



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้เซนเซอร์ทางเคมีเพื่อพัฒนาวิธีตรวจวัดปรอทใน
แหล่งน้ำด้วยเครื่องมืออัตโนมัติและชุดทดสอบภาคสนาม

**Synthesis and application of chemical sensor to develop the methods for
measurement of mercury in water based-on automated tool and test kit**

ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เขิงชั้น

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย จากทุนเงินงบประมาณแผ่นดิน สภาวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ 2558
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



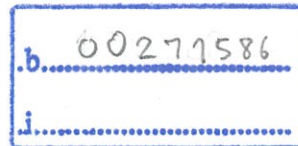
รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้เซนเซอร์ทางเคมีเพื่อพัฒนาวิธีตรวจวัดปรอทใน
แหล่งน้ำด้วยเครื่องมืออัตโนมัติและชุดทดสอบภาคสนาม

Synthesis and application of chemical sensor to develop the methods for
measurement of mercury in water based-on automated tool and test kit

ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

เลขหมู่.....
ลงทะเบียน 142661
รับ เดือน.ปี 23 พ.ค. 2559



งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย จากทุนเงินงบประมาณแผ่นดิน สภาวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ 2558
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การสังเคราะห์และประยุกต์ใช้เซนเซอร์ทางเคมีเพื่อพัฒนาวิธีตรวจวัดปรอท
ในแหล่งน้ำด้วยเครื่องมืออัตโนมัติและชุดทดสอบภาคสนาม
แหล่งเงิน ทุนเงินงบประมาณแผ่นดิน สภาวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ 2557-2558 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 550,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 2 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2556 ถึง 30 กันยายน 2558
ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เริงชั้น
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

โครงการนี้ นำเสนอการพัฒนาวิธีสำหรับตรวจวัดปรอทในแหล่งน้ำขึ้นมา 2 วิธี หลักการตรวจวัดของทั้งสองวิธีจะเหมือนกัน กล่าวคือ อาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างปรอทในรูปของไอออน (Hg^{2+}) กับเซนเซอร์ทางเคมี (Chemical sensor) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของสารฟลูออเรสซิน (fluorescence derivatives) จัดเป็นสารสังเคราะห์ตัวใหม่ ยังไม่มีงานวิจัยใดนำเสนอมาก่อน โดยเซนเซอร์ทางเคมีนี้สามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร และ เรืองแสงได้มากที่สุดที่ 512 นาโนเมตร จึงใช้เป็นความยาวคลื่นสำหรับกระตุ้น (Excitation wavelength) และติดตามการเรืองแสง (Emission wavelength) ตามลำดับ ผลการทดลองแบบเบ็ดเสร็จพบว่าเซนเซอร์ทางเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นนี้ มีความจำเพาะเจาะจงกับไอออนของปรอทมากกว่าไอออนของโลหะตัวอื่นๆ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นทั้งสองวิธีมีรายละเอียดดังนี้คือ วิธีที่แรก เป็น 'ชุดต้นแบบของเครื่องมือขนาดเล็ก' ที่ทำงานอัตโนมัติผ่านการควบคุมด้วยโปรแกรม ทำการพัฒนาโดยอาศัยหลักการซีเควินเชิงอินเจกชัน พบว่า ชุดต้นแบบนี้ให้ผลวิเคราะห์ที่มีความเที่ยงและความแม่นยำสูง อีกทั้งยังรู้ผลวิเคราะห์เร็ว เหมาะสำหรับการใช้เป็นเครื่องมือในระดับห้องปฏิบัติการ วิธีที่สอง ทำการพัฒนา 'ชุดต้นแบบของชุดทดสอบภาคสนาม' สำหรับพกพาไปใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อเฝ้าระวังปริมาณปรอท ณ บริเวณแหล่งน้ำที่ทำการตรวจวัด (On site analysis) พบว่าเป็นวิธีที่รู้ผลเร็ว จึงเหมาะสำหรับการใช้ตรวจวัดปรอทในกรณีที่เกิดอุบัติเหตุการรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ

คำสำคัญ : เซนเซอร์ทางเคมี, ตรวจวัดปรอท, แหล่งน้ำ, เครื่องมืออัตโนมัติ, ชุดทดสอบภาคสนาม

Research Title: Synthesis and application of chemical sensor to develop the methods for measurement of mercury in water based-on automated tool and test kit
Grant: National Research Council of Thailand (NRCT)
Fiscal year: 2014-2015 (550,000 THB)
Period: 2-year (1 October 2013 – 30 September 2015)
Researcher: Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan
Faculty: Science **Department:** Chemistry

ABSTRACT

This work presents method development for measurement of mercury (II) ion in water sample. Detection principles of both methods are similar which are based on using a novel chemical sensor (fluorescence derivative). This is the first report that fluorescence derivative was exploited as chemical sensor for mercury (II) recognition. Excitation and emission wavelengths of the sensor were located at 420 nm and 512 nm, respectively. It was found by batchwise experiment that the sensor was more selective to mercury (II) than the other investigated cations. The first method was developed based on sequential injection analysis. It was observed that the method gave high precision, high accuracy and high throughput. This method was therefore viable for using as a prototype in laboratory for the mercury (II) determination. The second method was developed for field test application. It was found that the kit provided high throughput and it is appropriate for using as a screening method for monitoring of contaminated mercury (II) ion in water samples.

Keywords: Chemical sensor, Mercury measurement, Water, Automated tool, Test kit

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยตามโครงการนี้ สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ได้เป็นอย่างดี เนื่องด้วยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนเงินงบประมาณแผ่นดิน สภาวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2558 ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.ภานุมาศ ทองอยู่ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่ได้ร่วมมือในการสังเคราะห์เซนเซอร์ทางเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพดล มณีรัตน์ สาขาวิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ร่วมพัฒนาโปรแกรมในการควบคุมควบคุมต้นแบบของเครื่องมือขนาดเล็กให้ทำงานอย่างเป็นอัตโนมัติ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ นางสาววิญชนก จันทลักขณา นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ นางสาวอัจฉรา เพชรชำนาญ นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาเคมี แขนงวิชาเคมีวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์ และนางสาวอรฉัตร เลิศอิทธิพร นักศึกษาปริญญาเอก สาขาวิชาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการสังเคราะห์และทดสอบการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ทางเคมีเพื่อพัฒนาวิธีตรวจวัดปรอทนี้ โดยทุ่มเททำงานวิจัยนี้ด้วยดีตลอดมา ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดโครงการ

ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัน

หัวหน้าโครงการวิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
1.3 ขอบเขตของ โครงการวิจัย.....	5
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	7
1.5 สมมติฐานงานวิจัย	7
1.6 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย.....	13
1.7 คำสำคัญของการวิจัย.....	13
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	13
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม.....	15
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	15
2.1.1 ความหมายและเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดปรอท.....	15
2.1.2 ระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์	16
2.1.3 กลไกการทำงานของเซ็นเซอร์	18
2.1.4 เทคนิคซีแควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส (SIA)	22
2.1.5 การตรวจวัดด้วยตาเปล่าและชุดทดสอบภาคสนาม	23
2.2 การทบทวนวรรณกรรม	24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	27
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	27
3.1.1 สารเคมี.....	27
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด	28
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	19

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.1	วิธีการสังเคราะห์ฟลูออเรสซินและอนุพันธ์ของฟลูออเรสซิน.....	29
3.2.2	การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน	31
3.3	วิธีดำเนินการทดลอง.....	31
3.3.1	การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน	31
3.3.2	การศึกษาสมบัติการเรืองแสงของฟลูออเรสซิน	31
3.3.3	ศึกษาอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้หาปริมาณปรอท ...	31
3.3.4	ศึกษาความเสถียรของฟลูออโรฟอร์	33
3.3.5	ศึกษาความเฉพาเจาะจงในการตรวจวัดปรอท	33
3.3.6	ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดปริมาณปรอท	34
3.3.7	ศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัด.....	34
3.3.8	การออกแบบเครื่องมืออัตโนมัติ (ระบบซีเควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส).....	35
3.3.9	ลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส	35
3.3.10	ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส	37
3.3.11	การประยุกต์ใช้เครื่องมืออัตโนมัติในการตรวจวัดปริมาณปรอทในแหล่งน้ำ.....	37
3.3.12	ศึกษาความเข้มข้นและตัวทำละลายที่เหมาะสมของไฮโดรเจล (PVP) และ F1 เพื่อนำมาเคลือบบนกระดาษทดสอบ (เพื่อออกแบบและพัฒนาชุดทดสอบภาคสนาม)	38
3.3.13	ศึกษาอินดิเคเตอร์ผสมระหว่าง ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ (Diphenylcarbazide) กับโบรโมฟีโนลบลู (Bromophenol blue) ที่เหมาะสม สำหรับการนำไปใช้หาปริมาณปรอท	39
3.3.14	ศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปริมาณปรอท.....	39
3.3.15	ศึกษาช่วงความเข้มข้นของปรอทที่สามารถตรวจวัดได้.....	40
บทที่ 4	ผลการวิจัย.....	41
4.1	การศึกษาการสังเคราะห์ฟลูออเรสซิน.....	41
4.2	การศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน.....	41
4.3	การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน	43

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4 การศึกษาอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้หาปริมาณปรอท.....	43
4.5 การศึกษาความเสถียรของฟลูออโรฟอร์.....	44
4.6 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปรอท	44
4.7 การศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัด	45
4.8 ศึกษาการออกแบบเครื่องมืออัตโนมัติ (ระบบซีแควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส).....	45
4.9 การศึกษาลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีแควนเชียล อินเจกชันอะนาไลซิส	46
4.10 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบ ซีแควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส	47
4.11 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท โดย ระบบซีแควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส.....	48
4.12 การศึกษาความเข้มข้นและตัวทำละลายที่เหมาะสมของไฮโดรเจล (PVP) และ F1 เพื่อนำมาเคลือบบนกระดาษทดสอบ (เพื่อออกแบบและพัฒนา ชุดทดสอบภาคสนาม).....	48
4.13 การศึกษาอินดิเคเตอร์ผสมระหว่างไดฟีนิลคาร์บาไซด์ (Diphenylcarbazide) กับโบรโมฟินอลบลู (Bromophenol blue) ที่เหมาะสม สำหรับการนำไปใช้หาปรอท	49
4.14 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปริมาณปรอท.....	50
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	52
5.1 สรุปผลการวิจัย	52
5.2 ข้อเสนอแนะ	52
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก ก การประกวดสิ่งประดิษฐ์และแสดงผลงานวิจัย.....	55

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ค่ามาตรฐานปรอทของคุณภาพน้ำต่างๆ.....	16
ตารางที่ 4.1 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์ที่คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ ปริมาณปรอท	48
ตารางที่ 4.2 แสดงสีของ 100 mg/L F1 in MeOH + Hg.....	49
ตารางที่ 4.8 การเคลือบอินดิเคเตอร์ผสมลงบนกระดาษด้วยไฮโดรเจล (PVP).....	50

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1.1 (ซ้าย) แหล่งน้ำในพื้นที่ใกล้เคียงของนิคมอุตสาหกรรมบางปู จังหวัดสมุทรปราการ ที่ถูกกักกอบกั้นของเสีย (ขวา) ปลาตายจำนวนมากจากการระบายน้ำเสียลงลำตะคองที่จังหวัดนครราชสีมา.....	2
รูปที่ 1.2 น้ำท่วมบริเวณนิคมอุตสาหกรรมโรจนะ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา เมื่อตุลาคม 2554	2
รูปที่ 1.3 เด็กที่ป่วยโรคมิ나마ตะ ในประเทศญี่ปุ่น.....	3
รูปที่ 1.4 เครื่อง CV-AAS สำหรับตรวจวัดปริมาณปรอท.....	4
รูปที่ 1.5 แผนผังแสดงขอบเขตของโครงการวิจัย.....	6
รูปที่ 1.6 วัฏจักรการปนเปื้อนและรูปของปรอทในสิ่งแวดล้อมประเภทต่างๆ.....	8
รูปที่ 1.7 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์บางชนิด.....	9
รูปที่ 1.8 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ทางเคมีที่ประกอบด้วยส่วน ฟลูออโรฟอร์และ ไอโอโนฟอร์เชื่อมต่อกันสำหรับตรวจวัดไอออนโลหะบางชนิด	9
รูปที่ 1.9 กระบวนการ Photoinduced electron transfer processes (PET) ก่อน (รูปซ้าย) และ หลัง (รูปขวา) จับกับไอออนโลหะ	10
รูปที่ 1.10 Photoinduced charge transfer (PCT) processes ก่อนเกิดอันตรกิริยา (ซ้าย) และหลังเกิดอันตรกิริยากับไอออนโลหะ (ขวา)	11
รูปที่ 1.11 ระบบ Sequential injection analysis (SIA)	12
รูปที่ 2.1 แสดงการปนเปื้อนของปรอทสู่สิ่งแวดล้อม	15
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์บางชนิด.....	17
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ประกอบด้วยส่วน ฟลูออโรฟอร์ และไอโอโนฟอร์เชื่อมต่อกันสำหรับตรวจวัดไอออนโลหะบางชนิด	17
รูปที่ 2.4 Photoinduced electron transfer processes (PET).....	18
รูปที่ 2.5 Photoinduced electron transfer processes (PET) ก่อนการจับไอออนโลหะ.....	19
รูปที่ 2.6 Photoinduced electron transfer processes (PET) ภายหลังจากจับไอออนโลหะ	19
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของ calyx[4]arene-azacrown-3 และลักษณะการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ ก่อนและหลังการดักจับไอออนลิเทียม	19
รูปที่ 2.8 Photoinduced charge transfer processes (PCT) ก่อนการดักจับไอออนโลหะ(ซ้าย) และภายหลังจากดักจับไอออนโลหะ (ขวา).....	20
รูปที่ 2.9 โครงสร้างของ dansyl sulfonamide เซ็นเซอร์ ก่อนและหลังการดักจับไอออนสังกะสี	21

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 2.10 แสดงระบบการวิเคราะห์แบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาลไลซิส	22
รูปที่ 2.11 แสดงการเคลื่อนที่ของสารภายใน.....	23
รูปที่ 3.1 แสดงระบบซีเควนเชียลอินเจกชันที่ได้ออกแบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท	35
รูปที่ 3.2 แสดงหน้าจอของซอฟต์แวร์ MGC Auto-Pert Version 4 ซึ่งระบุลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาลไลซิส	36
รูปที่ 3.3 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich	36
รูปที่ 3.4 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich	37
รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสง (ด้านขวา) และการคายแสง (ด้านซ้าย) ของสารฟลูออโรฟอร์หมายเลข 1	43
รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของปรอทโดยเปรียบเทียบสภาพไวของฟลูออโรฟอร์หมายเลขต่างๆ	43
รูปที่ 4.3 แสดงค่าการคายแสงที่ช่วงเวลาต่างๆ	44
รูปที่ 4.4 แสดงความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดไอออนของโลหะต่างๆ ของฟลูออโรฟอร์หมายเลข 1 (F1).....	44
รูปที่ 4.5 กราฟมาตรฐานของปรอทโดยใช้ฟลูออโรฟอร์หมายเลข 1 ในตัวทำละลายเมทานอลที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ	45
รูปที่ 4.6 แสดงระบบซีเควนเชียลอินเจกชันที่ได้ออกแบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท	45
รูปที่ 4.7 แสดงหน้าจอของซอฟต์แวร์ MGC Auto-Pert Version 4 ซึ่งระบุลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอท.....	46
รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สารละลายฟลูออเรสซินหมายเลข F1 เข้มข้นต่างๆ	47
รูปที่ 4.9 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ลำดับการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน แสดงเป็นลำดับของท่อนโซนภายในโวลติงคอยด์	47
รูปที่ 4.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอินดิเคเตอร์ผสม เมื่อเติมปรอทใน HNO ₃ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	49
รูปที่ 4.11 แสดงการพลอตกราฟ A / A ₀ ของปรอทและ Metal ions อื่นๆ	50
รูปที่ ก.1 แสดงหน้าปก proceeding PACCON 2015	55

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

1.1.1 ที่มาและสาเหตุการปนเปื้อนของมลพิษสู่สิ่งแวดล้อม

ตั้งแต่ประเทศไทยเริ่มใช้แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 1 เมื่อ พ.ศ. 2504 เรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน หนึ่งในยุทธศาสตร์ที่สำคัญของแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติทุกฉบับ คือ การส่งเสริมการลงทุนด้านอุตสาหกรรม ส่งผลให้ภาคอุตสาหกรรมของประเทศมีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ล่าสุดจากข้อมูลของสำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรมระบุว่า ในไตรมาสที่ 1 ของปี 2555 อัตราการผลิตของภาคอุตสาหกรรมขยายตัวอยู่ที่ร้อยละ 62.99 โดยคาดว่าเมื่อสิ้นปีตัวเลขการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรมจะเพิ่มขึ้นสูงถึงร้อยละ 5.5 [1] เมื่อเทียบกับปี 2554 อย่างไรก็ตาม ยิ่งภาคอุตสาหกรรมมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นเท่าใด โอกาสหรือความเสี่ยงที่จะเกิดการปนเปื้อนของมลพิษสู่สิ่งแวดล้อมก็จะยังมีมากขึ้นเท่านั้น ด้วยเหตุนี้ถึงปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรม ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 11 ซึ่งเป็นฉบับปัจจุบัน (พ.ศ. 2555-2559) จึงกำหนดยุทธศาสตร์การจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืนขึ้น โดยกำหนดให้มีประเด็นการควบคุมและลดมลพิษ ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2555-2559) และ ยุทธศาสตร์การวิจัยรายประเด็นด้านสิ่งแวดล้อมที่ส่งเสริมให้มีการวิจัยเกี่ยวกับมลพิษ การจัดการและควบคุมมลพิษ ด้วยเช่นกัน

เพื่อให้สามารถบริหารจัดการและควบคุมมลพิษได้อย่างมีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องรู้แหล่งที่มาและสาเหตุการปนเปื้อนของมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม สาเหตุของการปนเปื้อนอาจมาจากอุบัติเหตุในโรงงานอุตสาหกรรม เช่น ถังสารเคมีระเบิดที่โรงงานบีเอสที อีลาสโตเมอร์ส ในนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด [2] หรือ ไฟไหม้หอกถ่านของโรงกลั่นน้ำมันบางจาก [3] ทำให้เกิดควันและเขม่าเป็นจำนวนมากฟุ้งกระจายอยู่ในอากาศ ซึ่งทำให้เกิดภาวะมลพิษทางอากาศ ส่วนมลพิษทางดิน อาจมีสาเหตุจากการฝังกลบกากขยะอุตสาหกรรมด้วยวิธี 'Land fill' ซึ่งทำให้มีสารพิษไหลซึมออกมา หรืออาจมาจากภาคเกษตรกรรม เช่น เกษตรกรเติมสารเคมีลงดินเพื่อเพิ่มผลผลิตหรือเพื่อกำจัดศัตรูพืชแล้วเกิดการตกค้างในดิน เนื่องจากสารเคมีเหล่านี้ส่วนใหญ่จะมีความคงตัวสูง ย่อยสลายยาก

สำหรับมลพิษทางน้ำ มีสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดคือมาจากความมั่งง่ายและขาดจิตสำนึกต่อสังคมของมนุษย์ เช่น เมื่อไม่นานมานี้ มีการลักลอบทิ้งสารเคมีและของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมลงแหล่งน้ำในพื้นที่ใกล้เคียงของนิคมอุตสาหกรรมบางปู จังหวัดสมุทรปราการ และในพื้นที่เขตเทศบาลของจังหวัดนครราชสีมา (ลำตะคอง) ทำให้น้ำเน่าเสีย มีสัตว์น้ำตายเป็นจำนวนมาก ดังที่ปรากฏเป็นข่าว (รูปที่ 1) หรืออาจมีสาเหตุมาจากภัยธรรมชาติ เช่น ในกรณีมหาอุทกภัยเมื่อปลายปี 2554 เกิดน้ำท่วมขังนิคม

อุตสาหกรรมหลายแห่งในเขตพื้นที่ภาคกลางซึ่งมีแม่น้ำที่สำคัญหลายสายไหลผ่าน ทำให้อาจมีสารเคมีปนเปื้อนจากโรงงานอุตสาหกรรมสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ ดังรูปที่ 2



รูปที่ 1.1 (ซ้าย) แหล่งน้ำในพื้นที่ใกล้เคียงของนิคมอุตสาหกรรมบางปู จังหวัดสมุทรปราการ
ที่ถูกถูกล้อมทั้งของเสีย

(ที่มา: <http://www.bangpoosociety.com/forum/index.php?topic=2133.0>)

(ขวา) ฝนตกจำนวนมากจากการระบายน้ำเสียลงลำตะคองที่จังหวัดนครราชสีมา

(ที่มา: <http://m.thairath.co.th/content/region/276032>)



รูปที่ 1.2 น้ำท่วมบริเวณนิคมอุตสาหกรรมโรจนะ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา เมื่อตุลาคม 2554

(ที่มา: <http://www.siamintelligence.com/flood-private-sector/>)

1.1.2 ประท: ความเป็นพิษต่อแหล่งน้ำที่ต้องเฝ้าระวังอย่างเข้มงวด

หนึ่งในมลพิษทางน้ำที่ต้องจัดการเฝ้าระวังและควบคุมคือ มลพิษจากโลหะหนัก เช่น ‘ปรอท’ ซึ่งเป็นโลหะสีคล้ายเงิน เป็นของเหลวที่อุณหภูมิปกติ สามารถระเหยกลายเป็นไอได้ ทำให้เป็น

อันตรายต่อร่างกายได้ง่ายขึ้น ในภาคอุตสาหกรรมมีการใช้ประโยชน์จากปรอท เช่น อุตสาหกรรมไฟฟ้า อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ และแบตเตอรี่รถยนต์ เป็นต้น จากข้อมูลของสำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กำหนดไว้ว่าปรอทห้ามเกิน 0.005 มก./ล. สำหรับมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม และนิคมอุตสาหกรรม [4] และ ห้ามเกิน 0.002 มก./ล. สำหรับมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน (เช่น แม่น้ำ ลำคลอง) [5] โดยถ้าตรวจวัดแล้วพบว่าปริมาณเกินที่กำหนดนี้ ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมนั้นจะมีความผิดและต้องรับโทษทางกฎหมาย จากข้อมูลของสำนักจัดการคุณภาพน้ำพบว่าการตรวจวัดคุณภาพน้ำเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะกระทำเป็นประจำสม่ำเสมออย่างต่อเนื่องอยู่แล้ว แต่ถ้าหากเกิดเหตุการณ์ผิดปกติทำให้แหล่งน้ำเกิดมลพิษอย่างฉับพลันก็จะตรวจวัดคุณภาพน้ำถี่มากยิ่งขึ้นกว่าเดิม

สาเหตุที่ต้องเฝ้าระวังปริมาณปรอทอย่างเข้มงวดเป็นเพราะปรอทเป็นโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงมาก ซึ่งมีทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง [6] พิษชนิดเฉียบพลันมักเกิดจากอุบัติเหตุที่ทำให้ปรอทรั่วไหลสู่แหล่งน้ำ แล้วร่างกายสัมผัสหรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อนปรอทนั้นเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งปริมาณที่ได้รับแล้วทำให้ตายได้ คือ 0.02 กรัม สำหรับอาการเรื้อรังจะเป็นผลมาจากการที่ปรอทไปทำอันตรายต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้เสียการควบคุมเกี่ยวกับการเคลื่อนไหวของแขน ขา การพูด ปอดอักเสบ เจ็บหน้าอก หายใจไม่สะดวก ตัวอย่างเหตุการณ์พิษจากปรอทที่รู้จักกันดีคือ ‘โรคมินามาตะ’ (Minamata Disease) ในปี ค.ศ. 1959 เป็นภาวะมลพิษที่รุนแรงที่สุดในประวัติศาสตร์ประเทศญี่ปุ่น อาการของโรคแสดงดังรูปที่ 3



รูปที่ 1.3 เด็กที่ป่วยโรคมินามาตะ ในประเทศญี่ปุ่น (ที่มา: <http://www.mtp.rmutt.ac.th/?p=865>)

1.1.3 วิธีการตรวจวัดปรอทในปัจจุบัน: ข้อดี-ข้อเสีย?

