

ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจนในน้ำ

FACTORS AFFECTING DEGRADATION OF ESTROGENS
IN AQUEOUS SOLUTION

วีณา จิตรนิรัตน์
WEENA JITNIRAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจนในน้ำ

FACTORS AFFECTING DEGRADATION OF ESTROGENS
IN AQUEOUS SOLUTION



วีณา จิตรนิรัตน์

WEENA JITNIRAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2550

**FACTORS AFFECTING DEGRADATION OF ESTROGENS
IN AQUEOUS SOLUTION**

WEENA JITNIRAT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN ENVIRONMENTAL CHEMISTRY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2007

COPYRIGHT 2007

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจนในน้ำ
นักศึกษา	นางสาววีณา จิตรนิรัตน์
รหัสประจำตัว	47064004
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมีสิ่งแวดล้อม
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจนในน้ำโดยการสกัดเอสโตรเจนด้วย SPE cartridge และเทคนิคฟลูออโรเมทรี จากการศึกษาพบว่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงของเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออล คือ 275, 284 และ 277 นาโนเมตร ตามลำดับ และความยาวคลื่นที่เหมาะสมในคายแสงของเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออล คือ 303, 304 และ 306 นาโนเมตร ตามลำดับ ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์เอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี คือ เมทานอล ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ สำหรับเอสโตรน คือ 0.040 ± 0.007 มิลลิกรัมต่อลิตร เอสตราไดออล คือ 0.032 ± 0.006 มิลลิกรัมต่อลิตร และเอสโตรออลคือ 0.033 ± 0.006 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจากการวิเคราะห์ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์นี้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ผลการสกัดเอสโตรเจนด้วย SPE cartridge 2 ชนิด ได้แก่ Bond Elut C18 และ Oasis HLB พบว่า ประสิทธิภาพในการสกัดของ Bond Elut C18 และ Oasis HLB มีร้อยละปริมาณการกลับคืนของสารเอสโตรเจนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์และจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย t-test ไม่พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจนในน้ำ ได้แก่ ความเข้มของแสง ค่าพีเอช และอุณหภูมิ พบว่า ความเข้มแสงที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้เอสโตรเจนมีเปอร์เซ็นต์การสลายตัวเพิ่มมากขึ้น ค่าพีเอชของสารละลายเอสโตรเจนที่สูงขึ้นส่งผลให้เอสโตรเจนมีแนวโน้มการสลายตัวเพิ่มมากขึ้น และอุณหภูมิของสารละลายเอสโตรเจนที่สูงขึ้นส่งผลให้เอสโตรเจนมีเปอร์เซ็นต์การสลายตัวเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน จากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิส พบว่า ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

คำสำคัญ : ปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยแสง, เทคนิคฟลูออโรเมทรี, เอสตราไดออล, เอสโตรออล, เอสโตรน, เอสโตรเจน

Thesis Title	Factors Affecting Degradation of Estrogens in Aqueous Solution
Student	Miss Weena Jitnirat
Student ID.	47064004
Degree	Master of Science
Program	Environmental Chemistry
Year	2007
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr.Usarat Thawornchaisit

ABSTRACT

This research studied factors affecting degradation of estrogens in aqueous solution. In this study, estrogens were extracted by SPE cartridge and then analysed by spectrofluorometric technique. It was found that excitation wavelength of estrone, estradiol and estriol was 275, 284 and 277 nanometers, respectively and emission wavelength of estrone, estradiol and estriol was 303, 304 and 306 nanometers, respectively. Methanol was the optimum solvent in this experiment. Limit of detection for estrone was 0.040 ± 0.007 milligrams per liter, estradiol was 0.032 ± 0.006 milligrams per liter and estriol was 0.033 ± 0.006 milligrams per liter. Precision of analysis was within acceptable range. Two types of SPE cartridge, used for estrogen extraction were Bond Elut C18 and Oasis HLB. Estrogens recoveries extracted by both Bond Elut C18 and Oasis HLB were more than 95 percents. According to t-test analysis, there was no difference between these results at 95 percentages confidence ($P > 0.05$). Factors affecting for photolysis of estrogens such as intensity, pH and temperature were investigated. The results showed that the increase of light intensity, pH and temperature resulted in the increase of removal percentage of estrogens. The photolysis reactions of estrone, estradiol and estriol were all in accordance with first-order reaction.

