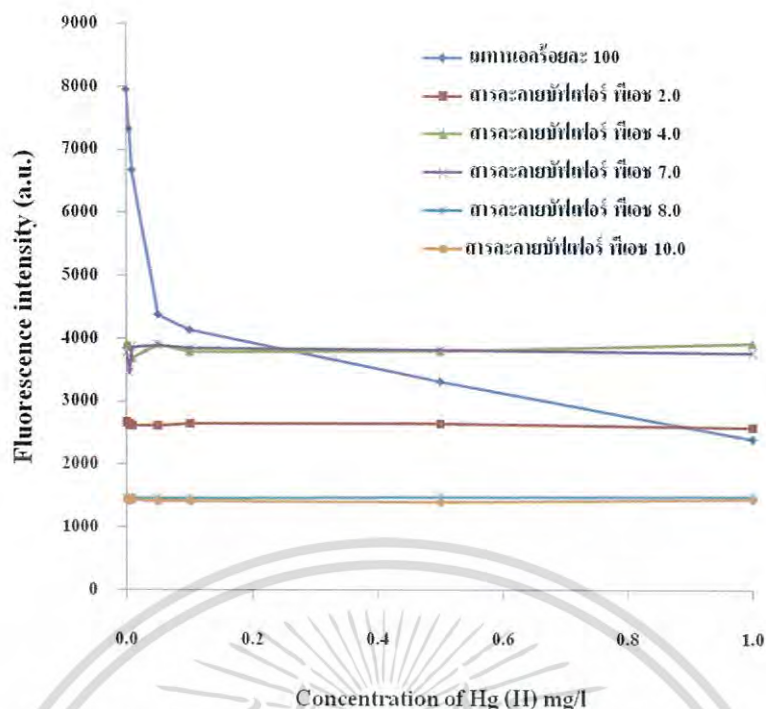
ในการศึกษาอิทธิพลพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน ได้ทำการศึกษาที่พีเอชดังนี้ คือ 2.0, 4.0, 7.0, 8.0 และ 10.0 ตามลำดับ ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.6

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ใช้เมทานอลและสารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวทำละลายเมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดตัวทำละลายที่ใช้ละลาย สารอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน	ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับ ปรอท (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)						
	blank	0.005	0.01	0.05	0.10	0.50	1.00
เมทานอลร้อยละ 100	7959.6	7329.8	6678.4	4380.4	4140.1	3423.9	2401.2
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 2.0	2660.7	2630.2	2625.7	2625.8	2653.7	2651.0	2595.2
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 4.0	3907.6	3899.0	3688.7	3912.6	3794.1	3804.2	3928.8
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0	3768.7	3449.2	3860.9	3889.6	3853.4	3822.4	3768.7
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0	1463.1	1465.2	1457.0	1454.5	1464.6	1473.3	1448.2
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 10.0	1426.8	1419.5	1424.7	1422.1	1422.2	1406.1	1431.4

หมายเหตุ : ค่าการเรืองแสงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $n = 2$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวทำละลายกับปรอท (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

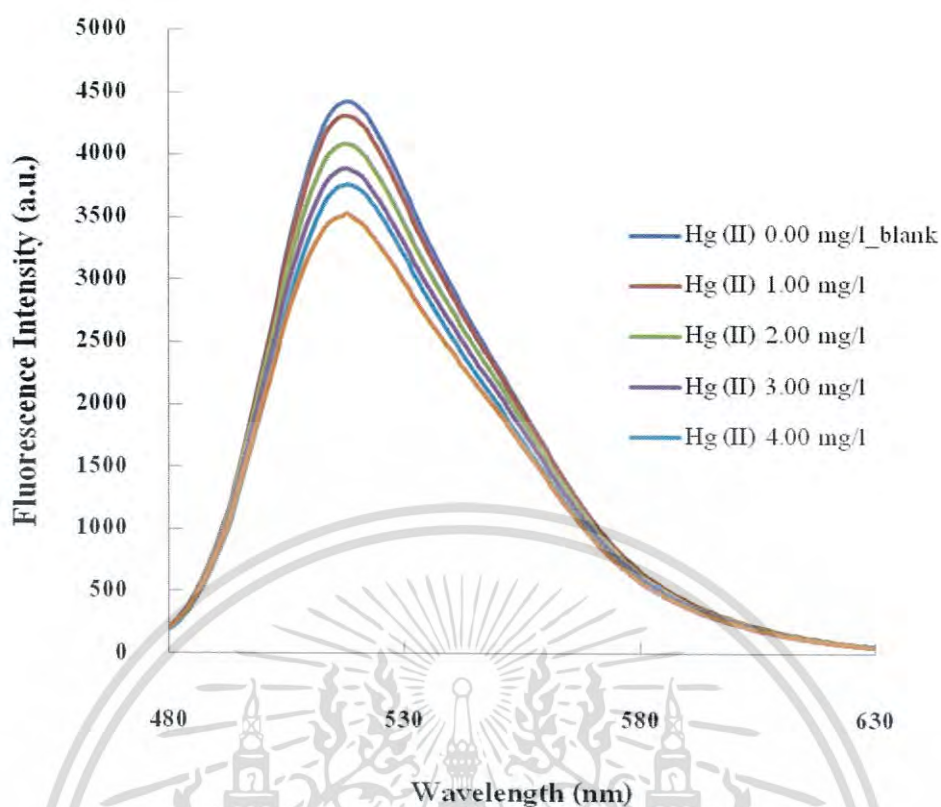
จากรูปที่ 4.6 พบว่า เมื่อใช้เมทานอล (เข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินลดลงเมื่อความเข้มข้นของปรอทเพิ่มขึ้น แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาควENCHING โดยเมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า ค่าพีเอชของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินมีค่าระหว่าง 7.14-7.35 เมื่อใช้สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 เป็นตัวทำละลาย ค่าการเรืองแสงกลับไม่ลดลงแต่มีแนวโน้มคงที่ และเมื่อเปลี่ยนไปใช้สารละลายบัฟเฟอร์พีเอชอื่นๆ ได้แก่ พีเอช 2.0, 4.0, 8.0 และ 10.0 ก็ได้ผลการทดลองเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่า ปฏิกิริยาควENCHING จะเกิดได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอล ในขณะที่เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำ (สารละลายบัฟเฟอร์) อาจไม่เกิดปฏิกิริยาควENCHING ดังนั้นจึงไม่สามารถสรุปอิทธิพลพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้เป็นตัวทำละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินได้

4.7 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้อนุพันธ์ฟลูออเรสซินเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณปรอท โดยการวิเคราะห์แบบ Batch

นำอนุพันธ์ฟลูออเรสซินไปทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานปรอท ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยการวิเคราะห์แบบ Batch ทำการวัดค่าการเรืองแสง ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ความยาวคลื่น (λ_{em}) เท่ากับ 516 นาโนเมตร ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.7 แล้วสร้างกราฟ

เส้นตรงตามหลักการของ Stern - Volmer พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

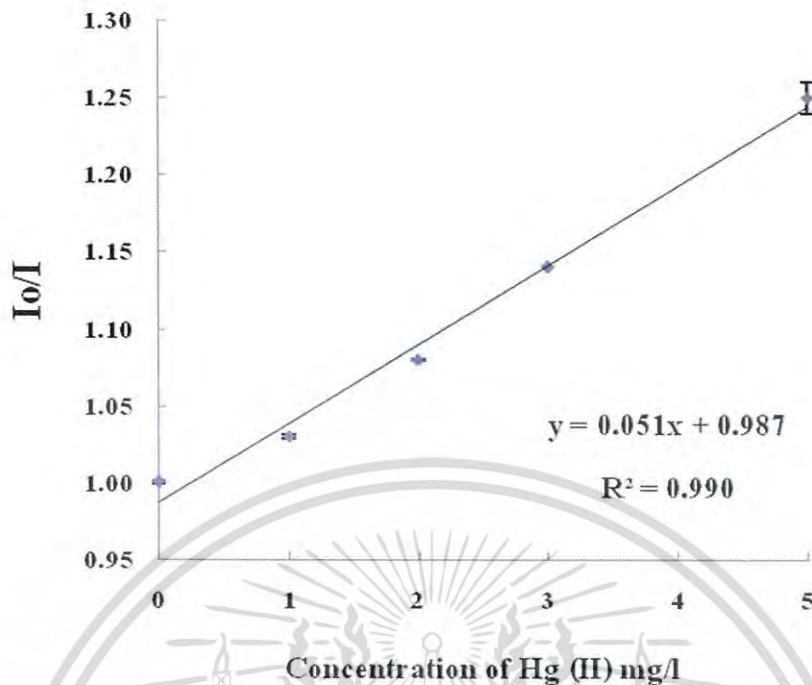


รูปที่ 4.7 แสดงค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) กับปรอท (II)

ตารางที่ 4.5 ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) โดยการวิเคราะห์แบบ batch

Concentration of Hg (II) mg/l	I_0	I_1	I_0/I_1	I_2	I_0/I_2	lave.	$I_0/\text{lave.}$	SD	%RSD
0.0	4424.00	4425.80	1.00	4422.21	1.00	4424.00	1.00	0.0006	0.06
1.0	4424.00	4305.45	1.03	4314.48	1.03	4309.97	1.03	0.0015	0.15
2.0	4424.00	4086.72	1.08	4083.72	1.08	4085.22	1.08	0.0006	0.05
3.0	4424.00	3886.82	1.14	3884.82	1.14	3885.82	1.14	0.0004	0.04
4.0	4424.00	3756.89	1.18	3766.86	1.17	3761.87	1.18	0.0022	0.19
5.0	4424.00	3552.06	1.25	3510.76	1.26	3531.41	1.25	0.0104	0.82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

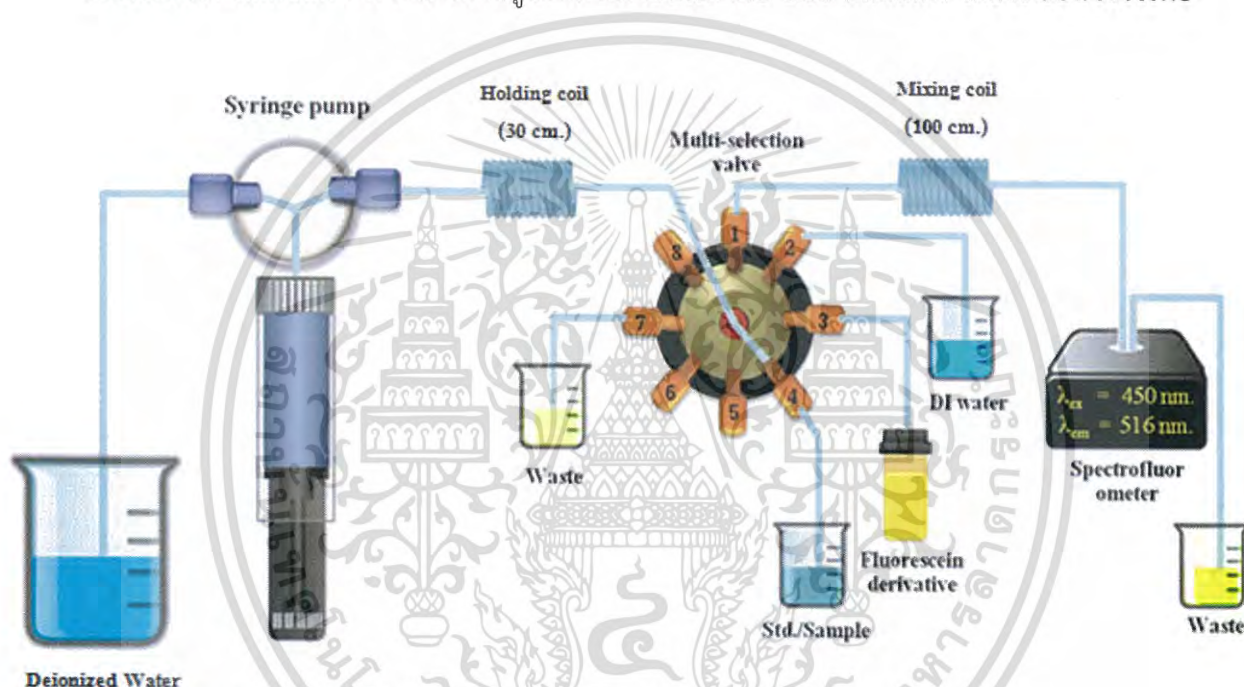


รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท (II) ช่วงความเข้มข้น 0.00 – 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 1.50 มิลลิกรัมต่อลิตร (วิธีแบบ Batch)

จากกราฟ สามารถวิเคราะห์ปริมาณปรอทได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 0.00-5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of Determination; R^2) เท่ากับ 0.990 แสดงให้เห็นว่า ในเบื้องต้นมีความเป็นไปได้ที่จะนำอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่สังเคราะห์ได้ไปตรวจวัดปริมาณปรอทโดยอาศัยหลักการของ Stern – Volmer จึงจะนำไปประยุกต์ใช้กับระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิสต่อไป

4.8 ออกแบบระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส

เมื่อพบว่าอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่สังเคราะห์ขึ้นมีความเป็นไปได้ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอท จึงได้ทำการออกแบบระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสโดยใช้ความยาวของโฮลติงคอยล์และมิกซ์ซิงคอยล์พิจารณาจากปริมาตรรวมทั้งหมดของสารที่ถูกดูดเข้าสู่ระบบ โดยแรกเริ่มจะอ้างอิงจากปริมาตรที่ใช้จากการศึกษาแบบ batch ระบบที่ออกแบบแสดงดังรูปที่ 4.9 เป็นระบบที่ประกอบขึ้นโดยใช้ท่อพลาสติกชนิด PTFE เส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากับ 1.00 มิลลิเมตร โดยระบบนี้จะใช้เพื่อ



การศึกษาในหัวข้ออื่นๆ ต่อไป

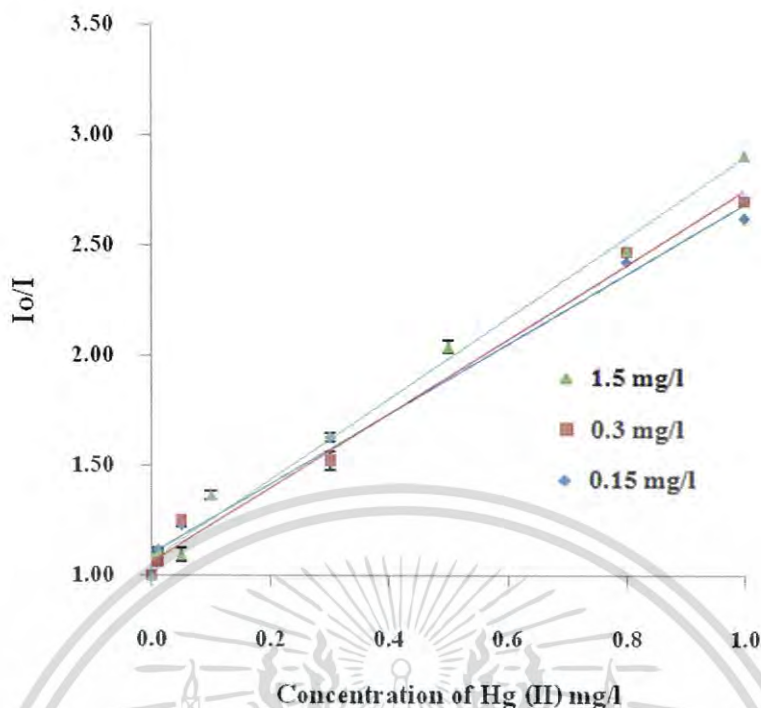
รูปที่ 4.9 ระบบซีควนเซียลอินเจกชันที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ได้สังเคราะห์ขึ้น

4.9 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

4.9.1 ความเข้มข้นของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

ทำการศึกษาความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน โดยความเข้มข้นที่เลือกศึกษาคือ 0.15, 0.30, 1.50 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ แสดงผลดังรูปที่ 4.9 และตารางที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.00 – 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ความเข้มข้นต่างๆ ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

ตารางที่ 4.6 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้ความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สมการเชิงเส้นตรง	สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R ²)	ค่าการเรืองแสงเริ่มต้น
0.15	$y = 1.587x + 1.099$	0.990	858.13
0.30	$y = 1.684x + 1.062$	0.990	2,316.53
1.50	$y = 1.828x + 1.072$	0.991	7,903.72

จากการศึกษาพบว่า เมื่อความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินเพิ่มขึ้นจะให้ค่าการเรืองแสงเริ่มต้นเพิ่มขึ้นตามลำดับ แต่ที่ความเข้มข้น 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น ให้ค่าการเรืองแสงเริ่มต้นเกินกว่าเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์จะสามารถตรวจวัดได้ (ขีดจำกัดของการตรวจวัดที่ 10,000 (a.u.)) และจากปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) เป็นการติดตามค่าการเรืองแสงที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของปรอทสูงขึ้น ที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าการเรืองแสงเริ่มต้นต่ำ จึงไม่เหมาะสมในการนำมาศึกษา และเมื่อพิจารณาความ

ไวในการวิเคราะห์และสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R²) ที่ความเข้มข้น 1.5 และ 0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาติให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

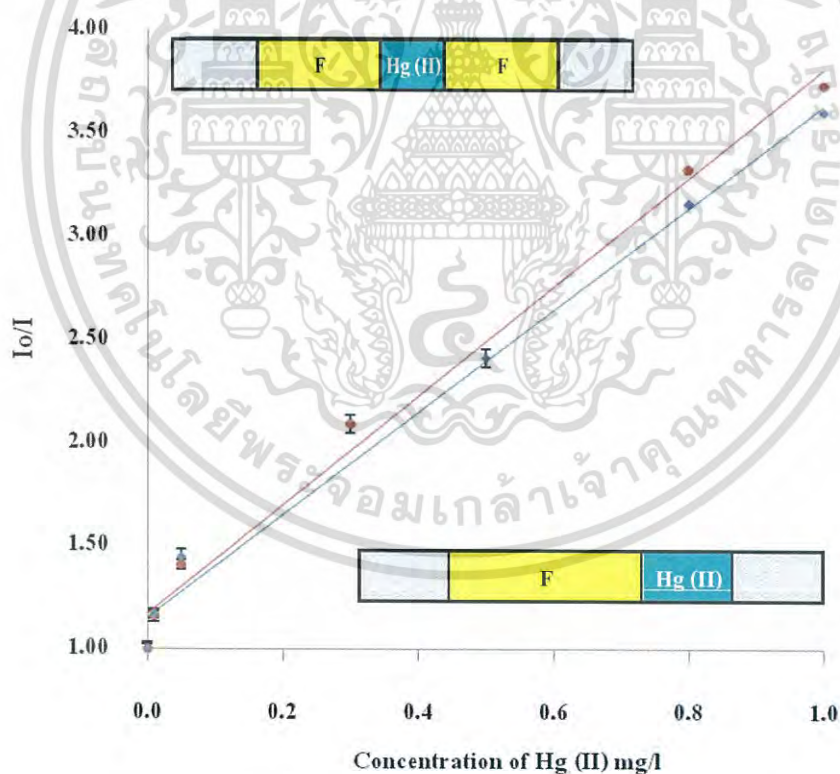
พบว่าค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่ 0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร เพราะสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินสังเคราะห์ที่ได้น้อยในแต่ละครั้ง จึงต้องการลดปริมาณสารในการเตรียมสารอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