ในปัจจุบัน วิธี Cold vapor atomic absorption spectrometer (CV-AAS) จัดเป็นวิธีที่กรมควบคุมมลพิษ [5,6] และ United States Environmental Protection Agency (US EPA) [7] ยอมรับเป็นวิธีมาตรฐานและใช้เป็นวิธีตรวจวัดปริมาณปรอทในแหล่งน้ำ หลักการโดยย่อของวิธีนี้ คือจะต้องใช้สารเคมีที่มีดีบุกเป็นองค์ประกอบ (SnCl_2) ไปรีดิวซ์ปรอทในรูปของไอออน (Hg^{2+}) ให้อยู่ในรูปโลหะ (Hg^0) ซึ่งระเหย

ได้แล้วจึงทำให้กลายเป็นอะตอมอิสระก่อนกระตุ้นให้ดูกลืนแสงแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง โดยค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของปรอท หากมีปริมาณปรอทมากก็จะดูดกลืนแสงมาก รูปถ่ายเครื่องมือ CV-AAS เป็นดังรูปที่ 4

ถึงแม้วิธีนี้จะมีข้อดีคือให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ แต่ก็มีข้อเสียคือ ต้นทุนในการตรวจวัดค่อนข้างสูง ตัวเครื่องมีราคาแพง (ยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศ) ทำให้มีเครื่องนี้ในบางห้องปฏิบัติการเท่านั้น นอกจากนี้ วิธีนี้ยังประยุกต์ใช้งานในลักษณะภาคสนามไม่ได้ด้วยตัวเครื่องมีขนาดใหญ่ ไม่สะดวกสำหรับนำไปใช้นอกห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องเตรียมและเก็บรักษาตัวอย่างน้ำก่อนนำกลับมาวิเคราะห์ ทำให้ใช้เวลานานกว่าจะรู้ผล ไม่เหมาะแก่การเฝ้าระวังและแจ้งเตือนอย่างทันท่วงทีในกรณีที่มีอุบัติเหตุเหตุการณ์รั่วไหลของปรอทลงสู่แหล่งน้ำ อีกทั้งวิธีนี้ต้องใช้สารเคมีที่เป็นพิษเพื่อรีคิวซ์ปรอทซึ่งเท่ากับว่าเป็นการเพิ่มมลพิษ



รูปที่ 1.4 เครื่อง CV-AAS สำหรับตรวจวัดปริมาณปรอท
(ที่มา: <http://www.chemlab.com.my/labtesting.asp>)

1.1.4 ทางเลือกใหม่สำหรับตรวจวัดปรอทในแหล่งน้ำ

ด้วยข้อเสียของวิธีตรวจวัดปรอทแบบเดิม โครงการนี้ จึงจะพัฒนาวิธีสำหรับตรวจวัดปรอทในแหล่งน้ำขึ้นมา 2 วิธี ด้วยกัน โดยวิธีที่แรก จะพัฒนาเป็น 'ชุดต้นแบบของเครื่องมือขนาดเล็ก' ที่ทำงานอัตโนมัติผ่านการควบคุมด้วยโปรแกรมที่พัฒนาขึ้น โดยมุ่งให้เป็นเครื่องมือที่ใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ ให้ผลวิเคราะห์แม่นยำเทียบเท่าวิธีมาตรฐาน (CV-AAS) วิธีที่สอง จะพัฒนา 'ชุดต้นแบบของชุดทดสอบภาคสนาม' สำหรับพกพาไปใช้นอกห้องปฏิบัติการเพื่อเฝ้าระวังปริมาณปรอท ณ บริเวณแหล่งน้ำที่ทำการตรวจวัด (On site analysis) โดยเป็นวิธีที่รู้ผลเร็วจึงเหมาะสำหรับใช้ตรวจวัดปรอทในกรณีที่เกิดอุบัติเหตุการรั่วไหลของปรอทลงสู่แหล่งน้ำ เพื่อจะได้แจ้งเตือนและหาทางแก้ไขอย่างทันท่วงที หลักการตรวจวัดของทั้งสองวิธีดังกล่าวจะเหมือนกัน กล่าวคืออาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างปรอทในรูป

ของไอออน (Hg^{2+}) กับเซนเซอร์ทางเคมี (Chemical sensor) ซึ่งได้จากสารที่สังเคราะห์ขึ้นเองในโครงการ ซึ่งจะช่วยให้ต้นทุนการตรวจวัดต่อตัวอย่างถูกลงเมื่อเทียบกับการตรวจวัดด้วยวิธีมาตรฐาน ทั้งนี้ เซนเซอร์ทางเคมีที่จะสังเคราะห์ เป็นสารอนุพันธ์ของสารฟลูออเรสซิน (fluorescence derivatives) ซึ่งยังไม่ มีงานวิจัยใดได้ศึกษาหรือสังเคราะห์มาก่อนสำหรับการวิเคราะห์ปรอท จึงมีความแตกต่างจากงานวิจัยอื่นๆ ในเอกสารอ้างอิงที่ทำการสืบค้น เพราะในเอกสารอ้างอิงจะสารในกลุ่ม 7-Nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole (NBD), Pyrene, Naphthalimide และ Carbamodithioate [34-37] ทำให้เซนเซอร์ทางเคมีในโครงการนี้ เป็น ทางเลือกใหม่ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอท

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อสังเคราะห์ พิสูจน์เอกลักษณ์ ทดสอบคุณลักษณะ รวมถึง ทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์ทางเคมีที่ใช้ตรวจวัดปรอท

1.2.2 เพื่อพัฒนาชุดต้นแบบของเครื่องมืออัตโนมัติสำหรับตรวจวัดปริมาณปรอท โดยใช้ เซนเซอร์ทางเคมีร่วมกับเครื่องตรวจวัดการเรืองแสง

1.2.3 เพื่อพัฒนาชุดต้นแบบของทดสอบปรอทแบบภาคสนาม โดยนำเซนเซอร์ทางเคมีมาใช้เป็นสารทดสอบ

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

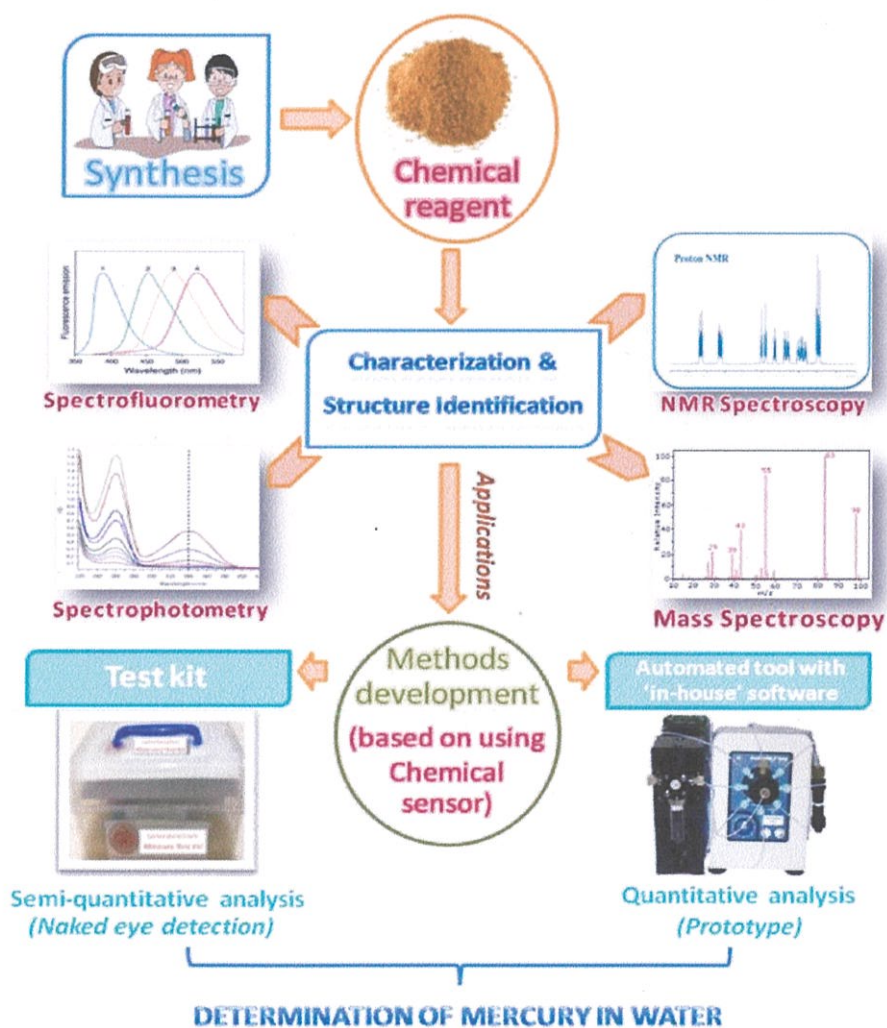
โครงการวิจัยนี้ ได้เริ่มดำเนินงานวิจัยไปแล้วบางส่วน กล่าวคือ ในส่วนของการสังเคราะห์ สารเคมีที่นำมาใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดปรอท ต่อไปจะได้ พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเครื่อง NMR และ Mass spectrometer ทดสอบคุณลักษณะทางแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและเครื่องวัดการเรืองแสง ทดสอบ ความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์ต่อปรอทเปรียบเทียบกับไอออนของโลหะหนักชนิดอื่นๆ เช่น Cu^{2+} Pb^{2+} และ Cd^{2+} เป็นต้น รวมถึงศึกษาปฏิกิริยาระหว่างปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ กับเซนเซอร์ทางเคมี (ที่ผ่านการ ทดสอบคุณลักษณะแล้ว) โดยใช้เครื่องวัดการเรืองแสง เป็นเครื่องมือในการติดตาม

จากนั้น จะพัฒนาชุดต้นแบบเครื่องมืออัตโนมัติ บนพื้นฐานของเทคนิคการวิเคราะห์ที่อาศัย หลักการไหลเป็นลำดับขั้นของของเหลวภายในท่อขนาดเล็กที่เรียกว่า ‘Sequential injection analysis’ หรือ ‘SIA’ [8] ร่วมกับการตรวจวัดปฏิกิริยาระหว่างปรอทกับเซนเซอร์ทางเคมีโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืน แสง ในส่วนนี้จะเริ่มจากพัฒนาและทดสอบโปรแกรมที่ใช้ควบคุมการทำงานของเครื่องมือให้เป็นอัตโนมัติ จากนั้นจะนำโปรแกรมที่ผ่านการทดสอบแล้วมาทดลองใช้เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของเครื่องมือ ประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือในแง่ของความไวในการวิเคราะห์ ความเที่ยง ความแม่นยำ และขีดจำกัด ค่าสูงสุดของการตรวจวัด รวมถึงเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ แล้วจึงทดสอบความถูกต้องของเครื่องมือ โดยการ เปรียบเทียบปริมาณปรอทในแหล่งน้ำที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องมือที่พัฒนาขึ้นกับที่วิเคราะห์ด้วยวิธี CV-AAS

(วิธีมาตรฐาน) โดยใช้วิธีทางสถิติทดสอบว่าผลวิเคราะห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ ท้ายสุดจะพัฒนาชุดเครื่องมือนี้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

ส่วนสุดท้าย จะพัฒนาชุดต้นแบบของชุดทดสอบภาคสนาม โดยอาศัยองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างปรอทกับเซนเซอร์ทางเคมี โดยจะเริ่มจากพัฒนาขั้นตอนและวิธีการทดสอบ และจะออกแบบชุดทดสอบรวมถึงบรรจุภัณฑ์ (Packaging) ไปพร้อมๆกัน แล้วจึงทดลองใช้ตรวจวัดปรอทในระดับห้องปฏิบัติการก่อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพ ก่อนนำไปใช้ภาคสนาม ณ แหล่งน้ำต่างๆ หากผลการทดสอบสำเร็จลุล่วง ไม่มีข้อผิดพลาดใดๆที่ต้องปรับปรุง ก็จะพัฒนาต่อยอดสู่เชิงพาณิชย์ต่อไป

สรุปขอบเขตของโครงการวิจัยนี้เป็นแผนภาพ ได้ดังรูปที่ 5



รูปที่ 1.5 แผนผังแสดงขอบเขตของโครงการวิจัย

1.4 วิธีการดำเนินงาน

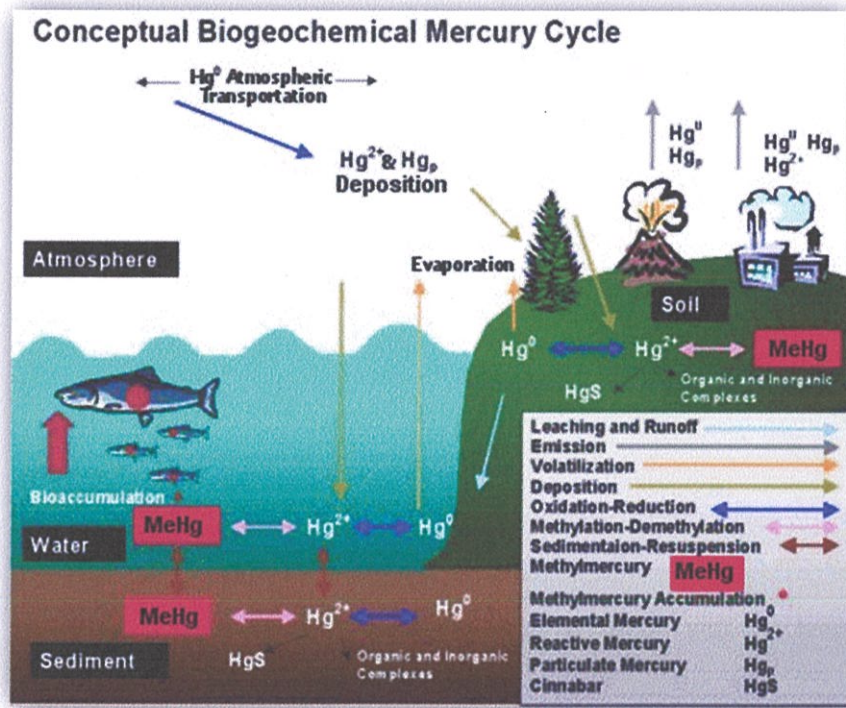
- 1) สังเคราะห์สารเคมีที่นำมาใช้เป็นเซนเซอร์ตรวจวัดปรอท
- 2) พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเครื่อง NMR และ Mass spectrometer
- 3) ทดสอบคุณลักษณะทางแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงและเครื่องวัดการเรืองแสง
- 4) ทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์ต่อปรอทและเปรียบเทียบกับไอออนของโลหะหนักชนิดอื่นๆ เช่น Cu^{2+} Pb^{2+} และ Cd^{2+} เป็นต้น
- 5) ศึกษาปฏิกิริยาระหว่างปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ กับเซนเซอร์ทางเคมี โดยใช้เครื่องวัดการเรืองแสงเป็นเครื่องมือในการติดตาม
- 6) พัฒนาชุดต้นแบบเครื่องมืออัตโนมัติ บนพื้นฐานของเทคนิคการวิเคราะห์ที่อาศัยหลักการไหลเป็นลำดับขั้นของของเหลวภายในท่อขนาดเล็กที่เรียกว่า 'Sequential injection analysis' หรือ 'SIA' ร่วมกับการตรวจวัดปฏิกิริยาระหว่างปรอทกับเซนเซอร์ทางเคมีโดยใช้เครื่องวัดค่าการเรืองแสง ในส่วนนี้จะดำเนินงานตามขั้นตอนย่อยต่อไปนี้
 - 6.1 พัฒนาและทดสอบโปรแกรมที่ใช้ควบคุมการทำงานของเครื่องมือ
 - 6.2 โปรแกรมที่ผ่านการทดสอบแล้วมาทดลองใช้เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของเครื่องมือ
 - 6.3 ประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือ
 - 6.4 ทดสอบความถูกต้องของเครื่องมือ โดยการเปรียบเทียบปริมาณปรอทในแหล่งน้ำที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องมือที่พัฒนาขึ้นกับที่วิเคราะห์ด้วยวิธี CV-AAS (วิธีมาตรฐาน)
 - 6.5 พัฒนาชุดเครื่องมือนี้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป
- 7) พัฒนาชุดต้นแบบของชุดทดสอบภาคสนาม ในส่วนนี้จะดำเนินงานตามขั้นตอนย่อยต่อไปนี้
 - 7.1 พัฒนาระบบและวิธีการทดสอบ
 - 7.2 ออกแบบชุดทดสอบรวมถึงบรรจุภัณฑ์ (Packaging)
 - 7.3 ทดลองใช้ตรวจวัดปรอทในระดับห้องปฏิบัติการก่อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพ
 - 7.4 นำไปใช้ทดสอบ ณ ภาคสนาม ตามแหล่งน้ำต่างๆ
 - 7.5 พัฒนาต่อยอดสู่เชิงพาณิชย์

1.5 สมมติฐานงานวิจัย

1.5.1 วัฏจักรการปนเปื้อนของปรอทสู่สิ่งแวดล้อม

ปรอท มีวัฏจักรการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำและสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ดังแสดงด้วยรูปที่ 6 โดยในแหล่งน้ำนั้น ปรอทสามารถพบได้หลายรูปแบบ แต่จะมีปรากฏอยู่ 5 รูปแบบใหญ่ๆ ได้แก่ Inorganic divalent (Hg^{2+}) ซึ่งเป็นรูปแบบที่โครงการวิจัยนี้สนใจ นอกจากนี้ยังพบในรูปของ Metallic mercury (Hg^0),

Phenyl mercury ($C_6H_5Hg^+$), Methyl mercury ($[CH_3Hg]^+$) และ Alkoxy-alkyl mercury ($CH_3O-CH_2-CH_2-Hg^+$) โปรทที่พบในแหล่งน้ำนี้จะสะสมตกค้างในปลาหรือสัตว์น้ำได้ ซึ่งถ้าคนบริโภคเข้าไปจะทำให้ได้รับอันตรายจากโปรทได้ ส่วนในดิน โปรทอาจปนเปื้อนในรูปของสารประกอบที่ละลายน้ำได้ เช่น เมอร์คิวรีคลอไรด์ ($HgCl_2$) ซึ่งโปรทในดินในรูปนี้ อาจแพร่กระจายปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำได้หากเกิดการชะล้างดินเพราะฝนตกหรือการทำเกษตรกรรม หรืออาจพบอยู่ในรูปสารประกอบในลักษณะของตะกอน เช่น HgS , $Hg(I)CO_3$ ซึ่งละลายน้ำยาก รูปของโปรทเหล่านี้จัดเป็นสารประกอบโปรทอนินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตาม อาจพบโปรทในรูปโปรทอินทรีย์ เช่น methyl mercury $[CH_3Hg]^+$ ด้วยเช่นกัน สำหรับในบรรยากาศ จะอยู่ในรูปแบบของไอโปรทซึ่งเป็นอันตรายถึงชีวิตได้หากสูดดมเข้าไปในปริมาณมาก ไอโปรทนี้อาจถูกปล่อยมาจากโรงงานอุตสาหกรรม หรือ อาจถูกปล่อยออกมาพร้อมควันพิษอื่นๆเมื่อภูเขาไฟระเบิด