Keywords : Estradiol, Estriol, Estrogens, Estrone, Photolysis, Spectrofluorometric technique

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่าน ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อุสารัตน์ ฉาวรชัยสิทธิ์ อาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษาอย่างใกล้ชิด และเสนอแนะแนวทางแก้ปัญหา รวมทั้งตรวจแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร.สุวรรณี จรรยาพูน และ ผศ.ดร.ชมพูนุท ไชยรักษ์ อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือคำแนะนำ และช่วยตรวจสอบเพิ่มความสมบูรณ์ให้กับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.เบญจมาศ ไพบุลย์กิจกุล อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีทางทะเล คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสารสนเทศจันทบุรี ที่ได้ให้คำแนะนำ และเสนอแนะแนวทางแก้ปัญหาของวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.จิตินัย แก้วแดง อาจารย์ประจำภาควิชาฟิสิกส์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ และขอขอบคุณนักศึกษาภาควิชาฟิสิกส์ประยุกต์ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการใช้เครื่องมือ

ขอขอบพระคุณ ดร.สามารถ กงทวีเลิศ อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์กล้องทึบแสงที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้มอบทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความร่วมมือ และอำนวยความสะดวก ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำ ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนในทุก ๆ เรื่อง ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี รวมทั้งเพื่อน ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจตลอดในการทำวิทยานิพนธ์ คุณค่าและประโยชน์อันพึงมาจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

นางสาววีณา จิตรนิรัตน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญรูป.....	XI
รายการคำย่อและสัญลักษณ์.....	XIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 เอสโตรเจน.....	5
2.1.1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรเจน.....	5
2.1.2 การเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของเอสโตรเจนและระดับปริมาณในสิ่งแวดล้อม.....	6
2.1.3 ผลกระทบต่อสัตว์น้ำ.....	10
2.2 ปฏิกริยาโฟโตไลซิส.....	11
2.2.1 หลักการของปฏิกริยาโฟโตไลซิส.....	11
2.2.2 ชนิดของโฟโตไลซิส.....	13
2.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกริยาการสลายตัวของเอสโตรเจน.....	13
2.3 การวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี.....	15
2.3.1 การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุล.....	15
2.3.2 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัม.....	15
2.3.3 สูตรโครงสร้างกับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์.....	16
2.3.4 ผลของพีเอชกับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์.....	17
2.3.5 ปัจจัยที่มีผลต่อความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์.....	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	23
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.....	23
3.1.1 อุปกรณ์.....	23
3.1.2 สารเคมี.....	23
3.2 การตรวจวิเคราะห์สารละลายเอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี.....	24
3.2.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสง...	24
3.2.2 การศึกษาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์.....	25
3.2.3 การเตรียมกราฟมาตรฐาน.....	25
3.2.4 การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้.....	26
3.2.5 การศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์.....	27
3.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเอสโตรเจนด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด....	28
3.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของเอสโตรเจนโดยตรงด้วยแสง.....	29
3.4.1 การศึกษาความเข้มของแสงที่มีผลต่อการสลายตัว.....	29
3.4.2 การศึกษาผลของค่าพีเอชต่อการสลายตัว.....	30
3.4.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัว.....	31
3.5 การศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจนด้วยแสง.....	32
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	34
4.1 การตรวจวิเคราะห์เอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี.....	34
4.1.1 ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสงสำหรับการวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี.....	34
4.1.2 ชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี....	38
4.1.3 ความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้.....	40
4.1.4 ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์.....	41
4.2 ผลของชนิดของ SPE Cartridge ต่อประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรเจนด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง.....	44

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน.....	46
4.3.1 ผลของความเข้มข้นของแสงที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจน..	46
4.3.2 ผลของค่าพีเอชที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจน.....	48
4.3.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจน.....	51
4.4 จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน.....	55
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	58
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	58
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	59
บรรณานุกรม.....	60
ภาคผนวก.....	65
ภาคผนวก ก. ตารางแสดงข้อมูลการศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและ การคายแสงของสารละลายเอสโตรเจน.....	66
ภาคผนวก ข. ตารางแสดงข้อมูลการทดสอบชนิดตัวทำลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วย เทคนิคฟลูออโรเมทรี.....	91
ภาคผนวก ค. ตารางแสดงข้อมูลการทดสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์.....	95
ภาคผนวก ง. ตารางแสดงข้อมูลการทดสอบประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรเจนด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด.....	102
ภาคผนวก จ. ตารางแสดงข้อมูลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของเอสโตรเจน.....	105
ภาคผนวก ฉ. ตารางแสดงข้อมูลการศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาการสลายตัวของ เอสโตรเจน.....	110
ภาคผนวก ช. ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติ.....	113
ประวัติผู้เขียน.....	118