4.9.2 ลำดับในการทำปฏิกิริยา

ทำการศึกษาลำดับในการทำปฏิกิริยา 2 แบบดังนี้

1. แบบ non-sandwich ดูดสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินปริมาตร 160 ไมโครลิตรเข้ามาก่อน ตามด้วยดูดปรอทปริมาตร 40 ไมโครลิตรโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที

2. แบบ sandwich ดูดสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินปริมาตร 80 ไมโครลิตร, ปรอทปริมาตร 40 ไมโครลิตรและสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินปริมาตร 80 ไมโครลิตรตามลำดับโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที แสดงผลดังรูปที่ 4.11 และตารางที่ 4.7



รูปที่ 4.11 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.00 – 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ลำดับการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

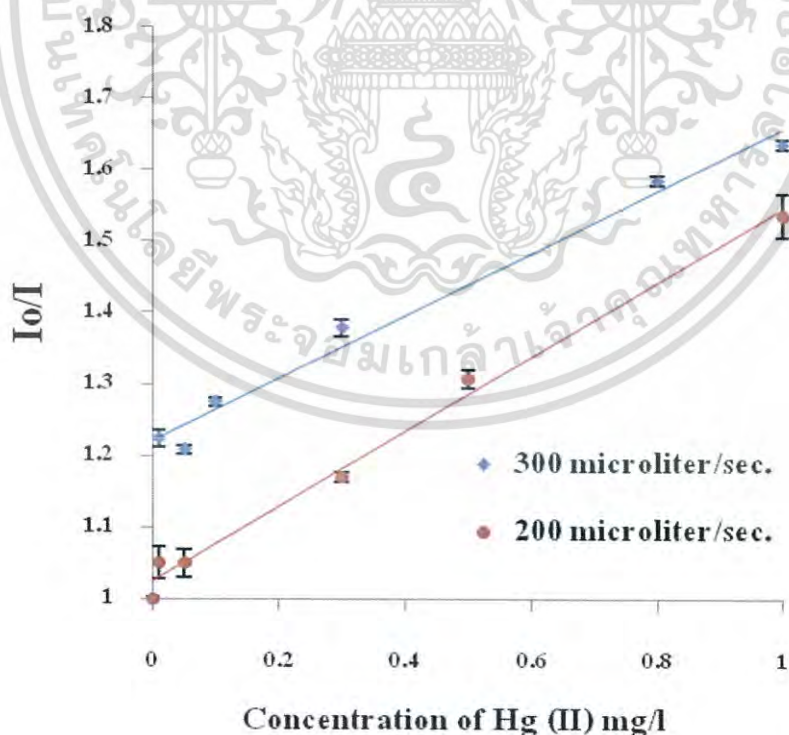
ตารางที่ 4.7 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้ลำดับปฏิบัติการที่ต่างกัน

ลำดับปฏิบัติการ	สมการเชิงเส้นตรง	สัมประสิทธิ์การตัดสนใจ (R^2)
Non-sandwich	$y = 2.642x + 1.168$	0.990
Sandwich	$y = 2.479x + 1.155$	0.991

จากการทดลองพบว่าลำดับการทำปฏิบัติการทั้ง 2 แบบ คือ Non-sandwich และ Sandwich ให้ความไวในการวิเคราะห์และสัมประสิทธิ์การตัดสนใจ (R^2) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงเลือกลำดับการปฏิบัติการแบบ Non-sandwich เนื่องจากมีขั้นตอนในการดูดสารละลายเข้าสู่ระบบที่น้อยกว่า สามารถลดเวลาในการวิเคราะห์ต่อหนึ่งตัวอย่างได้

4.9.3 อัตราการไหล

ทำการศึกษาอัตราการไหลสำหรับผลึกท่อนของสารละลายเข้าสู่เครื่องตรวจวัด โดยอัตราการไหลที่ศึกษาคือ 200 และ 300 ไมโครลิตรต่อวินาที โดยกำหนดอัตราการดูดสารเข้าระบบคงที่เท่ากับ 40 ไมโครลิตรต่อวินาที และใช้ลำดับในการทำปฏิบัติการแบบ non-sandwich ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.12 และตารางที่ 4.8



รูปที่ 4.12 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.00 – 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้อัตราการไหลที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

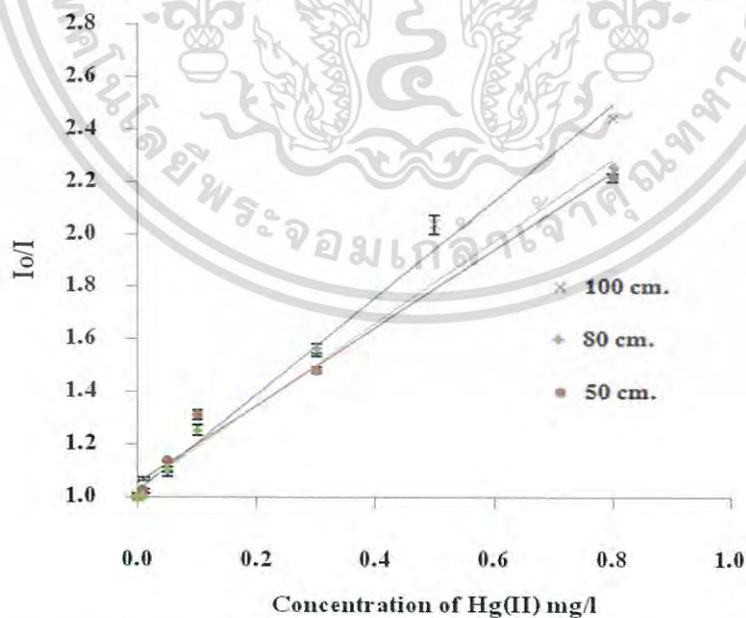
ตารางที่ 4.8 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้อัตราการไหลที่ต่างๆ กัน

อัตราการไหล (ไมโครลิตร / วินาที)	สมการเชิงเส้นตรง	สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)	อัตราการวิเคราะห์ (ตัวอย่างต่อชั่วโมง)
200	$y = 0.520x + 1.024$	0.991	60
300	$y = 0.436x + 1.220$	0.984	90

จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อพิจารณาความไวในการวิเคราะห์และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) พบว่าที่ 200 ไมโครลิตรต่อวินาทีจะมีค่าความชันของสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจดีที่สุด อัตราการไหลที่เร็วเกินไปคือที่ 300 ไมโครลิตรต่อวินาที จะทำให้สารมีเวลาอยู่ในระบบน้อย ความไวในการวิเคราะห์จึงต่ำกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราการไหลที่ 200 ไมโครลิตรต่อวินาทีซึ่งจะทำให้ได้อัตราการวิเคราะห์ 60 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

4.9.4 ความยาวของมิกซิงคอยล์

ทำการศึกษาความยาวของมิกซิงคอยล์ ตั้งแต่ 50, 80 และ 100 เซนติเมตร โดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที ใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich และใช้อัตราการไหลสำหรับผลึกสารเข้าสู่ระบบตรวจวัดเป็น 200 ไมโครลิตรต่อวินาทีได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.13 และตารางที่ 4.9



รูปที่ 4.13 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.00 – 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอยล์ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้ความยาวของมิกซิงคอยล์ต่างๆ กัน

ความยาวของมิกซิงคอยล์ (เซนติเมตร)	สมการเชิงเส้นตรง	สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R ²)
50	$y = 1.483x + 1.051$	0.990
80	$y = 1.567x + 1.034$	0.992
100	$y = 1.84x + 1.023$	0.992

จากการศึกษาพบว่าเมื่อความยาวของมิกซิงคอยล์เพิ่มขึ้นจาก 50 เป็น 80 เซนติเมตร ความไวในการวิเคราะห์และสัมประสิทธิ์การตัดสินใจต่างกันเล็กน้อยที่ความยาว 100 เซนติเมตร ให้ความไวในการวิเคราะห์มีค่ามากที่สุดและมีความเป็นเส้นตรงที่ดี อาจเป็นเพราะเมื่อความยาวของมิกซิงคอยล์เพิ่มขึ้นจะทำให้การทำปฏิกิริยาเกิดได้ดีขึ้นส่งผลให้ความไวในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเลือกใช้ความยาวของมิกซิงคอยล์ที่ 100 เซนติเมตร นี้

จากที่ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังตารางที่ 4.10

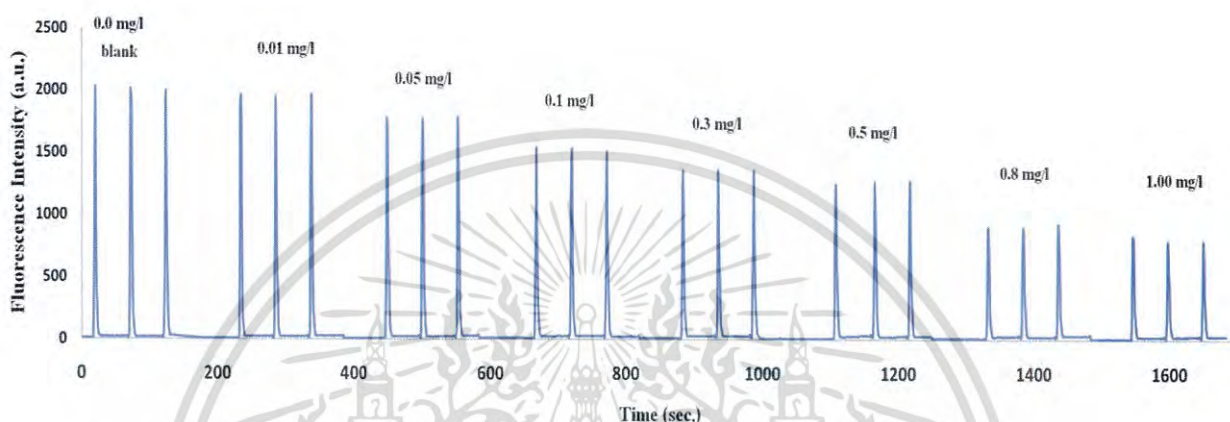
ตารางที่ 4.10 สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับระบบ SIA ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควนเชียลอินเจคชัน

ปัจจัยที่ศึกษา	ชนิด / ช่วงที่ศึกษา	ค่าที่เลือก
ความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน	0.15-3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร	0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร
ลำดับการทำปฏิกิริยา	1. non sandwich (F/ Hg) 2. sandwich (F / Hg / F)	non sandwich (F / Hg)
อัตราการไหล	100 -300 ไมโครลิตรต่อวินาที	200 ไมโครลิตรต่อวินาที
ความยาวของมิกซิงคอยล์	50 – 100 เซนติเมตร	100 เซนติเมตร

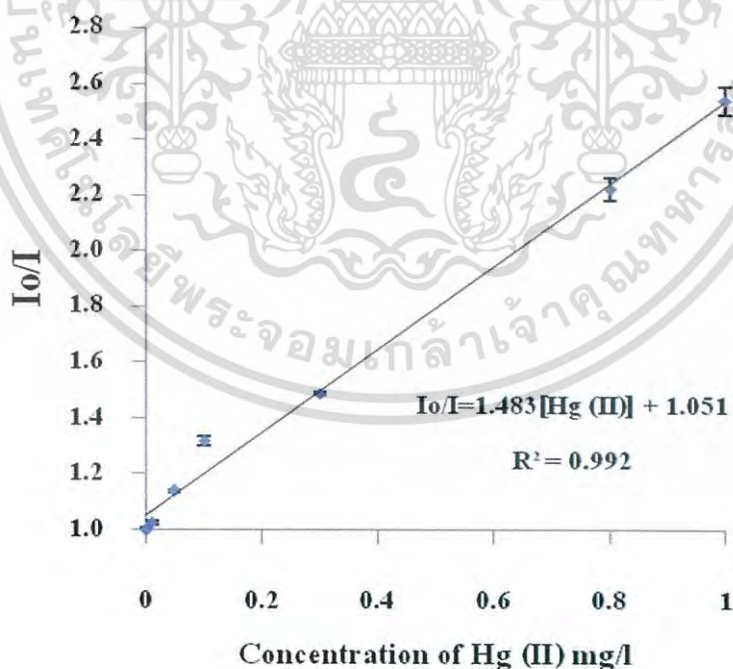
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.10 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีควอนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสแล้ว จึงได้ทำการสร้างมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท แสดงตัวอย่างลักษณะสัญญาณและกราฟมาตรฐาน ดังรูปที่ 4.14 และ 4.15 ตามลำดับ



รูปที่ 4.14 สัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 0.01 - 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.15 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0.01 - 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาพบว่าระบบซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิสที่ได้พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ปริมาณปรอทได้ในช่วง 0.01 – 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีสมการเส้นตรงตามความสัมพันธ์ของ Stern-Volmer เป็น $I_0/I = 1.483[\text{Hg}(\text{II})] + 1.051$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.992

4.11 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

4.11.1 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์จะประเมินจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงไป โดยความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท

ประเภทของตัวอย่างน้ำ	ความเข้มข้นของปรอท (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ
	ค่าเริ่มต้น	ที่เติมลงไป	ที่ตรวจพบ**	
น้ำดื่ม	n.d.*	0.5	0.37 ± 0.01	101.7
น้ำดื่ม	n.d.*	0.5	0.33 ± 0.02	91.2
น้ำดื่ม	n.d.*	0.5	0.35 ± 0.01	95.4
น้ำประปา	n.d.*	0.5	0.39 ± 0.02	106.2
น้ำประปา	n.d.*	1.0	1.17 ± 0.06	100.3
น้ำประปา	n.d.*	1.0	1.10 ± 0.05	95.2
น้ำคลอง	n.d.*	1.0	1.12 ± 0.04	97.5
น้ำทะเล	n.d.*	1.0	1.23 ± 0.02	106.5

*n.d. คือ non detectable

** mean ± SD (n = 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.11 จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ปริมาณปรอทมีร้อยละค่าคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 97.2 - 105.4 นั่นคือ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ ไม่ถูกรบกวนจากองค์ประกอบภายในตัวอย่าง จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำสูง

4.11.2 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์พบว่าค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 0.94 ซึ่งน้อยกว่าร้อยละ 5 ดังนั้น จึงถือได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่สูง

4.11.3 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) [48]

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ ของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

$$\text{LOD} = 3\text{SD of blank} / \text{slope}$$

$$\text{LOQ} = 10\text{SD of blank} / \text{slope}$$

เมื่อ SD of blank คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบลงค์
slope คือ ค่าความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

เมื่อแทนค่าที่วิเคราะห์ได้ลงในสมการจะได้ LOD เท่ากับ 0.20 และ LOQ เท่ากับ 0.67 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ค่า LOD และ LOQ ที่ได้จากงานวิจัยนี้ยังคงมีค่าสูงกว่าที่เกณฑ์มาตรฐานกำหนด ซึ่งจะต้องมีการพัฒนาในลำดับต่อไป

จากที่ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 สรุปคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีควอนเซียลอินเจกชัน

คุณลักษณะเด่น	ค่าที่ได้
ช่วงความเป็นเส้นตรง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.01-1.00
สมการเชิงเส้นตรง	$I_{\lambda}/I = 1.483[\text{Hg (II)}] + 1.051$
สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)	0.992
ร้อยละของการคืนกลับ (% recovery)	91.2 – 106.5
ความเที่ยง (% RSD) n = 10	0.94
ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.015
ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.050
อัตราการวิเคราะห์ (ตัวอย่างต่อชั่วโมง)	60

4.12 การทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยวิธีแบบ Batch

ทำการตรวจวัดปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา น้ำทะเล และน้ำคลอง ที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงไป โดยความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีแบบ Batch ด้วยวิธีการทางสถิติ ซึ่งผลการวิเคราะห์และการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติแสดงผลดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ผลการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยการวิธีแบบ Batch และเทคนิค SIA ที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปรอท (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	ค่าเริ่มต้น	ที่เติมลงไป	ที่ตรวจพบ	
			วิธีแบบ Batch	งานวิจัยนี้
น้ำดื่ม	n.d.*	0.50	0.49 ± 0.07	0.37 ± 0.01
น้ำประปา	n.d.*	0.50	0.49 ± 0.02	0.39 ± 0.02
น้ำคลอง	n.d.*	1.00	1.06 ± 0.11	1.22 ± 0.04
น้ำทะเล	n.d.*	1.00	1.05 ± 0.01	1.23 ± 0.02

*n.d.คือ non detectable

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการวิเคราะห์และการเปรียบเทียบผลด้วยวิธีการทางสถิติพบว่า การวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($t_{\text{stat}} 2.24 < t_{\text{critical}} 4.30$) จึงสามารถสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำสูงและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1.1 ในงานวิจัยนี้ได้นำเสนอการใช้ฟลูออโรฟอร์ชนิดใหม่ คือ อนุพันธ์ของฟลูออเรสซิน เพื่อการตรวจวัดปริมาณปรอทในแหล่งน้ำ โดยอาศัยเทคนิคฟลูออโรเมทรีร่วมกับระบบซีควนเชียลอินเจคชันอะนาไลซิสและตรวจวัดค่าการเรืองแสงที่ลดลงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน เมื่อทำปฏิกิริยาควENCHING (quenching) กับปรอทพบว่าได้สภาวะที่เหมาะสม ดังต่อไปนี้

- (1) ความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร
- (2) ใช้ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non - sandwich
- (3) อัตราการไหลตรวจวัดที่ 200 ไมโครลิตรต่อวินาที
- (4) ความยาวของมิกซิงคอยล์เท่ากับ 100 เซนติเมตร

5.1.2 ผลจากการประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี เป็นดังนี้

- (1) ช่วงความเป็นเส้นตรง เท่ากับ 0.01-1.00 มิลลิกรัมต่อลิตรของปรอท
- (2) สมการเชิงเส้นตรงตามความสัมพันธ์ของ Stern - Volmer คือ
$$I_0/I = 1.483[\text{Hg (II)}] + 1.051$$
- (3) สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 0.992
- (4) ค่าร้อยละของการวิเคราะห์ที่คืนกลับอยู่ในช่วง 91.2 - 106.5
- (5) ขีดจำกัดในการตรวจวัดเท่ากับ 0.015 มิลลิกรัมต่อลิตร และขีดจำกัดในการวิเคราะห์เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร
- (6) ความเที่ยง (% RSD) $n = 10$ เท่ากับ 0.94
- (7) อัตราการวิเคราะห์ เท่ากับ 60 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

5.1.3 เมื่อพัฒนาวิธีได้แล้ว จึงนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณปรอทในแหล่งน้ำพบว่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา น้ำคลอง และน้ำทะเล ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.1.4 ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้เร็วกว่าการวิเคราะห์แบบ Batch นอกจากนี้ยังใช้สารเคมีและสารตัวอย่างน้อยกว่าและขั้นตอนการวิเคราะห์เป็นระบบปิด จึงสามารถลดอันตรายที่เกิดขึ้นเนื่องจากปรอทได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยาควอนซิงเพิ่มเติม