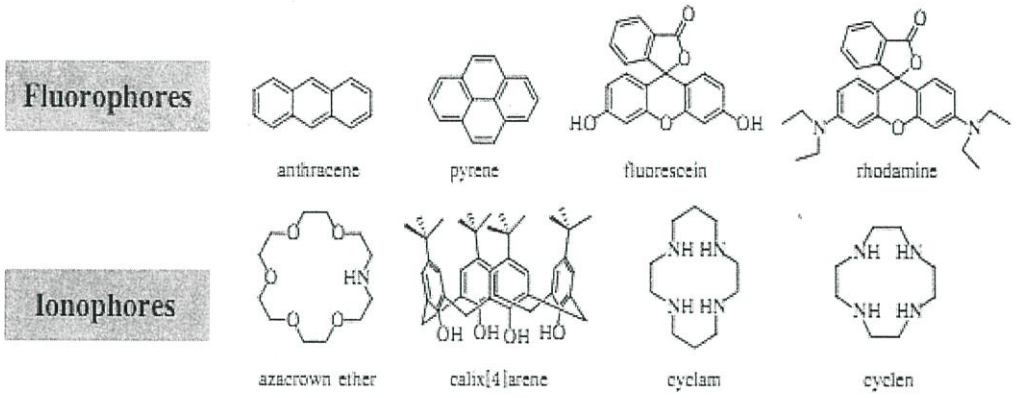


รูปที่ 1.6 วัฏจักรการปนเปื้อนและรูปของโปรทในสิ่งแวดล้อมประเภทต่างๆ

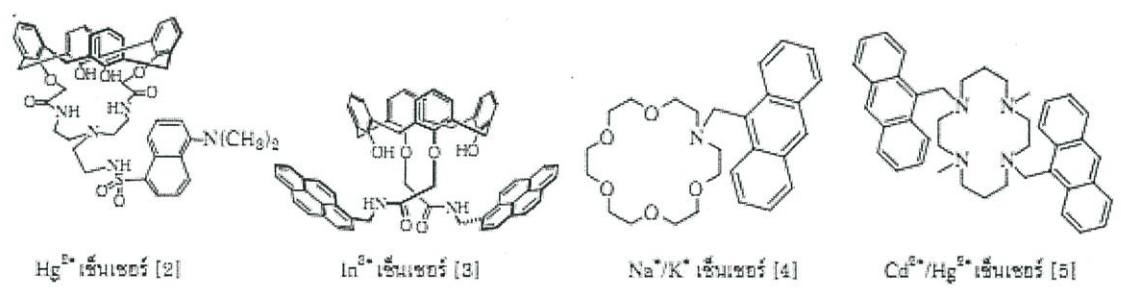
1.5.2 เซนเซอร์ทางเคมีที่ใช้ตรวจวัดไอออนของโลหะ

การนำเซนเซอร์ทางเคมีไปใช้ตรวจวัดไอออนโลหะจะต้องมีการออกแบบเซ็นเซอร์ให้มีโครงสร้างที่สามารถเหนี่ยวนำให้ทำงานได้โดยใช้แสงเป็นตัวกระตุ้น เมื่อเซ็นเซอร์เกิดการดักจับไอออนจะแสดงผลทางการเรืองแสงแบบฟลูออเรสเซนซ์ โครงสร้างของเซ็นเซอร์ทางเคมีจะมี 2 ส่วนหลัก ได้แก่ 1) ฟลูออโรฟอร์ (Fluorophore) เป็นส่วนที่มีสามารถแสดงคุณสมบัติของการเรืองแสงแบบฟลูออเรสเซนซ์ 2) ไอโอโนฟอร์ (Ionophore) เป็นส่วนที่มีความสามารถในการดักจับไอออนโลหะ โดยทั่วไปแล้วทั้งสองส่วน

จะต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ โครงสร้างของฟลูออโรฟออร์และไอโอโนฟออร์บางชนิดแสดงดังรูปที่ 7 และ โครงสร้างของเซ็นเซอร์ทางเคมีบางชนิดแสดงดังรูปที่ 8



รูปที่ 1.7 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟออร์และไอโอโนฟออร์บางชนิด [9-12]



รูปที่ 1.8 โครงสร้างทางเคมีของเซ็นเซอร์ทางเคมีที่ประกอบด้วยส่วน ฟลูออโรฟออร์และไอโอโนฟออร์เชื่อมต่อกันสำหรับตรวจวัดไอออนโลหะบางชนิด [9-12]

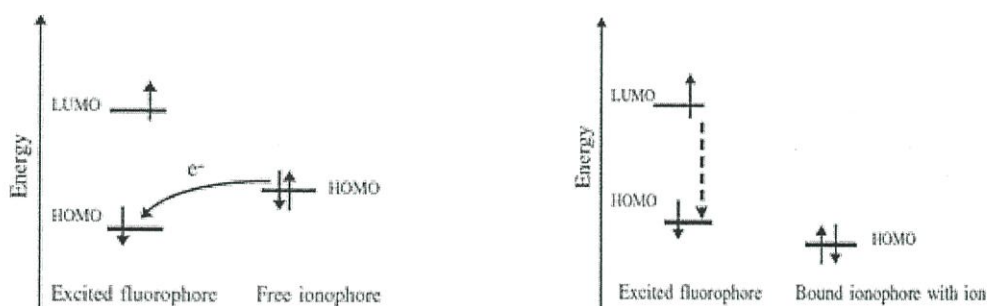
1.5.3 กลไกการทำงานของเซ็นเซอร์ทางเคมี

กระบวนการทางโฟโตฟิสิกส์ที่นำมาใช้ในการออกแบบเซ็นเซอร์ทางเคมีและใช้อธิบายกลไกการดักจับไอออนโลหะมีอยู่หลายกระบวนการ โดยกระบวนการที่ถูกนำไปใช้มากที่สุด ได้แก่ Photoinduced Electron Transfer (PET) process และ Photoinduced Charge Transfer (PCT) process

1) PET-เซ็นเซอร์

ในการออกแบบ PET-เซ็นเซอร์ จะต้องออกแบบส่วนของไอโอโนฟออร์ให้มีหน้าที่ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน (electron donor) ตัวอย่างเช่น ไอโอโนฟออร์ที่มีหมู่เอมีนหรือเอไมด์ และออกแบบส่วนของฟลูออโรฟออร์ให้ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอน (electron acceptor) ในสถานะที่ไม่มีไอออนโลหะ และหากเซ็นเซอร์ถูกกระตุ้นด้วยแสงและดูดกลืนพลังงานในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม อิเล็กตรอนของฟลูออโรฟออร์ที่อยู่ในระดับพลังงานสถานะพื้น (the highest occupied molecular orbital; HOMO) จะรับ

พลังงานและเคลื่อนที่ไปสู่สถานะกระตุ้น (the lowest unoccupied molecular orbital; LUMO) จากนั้นอิเล็กตรอนในระดับพลังงานสถานะพื้นของไอโอโนฟอร์ (ซึ่งมีระดับพลังงานสูงกว่าสถานะพื้นของฟลูออโรฟอร์) จะเกิดการถ่ายเท (electron transfer) ไปสู่สถานะพื้นของฟลูออโรฟอร์แทนเพื่อให้ครบคู่อิเล็กตรอนเพื่อให้โมเลกุลเสถียร กระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอนนี้เอง ที่เรียกว่า ‘PET’ และเนื่องจากโมเลกุลของฟลูออโรฟอร์มีความเสถียรอยู่แล้ว อิเล็กตรอนของฟลูออโรฟอร์ที่อยู่ในระดับสถานะกระตุ้นจึงไม่คายพลังงานกลับสู่สถานะพื้น ในสถานะนี้ เซ็นเซอร์จึงไม่เรืองแสง ในสถานะที่มีไอออนของโลหะ ไอโอโนฟอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนทำให้อิเล็กตรอนในสถานะพื้นของไอโอโนฟอร์มีพลังงานต่ำกว่าสถานะพื้นของฟลูออโรฟอร์ จึงไม่สามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนไปสู่ฟลูออโรฟอร์ได้ นั่นคือไม่เกิดกระบวนการ PET อิเล็กตรอนในสถานะพื้นของฟลูออโรฟอร์จึงไม่ครบคู่ โมเลกุลไม่เสถียร อิเล็กตรอนในสถานะกระตุ้นจึงคายพลังงานเพื่อกลับสู่สถานะพื้น ทำให้เซ็นเซอร์เรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมา โดยความเข้มของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จะเป็น สัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไอออนโลหะ กลไกการทำงานดังกล่าวนี้สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 9



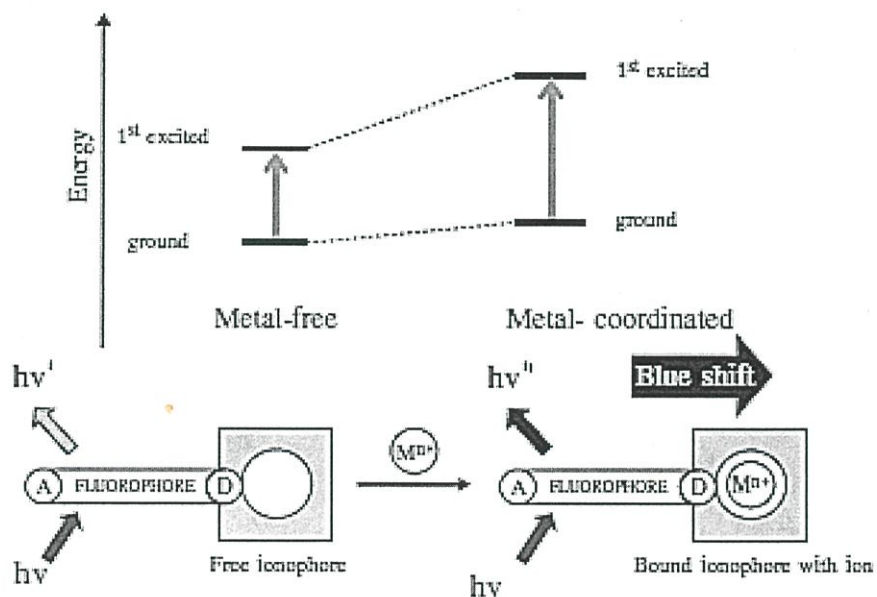
รูปที่ 9 กระบวนการ Photoinduced electron transfer processes (PET) ก่อน (รูปซ้าย) และ หลัง (รูปขวา) จับกับไอออนโลหะ

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า PET เซ็นเซอร์จะประกอบด้วยไอโอโนฟอร์ที่มีหมู่ให้อิเล็กตรอน ดังนั้นในกรณีที่เซ็นเซอร์ประกอบด้วยหมู่เอมีน ($-NH_2$, $-NHR$, $-NR_2$) จะทำให้ผลของ pH ของสารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบเกี่ยวข้องโดยตรงกับประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ชนิดนี้ เนื่องจากในสถานะที่เป็นกรดมากเกินไปจะทำให้หมู่เอมีนถูก protonate และไม่สามารถให้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของอะตอมไนโตรเจนเพื่อทำให้เกิด PET ได้ รวมทั้งไม่สามารถให้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนได้

นอกจากนั้น ระยะห่างระหว่างฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์ จะมีผลโดยตรงกับประสิทธิภาพของPET-เซ็นเซอร์ด้วย ดังเช่นการใช้ methylene group (CH_2) ต่อเชื่อมระหว่างฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์ที่มีหมู่ให้อิเล็กตรอน (เช่น ไนโตรเจนอะตอม) [12-14] ซึ่งส่วนมากไม่ควรเกินสี่กลุ่มเพื่อทำให้กระบวนการ PET เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2) PCT-เซ็นเซอร์

สำหรับ PCT-เซ็นเซอร์นั้น ฟลูออโรฟอร์จะประกอบไปด้วยส่วนที่ให้อิเล็กตรอน (electron donating group) เช่น หมู่เอมีน ($-\text{NH}_2$) และส่วนที่ดึงอิเล็กตรอน (electron withdrawing group) เช่น หมู่ไนโตร ($-\text{NO}_2$) หรือหมู่ sulfonyl ซึ่งจะทำให้เกิด Internal charge transfer (ICT) จากหมู่ให้อิเล็กตรอนไปสู่หมู่ดึงอิเล็กตรอนภายในฟลูออโรฟอร์ได้ [15] เมื่อเซ็นเซอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนของโลหะ จะทำให้สภาวะแวดล้อมเชิงจุลภาค (micro-environment) ของฟลูออโรฟอร์เปลี่ยนแปลงไป โดยจะทำให้ความเข้มของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลงไปและจะเป็นสัดส่วน โดยตรงกับปริมาณของไอออน และนอกจากนั้นจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงอีกด้วย โดยอาจเกิดปรากฏการณ์ 'Blue shift' หรือ 'Red shift' กลไกการทำงานดังกล่าวนี้สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 10

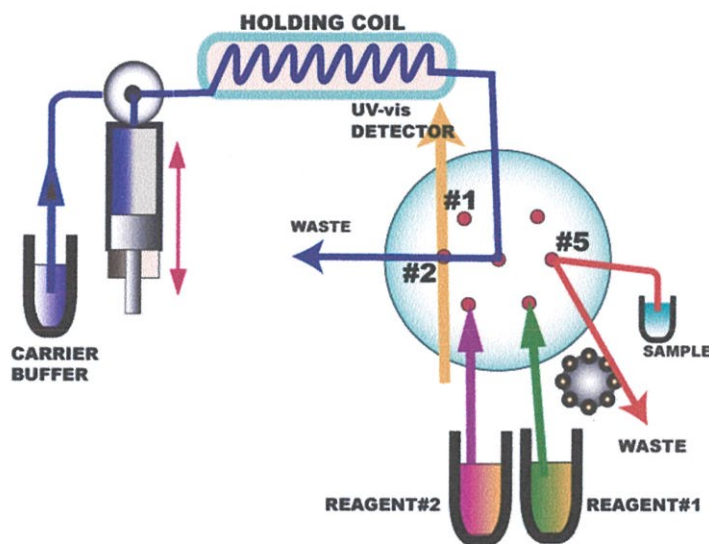


รูปที่ 1.10 Photoinduced charge transfer (PCT) processes ก่อนเกิดอันตรกิริยา (ซ้าย) และหลังเกิดอันตรกิริยากับไอออนโลหะ (ขวา) [15]

เนื่องจากกลไกการทำงานของ PCT-เซ็นเซอร์ นั้นเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืนของเซ็นเซอร์ จึงมีประโยชน์มากถ้าการดักจับไอออนของเซ็นเซอร์ทำให้สารเปลี่ยนสีได้ ดังเช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงที่มากเพียงพอในช่วงความยาวคลื่นในช่วงวิสิเบิล (visible region) ซึ่งการที่สารเปลี่ยนสีได้ภายหลังการดักจับไอออนในปริมาณต่างๆ จะทำให้สามารถทำการตรวจวัดไอออนเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้ทั้ง โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี หรือแม้กระทั่งสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งคุณลักษณะเช่นนี้จะทำให้สามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้ประโยชน์เป็นชุดตรวจสอบไอออนแบบภาคสนามได้ (Test kit)

1.5.4 เทคนิค Sequential injection analysis, SIA [8]

จะพัฒนาชุดเครื่องมืออัตโนมัติสำหรับตรวจวัดปรอทโดยอาศัยหลักการของเทคนิค SIA ซึ่งหลักการของเทคนิคนี้เริ่มต้นในปี ค.ศ. 1990 โดย Ruzicka และ Marshall [8] ได้พัฒนาให้เป็นระบบวิเคราะห์ซึ่งมีการดูดสารที่ต้องการวิเคราะห์และสารเคมีในปริมาณน้อยมากๆ (ในระดับไมโครลิตร) เข้ามาเป็นลำดับขั้นตามลำดับการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงไม่สิ้นเปลืองและลดการผลิตของเสีย ระบบ SIA อย่างง่ายแสดงดังรูปที่ 11



รูปที่ 1.11 ระบบ Sequential injection analysis (SIA)

(ที่มา <http://www.flowinjection.com/method2.html>)

ส่วนประกอบของระบบ Sequential injection analysis มีดังนี้

1. หน่วยของการขับเคลื่อนของเหลว (Propulsion unit) คือส่วนของปั๊ม ปั๊มที่ใช้มักเป็นปั๊มกำลังขับเคลื่อนสูง เพื่อเป็นตัวขับเคลื่อนตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบ เช่น Syringe pump ซึ่งเป็น pump ที่ให้อัตราการไหลที่คงที่มาก
2. ระบบของการฉีด (Multiposition valve) คือ ส่วนที่ดูดสารเคมี และ/หรือ สารตัวอย่างเข้าไปเก็บไว้ที่ holding coil มีลักษณะเป็น multiport valve สามารถมี port ได้มากถึง 10 port
3. Holding coil คือ เป็นส่วนที่ดูดสารเคมี และ/หรือ ตัวอย่างมาเก็บไว้ (ส่วนที่ 1 ถึง 3 นี้ เป็นส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำให้สารตัวอย่างและสารเคมีเกิดปฏิกิริยาได้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อตรวจวัดต่อไป)
4. Flow through cell คือ อุปกรณ์ในส่วนที่เป็นระบบท่อที่ใช้ลำเลียงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นให้ไหลเข้าสู่ตัวตรวจวัด Flow through cell นี้จะบรรจุอยู่ในเครื่องตรวจวัด

1.6 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีแนวคิดที่จะพัฒนาวิธีตรวจวัดปรอทขึ้นมาใช้เองเพื่อเป็นทางเลือกใหม่ทดแทนการใช้วิธีวิเคราะห์ปรอทแบบเดิม โดยจะพัฒนา 2 รูปแบบ ทั้ง 2 แบบต่างก็ใช้เซนเซอร์ทางเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นสำหรับตรวจวัดปรอท โดย แบบที่ 1 ได้แก่ ชุดทดสอบของเครื่องมืออัตโนมัติ ที่ควบคุมการทำงานได้ด้วยโปรแกรมที่พัฒนาขึ้นเอง โดยจะพัฒนาเพื่อให้ได้ผลวิเคราะห์ถูกต้องแม่นยำเทียบเท่ากับวิธีมาตรฐาน (CV-AAS) แต่จะแตกต่างกันตรงที่เครื่องมืออัตโนมัติจะรู้ผลเร็วกว่าและที่สำคัญคือราคาเครื่องมือถูกกว่าเพราะพัฒนาขึ้นเองด้วยเทคโนโลยีที่มีอยู่แล้วภายในประเทศ ซึ่งจะช่วยสร้างความเข้มแข็งด้านการวิจัยของประเทศ และผู้วิจัยจะพัฒนาต่อยอดสู่เชิงพาณิชย์ให้เครื่องมือนี้เป็นต้นแบบในการผลิตเครื่องมือลักษณะเดียวกันนี้เครื่องต่อไป ให้สามารถจำหน่ายได้ในอนาคต เพื่อลดการนำเข้าเครื่อง CV-AAS จากต่างประเทศ เพื่อเป็นการพึ่งพาตนเองและเพิ่มโอกาสการแข่งขันในเชิงเศรษฐกิจให้กับประเทศ แบบที่ 2 ได้แก่ ชุดต้นแบบชุดทดสอบภาคสนามพร้อมคู่มือการใช้งาน โดยหวังให้เป็นชุดทดสอบที่ใช้ทำงานง่าย ตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า ผู้ใช้ไม่ต้องมีทักษะการทดลองทางวิทยาศาสตร์ นำไปใช้งาน ณ แหล่งน้ำที่ต้องการเฝ้าระวังปริมาณปรอทได้ เหมาะแก่การตรวจคัดกรองในเบื้องต้น หากพบตัวอย่างที่ต้องสงสัย เช่น มีปริมาณปรอทคาบเกี่ยวกับที่จะเกินหรือไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดไว้ตามกฎหมาย ค่อยส่งตัวอย่างนั้นไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการด้วยเครื่องมือของแบบที่ 1 หรือเหมาะสมในกรณีที่ต้องการรู้ผลเร็ว เช่น เกิดอุบัติเหตุปรอทรั่วไหล จะได้แจ้งเตือนและแก้ไขสถานการณ์ได้ทันทั่วถึง

1.7 คำสำคัญของการวิจัย

เซนเซอร์ทางเคมี, ตรวจวัดปรอท, แหล่งน้ำ, ชุดทดสอบภาคสนาม, เครื่องมืออัตโนมัติ

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1 ด้านวิชาการ ได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับ (1) กระบวนการสังเคราะห์เซนเซอร์ทางเคมี (2) กระบวนการทำปฏิกิริยาเคมีระหว่างปรอทและเซนเซอร์ทางเคมี (3) การพัฒนาชุดเครื่องมืออัตโนมัติโดยใช้เซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดปรอทโดยอาศัยหลักการ Sequential injection analysis (SIA) และ (4) การพัฒนาชุดทดสอบปรอทแบบภาคสนามโดยมีเซนเซอร์ทางเคมีเป็นสารทดสอบ และได้ผลงานตีพิมพ์ ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ และ ในวารสารการประชุมวิชาการในระดับนานาชาติ

2 ด้านนโยบาย สามารถใช้ผลการวิจัยเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนในการร่างนโยบายการจัดการและควบคุมและเฝ้าระวังปริมาณปรอทในแหล่งน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากตรวจวัดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นแล้วพบว่า มีปริมาณปรอทเกินเกณฑ์ที่กำหนด อาจใช้ผลวิเคราะห์เพื่อเป็นหลักฐานในการดำเนินคดี และใช้เพื่อปรับนโยบายที่เกี่ยวข้องกับมลพิษต่อผู้กระทำผิดให้เข้มงวดขึ้น

3 ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์ สามารถพัฒนาต่อยอดชุดต้นแบบของเครื่องมืออัตโนมัติและชุดทดสอบภาคสนามสู่เชิงพาณิชย์ได้ ซึ่งจะทำให้ลดการใช้เครื่องมือที่ใช้อยู่ในปัจจุบันซึ่งมีราคาแพง เพราะต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เท่ากับเป็นการเสริมสร้างความเข้มแข็งด้านเศรษฐกิจ

4 ด้านสังคมและชุมชน ประชาชนได้รับความคุ้มครองและป้องกันมลพิษของปรอทในแหล่งน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งประชาชนที่อาศัยอยู่ริมน้ำซึ่งอาจต้องใช้แหล่งน้ำนั้นเพื่อการอุปโภคหรือบริโภค นอกจากนี้ยังเป็นการรักษาระบบนิเวศน์ทางน้ำด้วย

บทที่ 2

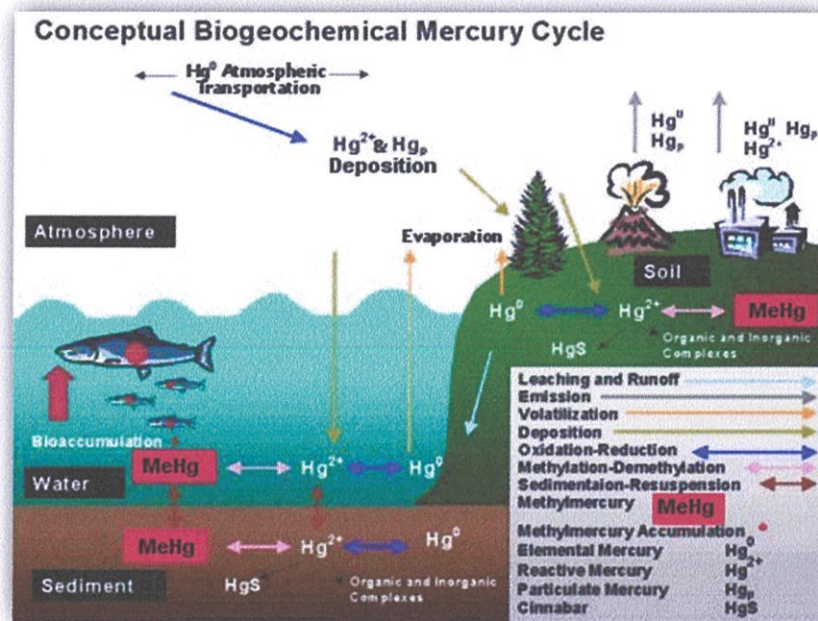
แนวคิด ทฤษฎี และการทบทวนวรรณกรรม

2.1 แนวคิดและทฤษฎี

2.1.1 ความหมายและเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดปรอท [4-5]