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรเจน.....	5
2.2 ปริมาณการขับสารเอสโตรเจนออกจากร่างกายของมนุษย์.....	7
2.3 ความเข้มข้นของเอสโตรเจนในน้ำที่เข้าและออกจากระบบบำบัดน้ำเสียในประเทศ ต่าง ๆ.....	8
2.4 ความเข้มข้นของฮอร์โมนในน้ำผิวดิน.....	10
2.5 ผลของหมู่ที่แทนที่กับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์.....	17
4.1 ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสารละลายมาตรฐาน เอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออล.....	37
4.2 ค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน สารละลายแบลงค์ (เมทานอล) จากการวัดซ้ำ 20 ครั้ง.....	41
4.3 ความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้.....	41
4.4 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของ สารละลายเอสโตรเจน ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการวัดซ้ำ 20 ครั้ง.....	43
4.5 ค่า HORRAT เพื่อประเมินการยอมรับได้ของความเที่ยงตรง.....	44
4.6 ค่าคงที่ของอัตราเร็วของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารเอสโตรเจน.....	57
ก-1 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง(ชั่วคราว)ของสารละลาย เอสโตรน ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	67
ก-2 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง(ชั่วคราว)ของสารละลาย เอสตราไดออล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	69
ก-3 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง(ชั่วคราว)ของสารละลาย เอสโตรออล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	71
ก-4 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลาย เอสโตรน ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	73
ก-5 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลาย เอสตราไดออล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	75
ก-6 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลาย เอสโตรออล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	77
ก-7 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง) ของสารละลายเอสโตรน ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	79

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ก-8 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูคลื่นแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง) ของสารละลายเอสตราไดออล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	81
ก-9 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูคลื่นแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง) ของสารละลายเอสโตรอล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร.....	83
ก-10 ค่าความยาวคลื่นของสารเอสโตรนที่ได้เมื่อทำการตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูคลื่น แสงและการคายแสงของสารละลายผสมเอสโตรเจน.....	85
ก-11 ค่าความยาวคลื่นของสารเอสตราไดออลที่ได้เมื่อทำการตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูคลื่น แสงและการคายแสงของสารละลายผสมเอสโตรเจน.....	87
ก-12 ค่าความยาวคลื่นของสารเอสโตรอลที่ได้เมื่อทำการตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูคลื่น แสงและการคายแสงของสารละลายผสมเอสโตรเจน.....	89
ข-1 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสโตรนเมื่อใช้เอททิลอะซิเตทเป็น ตัวทำละลาย.....	92
ข-2 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสตราไดออลเมื่อใช้เอททิลอะซิเตทเป็น ตัวทำละลาย.....	92
ข-3 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสโตรอลเมื่อใช้เอททิลอะซิเตทเป็น ตัวทำละลาย.....	92
ข-4 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสโตรนเมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย.....	93
ข-5 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสตราไดออลเมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำ ละลาย.....	93
ข-6 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสโตรอลเมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย.....	93
ข-7 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสโตรนเมื่อใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย.....	94
ข-8 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสตราไดออลเมื่อใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย.....	94
ข-9 ผลของความเข้มของการเปล่งแสงของเอสโตรอลเมื่อใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย.....	94
ค-1 ผลของความเข้มขั้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ของสารละลายเอสโตรน.....	96
ค-2 ผลของความเข้มขั้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ของสารละลายเอสตราไดออล....	97
ค-3 ผลของความเข้มขั้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ของสารละลายเอสโตรอล.....	98
ค-4 ผลของความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรน ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	99