5.2.2 อาจทำการทดลองในส่วนของการทดสอบความถูกต้องของวิธี (Method validation) เพิ่มเติม โดยเปรียบเทียบปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำที่วิเคราะห์ได้ ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นกับปริมาณที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี ICP-OES ต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17. ภัทรนันท์ รัตนพันธ์, วีรนุช ศรีแย้ม และสาวิตรี ปลื้มเนตร. Fluorescence and Phosphorescence Spectrometry. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.
18. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
19. http://en.wikipedia.org/wiki/Stern%E2%80%93Volmer_relationship (สิงหาคม 2557)
20. กฤษกร เศรษฐการ. (2555). การสังเคราะห์สารที่มีความว่องทางแสงสำหรับประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดไอออนและไดโอดเปล่งแสงชนิดอินทรีย์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
21. แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ. 2553. “หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ”. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัท ชวนพิมพ์ 50 จำกัด.
22. www.flowinjectiontutorial.com (กุมภาพันธ์ 2557).
23. www.hellma-analytics.com/text/1071/en/connection-options-for-flow-through-cells.html (กุมภาพันธ์ 2557).
24. http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Krit_Setthakarn/fulltext.pdf(12 มีนาคม 2559)
25. <http://www.epa.gov/oppsrrd1/reregistration/status.htm> (กรกฎาคม 2557).
26. Wen. Qu, Guo-y. Gao, Bing-b. Shi, Tai-b. Wei, You-m. Zhang, Q. Lin, H. Yao. 2014. A highly selective and sensitive fluorescent chemosensor for mercury ions based on the mechanism of supramolecular self-assembly. *Sensors and Actuators B*. 204:368–374.
27. Y. Yanga, C. Yina, F. Huo, J. Chao , Y. Zhang. 2014. Highly selective relay recognition of hydrogen sulfide and Hg(II) by a commercially available fluorescent chemosensor and its application in bioimaging. *Sensors and Actuators B*. 204:402–406.
28. Y. Yang, X. Gou, J. Blecha, H. Cao. 2010. A highly selective pyrene based fluorescent sensor toward Hg(II) detection. *Tetrahedron Letters*. 51: 3422–3425.
29. H. Dai, H. Xu. 2011. A water-soluble 1,8-naphthalimide-based ‘turn on’ fluorescent chemosensor for selective and sensitive recognition of mercury ion in water. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 21: 5141–5144.
30. Xiang-M. Meng, L. Liu, Hui-Y. Hu, Man-Z. Zhu, Mao-X. Wang, J.n Shi, Qing-X. Guo. 2006. Highly sensitive and selective fluorescent chemosensors for Hg(II) in an aqueous environment based on carbamodithioate. *Tetrahedron Letters*. 47: 7961–7964.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

31. N. Aksuner, B. Basaran, E. Henden, I. Yilmaz, A. Cukurovali. 2011. A sensitive and selective fluorescent sensor for the determination of mercury(II) based on a novel triazine-thione derivative . *Dyes and Pigments*. 88: 143-48.
32. Q. Lin, Y. Huang, J. Fan, R. Wang, N. Fu.2011. A squaraine and Hg(II) - based colorimetric and “turn on” fluorescent probe for cysteine .*Talanta*. 14:66–72.
33. Nantanit Wanichacheva, Ploypan Kumsorn, Rapeepat Sangsuwan, Anyanee Kamkaew, Vannajan Sanghiran Lee, Kate Grudpan.2011. A new fluorescent sensor bearing three dansyl fluorophores for highly sensitive and selective detection of mercury(II) ions. *Tetrahedron Letters* 52: 6133–6136.
34. L. Devi Chebrolua, S. Thurakkal , H. Shankar Balaramana, R. Danaboyina. 2014. Selective and dual naked eye detection of Cu²⁺ and Hg²⁺ ions using a simple quinoline–carbaldehyde chemosensor. *Sensors and Actuators B*. 204: 480–488.
35. Dan Wang, X. Xiang, X. Yang, X. Wang, Y. Guo, W. Liu, W. Qin. 2014. Fluorescein-based chromo-fluorescent probe for zinc in aqueous solution: Spirolactam ring opened or closed?. *Sensors and Actuators B*. 201: 246–254.
36. Chantalakana, K., Choengchan, N., Yingyuad, P., Thongyoo, P., A Highly Selective “Turn-On” Fluorescent Sensor for Zn²⁺ Based On Fluorescein Conjugates, *Tetrahedron Letters* (2016).
37. Nazanin Amini, Terence J. Cardwell, Robert W. Cattrall, Richard J.S. Morrison, Spas D. Kolev.2005. Determination of mercury(II) at trace levels by gas-diffusion flow injection analysis with amperometric detection. *Analytica Chimica Acta* 539 :203–207.
38. Nazanin Amini, Terence J. Cardwell, Robert W. Cattrall, Richard J.S. Morrison, Spas D. Kolev.2007. Gas-diffusion flow injection determination of Hg(II) with chemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta* 582 : 103–108.
39. Muberra Andac & Adem Asan & Nihat Tinkilic & Ibrahim Isildak.2007. A Simple Flow-injection Spectrofluorimetric Method for the Determination of Mercury. *J Fluoresc* (2007) 17:401–405.
40. O. Wurl, O. Elsholz and R. Ebinghaus.2000. Flow system device for the on-line determination of total mercury in seawater. *Talanta*.52: 51–57.

41. J.F. van Staden, R.E. Taljaard. 2004. Determination of Lead(II), Copper(II), Zinc(II), Cobalt(II), Cadmium(II), Iron(III), Mercury(II) using sequential injection extractions. *Talanta* 64:1203–1212.
42. C. Fernandez, Antonio C. L. Conceição, R. Rial-Otero, C. Vaz, J. L. Capelo. 2006. Sequential Flow Injection Analysis System On-Line Coupled to High Intensity Focused Ultrasound: Green Methodology for Trace Analysis Applications As Demonstrated for the Determination of Inorganic and Total Mercury in Waters and Urine by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. *Anal. Chem.* 78: 2494-2499.
43. Aristidis N. Anthemidis, George A. Zachariadis, John A. Stratis. 2004. Development of a sequential injection system for trace mercury determination by cold vapour atomic absorption spectrometry utilizing an integrated gas-liquid separator/reactor. *Talanta*. 64: 1053–1057.
44. F.M. Bauza de Mirabón, A.Ch. Thomas, E. Rubó, R. Forteza. 1997. Sequential injection analysis system for determination of mercury by cold-vapor atomic absorption spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*. 355 : 203-210.
45. Y. Zhang and S. B. Adeloju. 2008. A novel sequential injection—Cold vapour atomic absorption spectrometric system for rapid and reliable determination of mercury. *Talanta*. 74: 951–957.
46. O. Elsholz, C. Frank, B. Stachel, H. Reincke, R. Ebinghaus. 2001. Sequential injection standard addition for on-line measurement of mercury in the river Elbe. *Analytica Chimica Acta*. 438: 251–258.
47. L.O. Leal, O. Elsholz, R. Forteza and V. Cerd. 2006. Determination of mercury by multisyringe flow injection system with cold-vapor atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 573–574: 399–405.



ภาคผนวก ก
สถานการณ์การปนเปื้อนของปรอทในประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. สถานการณ์การปนเปื้อนของปรอทในประเทศไทย [15-17]

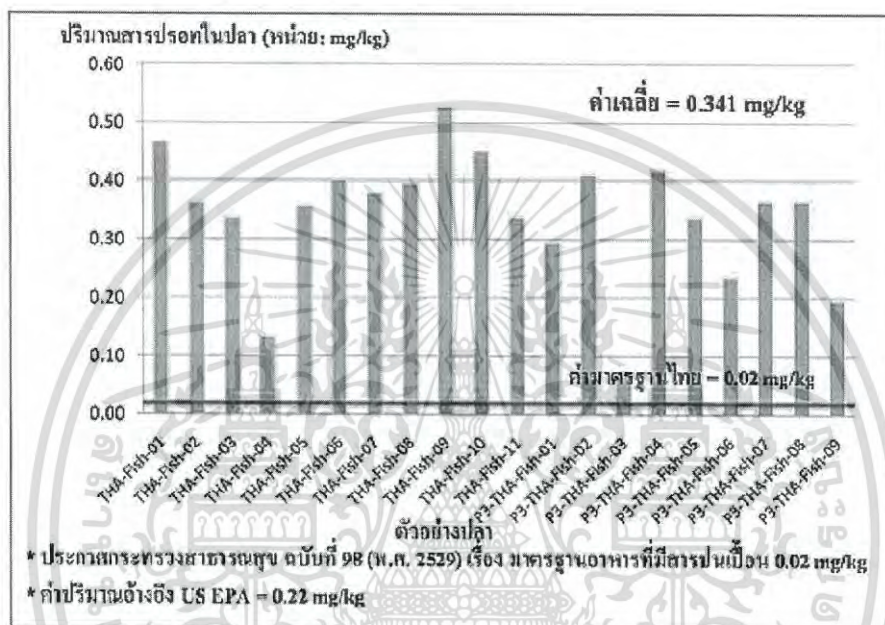
ข้อมูล ในปี พ.ศ. 2539-2541 ที่รวบรวมโดยกรมควบคุมมลพิษในรายงานเรื่อง “สถานการณ์โลหะหนักในตะกอนดินและเนื้อเยื่อสัตว์น้ำบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทย” ทำให้เราสามารถสรุปถึงสถานการณ์การปนเปื้อนของปรอทในบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาได้ดังนี้ คือ จากการศึกษาปริมาณโลหะหนักในบริเวณพื้นที่อุตสาหกรรม พบว่าปริมาณปรอทในตะกอนดินบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยามีค่า 2.8 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐานที่อาจจะเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้ ในปี พ.ศ. 2541 พบสารปรอทปนเปื้อนในตะกอนดินต่อพื้นที่ มีค่าสูงสุด คือ 0.339 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ต่อมาพบปรอทปนเปื้อนในเนื้อเยื่อปลากระบอกและปลาหูในปี พ.ศ. 2542 ปริมาณ 0.063 และ 0.014 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักเปียก ตามลำดับ และพบปรอทปนเปื้อนในเนื้อเยื่อกุ้งแชบ๊วย และกุ้งตะกาด <math>< 0.003</math> มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักเปียก และในปีเดียวกัน พบปรอทปนเปื้อนในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่และหอยแครง 0.02 และ 0.027 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักเปียก

สืบเนื่องจากเมื่อวันที่ 29 กันยายน พ.ศ. 2555 กรณีทาร์กวัย 8 เดือนซึ่งเติบโตในโรงงานคัดแยกขยะอุตสาหกรรมแห่งหนึ่งใน อ.เมือง จ.สมุทรสาคร พบสารตะกั่วในเลือดสูงกว่าค่ามาตรฐานถึง 17 เท่า ซึ่งทุกหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้หามาตรการป้องกันอย่างเร่งด่วน เพื่อไม่ให้เด็กไทยและผู้ใหญ่มีความบกพร่องของสมองมากขึ้น ซึ่งประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดค่าความปลอดภัยของการได้รับสารปรอทไว้ที่ 34 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อหนึ่งกิโลกรัมต่อวันโดยกำหนดจากปริมาณสารปรอทที่เป็นเหตุให้ทารกปัญญาอ่อนอย่างรุนแรงแต่กำเนิด แต่กลับพบว่าเด็กที่ได้รับสารปรอทในปริมาณต่ำกว่าค่าความปลอดภัยดังกล่าวมีไอคิวต่ำ เริ่มพูดและเริ่มเดินช้ากว่าเด็กทั่วไป ปัจจุบันองค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดค่ามาตรฐานที่ยอมรับได้ของสารปรอทไว้เพียง 0.85 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน ก็ยังคงพบทารกที่ได้รับสารปรอทไม่เกินค่ามาตรฐานที่แสดงความบกพร่องทางภาษา ความจำ และสมาธิ ด้วยเช่นกัน

เมื่อต้นปี พ.ศ. 2556 พบปรอทปนเปื้อนในชุมชนที่คลองชลองแวง ตำบลท่าตุม อำเภอสรีมหาโพธิจังหวัดปราจีนบุรี ใกล้กับสวนอุตสาหกรรม 304 ที่มีโรงงานผลิตกระดาษ และโรงไฟฟ้าถ่านหิน เมื่อดูจากแผนที่ของสวนอุตสาหกรรมพบว่า ทางด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือของพื้นที่ถูกสร้างเป็นบ่อพักน้ำทิ้งขนาดใหญ่ ติดกับกลุ่มโรงงานเยื่อกระดาษและโรงไฟฟ้า บ่อพักน้ำทิ้งดังกล่าวยังคงตั้งอยู่ติดกับอ่างเก็บน้ำดิบและมีคลองชลองแวงไหลผ่าน จากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างปลาช่อนและเส้นผมของชาวบ้านท่าตุมที่อาศัยใกล้บริเวณดังกล่าวพบปรอทปนเปื้อน โดยปลาช่อนตัวอย่างที่จับได้จากคลองชลองแวง 20 ตัว ทุกตัวมีปริมาณสารปรอทปนเปื้อนสูงเกินค่ามาตรฐานอาหารของกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งกำหนดให้มีการปนเปื้อนของปรอทไว้ไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ปลาที่จับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีปรอทปนเปื้อนตั้งแต่ 0.067-0.220 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์ 3-11 เท่า ปริมาณปรอทที่ตรวจพบในตัวอย่างปลาจากคลองชลองแวง แสดงดังรูปที่ ก.1 ขณะที่ผลการตรวจตัวอย่างเส้นผมของอาสาสมัครชาวบ้าน 20 คนที่บริเวณคลองชลองแวงและอาศัยอยู่ในรัศมี 2 กิโลเมตร รอบพื้นที่อุตสาหกรรมพบว่าเส้นผมของทุกคนมีสารปรอทสะสมตั้งแต่ 1.628-12.758 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นตัวเลขที่เกินค่าปริมาณอ้างอิง 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไปค่อนข้างมาก ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ว่า ช่องทางหนึ่งที่สารปรอทจะเข้าสู่ปลาและชาวบ้านท่าตุมคือ ถ้ำลอยจากโรงไฟฟ้าถ่านหิน ผุ่นถ่านหินจากลานเก็บถ่านหินแบบเปิด ซึ่งถ้ำจากโรงไฟฟ้าที่นำมาปรับสภาพดินในแปลง ยูคาลิปตัส และน้ำเสียปนเปื้อนสารปรอทจากโรงผลิตเยื่อกระดาษที่อาจรั่วซึมลงคลองสาธารณะ



รูปที่ ก.1 แสดงปริมาณปรอทที่ตรวจพบในตัวอย่างปลาจากคลองชลองแวง [13]

และล่าสุดเมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม พ.ศ. 2556 พบน้ำมันดิบรั่วไหลลงสู่ทะเลห่างจากท่าเรือมาบตาพุด จังหวัดระยอง ประมาณ 18 กิโลเมตร เหตุเกิดจากเรือบรรทุกน้ำมัน Malan Plato สัญชาติกรีซกำลังถ่ายน้ำมันดิบผ่านทวนรับน้ำมันดิบมายังโรงกลั่นของ บริษัท พีทีที โกลบอล เคมิคอล จำกัด (มหาชน) ได้เกิดการรั่วไหลของน้ำมันดิบประมาณ 50,000 ลิตร ลงสู่ทะเล สามารถสังเกตเห็นเป็นคราบน้ำมันที่ผิวหน้าน้ำทะเล มีขอบเขตประมาณ 1.5 x 8.3 ตารางกิโลเมตร โดยมีทิศทางการเคลื่อนที่ไปทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือตามทิศทางลมเข้าหาฝั่ง โดยคราบน้ำมันครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งบริเวณอ่าวพร้าว และด้านเหนือของเกาะเสม็ด รวมทั้งชายฝั่งอ่าวบ้านเพ สร้างผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และทรัพยากรชีวภาพชายฝั่งทะเล จากผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำทะเลบริเวณอ่าวพร้าวของกรมควบคุมมลพิษ พบปรอทมีค่าสูงเกินกว่าค่ามาตรฐานถึง 29 เท่า หรือสูงถึง 2.9 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ที่ 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร จากสถิติกรมเจ้าท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างปี พ.ศ. 2540 - 2553 พบการรั่วไหลของน้ำมันในปริมาณมาก ทั้งสิ้น 9 ครั้ง ดังแสดงในตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 สถิติเหตุการณ์น้ำมันรั่วไหลปริมาณมาก ระหว่างปี พ.ศ. 2540 - 2553

ลำดับ	วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	สถานที่เกิด	ปริมาณ
1	22 พฤษภาคม พ.ศ.2544	น้ำมันดิบ	ท่อขนถ่ายน้ำมันกลางทะเลจากเรือ Tokachi ของบริษัทอัลลายแอนซ์ รีไฟน์นิ่ง จำกัด หลุดออกจากกันทำให้น้ำมันรั่วไหล บริเวณท่าเรือมาบตาพุด จ. ระยอง	30 ตัน
2	15 มกราคม พ.ศ. 2545	น้ำมันเตา	เรือ Eastern Fortitude สัญชาติปานามา ชนหินฉลาม บริเวณนอกฝั่งอำเภอสัตหีบ จ.ชลบุรี	234 ตัน
3	17 ธันวาคม พ.ศ. 2545	น้ำมันเตา	เรือ Kota Wijaya ชนกับเรือ ทางเข้าท่าเรือ Sky Ace ทำให้น้ำมันเตารั่วไหล ลงทะเลบริเวณแหลมฉบัง ด้านใต้ของเกาะสีชัง ชลบุรี	210 ตัน
4	20 พฤศจิกายน พ.ศ.2548	น้ำมันดิบ	ท่อเชื่อมต่อบริเวณท่อนผูกเรือ SBM ของบริษัทไทยออยล์ จำกัด (มหาชน) เกิดหลุดขณะส่งถ่ายน้ำมัน เนื่องจากคลื่นลมแรง บริเวณ อ.ศรีราชา จ. ชลบุรี	20 ตัน
5	4 พฤษภาคม พ.ศ. 2549	น้ำมันเตา	เรือบรรทุกน้ำมัน CP 34 เกิดรอยรั่ว บริเวณที่ระวางหมายเลข 2 หน้าท่าเทียบเรือ บริษัท อัลลายแอนซ์ รีไฟน์นิ่ง จำกัด อ. มาบตาพุด จ.ระยอง	20 ตัน
6	6 ตุลาคม พ.ศ. 2550	Saraline 185V	บริเวณแท่น Trident-16 (Offshore Mobile Drilling Unit) ของบริษัท Chevron Thailand เกิดการรั่วไหลของน้ำมันจาก Storage Tank	220 บาร์เรล
7	9 ธันวาคม พ.ศ. 2550	น้ำมันดีเซล และน้ำมันเตา	เรือบรรทุกแก๊สของบริษัท เวิร์ลไวด์ทรานสปอร์ต จำกัด อับปาง ในทะเลห่างชายฝั่ง อ.สทิงพระ จ.สงขลา 15 ไมล์ทะเล	ประมาณ 20,000 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