ปรอท (Mercury) เป็นโลหะหนักสามารถหาปรอทได้จากหินที่ขุดพบในเหมือง โดยการนำหินนั้นมาทำให้ร้อนด้วยอุณหภูมิ 357 องศาเซลเซียส ปรอทเป็นสารที่มีความหนาแน่นสูง เราสามารถนำปรอทมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายๆ ประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมเครื่องวัดอุณหภูมิและความดัน การย้อมสี การผลิตเยื่อกระดาษ พลาสติก เกสซ์กัณฑ์ อุปกรณ์ในการถ่ายรูป อุปกรณ์ ไฟฟ้า สารฆ่าแมลงและยาฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ เนื่องจากว่าปรอทมีจุดเดือดไม่สูงนัก จึงได้มีการทดลองนำเมอร์คิวรีออกไซด์ มาผลิตเป็นออกซิเจนบริสุทธิ์อีกด้วย

การปนเปื้อนของปรอทลงสู่แหล่งน้ำแสดงดังรูปที่ 2.1 โดยจะอยู่ในรูปต่างๆ เช่น inorganic divalent (Hg^{2+}), Metallic mercury (Hg^0), Phenyl mercury ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$), Methyl mercury ($[\text{CH}_3\text{Hg}]^+$), Alkoxy-alkylmercury ($\text{CH}_3\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Hg}^+$)



รูปที่ 2.1 แสดงการปนเปื้อนของปรอทสู่สิ่งแวดล้อม

อันตรายของปรอท มักเกิดจากอุบัติเหตุ โดยการกลืนกินสารปรอทเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งปริมาณปกติที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายและทำให้คนตายได้ โดยเฉลี่ยประมาณ 0.02 กรัม อาการที่เกิดจากการกลืนกินปรอท คือ

- อาเจียน ปากพอง แดงไหม้ อักเสบและเนื้อเยื่ออาจหลุดออกมาเป็นชิ้นๆ
- เลือดออก ปวดท้องอย่างแรง เนื่องจากปรอทที่ระบบทางเดินอาหาร
- มีอาการท้องร่วงอย่างแรง อุจจาระเป็นเลือด
- เป็นลม สลบเนื่องจากร่างกายเสียเลือดมาก
- เมื่อเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิต ปรอทจะไปทำลายไต ทำให้ปัสสาวะไม่ออกหรือปัสสาวะเป็นเลือด
- ตายในที่สุด

ตารางที่ 2.1 ค่ามาตรฐานปรอทของคุณภาพน้ำต่างๆ [6]

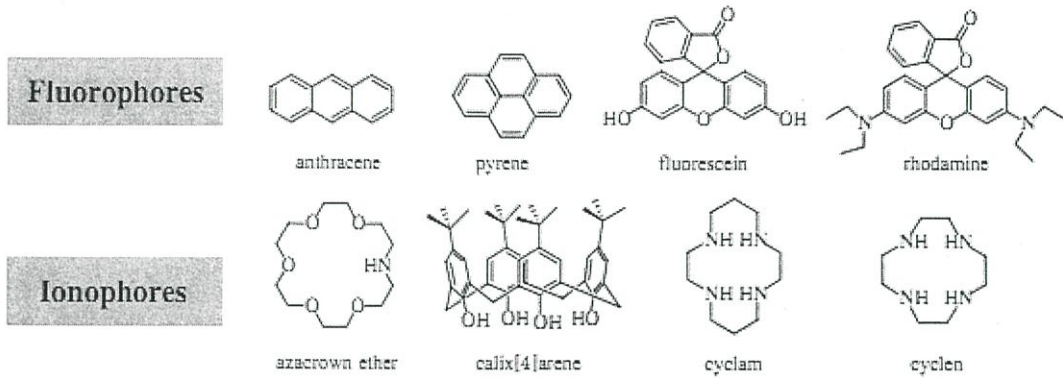
มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค	ไม่เกิน 0.001 mg/L
มาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท	ไม่เกิน 0.002 mg/L
มาตรฐานคุณภาพน้ำบาดาลที่ใช้บริโภค	ต้องไม่มีเลยแต่อนุโลมได้สูงสุดไม่เกิน 0.001 mg/L
มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน	0.05 mg/L
มาตรฐานคุณภาพน้ำใต้ดิน	ต้องไม่เกิน 0.001 mg/L
มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม	ไม่เกิน 0.005 mg/L
มาตรฐานน้ำทิ้งลงบ่อน้ำบาดาล	0.002 mg/L
มาตรฐานการระบายน้ำลงทางน้ำชลประทาน และทางน้ำที่ต่อเชื่อมกับทางน้ำชลประทานในเขตพื้นที่โครงการชลประทาน	0.005 mg/L

เทคนิคในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท ได้แก่ Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry (CVAAS), Inductively-Coupled Plasma - Mass Spectrometry (ICP-MS), Fluorescence spectroscopy, UV-VIS Spectrophotometry, Stripping voltammetry เป็นต้น

2.1.2 ระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ [9-12]

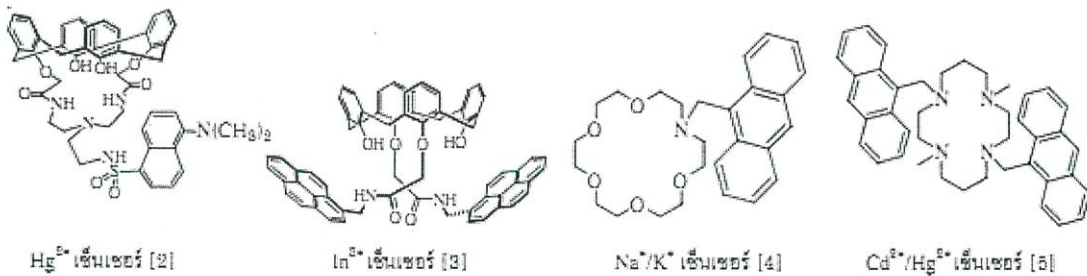
การนำเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีไปใช้เพื่อตรวจวิเคราะห์ไอออนโลหะจะต้องมีการออกแบบระบบเซ็นเซอร์ที่โครงสร้างโมเลกุลสามารถเหนี่ยวนำให้ทำงานได้โดยใช้แสงเป็นตัวกระตุ้น และเมื่อเซ็นเซอร์เกิดการดักจับไอออนจะแสดงผลทางการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ โครงสร้างของเซ็นเซอร์จะประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก 2 ส่วน ได้แก่ 1) ฟลูออโรฟออร์ (Fluorophore) เป็นส่วนที่มีสามสามารถในการแสดงคุณสมบัติของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ 2) ไอโอโนฟออร์ (Ionophore) เป็นส่วน

ที่มีความสามารถในการดักจับไอออนโลหะ โดยทั่วไปแล้วทั้งสองส่วนจะต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ ดังนั้นระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์จึงมักถูกเรียกว่า ฟลูออโรไอโอโนฟอรั (Fluoroionophore)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออโรฟอรัและไอโอโนฟอรับางชนิด [15-18]

ในระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์นี้ จะทำงานโดยส่วนที่แสดงสัญญาณจะเปรียบเสมือนทรานส์ดิวเซอร์ ซึ่งเปลี่ยนข้อมูลของกลไกการดักจับไอออนโลหะ (recognition event) ไปสู่การเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางแสง และแสดงผลโดยการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางโฟโตฟิสิกส์ (photophysical characteristic) ของเซ็นเซอร์ ตัวอย่างของฟลูออโรฟอรัที่ใช้ในระบบระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ ได้แก่ azacrown ether calyx[4]arene cyclam และ cyclen เป็นต้น



รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่ประกอบด้วยส่วน ฟลูออโรฟอรัและไอโอโนฟอรัเชื่อมต่อกันสำหรับตรวจวัดไอออนโลหะบางชนิด[15-18]

ระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์นี้ ได้มีการค้นพบมานานกว่า 20 ปีมาแล้ว และมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยทั่วไปแล้วการปรับปรุงศักยภาพของเซ็นเซอร์สามารถทำได้โดย 1) ปรับเปลี่ยนโครงสร้างไอโอโนฟอรั ซึ่งเป็นส่วนที่เกิดการดักจับไอออนโลหะชนิดใดชนิดหนึ่งอย่างจำเพาะเจาะจง และมีผลโดยตรงกับการตรวจวัดไอออนเชิงคุณภาพวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ และ 2) เลือกใช้ชนิดของฟลูออโร

ฟอร์ ซึ่งมีผลต่อสภาพไวของการตรวจวัด และจะเกี่ยวข้องกับการเลือกใช้วิธีการส่งสัญญาณการดักจับของไอออนจากตำแหน่งไอโอโนฟอร์ไปสู่ส่วนของฟลูออโรฟอร์

2.1.3 กลไกการทำงานของเซ็นเซอร์

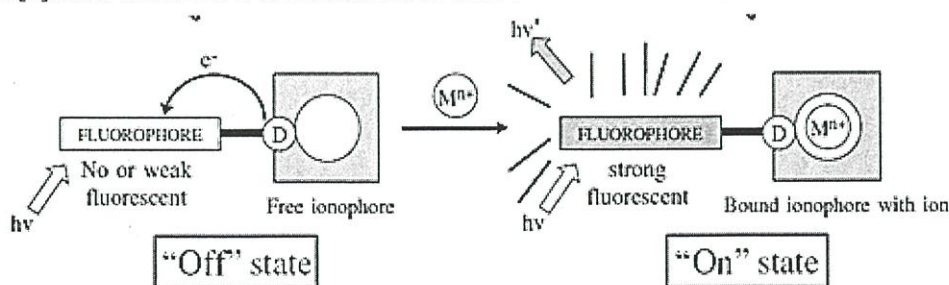
กระบวนการทางโฟโตฟิสิกส์ที่มักถูกนำมาใช้ในการออกแบบระบบฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์และนำมาใช้อธิบายกลไกการดักจับไอออนโลหะของระบบเซ็นเซอร์เพื่อควบคุมให้มีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางแสงมีอยู่หลายกระบวนการ โดยกระบวนการที่ถูกนำไปใช้มากที่สุด ได้แก่ Photoinduced Electron Transfer (PET) process และ Photoinduced Charge Transfer (PCT) process

1) PET-เซ็นเซอร์

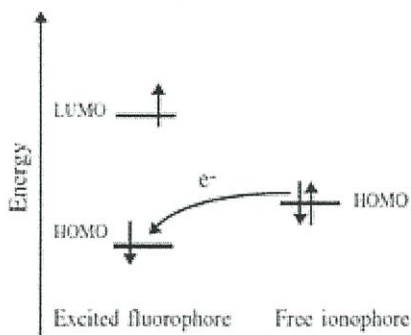
ในการออกแบบ PET-เซ็นเซอร์นั้น จะต้องออกแบบส่วนของไอโอโนฟอร์ที่มีหมู่ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน (electron donor) ตัวอย่างเช่น ไอโอโนฟอร์ที่มีหมู่เอมีนหรือไมด์และออกแบบส่วนของฟลูออโรฟอร์ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอน (electron acceptor) การทำงานของเซ็นเซอร์ชนิดนี้ในสถานะที่ไม่มีไอออนโลหะเซ็นเซอร์จะถูกกระตุ้นด้วยแสงและดูดกลืนพลังงานในช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสม อิเล็กตรอนของฟลูออโรฟอร์ที่อยู่ในระดับพลังงานสถานะพื้น (the highest occupied molecular orbital; HOMO) จะรับพลังงานและเคลื่อนที่ไปสู่สถานะกระตุ้น (the lowest unoccupied molecular orbital; LUMO) จากนั้นอิเล็กตรอนในระดับพลังงานสถานะพื้นของ ไอโอโนฟอร์จะเคลื่อนที่ไปสู่สถานะพื้นของฟลูออโรฟอร์หรือการเกิด intramolecular electron transfer quenching นั่นเอง ซึ่งในสถานะนี้ระบบเซ็นเซอร์จะไม่เรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ เนื่องจากการบวนการ PET เกิดขึ้น แสดงดังรูปที่ 2.4

ในทางตรงข้าม ในสถานะที่ไอโอโนฟอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนจะทำให้ให้อิเล็กตรอนในระดับพลังงานสถานะพื้นของไอโอโนฟอร์มีพลังงานต่ำกว่าระดับพลังงานสถานะพื้นของฟลูออโรฟอร์ จึงทำให้ไม่สามารถเกิดกระบวนการ PET หรือการส่งผ่านอิเล็กตรอน (electron transfer) ระหว่างไอโอโนฟอร์ไปสู่ฟลูออโรฟอร์ได้ (รูปที่ 2.2.3) ดังนั้นในสถานะที่มีการดักจับไอออนนี้ระบบ เซ็นเซอร์จะเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมา โดยความเข้มของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จะเป็น สัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไอออนโลหะกลไกและลักษณะการทำงานดังกล่าวนี้สามารถ แสดงได้ดังรูปที่ 2.4

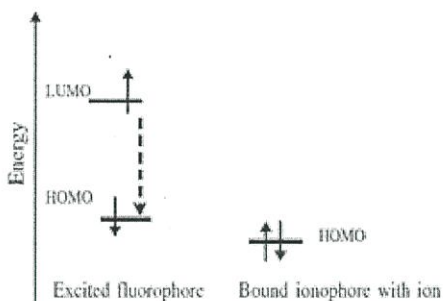
ตัวอย่างของ PET-เซ็นเซอร์นั้นได้มีการรายงานไว้หลายบทความ[19-27] ตัวอย่างเช่นระบบ calix[4]arene-azacrown-3 สำหรับลิเทียมเซ็นเซอร์



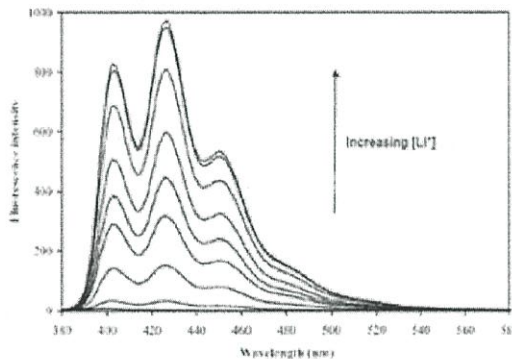
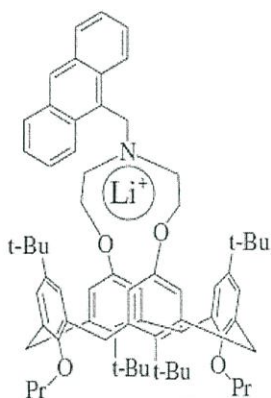
รูปที่ 2.4 Photoinduced electron transfer processes (PET)



รูปที่ 2.5 Photoinduced electron transfer processes (PET) ก่อนการจับไอออนโลหะ



รูปที่ 2.6 Photoinduced electron transfer processes (PET) ภายหลังการจับไอออนโลหะ



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของ calyx[4]arene-azacrown-3 และลักษณะการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ก่อนและหลังการดักจับไอออนลิเทียม[23]

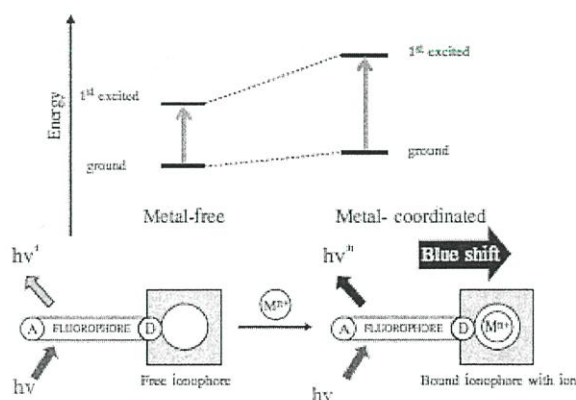
จากการทำงานของเซ็นเซอร์ชนิดนี้พบว่าในสถานะที่ไม่มีไอออนเซ็นเซอร์จะเกิด intramolecular electron transfer quenching ของหมู่เอมีนชนิดตติยภูมิใน azacrown-3 ไปสู่ anthracene หรือมีกระบวนการ PET เกิดขึ้นและในสถานะนี้ระบบเซ็นเซอร์จะไม่เรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ [Off-state] แต่เมื่อไอออนลิเทียมถูกดักจับอย่างเฉพาะเจาะจงด้วยไอโอโนฟอร์จะทำให้ไปรบกวนกระบวนการ PET จึงทำให้เซ็นเซอร์แสดงสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาเป็นสัดส่วน โดยตรงกับความเข้มข้นของไอออนลิเทียมและการตรวจวัดไอออนลิเทียมเชิงปริมาณวิเคราะห์จะเกิดขึ้นได้

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า PET เซ็นเซอร์จะประกอบด้วยไอโอโนฟอร์ที่มีหมู่ให้อิเล็กตรอน ดังนั้นในกรณีที่เซ็นเซอร์ประกอบด้วยหมู่เอมีน (-NH₂, -NHR, -NR₂) จะทำให้ผลของ pH ของสารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบเกี่ยวข้องโดยตรงกับประสิทธิภาพของเซ็นเซอร์ชนิดนี้ เนื่องจากในสถานะที่เป็นกรดมากเกินไปจะทำให้หมู่เอมีนถูก protonate และไม่สามารถให้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของอะตอมไนโตรเจน มาทำให้เกิด intramolecular electron transfer quenching ไปสู่ฟลูออโรฟอร์ได้ รวมทั้งไม่สามารถให้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวในการเกิดอันตรกิริยากับไอออน ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

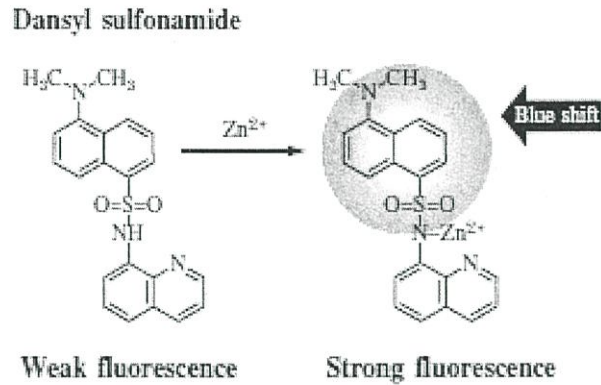
นอกจากนั้นระยะทางระหว่างฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์จะมีผลโดยตรงกับประสิทธิภาพของPET-เซ็นเซอร์ ดังเช่นการใช้ methylene group (CH₂) ต่อเชื่อมระหว่างฟลูออโรฟอร์และไอโอโนฟอร์ที่มีหมู่ให้อิเล็กตรอน (เช่นไนโตรเจนอะตอม) ซึ่งส่วนมากไม่ควรเกินสี่กลุ่มเพื่อทำให้กระบวนการ PET เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2) PCT-เซ็นเซอร์

ใน PCT-เซ็นเซอร์นั้น ฟลูออโรฟอร์ของระบบเซ็นเซอร์จะประกอบไปด้วยส่วนที่ให้อิเล็กตรอน (electron donating group) เช่น หมู่เอมีน (-NH₂) และส่วนที่ดึงอิเล็กตรอน (electron withdrawing group) เช่น หมู่ไนโตร (-NO₂) หรือหมู่ sulfonyl ซึ่งจะทำให้เกิด internal charge transfer (ICT) จากหมู่ให้อิเล็กตรอนไปสู่หมู่ดึงอิเล็กตรอนภายในฟลูออโรฟอร์ได้ [54] เมื่อระบบเซ็นเซอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนจะทำให้สถานะแวดล้อมเชิงจุลภาค (microenvironment) ของฟลูออโรฟอร์เปลี่ยนแปลงไป โดยจะทำให้ความเข้มของการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลงไปเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไอออนโลหะที่ถูกเซ็นเซอร์ดักจับ และนอกจากนั้นจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ spectroscopic band อีกด้วย กลไกและทักษะการทำงานดังกล่าวนี้สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 Photoinduced charge transfer processes (PCT) ก่อนการดักจับไอออนโลหะ(ซ้าย) และภายหลังการดักจับไอออนโลหะ (ขวา)



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของ dansyl sulfonamide เซ็นเซอร์ ก่อนและหลังการดักจับไอออนสังกะสี

ตัวอย่างของ PCT-เซ็นเซอร์นั้นได้มีรายงานไว้ ดังเช่นระบบ dansyl sulfonamide เซ็นเซอร์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดความเข้มข้นของไอออนสังกะสี (รูปที่ 2.9)

PCT-เซ็นเซอร์ชนิดนี้แสดงให้เห็นว่าภายหลังการดักจับไอออนสังกะสีแล้วจะทำให้สถานะแวดล้อมเชิงจุดภาคของฟลูออโรฟอร์ชนิด dansyl เปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากหมู่ให้อิเล็กตรอนถูกใช้ในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนสังกะสีจึงทำให้เซ็นเซอร์แสดงสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมาเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของไอออนสังกะสีและสามารถตรวจวัดไอออนสังกะสีเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้ นอกจากนี้ในการเกิดอันตรกิริยากับไอออนสังกะสีจะทำให้เซ็นเซอร์มีการดูดกลืนความยาวคลื่นในช่วงความยาวคลื่นที่สั้นลง (blue shift)

เนื่องจากกลไกการทำงานของ PCT-เซ็นเซอร์ นั้นเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืนของเซ็นเซอร์ จึงมีประโยชน์มากถ้าการดักจับไอออนของเซ็นเซอร์ทำให้สารเปลี่ยนสีได้ ดังเช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงที่มากเพียงพอในช่วงความยาวคลื่นในช่วงวิสิเบิล (visible region) ซึ่งการที่สารเปลี่ยนสีได้ภายหลังการดักจับไอออนในปริมาณต่างๆ จะทำให้สามารถทำการตรวจวัดไอออนเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้ทั้งโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี และสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งคุณลักษณะเช่นนี้จะทำให้สามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้ประโยชน์เป็นชุดตรวจสอบไอออน(strip test) หรือใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดไอออนในภาคสนามได้