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ก-5 ผลของความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ของสารละลายมาตรฐานเอสตราไดออล ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	100
ก-6 ผลของความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ของสารละลายมาตรฐานเอสไทรออล ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	101
ง-1 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรนด้วย Bond Elut C18.....	103
ง-2 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสตราไดออลด้วย Bond Elut C18.....	103
ง-3 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสไทรออลด้วย Bond Elut C18.....	103
ง-4 ผลการกำหนดการวิเคราะห์หรือหาค่าปริมาณการกลับคืนของสารละลายเอสโตรน เอสตราไดออลและเอสไทรออล โดยใช้ SPE Cartridge ชนิด Bond Elut C18 ในการสกัด.....	103
ง-5 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรนด้วย Oasis HLB.....	104
ง-6 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสตราไดออลด้วย Oasis HLB.....	104
ง-7 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสไทรออลด้วย Oasis HLB.....	104
ง-8 ผลการกำหนดการวิเคราะห์หรือหาค่าปริมาณการกลับคืนของสารละลายเอสโตรน เอสตราไดออลและเอสไทรออล โดยใช้ SPE Cartridge ชนิด Oasis HLB ในการสกัด.....	104
จ-1 ผลของความเข้มของแสงจากหลอดยูวี (UV-light) ที่มีผลต่อการสลายตัวของสารละลาย เอสโตรเจน.....	106
จ-2 ผลของค่าพีเอชที่มีผลต่อการสลายตัวของสารละลายเอสโตรเจน.....	107
จ-3 ผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการสลายตัวของสารละลายเอสโตรเจน.....	108
ฉ-1 ความเข้มข้นที่เหลือหลังเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสโตรน.....	111
ฉ-2 ความเข้มข้นที่เหลือหลังเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสตราไดออล.....	111
ฉ-3 ความเข้มข้นที่เหลือหลังเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสไทรออล.....	112
ฉ-4 สัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เป็นฟังก์ชันกับเวลา.....	112
ช-1 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัด Bond Elut C18 และ Oasis HLB.....	114
ช-2 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการสลายตัวของเอสโตรน.....	114

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ช-3 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของความเข้มข้นต่อการสลายตัวของเอสตราไดออล.....	114
ช-4 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของความเข้มข้นต่อการสลายตัวของเอสไทรออล.....	115
ช-5 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของพีเอชต่อการสลายตัวของเอสโตรน.....	115
ช-6 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของพีเอชต่อการสลายตัวของเอสตราไดออล.....	115
ช-7 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของพีเอชต่อการสลายตัวของเอสไทรออล.....	116
ช-8 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของเอสโตรน.....	116
ช-9 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของเอสตราไดออล	116
ช-10 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของเอสตราไดออล	117

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของแถบพลังงานของโมเลกุล.....	12
2.2 การจัดเครื่องมือที่ใช้วัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์.....	20
3.1 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสง สำหรับการวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี.....	24
3.2 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ฟลูออโรเมทรี.....	25
3.3 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในระดัที่สามารถวิเคราะห์ได้.....	26
3.4 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์.....	27
3.5 อุปกรณ์สำหรับการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction).....	28
3.6 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเอสโตรเจนด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด.....	29
3.7 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาความเข้มของแสงที่มีผลต่อการสลายตัว.....	30
3.8 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาค่าพีเอชที่มีผลต่อการสลายตัว.....	31
3.9 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการสลายตัว.....	32
3.10 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษากิจกรรมของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน.....	33
4.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง (ชั่วคราว) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ได้จากการทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงค่าต่าง ๆ	34
4.2 สเปกตรัมการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่น	35
4.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน (ก) เอสโตรน (ข) เอสตราไดออล และ (ค) เอสโตรออล.....	36
4.4 สเปกตรัมการของสารละลายผสมเอสโตรเจนหลังทำการตั้งความยาวคลื่นในการดูดกลืน แสงและการคายแสง (ที่แท้จริง).....	37
4.5 ความเข้มของการเปล่งแสงของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน (ก) เอสโตรน (ข) เอสตราไดออล และ (ค) เอสโตรออล ที่ระดับความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทิลอะซิเตท เมทานอล และน้ำกลั่น.....	39