ลำดับ	วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	สถานที่เกิด	ปริมาณ
8	15 มิถุนายน พ.ศ. 2551	น้ำมันเตา	เรือสินค้า Chol Han สัญชาติเกาหลีเหนือ เกิดการรั่วไหลจาก Vong Chong Nyon Ho บริเวณอยู่เรือบริษัท เอเชียน มารีน เซอร์วิส จำกัด (มหาชน) อ.พระสมุทรเจดีย์ จ.สมุทรปราการ	คาดว่าไม่น้อยกว่า 40,000 ลิตร
9	4 กันยายน พ.ศ. 2554	ดีเซล (B5)	เรือบรรทุกน้ำมันชื่อ ส.โชคถาวร 6 อับปาง เนื่องจากสภาพภูมิอากาศเลวร้ายและมีคลื่น ลมแรง ห่างจากเกาะราชาใหญ่ ทางด้าน ตะวันออก ประมาณ 4 ไมล์ทะเล จ.ภูเก็ต	ประมาณ 40,000 ลิตร

แหล่งที่มา : ฐานข้อมูลความรู้ทางทะเล จัดทำขึ้นภายใต้โครงการจัดการความรู้เพื่อผลประโยชน์
แห่งชาติทางทะเล โดยมีเป้าหมายที่จะสร้างเครือข่ายของข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการจัดการผลประโยชน์
ทางทะเลทุกด้านโดยผ่านทางอินเทอร์เน็ต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
1. ค่าความเป็นกรดและด่าง (pH value)	5.5-9.0	pH Meter
2. ค่าที่ดิสโซลด์ (TDS) หรือ Total Dissolved Solids	<ul style="list-style-type: none"> ไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาจแตกต่างกันแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรมที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำทิ้งที่จะระบายลงแหล่งน้ำกร่อยที่มีค่าความเค็ม (Salinity) เกิน 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือลดลงทะเล ค่าที่ดิสโซลด์ในน้ำทิ้งจะมีค่ามากกว่าค่าที่ดิสโซลด์ที่มีอยู่ในแหล่งน้ำกร่อยหรือน้ำทะเลได้ไม่เกิน 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร 	ระเหยแห้งที่อุณหภูมิ 103 -105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. สารแขวนลอย (Suspended Solids)	<ul style="list-style-type: none"> ไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาจแตกต่างกันแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม หรือประเภทของระบบบำบัดน้ำเสียตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 150 มิลลิกรัมต่อลิตร 	กรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว (Glass Fiber Filter Disc)
4. อุณหภูมิ (Temperature)	ไม่เกิน 40°C	เครื่องวัดอุณหภูมิ วัดขณะทำการเก็บตัวอย่างน้ำ
5. สีหรือกลิ่น	ไม่เป็นที่พึงรังเกียจ	ไม่ได้กำหนด
6. ซัลไฟด์ (Sulfide as H ₂ S)	ไม่เกิน 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	Titrate
7. ไซยาไนด์ (Cyanide as HCN)	ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร	กลั่นและตามด้วยวิธี Pyridine Barbituric Acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 (ต่อ)

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
8. น้ำมันและไขมัน (Fat, Oil and Grease)	ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาจ แตกต่างกันแล้วแต่ประเภทของแหล่งรองรับ น้ำทิ้ง หรือ ประเภทของโรงงาน อุตสาหกรรมตามที่คณะกรรมการควบคุม มลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อ ลิตร	สกัดด้วยตัวทำละลาย แล้วแยกหาน้ำหนักของ น้ำมันและไขมัน
9. พอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde)	ไม่เกิน 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	Spectrophotometry
10. สารประกอบฟีนอล (Phenols)	ไม่เกิน 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	กลั่นและตามด้วยวิธี 4-Aminoantipyrine
11. คลอรีนอิสระ (Free Chlorine)	ไม่เกิน 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	Iodometric Method
12. สารที่ใช้ป้องกันหรือ กำจัดศัตรูพืชหรือสัตว์ (Pesticide)	ต้องตรวจไม่พบตามวิธีตรวจสอบที่กำหนด	Gas- Chromatography
13. ค่าบีโอดี (5 วัน ที่อุณหภูมิ 20°C) (Biochemical Oxygen Demand : BOD)	ไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือแตกต่างกัน แล้วแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่ คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ ไม่เกิน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร	Azide Modification ที่อุณหภูมิ 20°C เป็น เวลา 5 วัน
14. ค่าทีเคเอ็น (TKN หรือ Total Kjeldahl Nitrogen)	ไม่เกิน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาจ แตกต่างกันแล้วแต่ประเภทของแหล่งรองรับ น้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษ เห็นสมควร แต่ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร	Kjeldahl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 (ต่อ)

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
15. ค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand : COD)	ไม่เกิน 120 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาจแตกต่างกันแต่ละประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรมตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร	Potassium Dichromate Digestion
16. โลหะหนัก (Heavy Metal)	ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	Atomic Absorption Spectro photometry ชนิด Direct
16.1 สังกะสี (Zn)		
16.2 โครเมียมชนิดเฮกซะวาเลนต์ (Hexavalent Chromium)	ไม่เกิน 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร	Aspiration หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด
16.3 โครเมียมชนิดไตรวาเลนต์ (Trivalent Chromium)	ไม่เกิน 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร	Inductively Coupled Plasma : ICP
16.4 ทองแดง (Cu)	ไม่เกิน 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	
16.5 แคดเมียม (Cd)	ไม่เกิน 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร	
16.6 แบเรียม (Ba)	ไม่เกิน 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	
16.7 ตะกั่ว (Pb)	ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร	
16.8 นิกเกิล (Ni)	ไม่เกิน 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	
16.9 แมงกานีส (Mn)	ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	
16.10 อาร์เซนิก (As)	ไม่เกิน 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร	- Atomic Absorption Spectrophotometry ชนิด Hydride Generation หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด ICP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 (ต่อ)

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
16.11 เซเลเนียม (Se)	ไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร	- Atomic Absorption Spectrophotometry ชนิด Hydride Generation หรือวิธี Plasma Emission Spectroscopy ชนิด Inductively Coupled Plasma : ICP
16.12 พรอท (Hg)	ไม่เกิน 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร	- Atomic Absorption Cold Vapour Technique

แหล่งที่มา : ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) ลงวันที่ 29 มกราคม 2539 เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 113 ตอนที่ 13 ลงวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2539

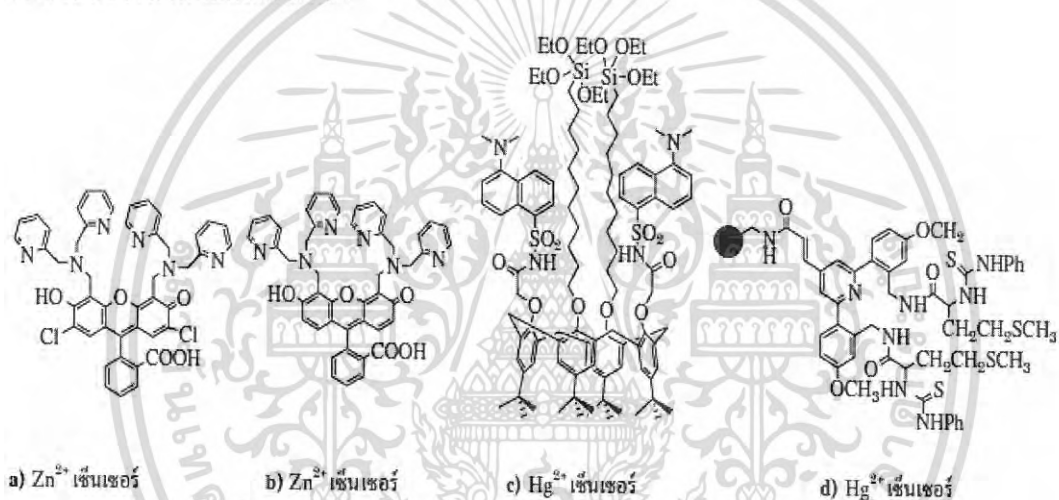
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์เป็นเทคนิคการตรวจวัดใหม่ที่ไม่ทำลายสารตัวอย่าง จึงมีการนำไปประยุกต์ใช้ในด้าน Biomedical โดยใช้ตรวจวัดและติดตามปริมาณไอออนที่อยู่ในเซลล์สิ่งมีชีวิต ซึ่งเซ็นเซอร์เหล่านี้จะต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ มี Quantum yield ของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์สูง และเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นสูงกว่า 500 นาโนเมตร เพื่อหลีกเลี่ยงสัญญาณรบกวนของสารชนิดอื่นๆ เช่น กรดอะมิโนบางชนิด หรืออีโมโกลบินที่อยู่ในเซลล์ สามารถแพร่ผ่านเซลล์เมมเบรนเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ และไม่มีพิษต่อเซลล์ที่จะศึกษา

ตัวอย่างเซ็นเซอร์ที่นำไปประยุกต์ใช้นี้ ได้แก่ โซเดียมเซ็นเซอร์ โพแทสเซียมเซ็นเซอร์ ทองแดงเซ็นเซอร์ พรอทเซ็นเซอร์ และสังกะสีเซ็นเซอร์ ดังเช่น งานวิจัยของ Burdette และคณะ ซึ่งได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์สองชนิดที่ประกอบด้วยฟลูออโรฟอร์ชนิดฟลูออเรสซินและไอโอโนฟอร์ชนิด bis(2-pyridylmethyl)amine(dipicolylamine) (รูปที่ ค.1) เพื่อใช้เป็นสังกะสีเซ็นเซอร์ในการติดตามปริมาณไอออนสังกะสีในเซลล์ประสาท และเพื่อใช้ประโยชน์ในการศึกษาการรับส่งสัญญาณของเซลล์ประสาทที่มีผลต่อสิ่งเร้า



รูปที่ ค.1 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่นำไปใช้ในด้าน Biomedical Application และชุดตรวจสอบไอออน

นอกจากนี้ยังมีการนำฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ไปพัฒนาต่อยอด โดยการทำเป็นชุดตรวจสอบไอออน โดยการนำเซ็นเซอร์ไปทำปฏิกิริยาบนพื้นผิวของวัสดุที่เป็น Solid support บางประเภท ดังตัวอย่างงานวิจัยของ Metivier และคณะ ได้นำเซ็นเซอร์ที่ประกอบด้วย calyx[4]arene และฟลูออโรฟอร์ชนิด Dansyl มาต่อเติมสายโซ่ยาวที่ประกอบด้วยหมู่ Triethoxysilane และนำไปทำปฏิกิริยาบนพื้นผิวของ Mesoporous silica ที่มีความพรุน 66 \AA เพื่อใช้เป็นวัสดุที่สามารถตรวจวัดปริมาณไอออนปรอทได้โดยพบว่าเมื่อนำ Mesoporous silica ที่ต่อเข้ากับเซลล์มาแขวนลอยในสารละลายปรอทจะทำให้สัญญาณความเข้มของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ลดลงเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณของไอออนปรอทที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยที่ใช้อนุภาคนาโนในการตรวจวัดปรอท

Guang-Li Wang และคณะ ได้พัฒนาวิธีการที่จะทำให้เซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์มาจากอนุภาคนาโนเงิน (AgNPs) สามารถตรวจวัดได้เป็นคู่คือ สำหรับการตรวจวัดปรอท (II) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยการผสมระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับ AgNPs และปรอท (II) ในการเปลี่ยนสีของสารละลายในไม่กี่นาทีที่ปรอท (II) 2.0 นาโนโมลต่อลิตร และไอออนโลหะอื่นๆ ไม่สามารถเปลี่ยนสีได้ที่ 10 ไมโครโมลต่อลิตร ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญในงานวิจัยนี้ เนื่องจากตัวทดสอบในงานวิจัยนี้ไม่เพียงแต่สามารถตรวจวัดปรอท (II) ได้สำเร็จเท่านั้น แต่ยังสามารถใช้ทดสอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่ำ 50 นาโนโมลต่อลิตร (โดยใช้การสังเกตด้วยตาเปล่า) ความไวและความเลือกเฉพาะต่อคุณสมบัติของปรอทไอออนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้ผลมาจากการใช้ AgNPs ในปฏิกิริยารีดักชันของปรอท (II) ไปเป็นธาตุปรอท (Hg) ในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้การรวมกันและการทดสอบสีของ AgNPs เป็นสิ่งสำคัญ ความไวและความเลือกเฉพาะเป็นสิ่งสำคัญของการพัฒนาวิธีการตรวจสอบสำหรับโลหะไอออนและชีวโมเลกุลโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาการเกิดปฏิกิริยาของ AgNPs

Bing Leng และคณะได้พัฒนาวิธีการเปลี่ยนแปลงสีในการตรวจวัดปรอท (II) ในสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย โดยใช้อนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) โดยในงานวิจัยนี้การสังเคราะห์ chemodosimeter เตรียมจากไทโอยูเรียเชื่อมต่อกับ 1,8-naphthalimide และอยู่บนพื้นผิวของ AuNPs ในการตอบสนองของปรอท (II) กับ AuNPs chemodosimeter สามารถเห็นได้ชัดได้ด้วยตาเปล่า อย่างไรก็ตามระบบนาโนเทคโนโลยียังคงส่งผลในการตอบสนองการดูดกลืนแสงที่ไม่ดีของปรอท (II) ในน้ำ จึงใช้โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว เพื่อให้แน่ใจว่ามีประสิทธิภาพมากขึ้นระหว่างตัวตรวจวัดและปรอท (II) ในน้ำและจึงนำไปสู่การตอบสนองสีที่มีความไวมากขึ้น และปรอท (II) ทำให้การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสง เนื่องจากประสิทธิภาพพิเศษของ AuNPs ต่อฟลูออโรฟอร์

Z. X.Cai และคณะ ได้พัฒนาการเตรียมศึกษาคุณลักษณะ และประเมินความเป็นไปได้ในการใช้อนุภาคนาโนแคดเมียมซัลไฟด์เคลือบผิวด้วยซิสเทอีน (L-cysteine) ตรวจวัดปริมาณปรอท (II) โดยเตรียมแคดเมียมซัลไฟด์ควอนตัมดอทที่มีการเคลือบผิวด้วยซิสเทอีน (L-cysteine) ขึ้นที่อุณหภูมิห้องโดยใช้อัตราส่วนโดยโมล $\text{CdCl}_2:\text{Na}_2\text{S}:\text{L-cysteine} = 1:0.25:3$ และนำมาใช้ในการตรวจวัดปรอท (II) ที่ความยาวคลื่นแสงการกระตุ้นและการคายแสงเป็น 360 และ 495 นาโนเมตร ตามลำดับพบว่าได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 16-122 นาโนโมลต่อลิตรและขีดจำกัดการตรวจวัดเป็น 2.4 นาโนโมลต่อลิตร

N. Bi และคณะ ได้พัฒนาการตรวจวัดปริมาณปรอทด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีโดยใช้แท่งทองคำระดับนาโน พบว่าแท่งทองคำระดับนาโนจะเกิดการรวมตัวเมื่อมี Dithiothreitol แต่อย่างไรก็ตาม Dithiothreitol จะเกิดการโคออร์ดิเนตกับปรอท (II) เกิดเป็นพันธะโคเวเลนต์ของ Hg-S และสามารถยับยั้งการรวมตัวได้ การตรวจวัดจะอาศัยอัตราส่วนความแตกต่างระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสองความยาวคลื่นที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของปรอท พบว่าสามารถ

ตรวจวัดได้ในช่วงความเข้มข้น 1-50 นาโนโมลต่อลิตรโดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเป็น 0.42 นาโนโมลต่อลิตรโดยวิธีนี้มีความเฉพาะเจาะจงสูงและสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์น้ำตัวอย่างได้

Amara Apilux และคณะ ได้รวบรวมเอาวิธีการทดลองบนกระดาษกับวิทยาการอนุภาคนาโนเงิน (AgNPs) เพื่อพัฒนาอุปกรณ์ใหม่สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของปรอท (II) ที่ง่ายและรวดเร็ว การวัดปรอท (II) ด้วยกระดาษสามารถวัดปรอท (II) ได้เพียง 2 ไมโครลิตร ของสารละลาย ตัวอย่าง การเปลี่ยนแปลงเนื่องมาจากปรอท (II) ทำให้เกิดสีของ AgNPs ในพื้นที่ทดสอบทันที และการเปลี่ยนแปลงนี้สามารถตรวจสอบได้ด้วยตาเปล่า วิธีการนี้แสดงการเลือกเฉพาะของปรอท (II) ได้ดีกว่าการทดสอบด้วยไอออนของโลหะอื่นๆ ได้ผลที่แสดงการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในการวิเคราะห์สัญญาณของปรอท (II) ภาพถ่ายจากกล้องดิจิทัลและการประมวลผลซอฟต์แวร์แสดงความสามารถเชิงปริมาณของเทคนิคนี้ ได้ช่วงความเป็นเส้นตรง คือ 5-75 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ขีดจำกัดของการตรวจวัดปรอท (II) คือ 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการ pre-concentration (ทำ 2 ไมโครลิตรซ้ำ โดยการประยุกต์สารละลายที่ทดสอบปรอท (II) ใช้บนโชนการทดสอบเดียวกัน) เพื่อลดขีดจำกัดของการตรวจวัดไปเป็น 2 ไมโครกรัมต่อลิตร การพัฒนาเทคนิคโดยการศึกษาครั้งนี้ มีวิธีการตรวจวัดอย่างรวดเร็ว ที่มีความไวและมีความเลือกเฉพาะสำหรับน้ำตัวอย่างที่มีปรอท (II) เหมาะสำหรับเขตทางไกลต่อการวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อมอย่างยิ่ง เพราะสามารถพกพาไปยังแหล่งที่ต้องการวิเคราะห์ได้

M. Nidya และคณะ ได้สังเคราะห์และประยุกต์ใช้อนุภาคนาโนเงิน (AgNPs) โดยใช้วิธี Creighton's method เพื่อพัฒนาอุปกรณ์ใหม่สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของปรอท (II) ที่ง่ายและรวดเร็ว โดยใช้ L- cysteine เพื่อดัดแปลงพื้นผิวของ AgNPs ให้มีความเสถียรเพิ่มมากขึ้น การเตรียม AgNPs ทำได้โดยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 20.00 มิลลิกรัมความเข้มข้น 1.00 มิลลิโมลต่อลิตรค่อยๆ หยด สารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 60.00 มิลลิกรัมความเข้มข้น 1.00 มิลลิโมลต่อลิตรภายใต้การปั่นกววนอย่างต่อเนื่อง แล้วเก็บไว้ที่เย็น หลังจากนั้นค่อยๆ หยด ซีสเทอีน อย่างต่อเนื่อง 1.00 มิลลิโมลต่อลิตร ปั่นกววนอย่างต่อเนื่อง จะได้สารละลาย AgNPs สีน้ำตาลเหลือง ซึ่งพีเอชจะไม่ส่งผลต่อสีของสารละลาย AgNPs ความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงเป็น 404 นาโนเมตร และเมื่อนำมาใช้ในการตรวจวัดปรอท (II) พบว่า สารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเหลืองเป็นใสไม่มีสีตามความเข้มข้นปรอทที่เพิ่มขึ้น และสามารถวิเคราะห์ปรอทได้ในช่วง 1.6×10^{-5} - 4.5×10^{-4} โมลต่อลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