2.1.4 เทคนิคซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส (SIA) [8]

SIA เป็นเทคนิคการวิเคราะห์สารแบบต่อเนื่องซึ่งพัฒนาต่อยอดมาจากเทคนิคของฟลาวอินเจกชันอะนาไลซิส (Flow injection analysis หรือ FIA) โดยมีการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการควบคุมการทำงานของวาล์วและปั๊มในการหมุนเพื่อไหลของเหลวเข้าสู่ระบบ เทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ให้ความแม่นยำและถูกต้องในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงได้รับความนิยมนำมาประยุกต์ใช้กับงานวิเคราะห์ด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นด้านการแพทย์ เกษษกรรม อุตสาหกรรม สิ่งแวดล้อม การเกษตร และอื่นๆ

1) หลักการของ SIA

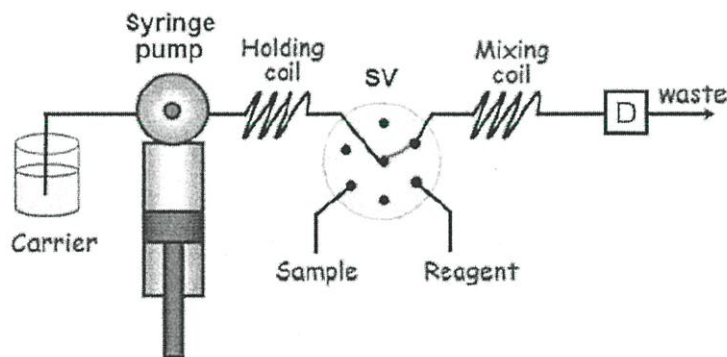
รูปที่ 2.10 แสดงระบบ SIA อย่างง่าย ซึ่งมีองค์ประกอบพื้นฐาน ดังต่อไปนี้

1. ระบบขับเคลื่อน (Propulsion system) จะทำให้เกิดการไหลของกระแสตัวพาไปยังส่วนต่างๆ ของระบบด้วยอัตราการไหลที่คงที่ ซึ่งอาจใช้ ไชริงค์ ปั๊ม (Syringe pump) เพียงอย่างเดียว หรืออาจใช้ร่วมกับ เพอริสแตติก ปั๊ม (Peristaltic pump)

2. ระบบฉีด (Injection system) จะใช้ มัลติซีเล็คชันวาล์ว (Multi-selection valve) ซึ่งจะมีช่องตรงกลางทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างปั๊มกับช่องอื่นๆ ที่อยู่ล้อมรอบช่องตรงกลางเป็นวงกลม ช่องอื่นๆ นี้ อาจมีจำนวนช่องเป็น 4, 6 หรือ 8 ช่อง ช่องเหล่านี้จะต่อกับท่อสำหรับดูดสารละลายตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ทำปฏิกิริยา (รีเอเจนต์) เข้ามาสู่ระบบ นอกจากนี้ ช่องตรงกลางยังทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างปั๊มกับเครื่องตรวจวัด เพื่อเป็นเส้นทางนำส่งสารผลิตภัณฑ์เข้าสู่เครื่องตรวจวัดอีกด้วย

3. ระบบการผสม (Mixing system) ระบบของการผสมสารละลาย จะประกอบด้วย โอลดิงคอยล์ (Holding coil) และ มิกซิงคอยล์ (Mixing coil) ซึ่งสร้างขึ้นจากการนำท่อพลาสติกมาดัดเป็นวงกลม (หรือ อาจดัดเป็นรูปทรงเรขาคณิตอื่นๆ) โดยหลังจากที่สารละลายตัวอย่างและรีเอเจนต์ ถูกดูดผ่านวาล์วเข้ามาและพักเก็บไว้ที่ โอลดิงคอยล์ (Holding coil) จะทำให้ของเหลวทั้งหมดนี้เกิดการผสมกันเบื้องต้น (Pre - mixing) เมื่อท่อน โชนของเหลวทั้งหมดถูกผลักดันผ่านมิกซิงคอยล์ จะเกิดการผสมกันมากขึ้น เพราะโดยปกติ มิกซิงคอยล์ จะมีความยาวมากกว่าโอลดิงคอยล์

4. ระบบตรวจวัด (Detection system) จะใช้ โฟลทรูเชลล์ (Flow through cell) โดยบรรจุอยู่ในเครื่องตรวจวัด โฟลทรูเชลล์ นี้จะต้องมีรูปร่างลักษณะเหมาะสมกับชนิดของเครื่องตรวจวัดที่ใช้

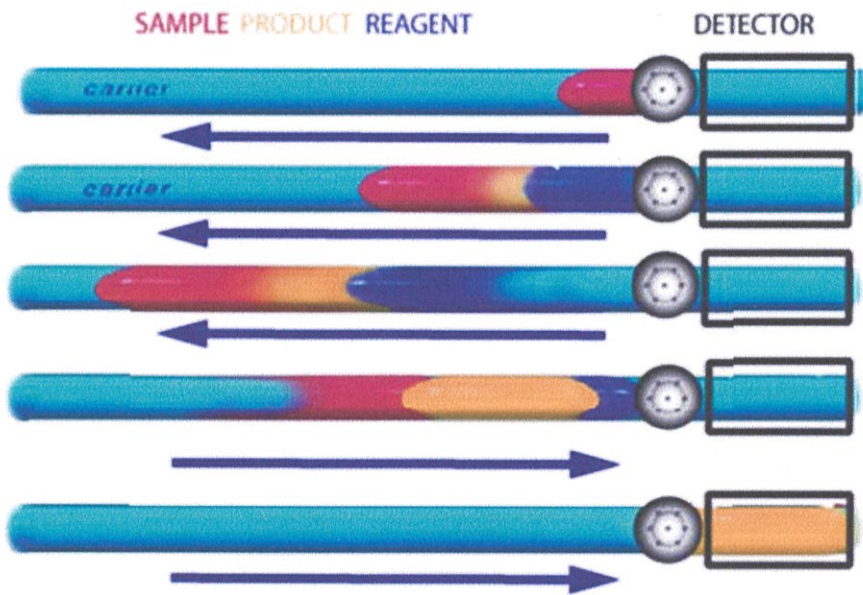


รูปที่ 2.10 แสดงระบบการวิเคราะห์แบบซีเควินเจคชันอะนาลไลซิส

(SV คือ มัลติซีเล็คชันวาล์ว (Multi - Selection Valve), D คือ ระบบตรวจวัด (Detector))

ในการทำงานของอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ ในระบบ SIA จะถูกควบคุมโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ก่อนการตรวจวัดจะมีการล้างระบบ จากนั้นมีการดูดและพักสารละลายตัวพา (Carrier solution) ไว้ที่ตำแหน่งโอลดิงคอยล์ โดยมีการใช้ปั๊มดูดเข้าสู่ระบบ ต่อจากนั้นจะมีการหมุนสับ

วาล์วซึ่งได้รับคำสั่งจากโปรแกรมคอมพิวเตอร์ไปยังตำแหน่งของสารตัวอย่างเพื่อดูดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบไปพักไว้ยังโฮลคิงคอยด์ จากนั้นปั๊มจะหยุดทำงาน เมื่อมีการหมุนสับวาล์วอีกครั้ง ไปยังตำแหน่งรีเอเจนต์เพื่อดูดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบไปพักที่โฮลคิงคอยด์ ซึ่งมี ท่อน โชนของสารตัวอย่างถูกเก็บไว้ก่อนหน้านี้อีกแล้ว จากนั้นปั๊มจะทำงานอีกครั้งโดยผลัก โชนของสารตัวอย่างและ โชนของรีเอเจนต์ไปยังมิกซ์ซิงคอยด์ เกิดเป็น โชนของสารผลิตภัณฑ์เกิดขึ้น ในขั้นตอนสุดท้ายจะมีการหมุนสับวาล์ว ไปยังตำแหน่งที่จะผลักสารละลายทั้งหมด รวมถึงสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ไปยังดีเทคเตอร์เพื่อทำการตรวจวัดต่อไป ขั้นตอนการทำงานทั้งหมดดังกล่าว แสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 แสดงการเคลื่อนที่ของสารภายใน

2.1.5 การตรวจวัดด้วยตาเปล่าและชุดทดสอบภาคสนาม [13]

ชุดทดสอบภาคสนามอย่างง่ายโดยทั่วไปมีจุดประสงค์เพื่อใช้สำหรับการทดสอบหรือการวิเคราะห์สารที่ได้ในภาคสนามอย่างง่ายและรวดเร็ว สำหรับผู้ใช้ที่ทำการสำรวจวิจัยในภาคสนาม ชุดทดสอบสารภาคสนามอย่างง่าย จึงต้องมีสมบัติต่างๆที่เป็นจุดเด่น

มีจุดเด่นและข้อดีคือใช้ในการทดสอบสารอย่างรวดเร็วในภาคสนาม เพื่อให้ได้ผลทดสอบทันทีเพื่อการทดสอบตัวอย่างจำนวนมาก เพื่อให้สามารถทดสอบสารในสภาวะจริง เนื่องจากการทดสอบที่ทำในห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องมีการเก็บตัวอย่างและเติมสารคงตัว (Preservative) ตามความจำเป็น จึงไม่ใช้การทดสอบสภาวะจริง ชุดทดสอบภาคสนามอย่างง่ายส่วนใหญ่จึงมีไว้สำหรับใช้ในการคัดกรอง (Screening) และไม่สามารถใช้ในการทดสอบที่ต้องการความแม่นยำสูง จึงทำให้ชุดทดสอบมี จุดอ่อน

1) จุดเด่นของชุดทดสอบภาคสนาม

1. ใช้ได้ง่าย โดยผู้ใช้ไม่ต้องมีความเชี่ยวชาญด้านนั้นๆ โดยตรง กระบวนการทดสอบ จึงต้องไม่สลับซับซ้อนเกินไป
2. สามารถนำไปใช้ในสถานะของภาคสนามที่เกี่ยวข้อง กระบวนการทดสอบจึงต้องไม่ยุ่งยาก อาจต้องสามารถใช้งานในสถานะที่ต่างจากห้องปฏิบัติการ ไม่มีโต๊ะ ไม่มีไฟฟ้า ไม่มีน้ำ มีสถานะอากาศแปรปรวนเป็นต้น
3. ใช้เวลาทดสอบน้อย เพราะเป็นการใช้ในภาคสนาม ซึ่งมักไม่สามารถรอผลการทดสอบที่ใช้เวลานานได้
4. น้ำยาและสารเคมีต่างๆที่ใช้ จะต้องมีความเสถียร เพื่อให้สามารถเก็บไว้ใช้เป็นเวลานาน
5. ราคาถูก เพราะการทดสอบภาคสนามมักจำเป็นต้องทำการทดสอบตัวอย่างจำนวนมาก
6. มีความไวและความเข้มข้นที่วัดได้เป็นไปตามที่ต้องการ
7. มีความถูกต้องแม่นยำ

2.2 การทบทวนวรรณกรรม

วิธีตรวจวิเคราะห์ปริมาณปรอทในแหล่งน้ำที่ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่นิยมใช้คือ วิธี CV-AAS เพราะเป็นวิธีมาตรฐานและเป็นวิธีที่ให้ผลวิเคราะห์ถูกต้องแม่นยำ ตัวอย่างห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีนี้คือ กรมควบคุมมลพิษ [5,6] และ US EPA [7] นอกจากนี้วิธี CV-AAS แล้ว ยังมีรายงานการใช้วิธีเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูงอื่นๆ เช่น Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) และ Atomic fluorescence spectrometry เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การตรวจวัดปริมาณปรอทในน้ำที่มีอยู่ในระดับความเข้มข้นต่ำมากๆ ด้วยวิธีต่างๆข้างต้น จำเป็นต้องมีขั้นตอนการเพิ่มความเข้มข้น (Preconcentration) เพื่อให้ตรวจวัดได้ วิธีการเพิ่มความเข้มข้นของไอออนโลหะจากตัวอย่างน้ำ อาทิเช่น การสกัดด้วยเฟสของเหลว (Liquid-Liquid Extraction) โดยประยุกต์ใช้ของเหลวไอออนิก (Ionic liquid) ร่วมกับสารกิลเลต [16] Cloud Point Extraction [17] และ การสกัดด้วยเฟสของแข็ง เป็นต้น การสกัดด้วยเฟสของแข็งเป็นวิธีที่นิยมใช้เพื่อช่วยเพิ่มความเข้มข้นและกำจัดตัวรบกวนในการวิเคราะห์ ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้เฟสของแข็งเพื่อเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ปรอท เช่น N. Pourrez [18] ใช้คอลัมน์ขนาดเล็กซึ่งบรรจุด้วยวัสดุที่ได้รับการดัดแปลงด้วย 2-mercaptobenzimidazole เพื่อใช้สกัดปรอทด้วยกรดไฮโดรคลอริก และตรวจวัดด้วย CV-AAS วิธีการนี้ประสบความสำเร็จในการประยุกต์ใช้หาปรอทในน้ำ น้ำเสียและในเนื้อปลา Rajesh และ Gurulakshmanan [19] ได้เสนอวิธีการเพิ่มความเข้มข้นของปรอทโดยทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ Diphenylthiocarbazone ก่อนที่จะสกัดด้วยคอลัมน์บรรจุอะลูมินาและตรวจวัดด้วยเทคนิค Spectrophotometry นอกจากนี้ มีงานวิจัยจำนวนหนึ่ง เสนอวิธีการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของปรอทด้วยเฟสของแข็งที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงอย่างมากต่อปรอท เช่น การใช้เฟสของแข็งที่สังเคราะห์โดยการบรรจุไอออนของปรอทลงไปตั้งแต่ขั้นตอนสังเคราะห์ (Imprint) พอสังเคราะห์เสร็จก็ล้างไอออนของปรอท

ออก ทำให้เกิดช่องว่างที่มีขนาดพอดีกับขนาดของไอออนของปรอท หรือ เฟสของแข็งที่มีการเพิ่มสารก่อ
 คีเลตลง ไป ซึ่งสามารถทำได้ทั้งแบบ Impregnation [20] และแบบสังเคราะห์สารก่อคีเลตลงบนเฟสของแข็ง
 ผ่านกระบวนการ Grafting เป็นต้น โดยของแข็งที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ สารโพลีเมอร์ [21] เรซิน [22,23] และ
 ซิลิกาเจล [24-26] เป็นต้น นอกจากการใช้เฟสของแข็งในการสกัด บางงานวิจัยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็น
 สารสกัด และใช้ในปริมาณน้อยเพื่อลดของเสียจากการวิเคราะห์ เช่น Fangwen [27] พัฒนาวิธี single-drop
 microextraction เพื่อวิเคราะห์ปรอทรวมกับการใช้ spectrophotometer ขนาดเล็ก ซึ่งมี light-emitting diode
 (LED) เป็นแหล่งกำเนิดแสงมีราคาถูกและใช้งานและใช้ควบคู่กับ charge coupled device (CCD) ในการ
 ตรวจวัด ซึ่งหยดของ dithizone-CCl₄ ที่ใช้เป็นสารสกัด จะแขวนอยู่บนท่อ PTFE แสงจากหลอด LED ถูก
 ปรับให้ผ่านศูนย์กลางของหยดและผ่านเข้าไปยัง CCD ที่ใช้เป็นเครื่องตรวจวัด วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย ให้
 sensitivity สูง ประหยัด ใช้ reagent น้อย ใช้ได้กับตัวอย่างที่เป็นน้ำประปา น้ำจากแม่น้ำและวัสดุมาตรฐาน
 อ่างอิง อย่างไรก็ตามวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวเป็นวิธีที่ไม่ต่อเนื่อง ใช้เวลานานในการเตรียมตัวอย่างและการ
 วิเคราะห์หาปริมาณ ไม่เหมาะในกรณีที่มีตัวอย่างน้ำเป็นจำนวนมาก จึงได้มีการพัฒนาการวิเคราะห์แบบ
 Flow Injection [28] เข้ามาใช้ร่วมกับเทคนิคการตรวจวัด เพื่อลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ โดยสกัดและ
 เพิ่มความเข้มข้นด้วยเฟสของแข็งและนำตัวอย่างที่เข้มข้นเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ได้ทันที กล่าวคือเป็น
 การเพิ่มความเข้มข้นแบบออนไลน์ (On-line preconcentration) ตัวอย่างงานวิจัยลักษณะนี้ เช่น Cañada
 Rudner [29] ได้เสนอวิธีการวิเคราะห์หาปรอทโดยใช้วิธีการเพิ่มความเข้มข้นแบบออนไลน์ด้วยคอลัมน์
 บรรจุเรซินที่เคลือบด้วย 1,5-bis[(2-pyridyl)-3-sulphophenyl methylene] thiocarbonohydrazide และนำเข้า
 วัดหาปริมาณด้วย cold-vapour ICP พบว่ามีอัตราการวิเคราะห์ตัวอย่างเร็วถึง 40 ตัวอย่างต่อชั่วโมง
 นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิคการตรวจวัดอื่นๆ เช่น Graphite furnace atomic absorption spectrometry [30]
 และ CVAAS ร่วมกับการเพิ่มความเข้มข้นแบบออนไลน์เช่นกัน Bravo-Sánchez [31] ได้ศึกษาการวิเคราะห์
 ปรอทโดยใช้ระบบการเพิ่มความเข้มข้นแบบออนไลน์ โดยใช้คอลัมน์ที่บรรจุเรซินสามชนิดที่มีสารก่อคี
 เลต และวิเคราะห์ด้วย CVAAS พบว่าอัตราการชะสารจากคอลัมน์ (elution flow rate) อยู่ที่ 1.5 และ
 3 mL/min ตามลำดับ แต่ใช้ปริมาณสารตัวอย่างมากถึง 50 mL ในขณะที่ Ferrúa [32] ได้ใช้ระบบการเพิ่ม
 ความเข้มข้นแบบออนไลน์ โดยใช้คอลัมน์ที่บรรจุถ่านกัมมันต์ในการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นของปรอท
 ก่อนจะวิเคราะห์หาปริมาณด้วย CVAAS โดยสามารถใช้อัตราการไหลของสารตัวอย่างผ่านคอลัมน์ที่สูง
 และใช้ตัวอย่างน้อยลง อย่างไรก็ตาม บางงานวิจัยก็สามารถวิเคราะห์ปรอทได้โดยตรงโดยไม่ต้องผ่านขั้นตอน
 Preconcentration เช่น Heidi Pyhtilä [33] พัฒนาวิธีหาปรอทที่ความเข้มข้นน้อยในตัวอย่างน้ำจากแหล่ง
 ธรรมชาติที่มี humic สูง โดยใช้เทคนิค cold vapor คู่กับ inductively coupled plasma mass spectrometer
 ซึ่งมีความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity) สูง

สำหรับตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้เซนเซอร์ทางเคมีในการตรวจวัดปรอท อาทิเช่น Ruan และคณะ [34]
 เสนอการใช้เซนเซอร์ที่ประกอบด้วย 2-(3-(2-aminoethylthio)propylthio) ethanamine ที่นำมาต่อเชื่อม
 กับฟลูออโรฟอร์ชนิด 7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazolyl (NBD) เพื่อใช้ตรวจวัด ไอออนปรอท พบว่าหลังจาก

เซ็นเซอร์จับกับไอออนปรอทจะทำให้สถานะแวดล้อมเชิงจุลภาคของฟลูออโรฟอร์ชนิด NBD เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้เซ็นเซอร์เรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณของไอออนปรอทที่เพิ่มขึ้น และทำให้ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนเปลี่ยนแปลงไป 70 นาโนเมตร ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้สารละลายของเซ็นเซอร์เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพู Yang และคณะ [35] นำสารประกอบจำพวก Pyrene มาใช้เป็นเซ็นเซอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัด Hg^{2+} มากกว่าแคตไอออนตัวอื่นๆ เช่น K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} และ Cu^{2+} จึงเหมาะกับการใช้สำหรับตรวจวัด Hg^{2+} ในน้ำหรือสารละลายมีขั้วอื่นๆ Huiling Dai และคณะ [36] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ทางเคมีที่โครงสร้างพื้นฐานเป็นสารประกอบจำพวก 1,8-naphthalimide ซึ่งจะจับกับไอออนของปรอทในอัตราส่วน 1:1 เมื่อนำไปประยุกต์ใช้พบว่ามีความจำเพาะและความไวในการวิเคราะห์สูงในการตรวจวัด Hg^{2+} ในน้ำ สามารถติดตาม Hg^{2+} ได้ดีกว่าไอออนโลหะตัวอื่นๆ โดยติดตามการเรืองแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 562 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่ให้ค่าการเรืองแสงที่มากที่สุด Yi Jin Kim และคณะ [37] ใช้ alkynyl silaketals ที่สังเคราะห์ขึ้นมาสำหรับใช้ในการตรวจวัด Hg^{2+} ในน้ำจากสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วย carbamodithioate พบว่าเซ็นเซอร์นี้มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับปรอท

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน หมายเลข 1* (E)-2-(6-hydroxy-3-oxo-5((3-sulphophenyl)diazenyl)-4,4a-dihydro-3H-xanthen-9-yl)benzoic acid)	-	-	-
อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน หมายเลข 2* (E)-2-5((4-carboxyphenyl) diazenyl)-6-hydroxy-3-oxo-4,4a-dihydro-3H-xanthen-9-yl)benzoic acid)	-	-	-
อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน หมายเลข 3* (E)-2-((9-(2-carboxyphenyl)-6-hydroxy-3-oxo-4,4a-dihydro-3H-xanthen-5-yl)benzoic acid)	-	-	-
ปรอทคลอไรด์ (Mercury chloride)	$HgCl_2$	99.0	Carlo Erba, Italy
เมทานอลบริสุทธิ์ (Absolute Methanol) (AR)	CH_3OH	99.0	Carlo Erba, Italy
Diphenylcarbazide	$C_{13}H_{14}N_4O$	99.95	Sigma-Aldrich
Bromophenol blue	$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$	99.0	Sigma-Aldrich