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.6 ความเข้มของการเปล่งแสงของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน (ก) เอสโตรน (ข) เอสตราไดออล และ (ค) เอสโตรอล ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการวัดซ้ำ 20 ครั้ง.....	42
4.7 เปรียบเทียบร้อยละปริมาณการกลับคืนของสารเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรอล เมื่อสกัดด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด.....	45
4.8 ความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรอล ภายหลังจากการให้แสงยูวีเป็นเวลา 500 นาที ที่ระดับความเข้มข้นของแสงต่างๆ กัน (ก) 60 ลักซ์ (ข) 90 ลักซ์ และ (ค) 120 ลักซ์.....	46
4.9 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของเอสโตรเจนที่ความเข้มแสงต่าง ๆ เป็นเวลา 500 นาที.....	47
4.10 ความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรอล ภายหลังจากการให้แสงยูวีเป็นเวลา 500 นาที เมื่อสารละลายมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่างๆ กัน (ก) pH 3 (ข) pH 7 และ (ค) pH 10.....	49
4.11 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของเอสโตรเจนที่ค่า pH ที่ต่างกัน เมื่อผ่านแสงยูวี 120 ลักซ์ เป็นเวลา 500 นาที.....	50
4.12 ความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรอล ภายหลังจากการให้แสงยูวีเป็นเวลา 500 นาที เมื่อควบคุมให้มีอุณหภูมิต่างๆ กัน (ก) 20 องศาเซลเซียส (ข) 30 องศาเซลเซียส (ค) 40 องศาเซลเซียส (ง) 50 องศาเซลเซียส และ (จ) 60 องศาเซลเซียส.....	52
4.13 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของเอสโตรเจนที่อุณหภูมิที่ต่างกัน เมื่อผ่านแสงยูวี 120 ลักซ์ เป็นเวลา 500 นาที.....	53
4.14 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของเอสโตรเจนที่อุณหภูมิที่ต่างกัน ในชุดควบคุมซึ่งไม่มีการให้แสงจากหลอดยูวี เป็นเวลา 500 นาที.....	54
4.15 ความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรเจน ภายหลังจากการให้แสงยูวี 120 ลักซ์ เป็นเวลา 0, 10, 30, 60, 120, 240, 360, 480 และ 500 นาที และทำการปรับ pH ของสารละลาย เอสโตรเจนให้เท่ากับ 10 และควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส.....	55
4.16 กราฟสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเอสโตรเจนที่เป็นฟังก์ชันกับเวลา (ก) เอสโตรน (ข) เอสตราไดออล และ (ค) เอสโตรอล.....	56

รายการคำย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ	ความหมาย
E1	เอสโตรน
E2	เอสตราไดออล
E3	เอสโตรอล
NA	ไม่มีการวิเคราะห์
LOD	ขีดจำกัดของการวิเคราะห์
pK_a	ค่าคงที่สมดุลการแตกตัวของกรด
pH	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
K_{ow}	ค่าคงที่การกระจายตัวระหว่างชั้นออกทานอลกับน้ำ
Ng/L	นาโนกรัมต่อลิตร
$\mu\text{g/L}$	ไมโครกรัมต่อลิตร
Eg	แถบช่องว่างพลังงาน
h^+_{vb}	สถานะขาดอิเล็กตรอนที่แถบวาเลนซ์
e^-_{cb}	สถานะอิเล็กตรอนเพิ่มมากขึ้นที่แถบการนำไฟฟ้า
OH \cdot	ไฮดรอกซิลเรดิคัล
O $_2^-$	ซูเปอร์ออกไซด์อ็อกซิเจนเรดิคัล
λ excitation	ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง
λ emission	ความยาวคลื่นในการคายแสง
S.D.	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
% RSD	ร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
mm Hg	มิลลิเมตรปรอท
% recovery	ร้อยละการกลับคืนของสาร
mol/L	โมลต่อลิตร

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เอสโตรเจน (estrogens) เป็นชื่อเรียกกลุ่มของสารเคมีจำพวกฮอร์โมนเพศหญิงโดยรวม ฮอร์โมนในกลุ่มนี้ที่พบในธรรมชาติและมีบทบาทสำคัญในสิ่งแวดล้อมมีอยู่สามชนิดได้แก่ เอสโตรน (Estrone, E1), เอสตราไดโอด (Estradiol, E2) และเอสโตรไดอล (Estril, E3) เอสโตรเจนจัดเป็นมลพิษทางน้ำกลุ่มหนึ่งที่มีความสนใจในช่วงหลายปีที่ผ่านมา เนื่องจากสารกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มของสารเคมีที่รบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (Endocrine Disrupting Compounds, EDCs) โดยมีการรายงานว่าการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในแหล่งน้ำเป็นสาเหตุที่ทำให้ลักษณะทางเพศของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำเปลี่ยนแปลงไป เช่น ทำให้ปลาเพศผู้มีลักษณะความเป็นเพศเมียมากขึ้น (Routledge *et al.*, 1998; Belfroid *et al.*, 1999)