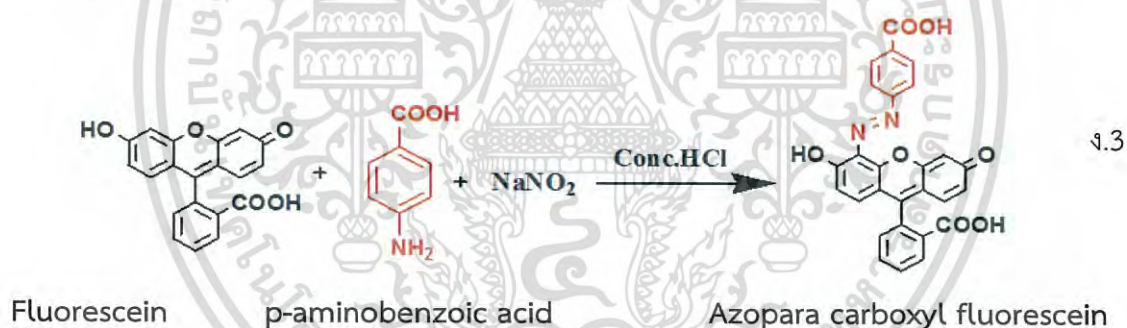
1.1 อนุพันธ์ฟลูออเรสซินในตำแหน่ง Azopara carboxyl fluorescein (อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน หมายเลข 2, F2)

1. การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์

นำฟลูออเรสซิน 2.6826 กรัม (8.073 มิลลิโมล) ละลายด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร นำโซเดียมไนไตรท์ 0.42xx กรัม (6.0xx มิลลิโมล) ละลายในน้ำเย็น 4.0 มิลลิลิตร และนำพาราอะมิโนเบนโซอิกแอซิด 0.831x กรัม (6.06 มิลลิโมล) ละลายด้วยน้ำ 10.0 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองใน Ice bath ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 5 °C

2. การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

จะใช้สารละลายที่เตรียมได้จากหัวข้อ 1 การสังเคราะห์เริ่มจากค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ลงในสารละลาย พาราอะมิโนเบนโซอิกแอซิด ทำการปั่นกววนประมาณ 10-15 นาที แล้วค่อยๆ เติมสารละลาย ฟลูออเรสซิน ทำการปั่นกววนต่อประมาณ 30 นาที ตามลำดับ จากนั้นจึงทำการเทสารละลายที่ได้ลงในน้ำเย็น คนจนเกิดตะกอน แล้วนำไปกรอง โดยจะได้ผลึกสีส้มเหลืองถึงส้มอิฐ ปฏิกริยาเคมีแสดงการสังเคราะห์เป็นดังสมการที่ ง.3



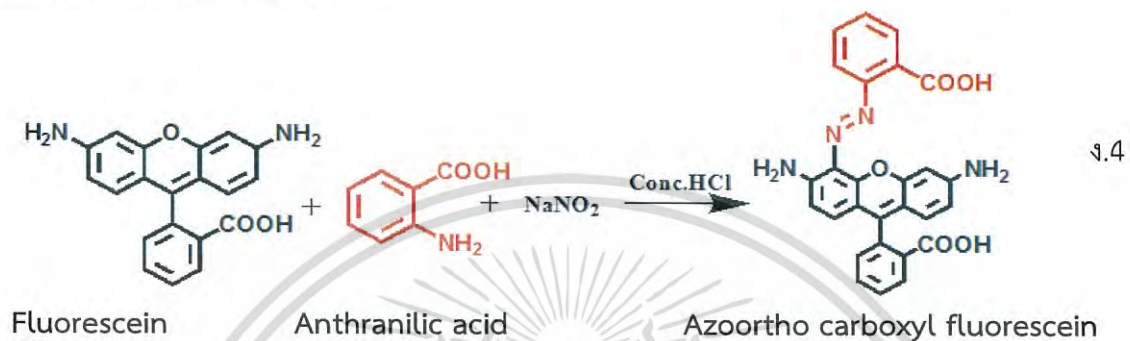
1.2 อนุพันธ์ฟลูออเรสซินในตำแหน่ง Azoortho carboxyl fluorescein (ฟลูออเรสซินหมายเลข 3, F3)

1. การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์

นำฟลูออเรสซิน 0.8942 กรัม (2.691 มิลลิโมล) ละลายด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร นำโซเดียมไนเตรด 0.014x กรัม (2.0xx มิลลิโมล) ละลายในน้ำเย็น 1.0 มิลลิลิตร และนำแอนทรานิลิกแอซิด 0.2774 กรัม (2.02 มิลลิโมล) ละลายด้วยเมทานอล 5.0 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองใน Ice bath ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 5 °C

2. การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซีน

จะใช้สารละลายที่เตรียมได้จากหัวข้อ 1 การสังเคราะห์เริ่มจากค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ลงในสารละลายแอนทรานิลิกแอซิด ทำการปั่นกววน ประมาณ 10-15 นาที แล้วค่อยๆ เติมสารละลายฟลูออเรสซีน ทำการปั่นกววนต่อประมาณ 30 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปประเหยเอาตัวทำละลายออก โดยจะได้ผลึกสีส้มเหลืองถึงส้มอิฐ ปฏิกริยาเคมีแสดงการสังเคราะห์เป็นดังสมการที่ ง.4



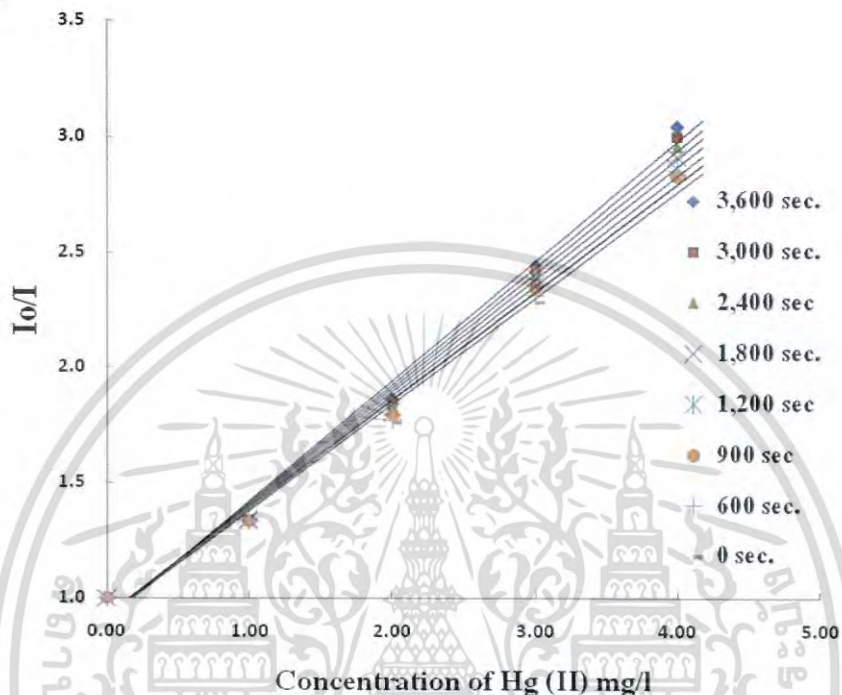
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. สมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสินใจของปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) โดยศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยา

ทำการศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยากับปรอท (II) และวัดค่าการเรืองแสงต่อเนื่องเป็นเวลา 3,600 วินาที



รูปที่ จ.1 (ก) กราฟมาตรฐานของการศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) ที่เวลาต่างๆ เป็นเวลา 3,600 วินาที

ตารางที่ จ.1(ก) สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อการศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II) ที่เวลาต่างๆ เป็นเวลา 3,600 วินาที

เวลาที่ใช้ศึกษาจลนศาสตร์ (วินาที)	สมการเชิงเส้นตรง	สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
เริ่มต้น	$y = 0.459x + 0.919$	0.990
600	$y = 0.468x + 0.917$	0.990
900	$y = 0.465x + 0.927$	0.993
1,200	$y = 0.476x + 0.922$	0.992
1,800	$y = 0.487x + 0.916$	0.992
2,400	$y = 0.497x + 0.911$	0.991
3,000	$y = 0.507x + 0.906$	0.991
3,600	$y = 0.518x + 0.901$	0.990

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

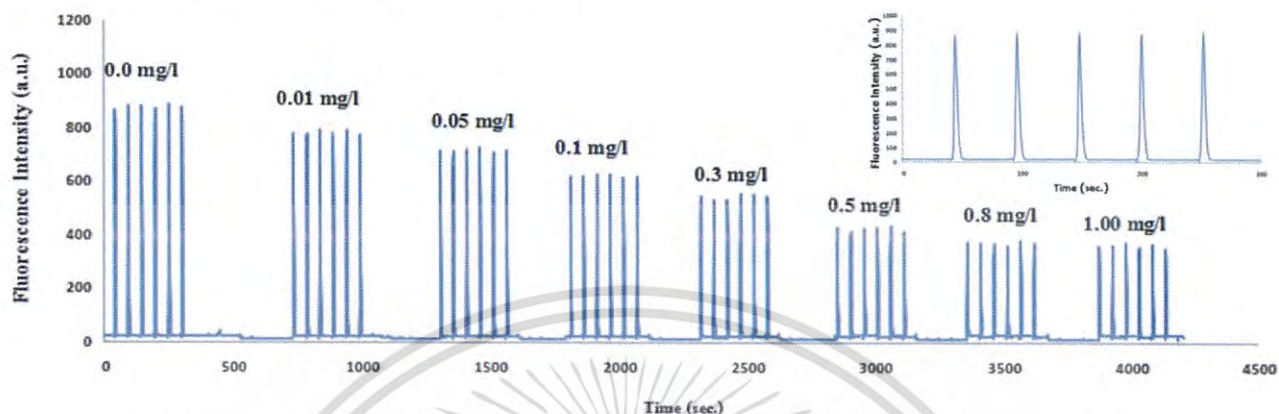


ภาคผนวก จ
ผลการทดลองเพิ่มเติม
ศึกษาปีที่ ๒๕๖๓

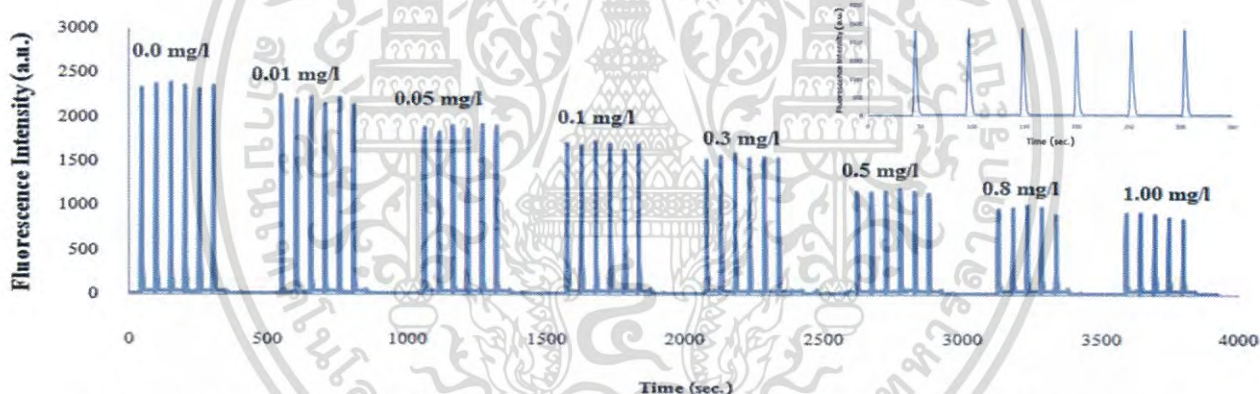
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ความเข้มข้นของสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

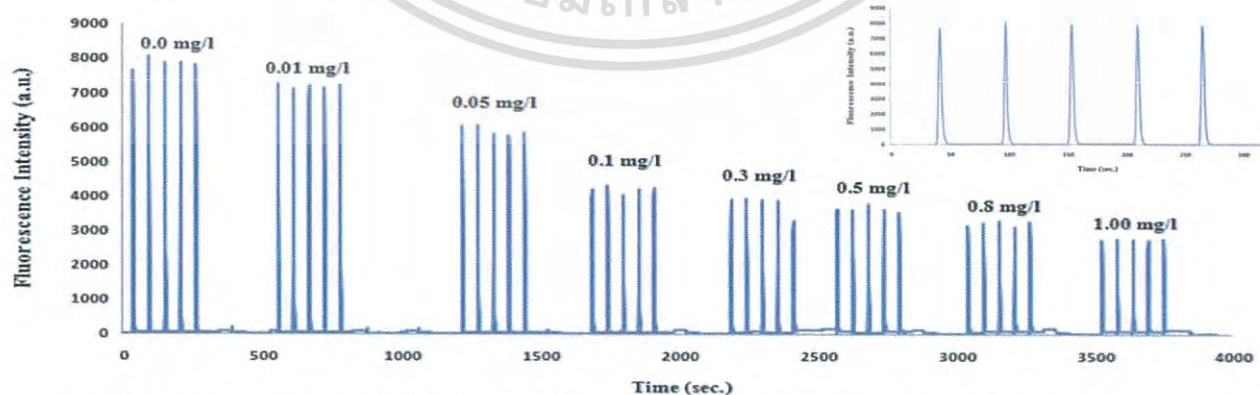
ทำการศึกษาความเข้มข้นของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน โดยความเข้มข้นที่เลือกศึกษาคือ 0.15, 0.30, 1.50 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ



รูปที่ ๑.1 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II)



รูปที่ ๑.1 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II)



รูปที่ ๑.1 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑.1 (ก) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ
ปรอท (II)

Con.Hg (II) mg/L	lo	I1	I2	I3	I4	I5	lo/I1	lo/I2	lo/I3	lo/I4	lo/I5	ave	SD	% RSD
0.00	858.13	841.31	857.36	865.88	857.51	868.58	1.02	1.00	0.99	1.00	0.99	1.00	0.01	1.25
0.01	858.13	774.96	762.33	766.87	758.62	768.91	1.11	1.13	1.12	1.13	1.12	1.12	0.01	0.82
0.05	858.13	700.09	696.73	698.90	705.12	691.14	1.23	1.23	1.23	1.22	1.24	1.23	0.01	0.73
0.10	858.13	598.38	605.12	611.31	609.83	597.75	1.43	1.42	1.40	1.41	1.44	1.42	0.01	1.04
0.30	858.13	535.19	514.17	516.84	534.58	534.31	1.60	1.67	1.66	1.61	1.61	1.63	0.03	2.02
0.50	858.13	410.29	392.16	404.17	408.62	417.20	2.09	2.19	2.12	2.10	2.06	2.11	0.05	2.31
0.80	858.13	362.38	351.47	352.30	345.29	357.73	2.37	2.44	2.44	2.49	2.40	2.43	0.04	1.84
1.00	858.13	328.61	332.88	325.37	327.67	321.32	2.61	2.58	2.64	2.62	2.67	2.62	0.03	1.30

ตารางที่ ๑.1 (ข) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ
ปรอท (II)

Con.Hg (II) mg/L	lo	I1	I2	I3	I4	I5	lo/I1	lo/I2	lo/I3	lo/I4	lo/I5	ave	SD	%RSD
0.00	2317	2306	2335	2326	2322	2294	1.00	0.99	1.00	1.00	1.01	1.00	0.01	0.71
0.01	2317	2229	2173	2197	2121	2198	1.04	1.07	1.05	1.09	1.05	1.06	0.02	1.87
0.05	2317	1858	1804	1862	1837	1889	1.25	1.28	1.24	1.26	1.23	1.25	0.02	1.73
0.10	2317	1678	1658	1703	1670	1604	1.38	1.40	1.36	1.39	1.44	1.39	0.03	2.25
0.30	2317	1492	1545	1563	1518	1496	1.55	1.50	1.48	1.53	1.55	1.52	0.03	2.02
0.50	2317	1128	1129	1057	1127	1089	2.05	2.05	2.19	2.06	2.13	2.10	0.06	2.99
0.80	2317	941	933	981	957	875	2.46	2.48	2.36	2.42	2.65	2.47	0.11	4.31
1.00	2317	887	882	851	844	823	2.61	2.63	2.72	2.75	2.82	2.70	0.09	3.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

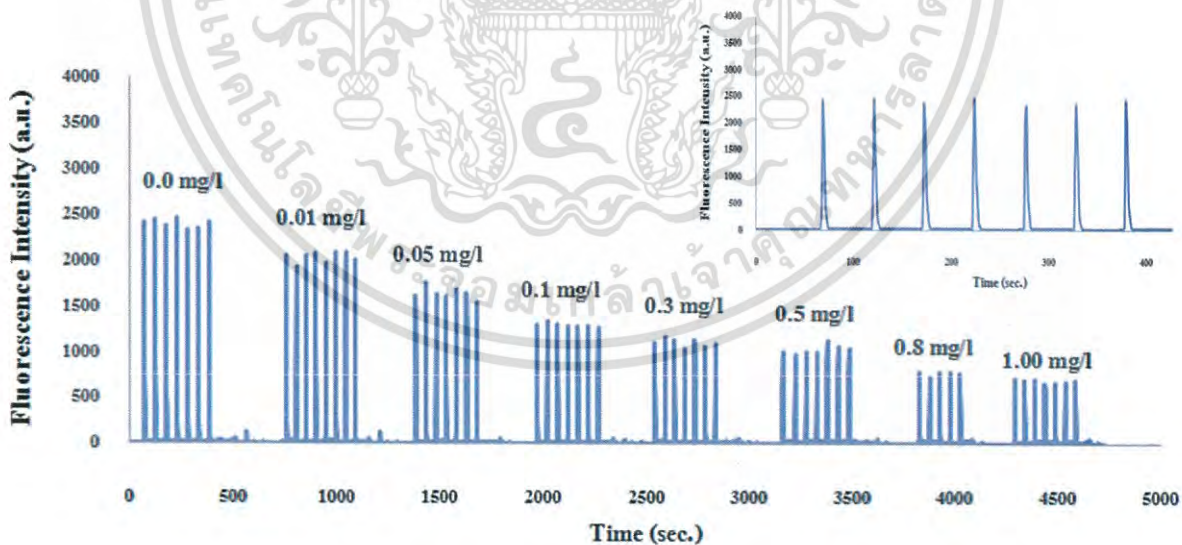
ตารางที่ ๑.1 (ค) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรกับปรอท (II)

Con.Hg (II) mg/L	lo	l1	l2	l3	l4	lo/l1	lo/l2	lo/l3	lo/l4	ave	SD	%RSD
0.00	7904	8053	7867	7888	7807	0.98	1.00	1.00	1.01	1.00	0.01	1.32
0.01	7904	7074	7156	7099	7179	1.12	1.10	1.11	1.10	1.11	0.01	0.68
0.05	7904	6900	7436	7242	7259	1.15	1.06	1.09	1.09	1.10	0.03	3.17
0.10	7904	5975	5737	5687	5760	1.32	1.38	1.39	1.37	1.37	0.03	2.16
0.30	7904	4291	3998	4172	4205	1.84	1.98	1.89	1.88	1.90	0.06	3.01
0.50	7904	3887	3909	3862	3828	2.03	2.02	2.05	2.06	2.04	0.02	0.89
0.80	7904	3203	3253	3069	3240	2.47	2.43	2.58	2.44	2.48	0.07	2.70
1.00	7904	2731	2717	2688	2730	2.89	2.91	2.94	2.90	2.91	0.02	0.73