หมายเหตุ * ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.ภานูมาศ ทองอยู่ และคณะ ภาควิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. บีกเกอร์
3. ปิเปต และไมโครปิเปต
4. หลอดหยด
5. กระจบอตกวง
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. อุปกรณ์สำหรับสร้างระบบซีเควนเซียลอินเจคชัน ได้แก่
 - 13.1 Syringe pump - HAMILTON PSD 4, Switzerland
 - 13.2 8-port Multi-selection valve–HAMILTON, Serial MVP, Switzerland
 - 13.3 Flow through cell สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ปริมาตรภายใน 25 ไมโครลิตร- Hellma, 176.052-QS, USA
 - 13.4 PTFE tube ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.0 มิลลิเมตร- Vici AG International, JR-T6807-M 25, Switzerland
14. ซอฟต์แวร์สำหรับควบคุมระบบซีเควนเซียลอินเจคชัน – MGC, Auto-Pert Version 4, Japan

3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ (*Deionized Water, LABCONCO, Water Proplus, USA*) และสารเคมีทุกตัวเป็นเกรดสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี (*Analytical Reagent Grade*)

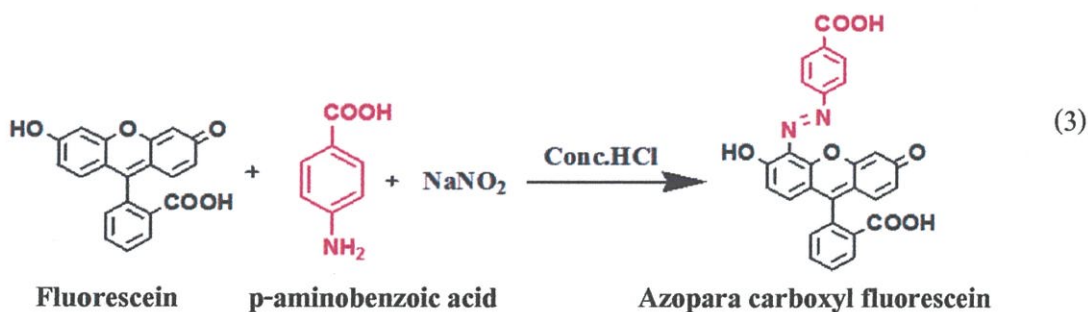
2.2 อนุพันธ์ฟลูออเรสซินในตำแหน่ง Azopara carboxyl fluorescein (อนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข 2, F2)

1. การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์

นำฟลูออเรสซิน 2.6826 กรัม (8.073 มิลลิโมล) ละลายด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 10.0x มิลลิลิตร นำโซเดียมไนเตรด 0.42xx กรัม (6.0xx มิลลิโมล) ละลายในน้ำเย็น 4.0x มิลลิลิตร และนำ พาราอะมิโนเบนโซอิกแอซิด 0.831x กรัม (6.06 มิลลิโมล) ละลายด้วยน้ำ 10.0x มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เติม กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองใน Ice bath ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 5 °C

2. การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

จะใช้สารละลายที่เตรียมได้จากหัวข้อ 1 การสังเคราะห์เริ่มจากค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมไนเตรด ลงในสารละลาย พาราอะมิโนเบนโซอิกแอซิด ทำการปั่นกววนประมาณ 10-15 นาที แล้วค่อยๆ เติมสารละลายฟลูออเรสซิน ทำการปั่นกววนต่อประมาณ 30 นาที ตามลำดับ จากนั้นจึงทำการเทสารละลายที่ได้ลงในน้ำเย็น คนจนเกิดตะกอน แล้วนำไปกรอง โดยจะได้ผลึกสีส้มเหลืองถึงส้มอิฐ ปฏิกริยาเคมีแสดงการสังเคราะห์เป็นดังสมการที่ (3)



2.3 อนุพันธ์ฟลูออเรสซินในตำแหน่ง Azoortho carboxyl fluorescein (ฟลูออเรสซินหมายเลข 3, F3)

1. การเตรียมสารละลายสำหรับการสังเคราะห์

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

2. การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

จะใช้สารละลายที่เตรียมได้จากหัวข้อ 1 การสังเคราะห์เริ่มจากค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมไนเตรด ลงในสารละลายแอนทรานิคแอซิด ทำการปั่นกววน ประมาณ 10-15 นาที แล้ว

ค่อยๆ เติมสารละลายฟลูออเรสซิน ทำการปั่นกว้นต่อประมาณ 30 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก โดยจะได้ผลึกสีส้มเหลืองถึงส้มอิฐ ปฏิกริยาเคมีแสดงการสังเคราะห์เป็นดังสมการที่ (4)



3.2.2 การเตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

1. เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1, F2 และ F3 ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1, F2 และ F3 อย่างละ 0.0025 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอลบริสุทธิ์เป็น 50.00 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1, F2 และ F3 ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจากสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรจากหัวข้อ 1 มา 3.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลบริสุทธิ์เป็น 100.00 มิลลิลิตร

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

1. เทสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในควอร์ทเชลล์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200 – 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลบริสุทธิ์ในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero)

2. ทำซ้ำหัวข้อที่ 3.3.1 ข้อที่ 1 แต่เปลี่ยนอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 เป็นอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F2 และ F3 ตามลำดับ

3. บันทึกผลการทดลองและนำผลการทดลองที่ได้มาสร้าง Absorption spectrum

3.3.2 การศึกษาสมบัติการเรืองแสงของฟลูออเรสซิน

1. ปิเปตสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 4.00 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชา แล้วจึงปิเปตน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที แล้วเทรีเอเจนต์แบบลงคัลลงในควอร์ทเชลล์ สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ แล้วนำไปวัดค่าการเรืองแสง ณ นาทีที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 – 750 นาโน

เมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลบริสุทธิ์ในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero)

2. ทำซ้ำหัวข้อที่ 3.3.2 ข้อที่ 1 แต่เปลี่ยนอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 เป็นอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F2 และ F3 ตามลำดับ

3. บันทึกผลการทดลองและนำผลการทดลองที่ได้มาสร้าง Emission spectrum

หมายเหตุ: การตั้งค่าพารามิเตอร์ของเครื่อง Fluorometer ของทุกครั้งที่ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง เป็นดังนี้

Slid Width = 5 นาโนเมตร

Excitation wavelength = 450 นาโนเมตร

Detection wavelength = 455 นาโนเมตร

Scan speed = 1000 นาโนเมตรต่อนาที

3.3.3 ศึกษาอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้หาปริมาณปรอท

เนื่องจากทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซินขึ้นมา 3 ตัว ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเพื่อเลือกอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่เหมาะสม โดยทำการทดลองต่อไปนี้

1. ปิเปตสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 4.00 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชา แล้วจึงปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที แล้วเทรีเอเจนต์ลงในควอร์ทเซิลล์ สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ แล้วนำไปวัดค่าการเรืองแสง ณ นาทีที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 – 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นปราศจากไอออนในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero) ทั้งนี้ได้ทำรีเอเจนต์แบลนค์โดยใช้น้ำปราศจากไอออนแทนสารละลายมาตรฐานปรอท

2. ทำซ้ำหัวข้อ 3.3.3 ข้อที่ 1 แต่เปลี่ยนอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 เป็นอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F2 และ F3 ตามลำดับ

3. บันทึก Emission spectrum แล้วนำผลที่ได้มา Overlay และสร้างกราฟมาตรฐานตามความสัมพันธ์ของ Stern – Volmer หาสมการเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดคลื่นใจ

4. เปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity) ของอนุพันธ์ฟลูออเรสซินแต่ละตัว โดยพิจารณาจากความชันของกราฟมาตรฐาน

3.3.4 ศึกษาความเสถียรของฟลูออโรฟอร์

1. เตรียม F1 เข้มข้น 1.5 mg/L ทำโดยปิเปต F1 ความเข้มข้น 100 mg/L มา 1.5 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยเมทานอล
2. ทำการปิเปต F1 มา 4 mL ใส่ในหลอดทดลองจากนั้นปิเปตน้ำกลั่น 1 mL เขย่าโดยใช้เครื่อง 1.30 นาที เทใส่เซลล์แล้วใส่เครื่อง ณ นาทีที่ 2.00 ทำการวัดไป 120 นาที

3.3.5 ศึกษาความเฉพาะเจาะจงในการตรวจวัดปรอท

1) เตรียมสารละลาย F1

1. ชั่ง F1 0.0025 กรัม ละลายในเมทานอลแล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร จะได้ F1 เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. ปิเปต F1 เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 3 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล จะได้ F1 เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. ปิเปต F1 เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล จะได้ F1 เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

2) เตรียมสารละลายโลหะเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

1. ชั่งโลหะปรอท 0.1353 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโลหะปรอทเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. ปิเปตสารละลายโลหะปรอทเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 375 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ จะได้สารละลายโลหะปรอทเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. สารละลายโลหะอื่นๆ เตรียมเช่นเดียวกับสารละลายโลหะปรอท แต่ชั่งน้ำหนักตามน้ำหนักโมเลกุลของสารแต่ละตัว

3) วิธีการทดลอง

1. ปิเปตสารละลาย F1 เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้น ปิเปตปรอทมา 1 มิลลิลิตร เริ่มจับเวลาเมื่อปล่อยปรอท นำไปเหวี่ยงด้วยเครื่อง vortex จากนั้นนำไปเข้าเครื่องตรวจวัดด้วยเครื่อง spectrofluorometer ที่นาทีที่ 2
2. ทำการทดลองซ้ำเหมือนเดิมแต่เปลี่ยนจาก Hg^{2+} เป็น Metal ion ตัวอื่นๆ

3.3.6 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดปริมาณปรอท

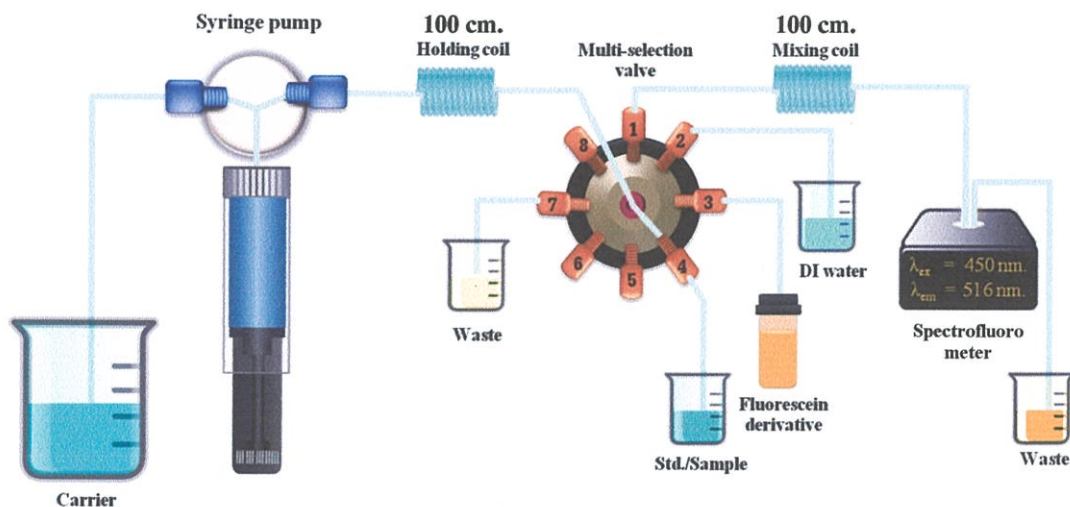
1. เตรียม F1 เข้มข้น 1.5 mg/L ในเมทานอล
2. นำ F1 ที่เตรียมได้มาทำปฏิกิริยากับปรอทที่มีความเข้มข้น 5 ,10 ,15 ,20 และ 25 mg/L และทำรีเอเจนต์เบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นแทนปรอท ดังนี้
 - 2.1) ปิเปต 1.5 mg/L F1 มา 4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
 - 2.2) เติมน้ำกลั่นจำนวน 1 มิลลิลิตร พร้อมกับจับเวลาทันทีที่เติมลงไป
 - 2.3) เขย่า 1.30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการคายแสง ณ นาทีที่ 2.00
 - 2.4) บันทึกผลการทดลอง
 - 2.5) ทำซ้ำข้อ 2.1 - 2.4 โดยเปลี่ยนการเติมน้ำกลั่นเป็นเติมปรอทที่มีความเข้มข้น 5 ,10 ,15 ,20 และ 25 mg/L ตามลำดับ

3.3.7 ศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัด

- 1) เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 75, 85, 90, 100 โดยปริมาตร ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ
- 2) เตรียมสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตจากสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรจากหัวข้อ 1 มา 3.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลความเข้มข้นต่างๆ คือร้อยละ 75, 85, 90, 100 โดยปริมาตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร ตามลำดับ
- 3) ปิเปตสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 75 โดยปริมาตร จำนวน 4.00 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชาตามด้วยสารละลายมาตรฐานปรอท ความเข้มข้น 1, 5 ,10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ตามลำดับ และทำรีเอเจนต์เบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนแทนสารละลายมาตรฐานปรอท จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 1.30 นาที แล้วสารละลายลงในควอร์ทเซิลล์ สำหรับใช้กับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ แล้วนำไปวัดค่าการเรืองแสง ณ นาทีที่ 2.00 ที่ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 445 – 750 นาโนเมตร โดยใช้ความยาวคลื่นในการกระตุ้น (λ_{ex}) เท่ากับ 450 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลในการปรับค่าศูนย์ (Auto – zero)
- 4) บันทึก Emission spectrum แล้วนำผลที่ได้มา Overlay และสร้างกราฟมาตรฐานตามความสัมพันธ์ของ Stern – Volmer หาสมการเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ
- 5) ทำการทดลองเหมือนกับหัวข้อ 3 และ 4 แต่เปลี่ยนมาใช้สารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน หมายเลข F1 ที่เตรียมในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 85 - 100 โดยปริมาตร แทน
- 6) สร้างกราฟแสดงการเปรียบเทียบอภิทธิพลของตัวทำละลาย

3.3.8 การออกแบบเครื่องมืออัตโนมัติ (ระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส)

ได้ทำการออกแบบระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส แสดงดังรูปที่ 3.1 โดยระบบนี้จะใช้เพื่อการศึกษาในหัวข้ออื่นๆ ต่อไป



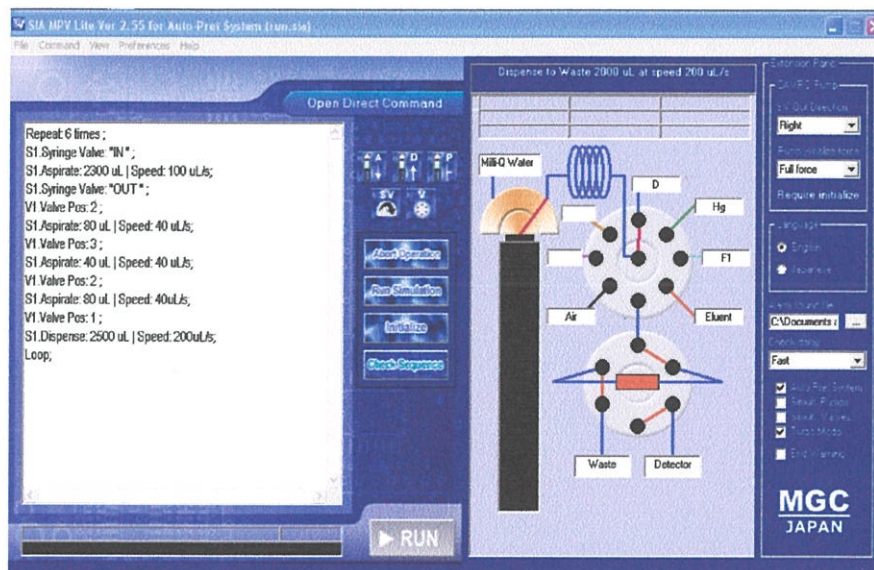
รูปที่ 3.1 แสดงระบบซีเควนเชียลอินเจกชันที่ได้ออกแบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท

3.3.9 ลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส

การวิเคราะห์ปริมาณปรอทมีลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

- 1) คูดน้ำกลั่นปราศจากไอออนซึ่งใช้เป็นสารละลายตัวพาเข้าสู่ระบบ
- 2) คูดสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบ โดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
- 3) คูดสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้นต่างๆ หรือตัวอย่างน้ำประเภทต่างๆ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบ โดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
- 4) คูดสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบ โดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
- 5) ผลักสารผลิตภัณฑ์ไปยังเครื่องสเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์ เพื่อตรวจวัดค่าการเรืองแสง โดยใช้อัตราเร็ว 200 ไมโครลิตรต่อวินาที

ลำดับขั้นตอนดังกล่าว สามารถแสดงเป็นคำสั่งในโปรแกรมควบคุมการทำงานของระบบ ซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส ได้ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงหน้าจอของซอฟต์แวร์ MGC Auto-Pert Version 4 ซึ่งระบุลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควเมชันอินเจกชันอะนาไลซิส

3.3.10 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควเมชันอินเจกชันอะนาไลซิส

1) ความเข้มข้นของฟลูออเรสซินหมายเลข 1

ทำการศึกษาความเข้มข้นของฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยความเข้มข้นที่เลือกศึกษาคือ 0.15, 0.3, 1.5 และ 3.0 โมลต่อลิตรตามลำดับโดยมีลำดับการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น

2) ลำดับในการทำปฏิกิริยา

ทำการศึกษาลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยลำดับที่เลือกศึกษาคือ

1. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich จุดสารละลายฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ปริมาตร 160 ไมโครลิตร เข้ามาก่อน ตามด้วยจุดปรอทปริมาตร 40 ไมโครลิตร โดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที โดยสามารถแสดงเป็นรูปภาพได้ดังรูปที่ 4



รูปที่ 3.3 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich

2. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich คูณสารละลายฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร, โปรทปริมาตร 40 ไมโครลิตรและตามด้วยคูณสารละลายฟลูออเรสซินหมายเลข F1 ปริมาตร 80 ไมโครลิตรตามลำดับโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที โดยสามารถแสดงเป็นรูปภาพได้ดังรูปที่ 5



รูปที่ 3.4 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich

3.3.11 การประยุกต์ใช้เครื่องมืออัตโนมัติในการตรวจวัดปริมาณปรอทในแหล่งน้ำ

1) การเตรียมสารตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำทั้งหมดแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ 1. น้ำประปา 2. น้ำดื่ม และ 3. น้ำจากลำคลอง

ตัวอย่างน้ำทุกชนิดจะถูกกรองผ่านไนลอนเมมเบรน ขนาด 0.22ไมโครเมตร (Agela Technologies, USA) แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบซีเคิวนเจียลอินเจกชันอะนาไลซิสและแบบ Batch

2) ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยวิธีแบบ SIA (การเตรียมตัวอย่างเพื่อหา % Recovery โดยความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปรอทที่เลือกคือ 0.5 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร)

ทำการตรวจวัดปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากลำคลอง ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.5 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) ลงไป ดังขั้นตอนต่อไปนี้

2.1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้นต่างๆ และตัวอย่างที่ทำการ Spiked

1. เตรียม Pure std.

ปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้นต่างๆ (0.5 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 2.50 และ 4.00 มิลลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิตร ตามลำดับ และปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 25.00 มิลลิตร

2. เตรียม Pure sample

ปิเปตตัวอย่างน้ำจากลำคลองปริมาตร 80.00 มิลลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 100.00 มิลลิตร โดยทำการเปลี่ยนตัวอย่างน้ำจากลำคลองเป็นน้ำดื่มและน้ำประปา ตามลำดับ

3. เตรียม Spiked sample

ปีเปตตัวอย่างน้ำจากถ้ำคลองปริมาตร 80.00 มิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 10.00 และ 16.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตรจากนั้น ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 100.00 มิลลิลิตร โดยทำการเปลี่ยนตัวอย่างน้ำจากถ้ำคลองเป็นน้ำดื่มและน้ำประปา ตามลำดับ

2.2) ลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส

การวิเคราะห์ปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำมีลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

1. ควบน้ำกลั่นปราศจากไอออนซึ่งใช้เป็นสารละลายตัวพาเข้าสู่ระบบ
2. ควบสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสเซนต์หมายเลข F1 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
3. ควบตัวอย่างน้ำประเภทต่างๆ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบ โดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
4. ควบสารละลายอนุพันธ์ฟลูออเรสเซนต์หมายเลข F1 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบโดยใช้อัตราเร็ว 40 ไมโครลิตรต่อวินาที
5. ผลักสารผลิตภัณฑ์ไปยังเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ เพื่อตรวจวัดค่าการเรืองแสง โดยใช้อัตราเร็ว 200 ไมโครลิตรต่อวินาที
6. กำหนดหาปริมาณปรอทโดยแทนค่าลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐานตามความสัมพันธ์ของ Stern – Volmer

3.3.12 ศึกษาความเข้มข้นและตัวทำละลายที่เหมาะสมของไฮโดรเจน (PVP) และ F1 เพื่อนำมาเคลือบบนกระดาษทดสอบ (เพื่อออกแบบและพัฒนาชุดทดสอบภาคสนาม)

1. ชั่งสาร F1 0.0025 และ 0.0050 กรัม เข้มข้น 50 และ 100 mg/L ในเมทานอล 5 มิลลิลิตร
2. เตรียมโพลิไวนิลไพโรลิโดน ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 %w/v ในเมทานอล 25 มิลลิลิตร
3. จากข้อ 1 และ 2 เลือกใช้ F1 และไฮโดรเจน (PVP) ในตัวทำละลายเมทานอล นำ F1 ผสมกับไฮโดรเจน (PVP) จากความเข้มข้นข้างต้น แล้วทำการเคลือบบนกระดาษ
4. นำกระดาษทดสอบที่เคลือบมาตรวจวัดกับน้ำ และปรอทที่มีความเข้มข้น 5, 50, 100, 1000 mg/L สังเกตสีที่เกิดขึ้น

3.3.13 ศึกษาอินดิเคเตอร์ผสมระหว่าง ไดฟีนิลคาร์บาไซด์ (Diphenylcarbazide) กับโบรโมฟีนอลบลู (Bromophenol blue) ที่เหมาะสม สำหรับการนำไปใช้หาปริมาณปรอท

- 1) เตรียมอินดิเคเตอร์ผสม โดยชั่งสารไดฟีนิลคาร์บาไซด์ 0.25 กรัม และชั่งโบรโมฟีนอลบลู 0.025 กรัม ในเอทานอล 50 มิลลิลิตร
- 2) เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ โดยชั่งสารโพแทสเซียมซีเตรต 3.0640 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และกรดซิตริก 2.1014 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 3.4
- 3) นำอินดิเคเตอร์ผสมและบัฟเฟอร์ที่เตรียมได้มาทำปฏิกิริยากับปรอทที่มีความเข้มข้น 5 , 10 ,15 ,20 ,25 mg/L ในอัตราส่วนดังตาราง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

บัฟเฟอร์ (ml)	ปรอท (ml)	อินดิเคเตอร์ผสม (ml)	ปริมาตรสุดท้าย (ml)
1	2	0.5	10

- 4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 200-800 นาโนเมตร
- 5) บันทึกผลการทดลอง
- 6) นำผลที่ได้มา Overlay และสร้างกราฟมาตรฐานตามสมการ Beer's law

3.3.14 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปริมาณปรอท

- 1) เตรียมอินดิเคเตอร์ผสม โดยชั่งสารไดฟีนิลคาร์บาไซด์ 0.25 กรัม และชั่งโบรโมฟีนอลบลู 0.025 กรัม ในเอทานอล 50 มิลลิลิตร
- 2) เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ โดยชั่งสารโพแทสเซียมซีเตรต 3.0640 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และกรดซิตริก 2.1014 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 3.4
- 3) นำอินดิเคเตอร์ผสมและบัฟเฟอร์ที่เตรียมได้มาทำปฏิกิริยากับ Metal ion อื่นๆและปรอทที่มีความเข้มข้น 25 mg/L ในอัตราส่วนดังตาราง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

บัฟเฟอร์ (ml)	ปรอท/Metal ion อื่นๆ (ml)	อินดิเคเตอร์ผสม (ml)	ปริมาตรสุดท้าย (ml)
1	2	0.5	10

- 4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 200-800 นาโนเมตร แล้วบันทึกผลการทดลอง
- 5) ทำข้อ 3-4 ซ้ำ

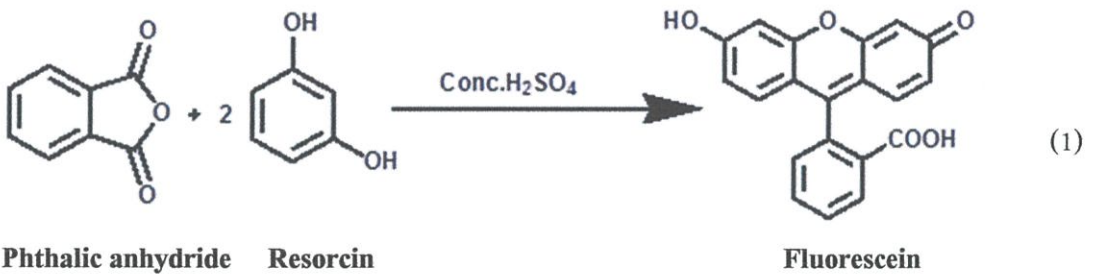
3.3.15 ศึกษาช่วงความเข้มข้นของโปรทที่สามารถตรวจวัดได้

- 1) นำกระดาษที่เคลือบด้วยอินดิเคเตอร์ผสมกับไฮโดรเจล (PVP) มาทดสอบกับโปรทที่ความเข้มข้น 5 mg/L โดยจุ่มในโปรทประมาณ 5 วินาที สังเกตดูการเปลี่ยนสีบนกระดาษ
- 2) ทำซ้ำข้อ 1 เป็นจำนวน 5 ครั้ง
- 3) ทำข้อ 1-2 ซ้ำ โดยเปลี่ยนความเข้มข้นโปรทเป็น 10 ,15 ,20 ,25 ,50 ,100 และ 1000 mg/L ตามลำดับ สังเกตดูการเปลี่ยนสีบนกระดาษ

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การศึกษาการสังเคราะห์ฟลูออเรสซิน

การสังเคราะห์นำสารฟลูออโรฟอร์มาเป็นเคมีเซนเซอร์สำหรับใช้ตรวจวัดปริมาณปรอทโดยพิจารณาจากสภาพไวในการตรวจวัดและค่าความเป็นเส้นตรงของสารฟลูออโรฟอร์ โครงสร้างของสารฟลูออโรฟอร์แสดงดังสมการที่ (1)

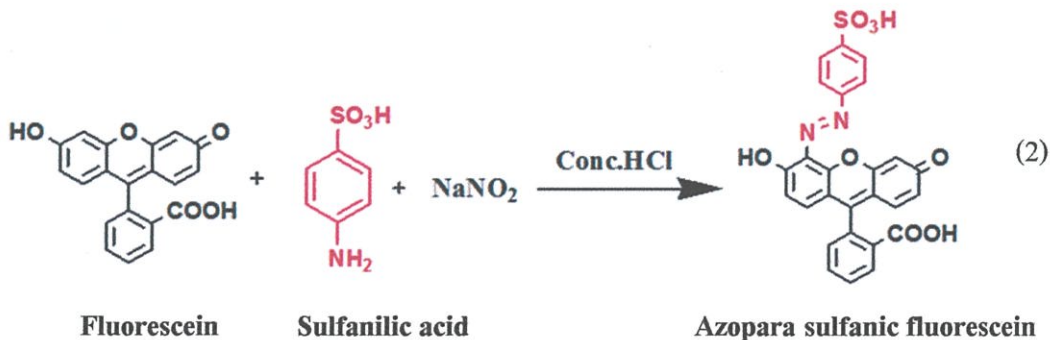


จากการทดลองพบว่าผลการสังเคราะห์สารฟลูออโรฟอร์มาเป็นเคมีเซนเซอร์สำหรับใช้ตรวจวัดปริมาณปรอทได้ผลดีที่สุดถึงแดงอิฐ

4.2 การศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

4.2.1 การศึกษาการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินในตำแหน่ง Azopara sulfanic fluorescein (อนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข 1, F1)

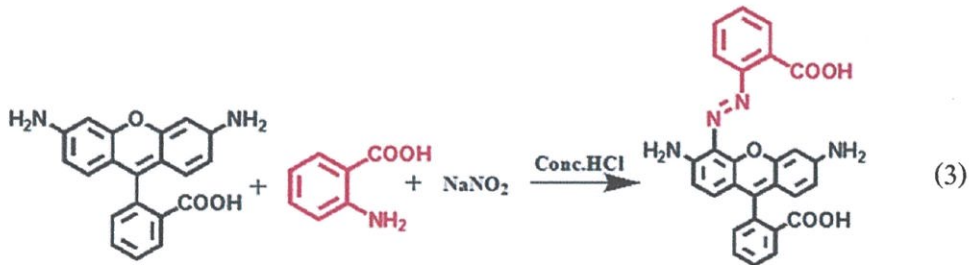
การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน ในสภาวะที่เหมาะสมจะได้สาร อนุพันธ์ F1 จากปฏิกิริยาเคมีดังแสดงในสมการที่ (2)



จากการทดลองพบว่าผลการสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข 1(F1) จะ ได้ผลดีที่สุดถึงแดงอิฐ

4.2.2 การศึกษาการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินในตำแหน่ง Azopara carboxyl fluorescein (อนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข 2, F2)

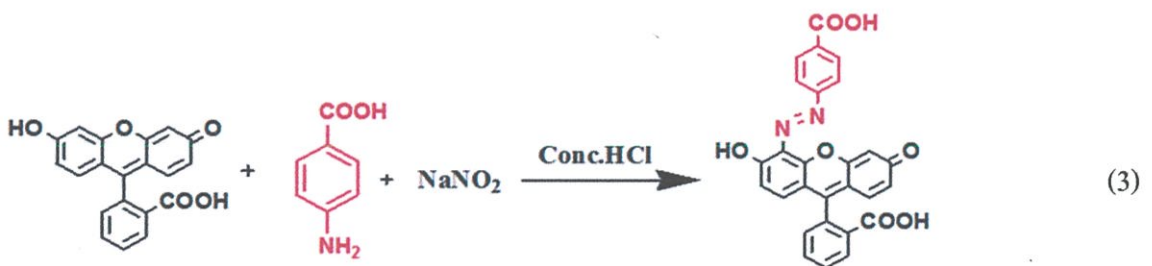
การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน ในสถานะที่เหมาะสมจะได้ สารอนุพันธ์ F2 จากปฏิกิริยาเคมีดังแสดงในสมการที่ (3)



จากการทดลองพบว่าผลการสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข 2 (F2) จะได้ผลิตภัณฑ์สีส้มเหลืองถึงส้มอิฐ

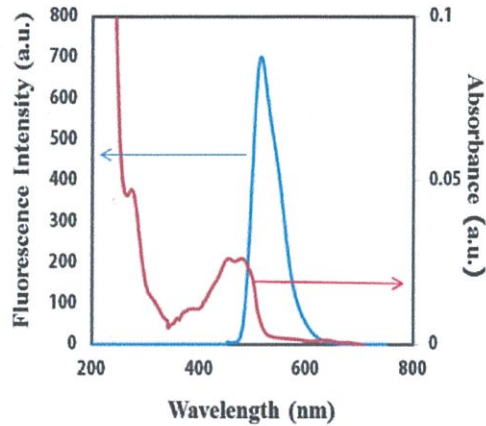
4.2.3 การศึกษาการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินในตำแหน่ง Azortho carboxyl fluorescein (ฟลูออเรสซินหมายเลข 3, F3)

การสังเคราะห์อนุพันธ์ฟลูออเรสซิน ในสถานะที่เหมาะสมจะได้สารอนุพันธ์ F3 จากปฏิกิริยาเคมีดังแสดงในสมการที่ (3)



จากการทดลองพบว่าผลการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ฟลูออเรสซินหมายเลข 3 (F3) จะได้ผลิตภัณฑ์สีส้มเหลืองถึงส้มอิฐ

4.3 การศึกษาสมบัติการดูดกลืนแสงของอนุพันธ์ฟลูออเรสซิน

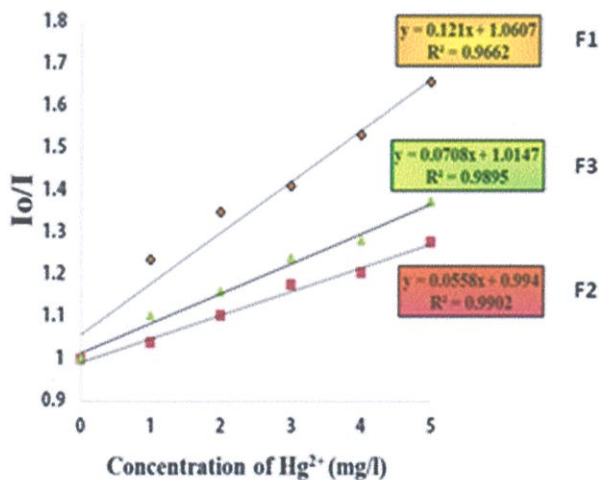


รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสง (ด้านขวา) และการคายแสง (ด้านซ้าย) ของสารฟลูออโรฟออร์

หมายเลข 1

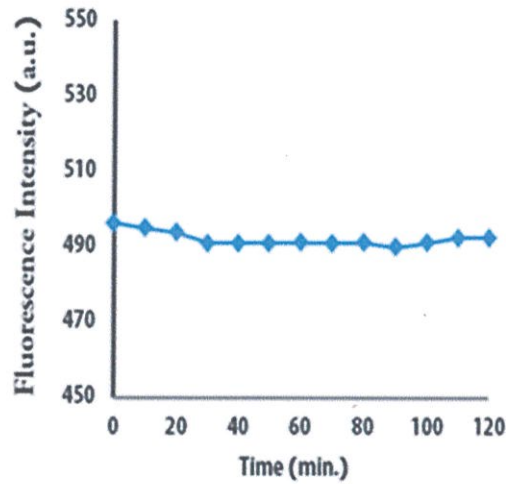
จากการศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการคายแสง พบว่าสารฟลูออโรฟออร์หมายเลข 1 (F1) มีการดูดกลืนแสงและการคายแสงที่มีความยาวคลื่น 455 และ 514 นาโนเมตรตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 1 และทำการศึกษาการทำให้ปฏิกิริยาระหว่างฟลูออโรฟออร์หมายเลขต่างๆ กับปรอท พบว่าฟลูออโรฟออร์ทั้ง 3 ตัว มีค่า Fluorescence Intensity ลดลง เมื่อมีปริมาณความเข้มข้นของปรอท (quencher) เพิ่มขึ้น เมื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน จากการพลอตแบบ stern-volmer พบว่า ฟลูออโรฟออร์หมายเลข 1 (F1) มีความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้หาปริมาณปรอท เนื่องจากมีความชันของกราฟมาตรฐานมากที่สุด แสดงให้เห็นถึงความไวในการตรวจวัดปรอทสูงสุด ดังแสดงในรูปที่ 4.2

4.4 การศึกษาอนุพันธ์ฟลูออเรสซินที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้หาปริมาณปรอท



รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของปรอทโดยเปรียบเทียบสภาพไวของฟลูออโรฟออร์หมายเลขต่างๆ

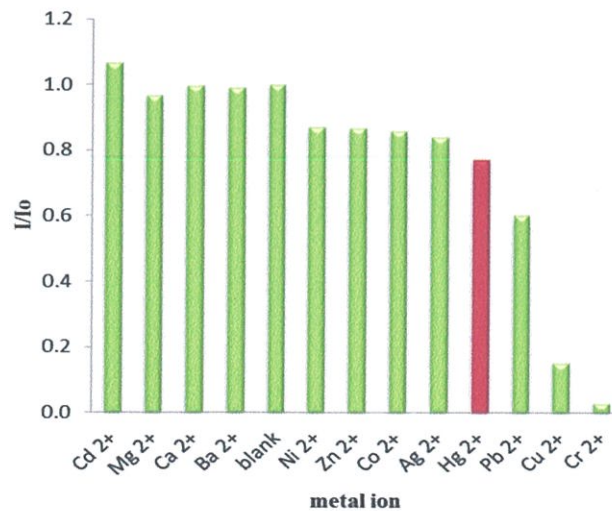
4.5 การศึกษาความเสถียรของฟลูออโรฟอร์



รูปที่ 4.3 แสดงค่าการคายแสงที่ช่วงเวลาต่างๆ

จากผลการทดลอง พบว่าความเสถียรของสาร โดยศึกษาค่า Fluorescence Intensity เป็นระยะเวลา 120 นาที จากรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเวลาเปลี่ยนแปลงไปค่า Fluorescence Intensity มีการเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงสามารถสรุปได้ว่าสารฟลูออโรฟอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นมีความเสถียรและเหมาะสมในการนำไปใช้ในการตรวจวัดปริมาณปรอท

4.6 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปรอท

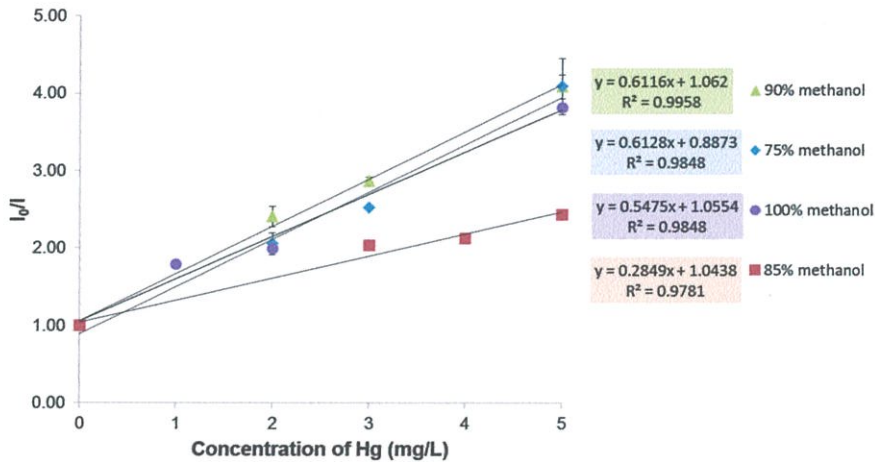


รูปที่ 4.4 แสดงความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดไอออนของโลหะต่างๆ ของฟลูออโรฟอร์ หมายเลข 1 (F1)

จากผลการทดลองพบว่า การศึกษาความเฉพาะเจาะจงในการตรวจวัดปรอท โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างฟลูออโรฟอร์หมายเลข 1 (F1) กับไอออนของโลหะชนิดต่างๆ ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 4.4 พบว่า

ฟลูออโรฟอรั F1 มีความเฉพาะจะจงในการตรวจวัดปรอทในระดับหนึ่งต่อ ไอออนโลหะชนิดอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามมีไอออนบางชนิดที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ โดยให้ค่า I/I₀ มีค่าลดลง ได้แก่ ตะกั่ว (Pb), ทองแดง (Cu) และ โครเมียม (Cr) ที่ยังรบกวนการวิเคราะห์ จึงจำเป็นต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสม หากทราบว่าไม่มีไอออนดังกล่าวเป็นตัวรบกวนอยู่ในตัวอย่างด้วย

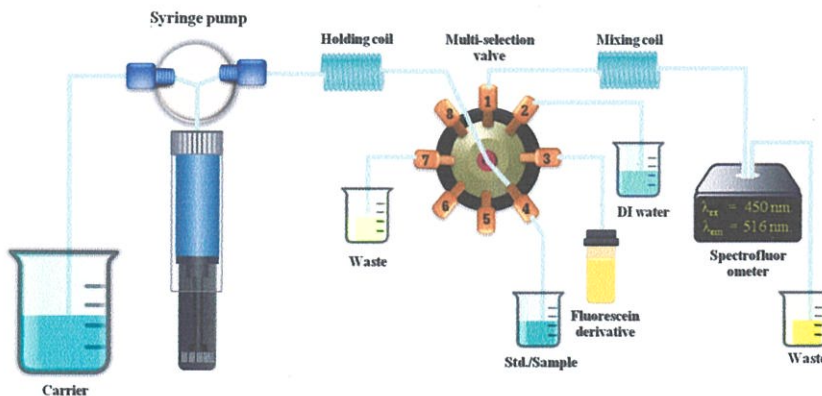
4.7 การศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัด



รูปที่ 4.5 กราฟมาตรฐานของปรอทโดยใช้ฟลูออโรฟอรัหมายเลข 1 ในตัวทำละลายเมทานอลที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ

ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.5 พบว่า การใช้เมทานอล 90 เปอร์เซ็นต์ จะมีความไวในการตรวจวัดปรอทสูงที่สุด แต่อย่างไรก็ตามเพื่อให้ง่ายต่อการเตรียม ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เมทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์เมทานอลที่ใช้ และความไวในการตรวจวัดไม่แตกต่างกันมากนัก

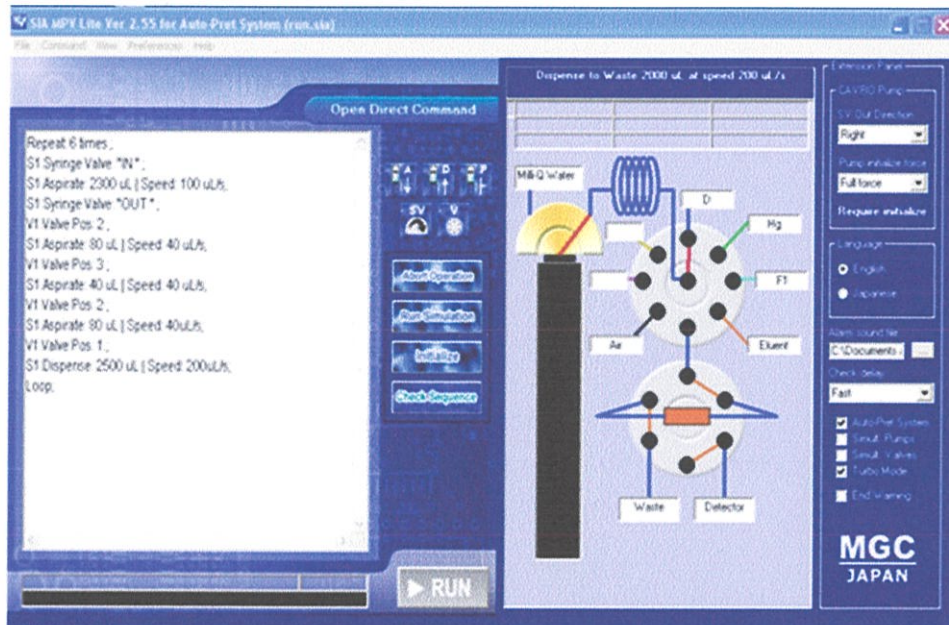
4.8 ศึกษาการออกแบบเครื่องมืออัตโนมัติ (ระบบซีแควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส)



รูปที่ 4.6 แสดงระบบซีแควนเชียลอินเจกชันที่ได้ออกแบบสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท

จากการทดลองพบว่า ระบบซีแควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสที่ได้ออกแบบ แสดงดังรูปที่ 4.6 มีความเหมาะสมที่จะใช้เพื่อการศึกษาในหัวข้ออื่นๆ ต่อไป

4.9 การศึกษาลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีแควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส

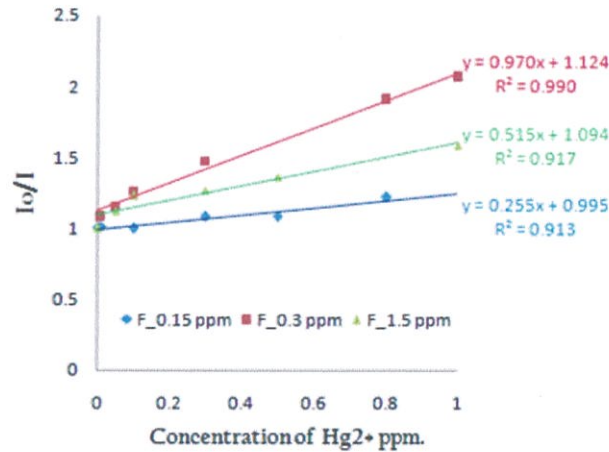


รูปที่ 4.7 แสดงหน้าจอของซอฟต์แวร์ MGC Auto-Pert Version 4 ซึ่งระบุลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณปรอท

จากผลการทดลองพบว่า จากรูปที่ 4.7 ลำดับ, ปริมาตร และ อัตราเร็ว ในการดูดสารละลายแต่ละชนิดเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาให้ความไวในการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด จึงเลือกเป็นลำดับขั้นตอนในการทำปฏิกิริยาสำหรับใช้กับระบบซีแควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสในการทดลองอื่นๆต่อไป