2. ลำดับในการทำปฏิกิริยา

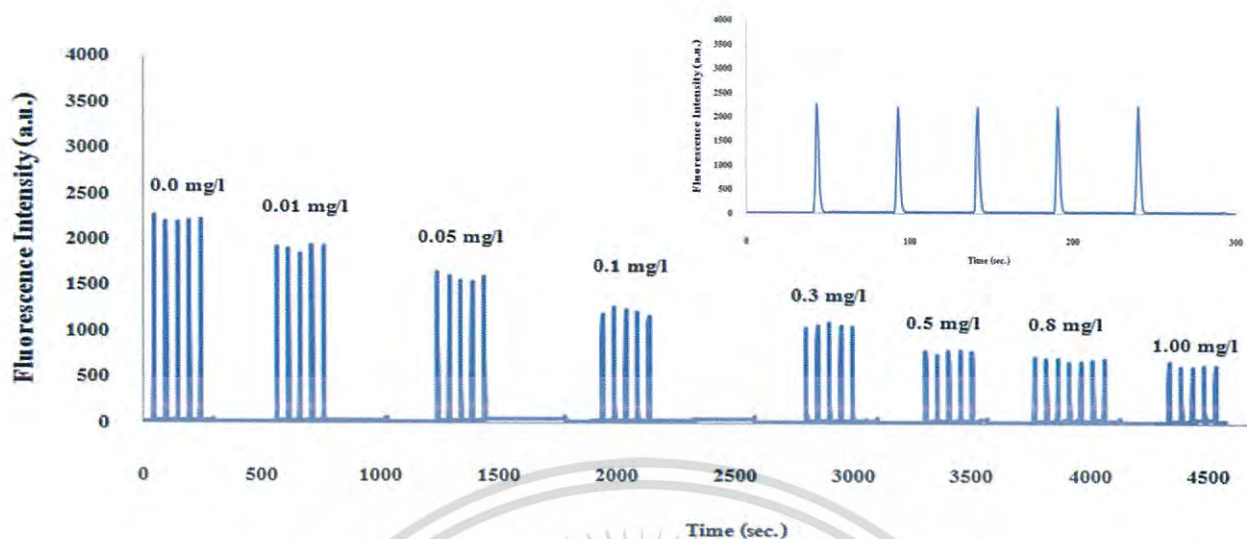
ทำการศึกษาลำดับในการทำปฏิกิริยามี 2 ลำดับดังนี้

1. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich
2. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich



รูปที่ ๑.2 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) แบบ non-sandwich

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ๒.๒ (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) แบบ sandwich

ตารางที่ ๒.๒ (ก) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) แบบ non-sandwich

Con.Hg (II) mg/l	l0	l1	l2	l3	l4	l0/l1	l0/l2	l0/l3	l0/l4	ave	SD	%RSD
0.00	2164	2230	2155	2122	2148	0.97	1.00	1.02	1.01	1.00	0.02	2.12
0.01	2164	1901	1866	1800	1899	1.14	1.16	1.20	1.14	1.16	0.03	2.57
0.05	2164	1573	1515	1495	1566	1.38	1.43	1.45	1.38	1.41	0.04	2.51
0.10	2164	1157	1223	1197	1164	1.87	1.77	1.81	1.86	1.83	0.05	2.56
0.30	2164	1019	1028	1064	1029	2.12	2.11	2.03	2.10	2.09	0.04	1.87
0.50	2164	745	715	750	764	2.90	3.03	2.89	2.83	2.91	0.08	2.79
0.80	2164	677	676	624	631	3.20	3.20	3.47	3.43	3.32	0.15	4.37
1.00	2164	581	587	571	579	3.72	3.69	3.79	3.73	3.73	0.04	1.11

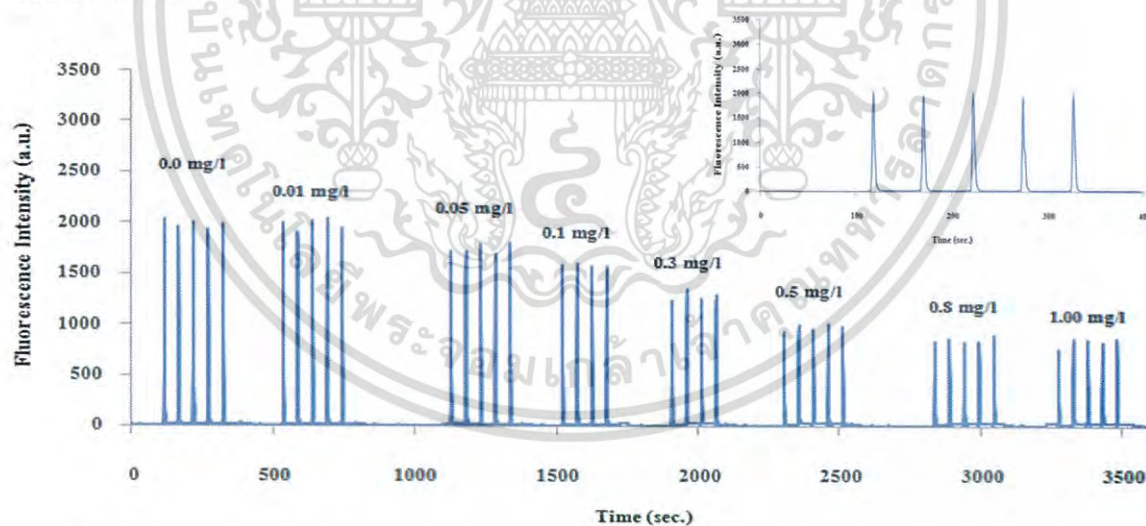
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑.2 (ข) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) แบบ sandwich

Con. Hg (II) mg/l	I ₀	I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	I ₀ /I ₁	I ₀ /I ₂	I ₀ /I ₃	I ₀ /I ₄	ave	SD	%RSD
0.00	2346	2395	2425	2319	2245	0.98	0.97	1.01	1.04	1.00	0.03	3.00
0.01	2346	2021	2019	2053	1943	1.16	1.16	1.14	1.21	1.17	0.03	2.56
0.05	2346	1605	1727	1607	1575	1.46	1.36	1.46	1.49	1.44	0.06	4.17
0.10	2346	1283	1303	1266	1241	1.83	1.80	1.85	1.89	1.84	0.04	2.17
0.30	2346	1141	1105	1000	1096	2.06	2.12	2.35	2.14	2.17	0.12	5.53
0.50	2346	993	949	979	971	2.36	2.47	2.40	2.42	2.41	0.05	2.07
0.80	2346	745	715	750	764	3.15	3.28	3.13	3.07	3.16	0.09	2.85
1.00	2346	677	676	624	631	3.47	3.47	3.76	3.72	3.60	0.16	4.44

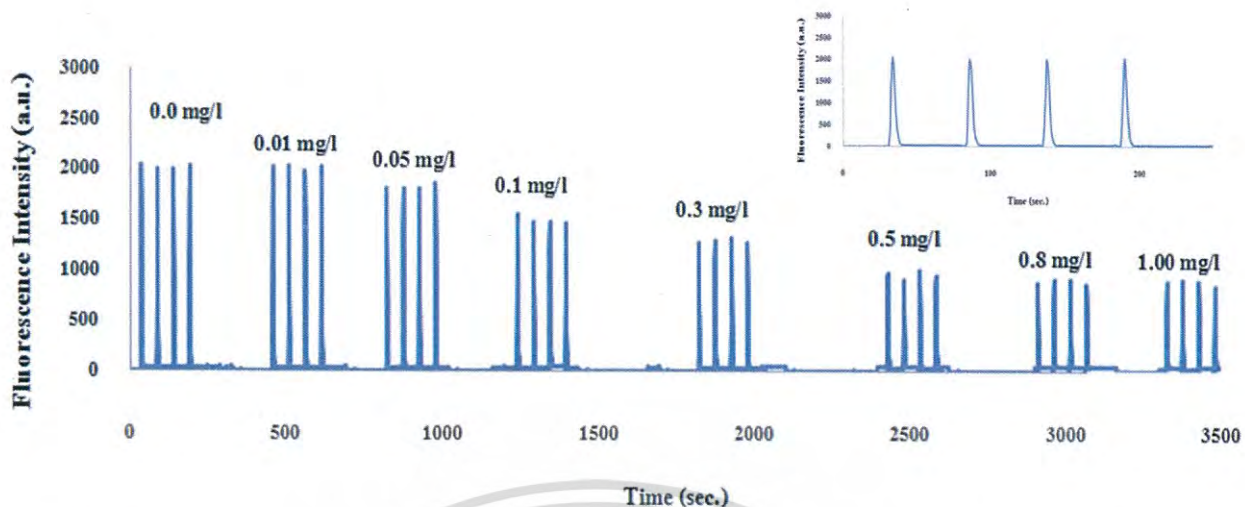
3. ความยาวของมิกซิงคอยด์

ทำการศึกษความยาวของมิกซิงคอยด์ โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอยด์เป็น 50, 80 และ 100 เซนติเมตร

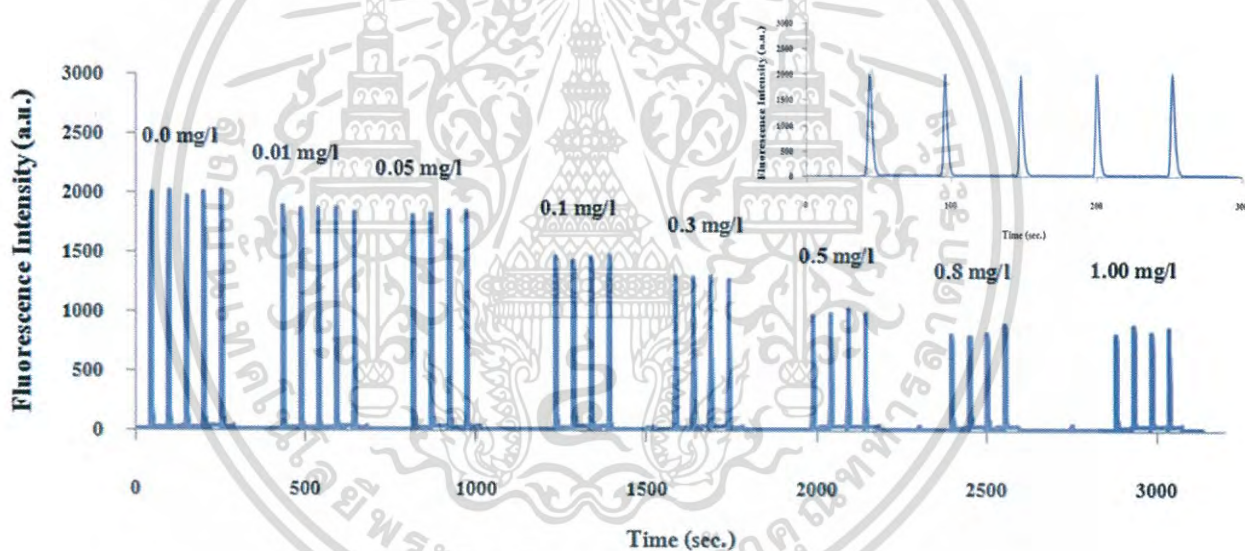


รูปที่ ๑.3 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอยด์เป็น 50 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ๓.๓ (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอร์ดเป็น 80 เซนติเมตร



รูปที่ ๓.๓ (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน (0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอร์ดเป็น 100 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๓.3 (ก) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรกับปรอท (II) โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอยด์เป็น 50 เซนติเมตร

Con.Hg (II) mg/l	lo	I1	I2	I3	I4	lo/I1	lo/I2	lo/I3	lo/I4	ave	SD	%RSD
0.00	1991	2024	1968	1969	2001	0.98	1.01	1.01	0.99	1.00	0.01	1.37
0.01	1991	1986	2010	1958	2000	1.00	0.99	1.02	1.00	1.00	0.01	1.15
0.05	1991	1799	1799	1789	1836	1.11	1.11	1.11	1.08	1.10	0.01	1.13
0.10	1991	1541	1460	1465	1450	1.29	1.36	1.36	1.37	1.35	0.04	2.76
0.30	1991	1282	1302	1253	1257	1.55	1.53	1.59	1.58	1.56	0.03	1.78
0.50	1991	964	891	981	932	2.06	2.23	2.03	2.14	2.12	0.09	4.29
0.80	1991	867	903	903	854	2.30	2.21	2.20	2.33	2.26	0.06	2.84
1.00	1991	882	889	883	829	2.26	2.24	2.25	2.40	2.29	0.08	3.33

ตารางที่ ๓.3 (ข) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรกับปรอท (II) โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอยด์เป็น 80 เซนติเมตร

Con.Hg (II) mg/l	lo	I1	I2	I3	I4	lo/I1	lo/I2	lo/I3	lo/I4	ave	SD	%RSD
0.00	1975	1980	1991	1945	1982	1.00	0.99	1.02	1.00	1.00	0.01	1.02
0.01	1975	1868	1842	1841	1853	1.06	1.07	1.07	1.07	1.07	0.01	0.68
0.05	1975	1798	1808	1828	1831	1.10	1.09	1.08	1.08	1.09	0.01	0.88
0.10	1975	1440	1396	1419	1438	1.37	1.41	1.39	1.37	1.39	0.02	1.43
0.30	1975	1286	1267	1273	1245	1.54	1.56	1.55	1.59	1.56	0.02	1.38
0.50	1975	953	972	1002	950	2.07	2.03	1.97	2.08	2.04	0.05	2.43
0.80	1975	794	857	803	842	2.49	2.30	2.46	2.35	2.40	0.09	3.68
1.00	1975	790	774	795	869	2.50	2.55	2.48	2.27	2.45	0.12	5.01

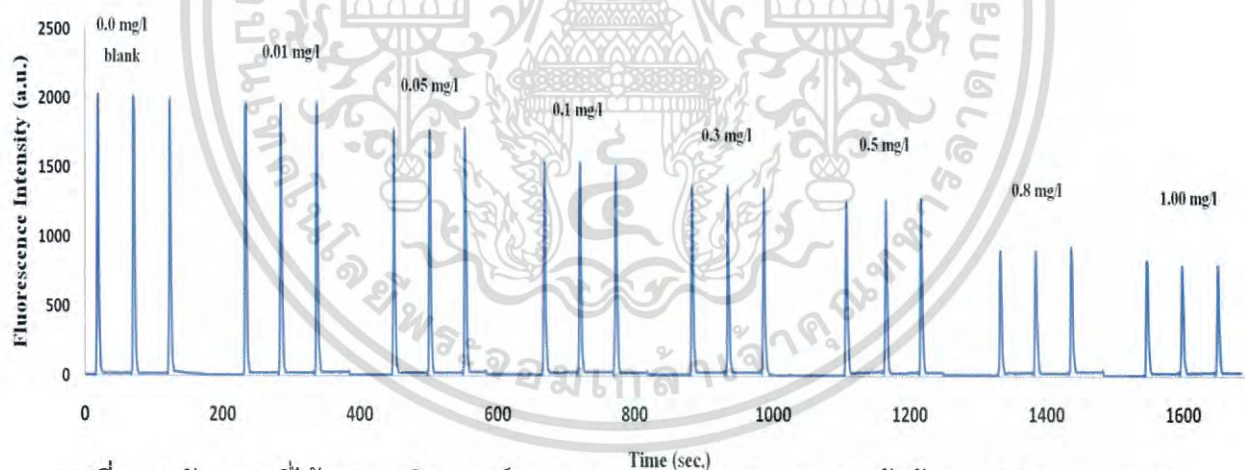
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๓.3 (ค) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรกับปรอท (II) โดยใช้ความยาวของมิกซิงคอยด์เป็น 100 เซนติเมตร

Con.Hg (II) mg/l	I ₀	I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	I ₀ /I ₁	I ₀ /I ₂	I ₀ /I ₃	I ₀ /I ₄	ave	SD	%RSD
0.00	2046	2124	2068	1960	2031	0.96	0.99	1.04	1.01	1.00	0.03	3.40
0.01	2046	1992	2001	1981	1992	1.03	1.02	1.03	1.03	1.03	0.00	0.42
0.05	2046	1812	1812	1802	1849	1.13	1.13	1.13	1.11	1.13	0.01	1.12
0.10	2046	1552	1471	1476	1461	1.32	1.39	1.39	1.40	1.37	0.04	2.74
0.30	2046	1275	1300	1320	1271	1.60	1.57	1.55	1.61	1.58	0.03	1.75
0.50	2046	980	907	997	948	2.09	2.26	2.05	2.16	2.14	0.09	4.22
0.80	2046	873	909	909	860	2.34	2.25	2.25	2.38	2.31	0.07	2.82
1.00	2046	878	885	879	825	2.33	2.31	2.33	2.48	2.36	0.08	3.35

4. กราฟมาตรฐานที่ได้จากสถานะที่เหมาะสม

เมื่อได้สถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสแล้ว จึงได้ทำการสร้างมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท



รูปที่ ๓.4 สัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 0.01 - 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑.4 (ก) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรกับปรอท (II)

Con.Hg (II) mg/l	lo	l1	l2	l3	lo/l1	lo/l2	lo/l3	ave	SD	%RSD
0.00	1993	2010	1988	1980	0.99	1.00	1.01	1.00	0.01	0.77
0.01	1993	1952	1930	1949	1.02	1.03	1.02	1.03	0.01	0.62
0.05	1993	1750	1740	1758	1.14	1.14	1.13	1.14	0.01	0.50
0.10	1993	1527	1515	1489	1.30	1.32	1.34	1.32	0.02	1.32
0.30	1993	1338	1343	1334	1.49	1.48	1.49	1.49	0.01	0.34
0.50	1993	1238	1241	1257	1.61	1.61	1.58	1.60	0.01	0.83
0.80	1993	892	881	914	2.23	2.26	2.18	2.23	0.04	1.84
1.00	1993	803	775	775	2.48	2.57	2.57	2.54	0.05	2.05



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์จะประเมินจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงไป โดยความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ตารางที่ ข.1 (ก) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไป

ประเภทของตัวอย่างน้ำ	lo	l1	l2	l3	l4	lo/l1	lo/l2	lo/l3	lo/l4	ave.	SD	%RSD
น้ำดื่ม	1992	1238	1241	1257	1254	1.61	1.61	1.58	1.59	1.60	0.01	0.76
น้ำดื่ม	1992	1338	1341	1357	1384	1.49	1.49	1.47	1.44	1.47	0.02	1.53
น้ำดื่ม	1992	1332	1367	1353	1368	1.50	1.46	1.47	1.46	1.47	0.02	1.24
น้ำประปา	1992	1467	1476	1461	1460	1.36	1.35	1.36	1.36	1.36	0.01	0.48
น้ำประปา	1992	803	835	805	787	2.48	2.39	2.47	2.53	2.47	0.06	2.45
น้ำประปา	1992	749	758	737	729	2.66	2.63	2.70	2.73	2.68	0.05	1.74
น้ำคลอง	1992	775	780	791	759	2.57	2.55	2.52	2.62	2.57	0.04	1.70
น้ำคลอง	1992	806	799	814	802	2.47	2.49	2.45	2.48	2.47	0.02	0.79