4.10 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส

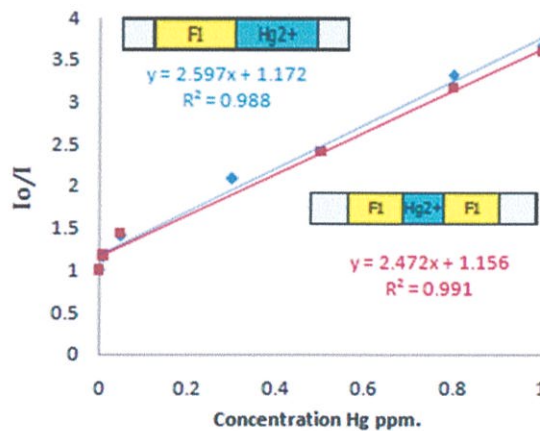
4.10.1 ศึกษาความเข้มข้นของฟลูออเรสซินหมายเลข 1 (F1)



รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สารละลายฟลูออเรสซินหมายเลข F1 เข้มข้นต่างๆ

จากการศึกษาพบว่า ที่ความเข้มข้นของสารละลายฟลูออเรสซินหมายเลข 1 (F1) ที่ 0.3 โมลต่อลิตรมีความไวในการวิเคราะห์มากที่สุด เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของสารละลายฟลูออเรสซินสูงขึ้นความหนาแน่นของอนุภาคจะมีมากยิ่งขึ้นส่งผลให้เกิดการบดบังการส่งผ่านอิเล็กตรอนจากฟลูออเรสซินไปยังปรอททำให้กระบวนการควENCHING เกิดขึ้นได้น้อยลง อย่างไรก็ตามพบว่าที่ความเข้มข้น 1.5 โมลต่อลิตรนี้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มีค่าไม่ดีเท่าที่ควร ($R^2 = 0.917$) ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่มีความไวในลำดับถัดไปคือ 0.3 โมลต่อลิตร ($R^2 = 0.990$)

4.10.2 ศึกษาลำดับในการทำปฏิกิริยา



รูปที่ 4.9 กราฟมาตรฐานของสารละลายปรอท ช่วงความเข้มข้น 0 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ลำดับการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน แสดงเป็นลำดับของท่อน โซนภายในโฮลดิ้งคอกยด์

จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้ลำดับปฏิบัติการแบบ non-sandwich และ sandwich จะให้ความไวในการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกใช้ลำดับปฏิบัติการแบบ non-sandwich เพื่อการศึกษาในหัวข้ออื่นๆต่อไป เนื่องจากลำดับการทำปฏิริยาาง่ายและประหยัดเวลาในการดูดสารเข้าระบบ

4.11 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยระบบซีเควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส

ตารางที่ 4.1 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอท

ประเภทของตัวอย่างน้ำ	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปรอท (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ
	แรกเริ่ม	ที่เติมลงไป	ที่ตรวจพบ**	
น้ำดื่ม	n.d.*	0.5	0.4 ± 0.01	103.3
น้ำดื่ม	n.d.*	0.5	0.3 ± 0.02	98.1
น้ำดื่ม	n.d.*	0.5	0.2 ± 0.01	103.7
น้ำประปา	n.d.*	0.5	0.3 ± 0.02	105.4
น้ำประปา	n.d.*	1.0	1.2 ± 0.06	100.8
น้ำประปา	n.d.*	1.0	1.1 ± 0.05	101.5
น้ำจากลำคลอง	n.d.*	1.0	1.0 ± 0.04	97.2
น้ำจากลำคลอง	n.d.*	1.0	1.0 ± 0.02	97.7

*n.d. คือ non detectable

** mean ± SD (n = 3)

จากผลการทดลองพบว่า จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ปริมาณปรอทมีร้อยละค่าคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 97.2 - 105.4 นั่นคือ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ ไม่ถูกรบกวนจากองค์ประกอบภายในตัวอย่าง จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำสูง

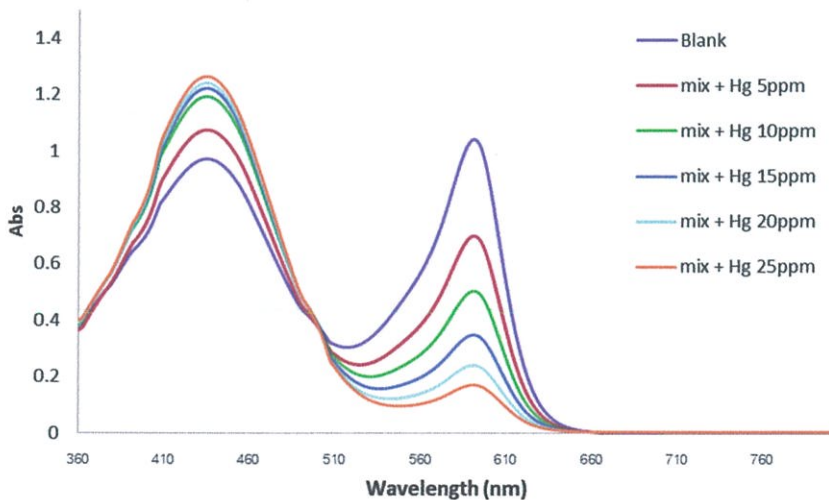
4.12 การศึกษาความเข้มข้นและตัวทำลายที่เหมาะสมของไฮโดรเจล (PVP) และ F1 เพื่อนำมาเคลือบบนกระดาษทดสอบ (เพื่อออกแบบและพัฒนาชุดทดสอบภาคสนาม)

ตารางที่ 4.2 แสดงสีของ 100 mg/L F1 in MeOH + Hg

Tester	Number of test				
	1	2	3	4	5
Water					
5ppm of Mercury					
50ppm of Mercury					
100ppm of Mercury					
1000ppm of Mercury					

จากผลการทดลองพบว่าจากตารางที่ 4.2 ทุกความเข้มข้นของปรอท ไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีอย่างเห็นได้ชัดด้วยตาเปล่า

4.13 การศึกษาอินดิเคเตอร์ผสมระหว่างไดฟีนิลคาร์บาไซด์ (Diphenylcarbazide) กับโบรโมฟีนอลบลู (Bromophenol blue) ที่เหมาะสม สำหรับการนำไปใช้หาปรอท

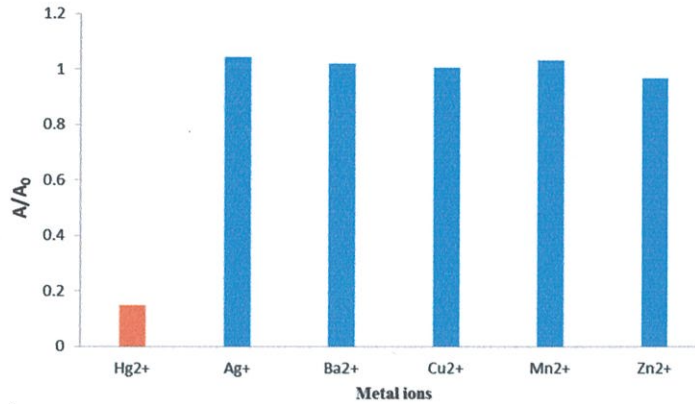


รูปที่ 4.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของอินดิเคเตอร์ผสม เมื่อเติมปรอทใน HNO₃ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากรูปที่ 4.9 สเปกตรัมของอินดิเคเตอร์ผสม จะเห็นว่า มีพีคการดูดกลืน 2 พีค คือ ที่ λ_{\max} เท่ากับ 435nm เป็นพีคการดูดกลืนของ In⁻ และที่ λ_{\max} เท่ากับ 591nm เป็นพีคการดูดกลืนของ HIn และยังพบจุดตัดร่วม เรียกว่า Isosbestic point ที่ 502nm ซึ่งเป็นจุดที่ Bromophenol blue ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ดังนั้นจึงสามารถเลือกใช้ความยาวคลื่นที่จุดนี้สำหรับการวัดค่าการดูดกลืน โดยจะทำให้หมด

ปัญหาเรื่องการรบกวนจากการเปลี่ยนรูปร่าง หากต้องการเลือกใช้ที่มีความยาวคลื่นอื่น อาจต้องควบคุม pH ให้คงที่ โดยการใช้บัฟเฟอร์ เพื่อให้การเปลี่ยนรูปร่างและสีของสารละลายคงที่ตลอดเวลา

4.14 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดปริมาณปรอท



รูปที่ 4.11 แสดงการพลอตกราฟ A / A₀ ของปรอทและ Metal ions อื่นๆ

จากผลการทดลองพบว่า จากรูปที่ 4.11 แสดงให้เห็นว่า Hg²⁺ มีค่า A / A₀ ต่ำสุด เมื่อเทียบกับ Metal ions อื่นๆ ที่ให้ค่า A / A₀ อยู่ที่ประมาณ 1 แสดงว่าปรอท มีความจำเพาะเจาะจง มากกว่า Metal ions ตัวอื่นๆ

4.13 การศึกษาช่วงความเข้มข้นของปรอทที่สามารถวัดได้

ตารางที่ 4.8 การเคลือบอินดิเคเตอร์ผสมลงบนกระดาษด้วยไฮโดรเจล (PVP)

Tester	Number of test				
	1	2	3	4	5
Water	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
5ppm of Mercury	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
6ppm of Mercury	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
7ppm of Mercury	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
8ppm of Mercury	Greenish Blue	Greenish Blue	Greenish Blue	Greenish Blue	Greenish Blue
10 ppm of Mercury	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
25 ppm of Mercury	Greenish Blue	Greenish Blue	Greenish Blue	Greenish Blue	Greenish Blue
100ppm of Mercury	Light Green	Light Green	Light Green	Light Green	Light Green
1000ppm of Mercury	Dark Green	Dark Green	Dark Green	Dark Green	Dark Green

จากการทดลองพบว่า ในการใช้อินดิเคเตอร์ผสม เคลือบลงบนกระดาษ โดยใช้ไฮโดรเจล (PVP) และนำมาทดสอบกับน้ำ ปรอทที่ความเข้มข้น 5-7 mg/L ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเช่นกัน แต่เมื่อนำไปทดสอบด้วยปรอท ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 8 mg/L ขึ้นไป จะสังเกตเห็น สีที่เปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดด้วยตาเปล่า โดยจะเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินม่วงไปเป็นสีเหลือง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์และประยุกต์ใช้เซนเซอร์ทางเคมีเพื่อการวิเคราะห์ปรอท โดยได้ทำการศึกษาคุณลักษณะและความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัด แล้วจึงนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการตรวจวัดปริมาณปรอทในแหล่งน้ำ โดยพัฒนาวิธีการตรวจวัดออกเป็น 2 แบบ คือ 1) เครื่องมืออัตโนมัติ และ 2) ชุดทดสอบภาคสนาม

สำหรับเครื่องมืออัตโนมัติ ได้ทำการออกแบบและพัฒนาระบบซีเคอนเช็ลอินเจคชันอะนาไลซิส (SIA) พร้อมทั้งศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ทั้งทางด้านกายภาพ และทางเคมี พบว่าสามารถตรวจวัดปริมาณปรอทได้ในช่วงความเข้มข้น 0 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดน้ำตัวอย่าง พบว่าการตรวจวัดมีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 97.2 – 105.4

สำหรับชุดทดสอบภาคสนาม ได้ทำการผสม diphenylcarbazide และ bromophenol blue ในลักษณะของไฮโดรเจล และเคลือบลงบนกระดาษ เมื่อทำการตรวจวัดปริมาณปรอทโดยการสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงด้วยตาเปล่า (naked eye) พบว่าผลิตภัณฑ์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีน้ำเงินม่วงเป็นสีเหลือง และสามารถตรวจวัดปริมาณปรอทได้ในช่วง 10 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การประยุกต์ใช้เครื่องมืออัตโนมัติในการตรวจวัดปริมาณปรอทในแหล่งน้ำ ผู้วิจัยสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำดื่ม, น้ำประปา และน้ำจากลำคลองได้เป็นผลสำเร็จ อย่างไรก็ตามสำหรับตัวอย่างน้ำประเภทอื่นๆ ควรมีการเตรียมตัวอย่างเพื่อกำจัดตัวรบกวนก่อนการวิเคราะห์ต่อไป

5.2.2 การประยุกต์ใช้ชุดทดสอบภาคสนามในการตรวจวัดปริมาณปรอทในแหล่งน้ำ ในขั้นตอนการทดลอง จำเป็นต้องควบคุม pH ที่ 3.4 เนื่องจากปฏิกิริยาจะเกิดได้ดีในช่วง pH นี้

5.2.3 ควรมีการพัฒนาให้สามารถตรวจวัดปรอทในช่วงความเข้มข้นต่ำๆ ได้ เพราะในความเป็นจริงปรอทที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมมีความเข้มข้นที่ค่อนข้างต่ำ

เอกสารอ้างอิง

- [1] สศอ. ปรับการขยายตัวของอุตสาหกรรมปีนี้เพิ่ม 5.5%
(<http://www.oie.go.th/sites/default/files/.../news.../news-oiepr-8-2555.doc>)
- [2] สลดโรงงานบีเอสที่มามาตาพุดระเบิด
(<http://www.bangkokbiznews.com/home/detail/business/business.html>)
- [3] ด่วน! โรงกลั่นน้ำมันบางจาก ระเบิดที่สุภูมิวิท 64 ไฟลุก ควันพวยพุ่ง
(<http://news.mthai.com/headline-news/174678.html>)
- [4] ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ลงวันที่ 3 มกราคม 2539 ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 113 ตอนที่ 13 ง ลงวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2539
- [5] ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2537) เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 111 ตอนที่ 16 ง ลงวันที่ 24 กุมภาพันธ์ 2537
- [6] หนังสือความรู้สิ่งเป็นพิษ ตอนที่ 14 พ.ศ. 2543 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข หน้า 9-13
- [7] US EPA, Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes, EPA-600/4-79-020 (1979)
- [8] Principle - Sequential Injection Analysis
(<http://www.flowinjection.com/Principle%20%20Sequential%20Injection.html>)
- [9] Chen, Q. -Y., and Chen, C. -F. Tetrahedron Letters (2005) 46: 165-168
- [10] Kim, S. K., Kim, S. H., Kim, H. J., Lee, S. H., Lee, S. W., Ko, J., Bartsch, R. A., and Kim, J. S. Inorganic Chemistry (2005) 44: 7866-7875.
- [11] Benco, J. S., Nienaber, H. A., Dennen, K., and McGimpsey, W. G. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry (2005) 152: 33-40.
- [12] Youn, N. J., and Chang, S. -K. Tetrahedron Letters (2005) 46: 125-129.
- [13] Benco, J. S., Nienaber, H. A., and McGimpsey, W. G. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry (2004) 162: 289-296.
- [14] Kim, S. K., Lee, S. H., Lee, J. P., Bartsch, R. A., and Kim, J. S. Journal of American Chemical Society (2004) 126: 16499-16506.
- [15] Valeur, B. Molecular Fluorescence: Principles and Applications. 1st Edition, 2002 Weinheim Wiley-VCH. p. 287,300.
- [16] Z. Li, Q. Wei, R. Yuan, X. Zhou, H. Liu, H. Shan, Q. Song, Talanta (2007) 71 68-72.

- [17] X. Yin, J. Chromatogr. A. (2007) 1154 437-443.
- [18] Pourrez N., Ghanemi K., Journal of Hazardous Materials, (2008) 33; 456-461
- [19] Rajesh N., Gurulakshmanan G., Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc., (2007) doi: 10.1016/j.saa.2007.04.011.
- [20] Soliman E.M., Saleh M.B., Ahmed S.A., Talanta 69 (2006) 55-60.
- [21] Liu. Y, Chang X., Yang D., Guo Y., Meng S., Anal. Chim. Acta. 538 (2005) 85-91.
- [22] Hafez M.A.H., Kenawy I.M.M., Akl M.A., Lashein R.R., Talanta 53 (2001) 749-760.
- [23] Mondal B.C., Das A.K., Anal. Chim. Acta 477 (2003) 73-80.
- [24] Soliman E.M., Saleh M.B., Ahmed S.A., Anal. Chim. Acta 523 (2004) 133-140.
- [25] Fan J., Wu C., Wei Y., Peng C., Peng P., J. Hazard. Mat. 145 (2007) 323-330.
- [26] Fan Z., Talanta 70 (2006) 1164-1169.
- [27] Yanga F., Liu R., Tan Z., Wen X., Zheng C., Ly Yi, Journal of Hazardous Materials 124 (2010) 456-463
- [28] Principle - Flow Injection Analysis
(<http://www.flowinjection.com/Principle%20%20Sequential%20Injection.html>)
- [29] Cañada Rudner P., Garcia de Torres A., Cano Pavón J.M., Sanchez Rojas F., Talanta 46 (1998) 1095-1105.
- [30] Jiang H., Hu B., Jiang Z., Qin Y., Talanta 70 (2006) 7-13.
- [31] Bravo-Sánchez L.R., Vicente de la Riva B.S., Costa-Fernández J.M., Pereiro R., Sanz-Medel A., Talanta 55 (2001) 1071-1078.
- [32] Ferrúa N., Cerutti S., Salonia J.A., Olsina R.A., Martinez L.D., J. Hazard. Mat. 141 (2007) 693-699.
- [33] Pyhtilä H., Perämäki P., Piispanen J., Talanta (1999) 45 1125-1132.
- [34] Y.-B. Ruan, Maisonneuve S., Xie J. Dyes and Pigments (2011) 90: 239-244.
- [35] Y. Yang, X. Gou, Blecha J., Cao H., Tetrahedron Letters (2010) 51: 26 3422-3425
- [36] Huiling D., Hui X. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, (2011) 21 5141-5144
- [37] Kim Y. J., B. Grimm Jonathan, Daesung Lee, Tetrahedron Letters (2006) 47 7961-7964

ภาคผนวก ก.
การนำเสนอผลงานวิจัย

เข้าร่วมเสนอผลงานในการประชุม Pure and Applied Chemistry International Conference 2015
(PACCON2015) ดั่งเอกสารแนบ



รูปที่ ก.1 แสดงหน้าปก proceeding PACCON 2015

APPLICATION OF FLUORESCEIN 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)diazanyl)-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)diazanyl)-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.

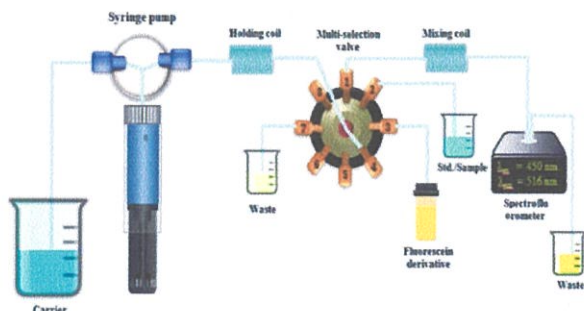


Fig. 1. SIA system used for determination of the Hg(II) ion. Holding coil ($1 \text{ m} \times 1.0 \text{ mm i.d.}$), Mixing coil ($100 \text{ cm} \times 1.0 \text{ mm i.d.}$)

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.

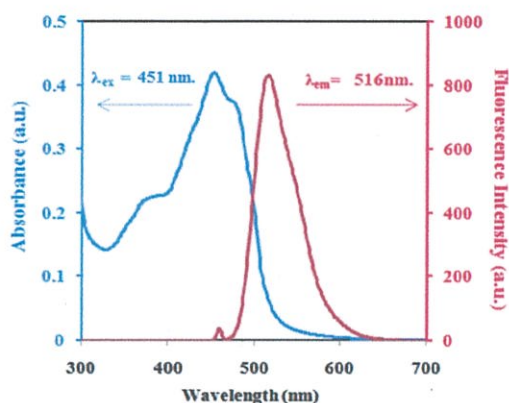


Fig. 2. Absorption and emission spectra of 0.3 mg L^{-1} of fluorescein derivative.

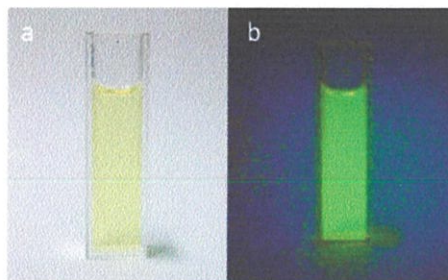


Fig. 3. Photographs of fluorescein derivative (in absence of Hg(II)) in pure methanol: (a) without and (b) with UV irradiation.

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.

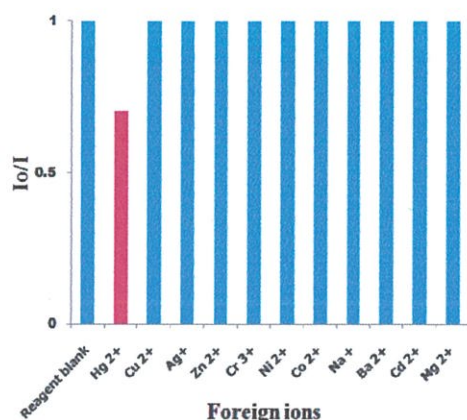


Fig. 4. Fluorescent intensity ratio (I_0/I) of 3.0 mg L^{-1} fluorescein derivative in the presence of various studied cations.

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).

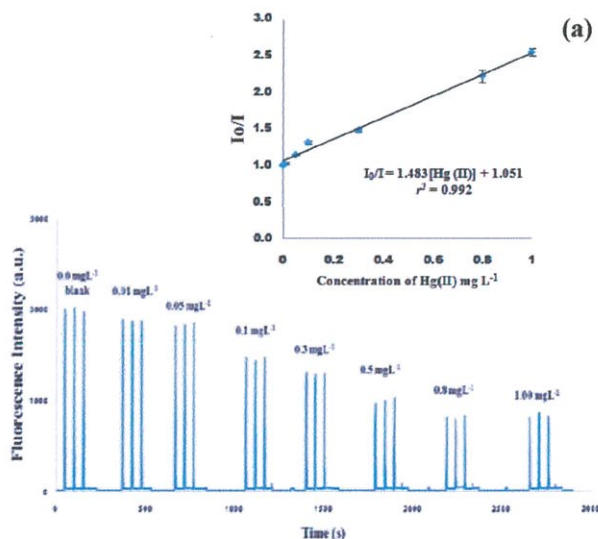


Fig. 5. (a) Example of calibration plot and (b) signal profiles of standard Hg (II) in the concentration range from 0.01 to 1.0 mg L^{-1} .

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)diazonyl)-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, *Coordin 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.