ตารางที่ ข.1 (ข) ผลการวิเคราะห์ค่าปรอทที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำหลังที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไป

ประเภทของตัวอย่างน้ำ	Hg (II) ที่เติม (mg/L)	Hg (II) ที่ได้จากการแทนค่าในสมการเส้นตรง	Hg (II) ที่ตรวจพบ**	%Recovery
น้ำดื่ม	0.50	0.36	0.4 ± 0.01	103.3
น้ำดื่ม	0.50	0.36	0.3 ± 0.02	98.1
น้ำดื่ม	0.50	0.36	0.2 ± 0.01	103.7
น้ำประปา	0.50	0.36	0.3 ± 0.02	105.4
น้ำประปา	1.00	1.16	1.2 ± 0.06	100.8
น้ำประปา	1.00	1.16	1.1 ± 0.05	101.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 (ข) (ต่อ)

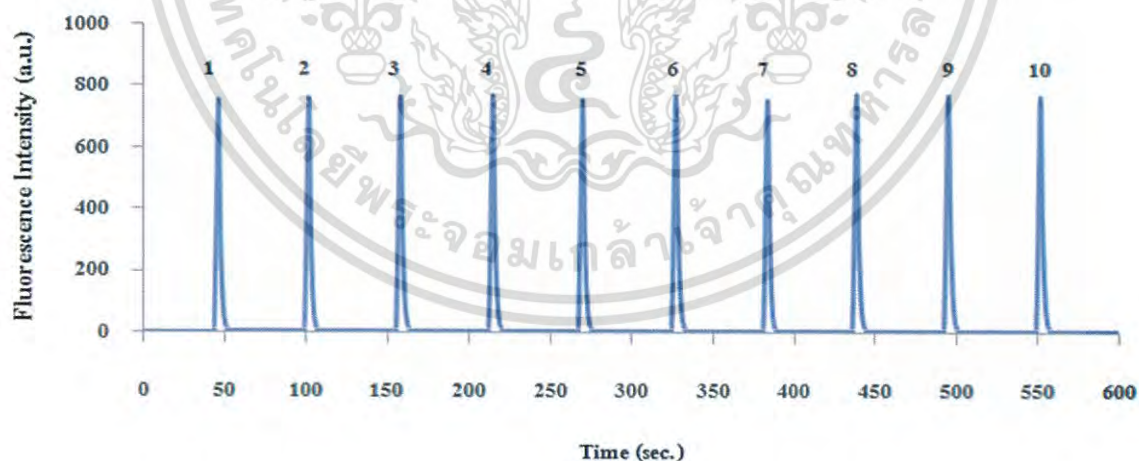
ประเภทของตัวอย่างน้ำ	Hg (II) ที่เติม (mg/L)	Hg (II) ที่ได้จากการแทนค่าในสมการเส้นตรง	Hg (II) ที่ตรวจพบ**	%Recovery
น้ำคลอง	1.00	1.16	1.0 ± 0.04	97.2
น้ำทะเล	1.00	1.16	1.0 ± 0.02	97.7

2. ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ตารางที่ ข.1 (ค) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรกับปรอท (II) ความเข้มข้นสุดท้าย 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

Con. Hg (II) mg/l	11	12	13	14	15	16	17	18	19	110	ave.	SD	RSD	%RSD
1.00	751	754	759	762	748	766	750	767	766	761	758	7.11	0.01	0.94



รูปที่ ข.1 สัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อปรอท (II) ความเข้มข้นสุดท้าย 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 10 ครั้ง



ภาคผนวก ซ
ผลการทดลองเพิ่มเติม
การทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์
ปริมาณปรอทโดยวิธีแบบ Batch

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยวิธีแบบ Batch

ทำการตรวจวัดปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา น้ำคลอง และน้ำทะเล ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไป เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีแบบ Batch ด้วยวิธีการทางสถิติ

ตารางที่ ซ.1 (ก) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปโดยการวิเคราะห์ด้วยระบบ SIA

ประเภทของตัวอย่างน้ำ	lo	l1	l2	l3	l4	lo/l1	lo/l2	lo/l3	lo/l4	ave.	SD	%RSD
น้ำดื่ม	1992	1238	1241	1257	1254	1.61	1.61	1.58	1.59	1.60	0.01	0.76
น้ำประปา	1992	1332	1367	1353	1368	1.50	1.46	1.47	1.46	1.47	0.02	1.24
น้ำคลอง	1992	775	780	791	759	2.57	2.55	2.52	2.62	2.57	0.04	1.70
น้ำทะเล	1992	806	799	814	802	2.47	2.49	2.45	2.48	2.47	0.02	0.79

ตารางที่ ซ.2 (ข) ค่าการเรืองแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปโดยการวิเคราะห์แบบ Batch

ประเภทของตัวอย่างน้ำ	lo	l1	l2	lo/l1	lo/l2	ave.	SD	%RSD
น้ำดื่ม	1625	1095	1028	1.48	1.58	1.53	0.07	4.44
น้ำประปา	1625	1068	1048	1.52	1.55	1.54	0.02	1.29
น้ำคลอง	1625	782	729	2.08	2.23	2.15	0.11	4.96
น้ำทะเล	1625	757	761	2.15	2.14	2.14	0.01	0.35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 (ค) เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ค่าปรอทที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำหลังที่เติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไป โดยการวิเคราะห์แบบ Batch และในระบบ SIA

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปรอท (มิลลิกรัมต่อลิตร)						
	ค่าเริ่มต้น	ที่เติมลงไป	ที่ได้จากการแทนค่าใน		ที่ตรวจพบ		
			สมการเส้นตรง (added)		(spiked)		
	วิธีแบบ Batch		งานวิจัยนี้		วิธีแบบ Batch		งานวิจัยนี้
น้ำดื่ม	n.d.*	0.50	0.48 ± 0.00	0.37 ± 0.02	0.49 ± 0.07	0.37 ± 0.01	
น้ำประปา	n.d.*	0.50	0.48 ± 0.00	0.36 ± 0.02	0.49 ± 0.02	0.35 ± 0.02	
น้ำคลอง	n.d.*	1.00	1.00 ± 0.01	1.12 ± 0.13	1.06 ± 0.11	1.09 ± 0.04	
น้ำทะเล	n.d.*	1.00	1.01 ± 0.00	1.05 ± 0.13	1.05 ± 0.01	0.99 ± 0.02	

จากตารางที่ ข.3 (ค) สามารถสรุปผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์ที่คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยการวิเคราะห์แบบ Batch และวิเคราะห์ด้วยระบบ SIA ตามตารางที่ ข.3 (ง)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปรอท (มิลลิกรัมต่อลิตร)					
	วิธีแบบ Batch			งานวิจัยนี้		
	ที่เติมลงไป (added)	ที่ตรวจพบ (spiked)	%Recovery	ที่เติมลงไป (added)	ที่ตรวจพบ (spiked)	%Recovery
น้ำดื่ม	0.48 ± 0.00	0.49 ± 0.07	102.08	0.37 ± 0.02	0.37 ± 0.01	100.00
น้ำประปา	0.48 ± 0.00	0.49 ± 0.02	102.08	0.36 ± 0.02	0.35 ± 0.02	97.22
น้ำคลอง	1.00 ± 0.01	1.06 ± 0.11	106.00	1.12 ± 0.13	1.09 ± 0.04	97.32
น้ำทะเล	1.01 ± 0.00	1.05 ± 0.01	103.96	1.05 ± 0.13	0.99 ± 0.02	94.29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 การเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติ pair t – test

	Variable 1	Variable 2
Mean	0.87	0.76
Variance	0.11	0.16
Observations	3	3
Pearson Correlation	1.00	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	2.42	
P(T<=t) one-tail	0.07	
t Critical one-tail	2.92	
P(T<=t) two-tail	0.14	
t Critical two-tail	4.30	

ตารางที่ ข.4 แสดงค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินกับปรอท (II)

ชนิดสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน	พีเอชของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินเมื่อทำปฏิกิริยากับปรอท (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร)							
	F	blank	0.005	0.01	0.05	0.10	0.50	1.00
เมทานอลร้อยละ 100	7.35	7.28	7.29	7.19	7.18	7.27	7.14	7.20
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 2.02	2.02	2.04	2.06	2.08	2.08	2.06	2.07	2.04
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 4.07	4.07	4.08	4.08	4.09	4.06	4.08	4.07	4.08
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 7.04	7.05	7.08	7.09	7.09	7.08	7.07	7.03	7.00
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 8.07	8.09	8.09	8.08	8.10	8.09	8.10	8.07	8.08
สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 10.06	10.06	10.02	10.02	10.04	10.02	9.98	10.01	9.99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอัจฉรา เพชรชำนาญ
วัน เดือน ปีเกิด	2 พฤษภาคม พ.ศ. 2531
ที่อยู่	บ้านเลขที่ 26/2 หมู่ที่ 2 ตำบลช้างซ้าย อำเภอพระพรหม จังหวัดนครศรีธรรมราช 80000 โทร 087-052-835-6
ประวัติการศึกษา	2553 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรมและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ประสบการณ์การทำงาน	
พ.ศ.2556- 2558	ผู้ช่วยสอน ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ 1 ปฏิบัติการการประยุกต์ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อม
ผลงานวิจัย	
พ.ศ.2557	นำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการ paccon 2015 ในหัวข้อ Application of fluorescein derivative to determination of mercury (II) by sequential injection analysis with spectrofluorometric detection

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Content

ANC: Analytical Chemistry

Paper ID	Title	Authors	Pages
15	QUANTIFICATION OF OXALATE ION IN <i>Houttuynia cordata</i> THUNB. WITH ION CHROMATOGRAPH	Juthamas Chumsang, Siriwit Buajarern	1-3
32	LINEAR-RETENTION EQUATION FOR DESCRIBING THE ISOCRATIC ELUTION BEHAVIOR OF β -CAROTENE IN REVERSED-PHASE LIQUID CHROMATOGRAPHY USING BINARY SOLVENT SYSTEM	Charuwan Khamkaew, Nithiwadee Jullanin, Monthakan Jantharangsri, Jiraporn Nooyimsai	4-7
67	MINIATURIZED TEA BAG FILLED WITH POLYPYRROLE FOR MICRO-SOLID PHASE EXTRACTION OF ESTROGENS	Sereilakhena Phal, Chongdee Thammakhet, Panote Thavarungkul and Proespichaya Kanatharana	8-11
88	SPECTROPHOTOMETRIC INVESTIGATION OF IRON(II) AND IRON(III) AS <i>N,N</i> -BIS(5-METHOXY-2-HYDROXYBENZYL) METHYLAMINE (MeMD) COMPLEX	Natphimol Boonkawin, Pornpun Pornsinlapatip, Watcharapol Sienglum, Nattamon Koonsaeng, Apirat Laobuthee	12-15
89	STUDY FOR SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF COPPER(II) AND IRON(II) WITH <i>N,N</i> -BIS(5-METHYL-2-HYDROXYBENZYL)METHYLAMINE (MMD)	Sutthisan Kaewkram, Pornpun Pornsinlapatip, Nattamon Koonsaeng, Apirat Laobuthee	16-19
377	DEVELOPMENT OF LAB-ON-ELECTRODE FOR THE DETERMINATION OF LEAD (II) AND COPPER (II) BY ANODIC STRIPPING VOLTAMMETRY	Chaitawat Rungraungpawan, Orawon Chailapakul, Weena Siangproh	20-23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Paper ID	Title	Authors	Pages
415	PAPER-BASED DEVICE FOR PESTICIDE ANALYSIS	Souksanh Nouanthavong, Yupaporn Sameenoi	24-27
431	DEVELOPMENT OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY MASS SPECTROMETRY FOR DETERMINATION OF PURINES AND URIC ACID IN THAI VEGETABLES	Narisa Rukdee, Piyanuch Rojsanga, Chutima Matayatsuk Phechkrajang	28-30
509	COLORIMETRIC DETERMINATION OF NITRITE AND NITRATE IN MEAT USING PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE (PAD)	Nalin Ratnarathorn, Wijitar Dungchai	31-34
194	CHIP-BASED POLYANILINE AND GOLD NANOPARTICLE MODIFIED ELECTRODE FOR DETERMINATION OF D-GLUCOSAMINE	Akkapol Suea-Ngam, Poomrat Rattanarat, Kanet Wongravee, Orawon Chilapakul, Monpichar Srisa-Art	35-38
229	BLOODSTAIN AGE DETERMINATION FROM COLOR SUBSTRATES BY DIGITAL IMAGE ANALYSIS	Sairak Kaewboot, Thitika Kitpipit, Phuvadol Thanakiatkrai	39-42
118	ELECTROMEMBRANE EXTRACTION PROFILES OF CHROMATE ION FROM SAMPLES WITH VARIOUS CONDUCTIVITIES	Ungkhana Atikarnsakul, Pakorn Varanusupakul	43-46
287	A NOVEL NONENZYMATIC HYDROGEN PEROXIDE SENSOR BASED ON POLY(O-PHENYLENEDIAMINE) FILM AND NICKEL FERRITE NANOPARTICLES COATED GLASSY CARBON ELECTRODE	Wanwisa Moonla, Anchana Preechaworapun, Tanin Tangkuaram	47-50
302	DEVELOPMENT OF CHEMICAL SENSOR FOR HYDROGEN PEROXIDE DETECTION BY GOLD NANOWIRE AND CHITOSAN CROSSLINKING CARBON NANOTUBE MODIFIED GLASSY CARBON ELECTRODE	Tik Ouiram, Anchana Preechaworapun, Tanin Tangkuaram	51-54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Paper ID	Title	Authors	Pages
315	SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ANTIOXIDANTS USING ULTRA-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH INKJET-PRINTED GRAPHENE-CONDUCTING POLYMER ELECTRODE	Chayanee Bardpho, Weena Siangproh, Orawon Chailapakul	55-58
146	SOLID-PHASE EXTRACTION CLEAN-UP PROCEDURE FOR ANALYSIS OF PAHs ACCUMULATION IN LICHENS BY CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY	Chutima Sriviboon, Tawatchai Sriviboon, Kansri Boonpragob, Kittipong Jan-am	59-62
193	SIMULTANEOUS DETERMINATION OF COUMAPHOS AND FLUVALINATE IN HONEY BY LIQUID CHROMATOGRAPHY-TANDEM MASS SPECTROMETRY	Umaporn Boonniti, Pongsak Lowmunkhong, Pakawadee Sutthivaiyakit	63-66
206	DETERMINATION MERCURY IN OYSTER COCKLE AND MUSSEL AT BAN DON BAY, SURATTHANI BY VOLTAMMETRY TECHNIQUE	Rattiya Saradit, Krittianee Suwankiri, Narongrit Pratummat	67-69
327	AMPEROMETRIC FLOW INJECTION ANALYSIS FOR HYDROGEN PEROXIDE DETERMINATION AT GOLD NANOPARTICLE MODIFIED PENCIL CARBON ELECTRODE	Nootjarin Inngam, Anurak Chitbuengphrao, Tanin Tangkuaram, Anchana Preechaworapun	70-72
333	PENCIL CARBON ELECTRODE MODIFIED SILVER NANOPARTICLES FOR DETERMINATION OF NITRITE AND NITRATE	Sarawut Singse, Suthasinee Thomporn, Anurak Chitbuengphrao, Tanin Tangkuaram, Anchana Preechaworapun	73-76
349	A DIFFERENTIAL PULSE AMPEROMETRIC NITRITE DETERMINATION ON AuNPs MODIFIED PENCIL CARBON ELECTRODE	Suthasinee Thomporn, Sarawut Singse, Anurak Chitbuengphrao, Tanin Tangkuaram,	77-80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Paper ID	Title	Authors	Pages
		Anchana Preechaworapun	
354	BULLET WOUND ANALYSIS ON IRON SHEET AND WOOD	Nattapon Tangtawee, Theerayut Maneeruangrit and Weerachai Phutdhawong	81-82
363	DETERMINING AND GC-MS COMPARATIVE OF THE SEQUENCE OF INTERSECTING BALLPOINT AND GEL PENS WITH LASER PRINTED STROKES	Mutita Namsa-nga, Weerachai Phutdhawong	83-85
417	APPLICATION OF FLUORESCEIN DERIVATIVE TO DETERMINATION OF MERCURY (II) BY SEQUENTIAL INJECTION ANALYSIS WITH SPECTROFLUOROMETRIC DETECTION	Atchara Petchamnan, Khwanchanok Chantalakhana, Panumart Thongyoo, Nathawut Choengchan	86-89
472	<i>PROS AND CONS</i> OF THE SCHLIENEN EFFECT IN FLOW-BASED ANALYSIS AND ITS APPLICATIONS IN ANALYSIS OF SUGAR CONTENTS OF FOOD AND BEVERAGE SYRUPS AND FRUIT JUICES	Sumana Saleesri, Ratchadit Chinchaimongkol, Phoonthawee Saetear, Thitirat Mantim, Jintana Suwanrut, Duangjai Nacapricha	90-93
483	THE DEVELOPMENT OF FLUORESCENT CHEMICAL FOR FINGERPRINT DEVELOPMENT	Suchada Jirasirisuk, Weerachai Phutdhawong	94-95
514	TRACE ANALYSIS OF Cd(II) ION USING PSDVB-EDTA IN PRE-CONCENTRATION TECHNIQUE WITH OFF-LINE METHOD	Bohari Yusuf, Aman Sentosa Panggabean, Retno Wulandari	96-99
525	NON-DESTRUCTIVE METHOD FOR DETERMINATION OF ²³⁵ U BY USING IN-HOUSE STANDARD AS A PATTERN OF ELEMENTARY ASSESSMENT OF NUCLEAR MATERIALS	Kalaya Changkrueng, Ladapa Srijittawa, Areerak Rueanngoen, Sumalee Ninlaphruk Harinate Mungpayaban, Arug Witteeranon	100-102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Paper ID	Title	Authors	Pages
528	PROBLEM SOLVING OF MEMORY EFFECT IN ICP-MS MEASUREMENT OF MERCURY USING MICRO-SAMPLING TECHNIQUE	Weerawan Waiyawat	103-104
565	MODIFIED PENCIL LEAD ELECTRODE FOR ADSORPTIVE STRIPPING VOLTAMMETRIC DETECTION OF TRACE LEVELS OF 2,4,6-TRINITROTOLUENE	Sompong Thonggamdee	105-108
554	THE LEACHING OF COPPER, CHROMIUM AND ARSENIC FROM CCA-TREATED BAMBOO STICKS IN WATER AND HUMIC ACID	Sairoong Ouypornkochagorn, Uthai Wichai	109-112
557	THE EXTRACTION OF WATER SOLUBLE PROTEIN FROM RUBBER LATEX BY HOUSEHOLD MICROWAVE MACHINE	Sairoong Ouypornkochagorn, Khuanjit Hemavibool	113-116
550	ADSORPTIVE STRIPPING VOLTAMMETRIC DETECTION OF TETRACYCLINE USING BISMUTH FILM MODIFIED SCREEN-PRINTED CARBON NANOTUBE NANOTUBE ELECTRODE	Anita Fitria Rahman, Wijitar Dungchai	117-119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

APPLICATION OF FLUORESC EIN DERIVATIVE TO DETERMINATION OF MERCURY (II) BY SEQUENTIAL INJECTION ANALYSIS WITH SPECTROFLUOROMETRIC DETECTION

Atchara Petchamnan^{1,2*}, Khwanchanok Chantalakhana³,
Panumart Thongyoo³, and Nathawut Choengchan^{1,2}

¹Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories)FIRST Labs(,

²Applied Analytical Chemistry Research Unit, Department of Chemistry, Faculty of Science,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520 Thailand

³Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rangsit Campus, Thammasat University, Pathumthani, 12120 Thailand

*Author for correspondence; E-Mail: atchara.phet31@gmail.com

Abstract: This work describes a simple method development for spectrofluorometric determination of mercury (II) using sequential injection analysis (SIA). Detection principle is based on quenching reaction between a novel fluorescein derivative namely, ((E)-2-(6-hydroxyl-3-oxo-5((3-sulfophenyl)diazenyl)-4,4a-dihydro-3H-xanthen-9-yl)benzoic acid) and mercury (II) ion. Decreasing in the fluorescence intensity of the fluorophore in the presence of the quencher is monitored (λ_{ex} : 451 nm and λ_{em} : 516 nm). Results from batchwise method indicated that the fluorophore was more selective to mercury (II) ion than the other studied cations. Factors affecting sensitivity of the SIA system were optimized and the optimal conditions are listed as the followings: aspirated sample volume; 40 μ L, aspirated reagent volume; 160 μ L, flow rate; 200 μ L s⁻¹ and the fluorophore concentration; 0.3 mg L⁻¹. Calibration curve was made accordingly to the Stern-Volmer's relationship. A linear curve of standard mercury (II) from 0.01 to 1.00 mg Hg (II) L⁻¹ was obtained with good linearity ($I_0/I = 1.483[\text{Hg (II)}] + 1.051$, $r^2 = 0.992$). The developed SIA system was applied to spiked water samples (tap, drinking and river water). Sample pretreatment was not necessary unless simple filtration. Recoveries were found from 97.2 to 105.4 %. Relative standard deviations were below than 1 %. This implies that the method provided high accuracy and high precision.

1. Introduction

Mercury ion (Hg(II)) is a toxic heavy metal ion. It can be changed to elementary mercury (Hg(0)) which very harmful to human and other livings even at low concentration.[1] Hg(II) can be released from various industries into environment such as natural water recourses. Thus, monitoring of Hg (II) concentration in water sample is essential for the sake of environmental monitoring.

The standard method for determination of Hg (II) in water, recommended by USEPA and by Pollution Control Department of Thailand, is cold-vapor atomic absorption spectrometry (CV-AAS) [2-3]. Although the method gave high accuracy, the instrument is expensive and available only in few laboratories. The other methods reported so far are inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [4], colorimetry [5-6], spectrofluorometry and so on. Among the methods, spectrofluorometric

method by using fluorescence sensors is interesting by taking into account in terms of sensitivity, selectivity and simplicity [7]. There are various kinds of organic dyes that were exploited as fluorescence sensor for the Hg(II) determination. Fluorescein is attractive since it has several advantages including highly fluorescent and highly selective to Hg(II) [8]. However, there are a few publications reported use of fluorescein and its derivatives for quantitative analysis of Hg(II).

In this work, we therefore aim to explore use of a novel fluorescein derivative namely, ((E)-2-(6-hydroxyl-3-oxo-5((3-sulfophenyl) diazenyl)-4,4a-dihydro-3H-xanthen-9-yl) benzoic acid). The derivative was synthesized in our laboratory and was exploited as a fluorescence sensor for determination of Hg(II). Detection principle is based on quenching of the derivative by Hg(II). Decreasing in the fluorescence intensity in the presence of the quencher is monitored. Since we also aim to develop a simple and automated method for the Hg(II) analysis, sequential injection analysis (SIA) [9] is therefore selected as our tool for this purpose. The developed SIA method was applied to water samples (Tap, drinking and river waters) for demonstration of the capability for its real use.

2. Materials and Methods

All chemicals were of analytical reagent (AR) grade and deionized-distilled water (LABCONCO, Water Proplus, USA) was used throughout.

2.1 Synthesis of fluorescein derivative

The fluorescein was used as precursors. Firstly, 0.70 g (4.04 mmol) of sulfanilic acid (Carlo Erba, Italy) was dissolved in (2.0:4.0 mL) MeOH: water. Then, 4.0 mL of concentrated HCl was slowly added. The solution was kept in ice water bath (Velp Scientific, Neutec Group, USA) at 5 °C. A solution of NaNO₂ was prepared by dissolving 0.276 g (4.0 mmol) NaNO₂ (Carlo Erba, Italy) in 1.0 mL of cold water. The prepared solution of NaNO₂ was gradually added into sulfanilic acid. The solution was continuously stirred for 10-15 minutes at ambient temperature. Then, 0.8942 g (0.691 mmol) of fluorescein (dissolved in 5.0 mL of 20% NaOH

(Rankem, India) was added to the reaction mixture before stirring for 30 minutes. A yellow solution was observed. This solution was evaporated for solvent removal. Finally, an orange to brick red powder of fluorescein derivative was obtained.

2.2 Preparation of fluorescein derivative and standard solutions

A stock solution of 50 mg L^{-1} fluorescein derivative was prepared by dissolving 2.5 mg in 50.0 mL of pure methanol (Carlo Erba, Italy). This solution was appropriately diluted with pure methanol for further study. A stock Hg(II) solution (1000 mg L^{-1}) was prepared by dissolving 0.1354 g. HgCl_2 (Carlo Erba, Italy) in 100.0 mL of water. Working standard Hg(II) (1.00 to 0.01 mg L^{-1}) were prepared daily by making appropriate dilution of the stock solution with water.

2.3 Water sample preparation

Water samples were tap, drinking and river waters. Tap and drinking waters were analysed directly without any pretreatment. The river water was collected from Prawet canal near King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. These samples were filtered through a $0.22 \mu\text{m}$ Nylon membrane filter prior to analysis.

2.4 The SIA system

The SIA system manifold is illustrated in Fig. 1. It was constructed from a syringe drive module syringe drive module equipped with 2.5 mL HAMILTON PSD 4, Switzerland (and an 8-port multi-position selection valve (All devices were purchased from Hamilton, USA). The system was automatically manipulated by Auto-Pert Version 2.55 (MGC Company, Japan). The holding coil was constructed of 1 m (1.00 mm i.d.) PTFE tube and the reaction coil of 1 m of 1.0 mm i.d. Vici AG International, JR-T6807-M 25, Switzerland (equipped with a 10 mm Hellma flow-through cell (volume : $25 \mu\text{L}$). Detection was carried out on JASCOFP-6300 spectrofluorometer (USA) while the maximum emission wavelength was obtained at 516 nm.

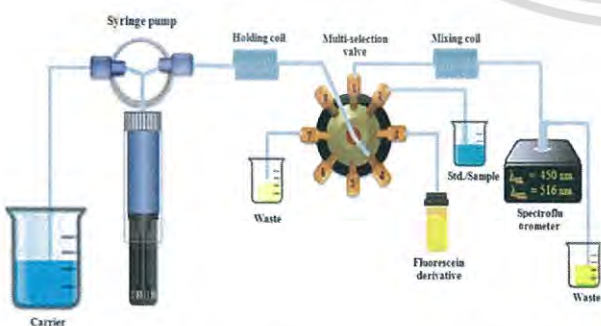


Fig. 1. SIA system used for determination of the Hg(II) ion. Holding coil ($1 \text{ m} \times 1.0 \text{ mm i.d.}$), Mixing coil ($100 \text{ cm} \times 1.0 \text{ mm i.d.}$)

3. Results and Discussion

3.1 Absorption and emission spectra of fluorescein derivative

Optical characterization of fluorescein derivative was carried out by monitoring their absorption and emission spectra. Absorption and emission spectra of the fluorescein derivative were studied and results are presented in Fig. 2. These results reveal that maximum absorption and emission wavelengths are located at 451 nm and 516 nm, respectively. These wavelengths were set as an excitation wavelength (λ_{ex} , 451 nm) and an emission wavelength for monitoring fluorescence intensity of the fluorescein derivative. Results in Fig. 3 are photographs of our fluorescein derivative (in absence of Hg(II)) in pure methanol without (a) and with UV irradiation (b). Under UV light, luminescent green-colored solution can be observed with naked eye.

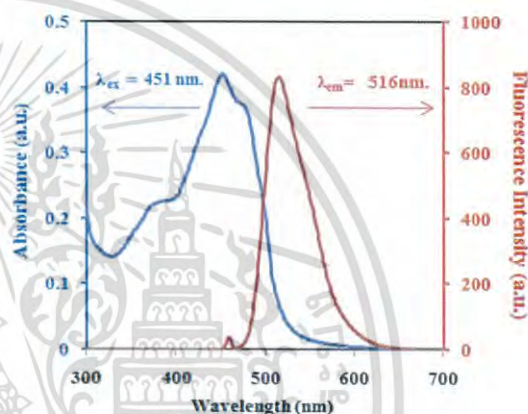


Fig. 2. Absorption and emission spectra of 0.3 mg L^{-1} of fluorescein derivative.

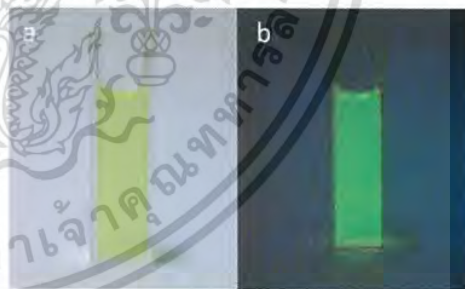


Fig. 3. Photographs of fluorescein derivative (in absence of Hg(II)) in pure methanol: (a) without and (b) with UV irradiation.

3.2 Study on selectivity

Selectivity of the fluorescein derivative to determination of various cations, including Hg(II) was studied. The experiments were carried out by recording the change in the fluorescence intensity of the derivative at 516 nm in absence (I_0) and in presence of cations (I). Results are shown in Fig. 4. Upon interaction with Cu(II) , Ag(I) , Zn(II) , Cr(III) , Ni(II) , Co(II) , Na(I) , Ba(II) , Cd(II) and Mg(II) ions, the intensity of the derivative remain nearly unchanged. On the other hand, the intensity is obviously decreased when Hg(II) was studied. These results imply that the fluorescein derivative is more selective to Hg(II) than the other investigated cations.

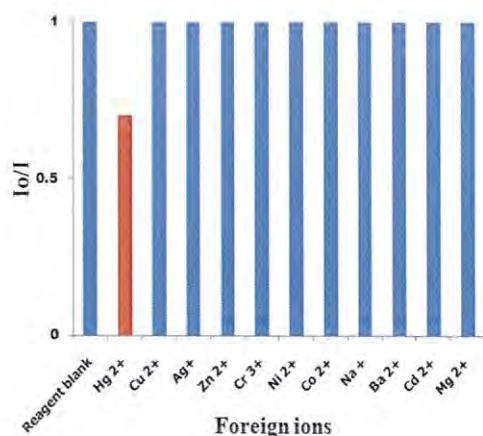


Fig. 4. Fluorescent intensity ratio (I_0/I) of 3.0 mg L^{-1} fluorescein derivative in the presence of various studied cations.

3.3 Optimization of SIA system

Chemical and physical parameters affecting sensitivity of the developed SIA system was evaluated. The experiments were performed using standard solution of Hg(II) ($0.01\text{-}1.00 \text{ mg L}^{-1}$). A major criterion for selection of an optimal condition was based on sensitivity (Slope of calibration equation). Summary of the studied parameters as well as their studied ranged and optimal conditions were presented in Table 1. Discussion on each effect is described as the following details:

Effect of fluorescein derivative concentration was primarily studied. The studied concentrations were $0.15, 0.3, 1.5$ and 3.0 mg L^{-1} . It was found that increasing in concentration of fluorescein derivative from 0.15 to 1.5 mg L^{-1} , resulted in higher sensitivity. However, self-quenching effect was observed at 3.0 mg L^{-1} . As regarding in term of sensitivity and amount of the derivative used, a concentration at 0.3 mg L^{-1} of the derivative was chosen as suitable for further study. The next investigations were effects of flow rate and aspiration volume of sample and reagent. Higher flow rate and aspirate volume led to greater sensitivity. A flow rate of $200 \mu\text{L s}^{-1}$ and an aspiration volume of $200 \mu\text{L}$ (for both sample and reagent), were selected. The other physical parameters, i.e., sequence pattern and length of mixing coil, were also examined. For sequence pattern, sandwich type (Fluorophore/Hg(II)/Fluorophore) and non sandwich type (Fluorophore/Hg(II)) were studied. Since sensitivities obtained by both patterns were the same, non sandwich type was therefore selected by taking into account in term of less reagent consumption. For the effect of mixing coil length, results shown that when the lengths were extended from 50 cm to 100 cm , sensitivities were decreased. It was due to dilution effect. In addition, increasing in the length resulted in longer analysis time. A length of 100 cm was regarded as appropriate.

Table 1. Summary on optimization of the SIA system for spectrofluorometric determination of Hg(II).

Parameter	Studied range	Optimal value
Concentration of fluorescein derivative (mg L^{-1})	0.15 - 3.0	0.30
Aspiration volume of sample and reagent (μL)	50 - 200	200
Flow rate ($\mu\text{L s}^{-1}$)	100 - 300	200
Sequence pattern	Sandwich/ Non-sandwich	Non-sandwich (Fluorophore/Hg(II))
Length of mixing coil (cm)	50 - 100	100

3.4 Analytical characteristics of the quenching reaction of fluorescein derivative by Hg (II) ion

Under the optimal condition, analytical characteristics of the SIA system were evaluated. Linear working range of standard Hg(II) was observed in the concentration range from $0.01\text{-}1.00 \text{ mg L}^{-1}$. Calibration equation (accordingly to the Stern-Volmer's relationship) is expressed as the following equation: $I_0/I = 1.483[\text{Hg (II)}] + 1.051$, $r^2 = 0.992$. Limit of detection, LOD ($y_b + 3S_b$) and limit of quantitation, LOQ ($y_b + 10S_b$) were evaluated accordingly to J. N. Miller *et al.* [10]. The values for LOD and LOQ were of 0.20 and 0.67 mg L^{-1} , respectively. The system also gave high precision (RSD = 0.9% at 0.01 mg L^{-1} Hg (II)). In term of analysis speed, a throughput of $60 \text{ samples h}^{-1}$ was observed. Example of calibration plot and signal profiles of standard Hg(II) are displayed in Fig. 5(a) and (b).

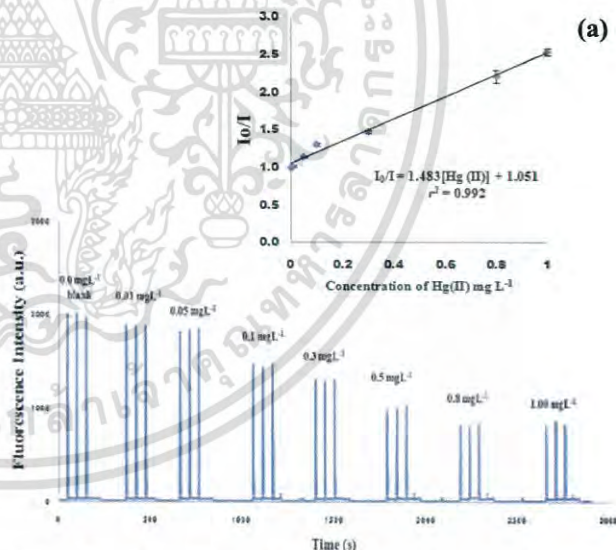


Fig. 5. (a) Example of calibration plot and (b) signal profiles of standard Hg (II) in the concentration range from 0.01 to 1.0 mg L^{-1} .

3.5 Application of SIA system to the Hg (II) determination

The SIA system was applied to spectrofluorometric determination of Hg (II) in spiked water samples (tap, drinking and river waters). Sample pretreatment for tap and drinking water samples was not necessary. Simple filtration was carried out for river water prior to measurement. Results are presented in Table 2. Analytical recoveries are observed from 97.2 to 105.4% . This result implies

that the Hg(II) determination by the proposed SIA method is not affected by sample matrices. However, the original concentration of Hg(II) in non-spiked samples were not detectable. It was maybe due to either the concentration is lower than the detection limit or the samples were not contaminated by Hg(II). Pre-concentration step is therefore necessary and will be investigated for the next study.

Table 2. Analytical recovery of spiked water samples, determined by the proposed SIA method.

No.	Type	Hg (II) added (mgL ⁻¹)	Hg (II) found* (mgL ⁻¹)	Recovery (%)
S 1	Drinking water	0.5	0.517 ± 0.01	103.4
S 2	Drinking water	0.5	0.49 ± 0.02	98.1
S 3	Drinking water	0.5	0.518 ± 0.01	103.6
S 4	Tap water	0.5	0.527 ± 0.02	105.4
S 5	Tap water	1.0	1.00 ± 0.06	100.0
S 6	Tap water	1.0	1.02 ± 0.05	102.0
S 7	River water	1.0	0.972 ± 0.04	97.2
S 8	River water	1.0	0.977 ± 0.02	97.7

Note * mean ± SD (n = 3)

4. Conclusions

The SIA system was successfully developed for spectrofluorometric determination of Hg(II) in water samples (Tap, drinking and river waters). Detection principle is based on quenching of a novel fluorescein derivative, namely ((E)-2-(6-hydroxyl-3-oxo-5((3-sulfophenyl)diazanyl)-4,4a-dihydro-3H-xanthen-9-yl)benzoic acid) in the presence of mercury (II) ion. The fluorophore was more selective to Hg(II) than the other studied cations. The SIA system provided high accuracy and precision with high throughput. However, pre-concentration step is required for the next study in order to increase sensitivity of the method.

Acknowledgements

Financial support from Natural Research Council of Thailand (NRCT) to PT and NC (Grant No.-2557A11802246) is gratefully acknowledged.

References

- [1] K. V. Gopal, *Neurotoxicol Teratol.* 25 (2003) 69-76.
- [2] H. Matusiewicz and E. Stanis, *Microchem J.* 95 (2010) 268-273.
- [3] J.V. Cizdziel and S. Gerstenberger, *Talanta*, 64 (2004) 918-921.
- [4] E. Curdová, L. Vavrušková, M. Suchánek, P. Baldrian and J. Gabriel, *Talanta*, 62 (2004) 483-487.
- [5] Y. Wang, F. Yang and X. Yang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2 (2) (2010) 339-342.
- [6] T. Lou, Z. Chen, Y. Wang and L. Chen, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 3 (5) (2011) 1568-1573.
- [7] L. Prodi, F. Bolletta, M. Montalti and N. Zaccheroni, *Coord Chem Rev.*, 205 (2000) 59-83.

- [8] Chen, Q. -Y., and Chen, C. -F. 2005. A New Hg²⁺-Selective Fluorescent Sensor Based on a DansylAmide-Armed Calix [4]-Aza-Crown. *Tetrahedron Lett* 46: 165-168.
- [9] J. R. E. H. Hansen, *Gbf Monog Series*, 2nd Edition, February, 1988.
- [10] J. N. Miller and J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, fourth ed., Pearson Education, Essex, 1993.