คณะวิจัยหลายคณะได้รายงานระดับการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติ และน้ำทิ้งจากบ้านเรือนและชุมชน Maelle *et al.* (2004) ตรวจพบการปนเปื้อนของสารเอสโตรเจนในแม่น้ำ Seine ของเมืองปารีส ประเทศฝรั่งเศส โดยพบการปนเปื้อนของ E1, E2 และ E3 ในระดับปริมาณตั้งแต่ 2.7 ถึง 17.6 นาโนกรัมต่อลิตร Kolodziej *et al.* (2003) ตรวจพบ E1 และ E2 ในน้ำทิ้งที่ผ่านกระบวนการบำบัด โดยมีปริมาณสูงสุดที่วัดได้เท่ากับ 4 และ 12 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แหล่งที่มาสำคัญของเอสโตรเจนในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนและชุมชนได้มาจากการขับถ่ายของเอสโตรเจนจากร่างกายของสิ่งมีชีวิตทางปัสสาวะในรูปของสารประกอบพวกกลูคูโรไนด์และซัลเฟต (Adlercreutz *et al.*, 1986) อย่างไรก็ตาม เอสโตรเจนในรูปสารประกอบกลูคูโรไนด์และซัลเฟตมีความเสถียรต่ำ เมื่ออยู่ในน้ำเสียจะเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวกลับไปอยู่ในรูปเอสโตรเจนอิสระ (Belfroid *et al.*, 1999; Isobe *et al.*, 2003) ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติ อีกทั้งน้ำเสียจากบ้านเรือนและชุมชน เมื่อผ่านเข้าสู่กระบวนการบำบัดแล้วปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมก็ยังคงมีปริมาณของเอสโตรเจนหลงเหลืออยู่ เนื่องจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียในปัจจุบันไม่สามารถที่จะกำจัดเอสโตรเจนออกจากน้ำเสียได้ทั้งหมด โดยพบว่าระบบบำบัดน้ำเสียสามารถบำบัดเอสโตรเจนที่ปนเปื้อนในน้ำได้เพียงร้อยละ 80 (Johnson *et al.*, 2000; Komer *et al.*, 2000) ดังนั้น น้ำทิ้งที่ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียแล้วถูกปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติจึงเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่น่าไปสู่การปนเปื้อนของเอสโตรเจนในสิ่งแวดล้อม งานวิจัยที่ผ่านมาได้ตรวจพบความเข้มข้นของเอสโตรเจนในน้ำทิ้งที่ผ่านกระบวนการบำบัดน้ำเสียแล้วมีความเข้มข้นตั้งแต่ความ

เข้มข้นที่น้อยกว่าค่าที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ไปจนถึงความเข้มข้นที่มากกว่า 100 นาโนกรัมต่อลิตร (Desbrow *et al.*, 1998)

ถึงแม้ว่ารายงานการวิจัยหลายฉบับได้รายงานระดับการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Maelle *et al.*, 2004; Aldo *et al.*, 2004; Pawlowski *et al.*, 2003) แต่พบว่ามีการวิจัยเพียงส่วนน้อยที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการสลายตัวของเอสโตรเจนในแหล่งน้ำ (Coleman *et al.*, 2004; Franke and Franke, 1999; Segmuller *et al.*, 2000; Jurgens *et al.*, 2002) กระบวนการสลายตัวด้วยแสง (Photolysis) เป็นกระบวนการหนึ่งที่มีการรายงานว่าทำให้ระดับการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำลดลง Liu และ Liu (2003) ทำการศึกษาการสลายตัวด้วยแสงของ 17 β - เอสตราไดออล (E2) และ เอสโตรน (E1) ในสารละลาย โดยใช้แสง UV-light และ UV-Vis-light ในการศึกษา พบว่าความเข้มข้นของ E2 และ E1 ในสารละลายลดลงเมื่อสัมผัสแสง UV-light ขณะที่ภายใต้แสง UV-Vis-light ความเข้มข้น E1 ลดลงแต่ความเข้มข้นของ E2 ไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตาม ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจนในน้ำยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด นอกจากนี้ งานวิจัยที่ผ่านมาส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยที่ทำในต่างประเทศซึ่งเป็นประเทศที่มีภูมิอากาศเขตร้อน ซึ่งแตกต่างจากประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศที่มีภูมิอากาศเขตร้อน ดังนั้น อุณหภูมิก็เป็นปัจจัยที่น่าจะส่งผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจนด้วย งานวิจัยนี้จึงได้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของเอสโตรเจน โดยตรงด้วยแสง (Direct Photolysis) โดยปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ ความเข้มของแสง พีเอช และอุณหภูมิ ความเข้มข้นของเอสโตรเจนที่เปลี่ยนแปลงไปในสารละลายจะทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี นอกจากนี้ยังทำการศึกษาลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจนในสารละลาย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1.2.1 ศึกษาการตรวจวิเคราะห์เอสโตรเจนในน้ำด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction, SPE) ร่วมกับการวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี
- 1.2.2 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน
- 1.2.3 ศึกษาลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาการตรวจวิเคราะห์สารละลายเอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี ทำได้โดยนำสารละลายเอสโตรเจนที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนมาทำการหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมใน

การดูดกลืนแสงและการคายแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ จากนั้นทำการศึกษาชนิดตัวทำละลาย ซึ่งได้แก่ เอทิลอะซิเตท เมทานอล และน้ำกลั่น เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารละลายเอสโตรเจนด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ และทำการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection) ของสารละลายเอสโตรเจน และความเที่ยงตรง (Precision) ของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเชิงฟลูออโรเมทรี

1.3.2 ศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดสารละลายเอสโตรเจนด้วยเทคนิค SPE ทำได้โดยนำสารละลายเอสโตรเจนที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนมาทำการสกัดด้วย SPE Cartridge ที่มีวัสดุดูดซับต่างประเภทกัน 2 ชนิด ได้แก่ Bond Elut C18 และ Oasis HLB จากนั้นนำสารละลายเอสโตรเจนที่ผ่านการสกัดไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเชิงฟลูออโรเมทรี

1.3.3 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน ปัจจัยที่ทำการศึกษาได้แก่ ความเข้มของแสง พีเอชของสารละลาย และอุณหภูมิ โดยทำการทดลองแบบแบทช์ และแปรค่าปัจจัยที่ทำการศึกษา จากนั้นทำการวัดความเข้มข้นของสารละลายเอสโตรเจนที่เหลือ โดยสกัดด้วยเทคนิค SPE และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเชิงฟลูออโรเมทรี

1.3.4 ศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน ทำได้โดยแปรค่าความเข้มข้นของสารละลายเอสโตรเจน ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอสโตรเจนในช่วงเวลาต่าง ๆ คือ 0, 10, 30, 60, 120, 240, 360, 480 และ 500 นาที จากนั้นนำตัวอย่างทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอสโตรเจนที่เหลือโดยสกัดด้วยเทคนิค SPE และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเชิงฟลูออโรเมทรี

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงาน	เดือน												
	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	
ศึกษา/ทบทวนเอกสาร เตรียมอุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้	←→												
ทำการศึกษาทดลองเบื้องต้น			←→										
ศึกษาวิธีการสกัดและวิเคราะห์เอสโตรเจน					←→								
ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของเอสโตรเจน								←→					
ศึกษาจลนพลศาสตร์										←→			
วิเคราะห์ผล สรุปผล และจัดทำรายงาน											←→		

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบถึงวิธีการสกัดและวิเคราะห์เอสโตรเจนด้วยเทคนิค SPE ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยเชิงฟลูออโรเมตรี

1.5.2 ทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน

1.5.3 เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้กับระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อกำจัดหรือลดปริมาณของเอสโตรเจนก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม

1.5.4 เป็นแนวทางในการนำไปใช้ในการติดตามระดับการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำทิ้งจากบ้านเรือนและชุมชน

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

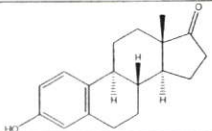
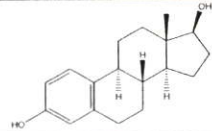
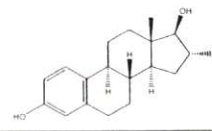
2.1 เอสโตรเจน (Estrogens)

2.1.1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรเจน

เอสโตรเจนเป็นชื่อเรียกตระกูลของฮอร์โมนเพศหญิงโดยรวม สารในกลุ่มนี้จัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เอสโตรเจนเป็นสารจำพวกสเตอรอยด์ที่สร้างขึ้นมาจากไขมันที่ชื่อว่าโคเลสเตอรอล โดยในร่างกายของผู้หญิงจะถูกสังเคราะห์ขึ้นที่รังไข่และต่อมหมวกไต ในขณะที่เอสโตรเจนถูกผลิตขึ้นในร่างกายของผู้ชายที่อัณฑะและต่อมหมวกไต ชนิดของเอสโตรเจนที่มีบทบาทในงานสิ่งแวดล้อมมีอยู่สามชนิดคือ เอสโตรน (Estrone, E1) เอสตราไดออล (Estradiol, E2) และเอสโตรออล (Estriol, E3)

สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรเจนโดยรวมนั้น สามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 2.1 ซึ่งพบว่า มีค่าการละลายน้ำอยู่ในช่วงประมาณ 3-450 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสารเอสโตรเจนที่มีค่าการละลายน้ำมากที่สุดคือเอสโตรออล (E3) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 441 มิลลิกรัมต่อลิตร (Ling *et al.*, 2006) เอสโตรเจนทั้งหมดจะมีค่าความดันไออยู่ในช่วงระหว่าง 1.4×10^{-7} ถึง 1.97×10^{-10} มิลลิเมตรปรอท และค่าคงที่สมดุลการแตกตัวของกรด (pK_a) มีค่าค่อนข้างสูง (ประมาณ 10-11)

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรเจน

คุณสมบัติ	เอสโตรน (Estrone : E1)	เอสตราไดออล (Estradiol : E2)	เอสโตรออล (Estriol : E3)
สูตร โครงสร้าง (chemical structure)			
สูตร โมเลกุล (Molecular formula)	$C_{18}H_{22}O_2$	$C_{18}H_{24}O_2$	$C_{18}H_{24}O_3$
น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)	270.4	272.4	288.4
จุดหลอมเหลว (°C) (Melting point)	251-254 ^a	176 ^a	126 ^a

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

คุณสมบัติ	เอสโตรน (Estrone : E1)	เอสตราไดออล (Estradiol : E2)	เอสโตรอล (Estriol : E3)
จุดเดือด (°C) (Boiling point)	154 ^a	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ
ค่าการละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	30 ^b (ที่ 25 องศาเซลเซียส)	3.6 ^b (ที่ 27 องศาเซลเซียส)	441 ^b (ที่ 25 องศาเซลเซียส)
ความดันไอ (มิลลิเมตรปรอท)	1.4×10^{-7} ^b	1.3×10^{-8} ^b	1.97×10^{-10} ^b
ค่าคงที่การกระจายตัว ระหว่างชั้นออกทานอล กับน้ำ (K_{ow})	2,700 ^c	8,600 ^c	650 ^c
ค่าคงที่สมดุลการแตก ตัวของกรด (pK_a)	10.40 ^d	10.23 ^e	10.05 ^e

ที่มา : ^a Lai *et al.* (2000), ^b Ling *et al.*(2006), ^c Danish EPA (2003), ^d Nghiem *et al.* (2002) และ
^e Hiroshi *et al.* (2003)

2.1.2 การเข้าสู่สิ่งแวดล้อมของเอสโตรเจนและระดับปริมาณในสิ่งแวดล้อม

เอสโตรเจนสามารถถูกขับออกจากร่างกายของสิ่งมีชีวิตโดยทางปัสสาวะในรูปของสารประกอบพวกกลูคูโรไนด์และซัลเฟตที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาและมีความเสถียรต่ำ เมื่อปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมจึงมักเปลี่ยนกลับไปอยู่ในรูปของเอสโตรเจนอิสระ ปริมาณเอสโตรเจนที่ขับออกจากร่างกายมีปริมาณตั้งแต่ 2 ถึง 250 ไมโครกรัมต่อวัน (William and Stancel, 1996) โดยปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเพศ (หญิงหรือชาย) ช่วงรอบเดือนและสภาวะตั้งครภ์ของเพศหญิง จากรายงานของ Danish Environmental Protection Agency (2003) พบว่า ปริมาณฮอร์โมนเอสโตรเจนจะถูกปล่อยโดยหญิงวัยเจริญพันธุ์ก่อนหมดประจำเดือน อยู่ในช่วง 10-100 ไมโครกรัมต่อวัน ซึ่งจำนวนของเอสโตรนจะสูงกว่าเอสตราไดออล และ เอสโตรอล ตามลำดับ สำหรับหญิงวัยหมดประจำเดือน พบปริมาณของเอสโตรเจนจะอยู่ระหว่าง 5-10 ไมโครกรัมต่อวัน ส่วนหญิงที่ตั้งครรภ์จะมีปริมาณของเอสโตรนสูงถึงประมาณ 30 มิลลิกรัมต่อวัน แต่ค่าเฉลี่ยโดยรวมทั้งหมดจะอยู่ที่ 250 ไมโครกรัมต่อวัน นอกจากมนุษย์แล้วสัตว์ต่าง ๆ เช่น วัว ควาย หมู ไก่ เป็นต้น ยังเป็นตัวการสำคัญของการปนเปื้อนของเอสโตรเจนสู่สิ่งแวดล้อม เอสโตรเจนสำคัญที่พบในสัตว์คือ เอสโตรน เอสตราไดออล และ 17 α - เอสตราไดออล ซึ่ง 17 α - เอสตราไดออล

ถ้าเปรียบเทียบกับมนุษย์แล้วในสัตว์จะสูงมากกว่าถึงร้อยละ 56 (Danish EPA, 2003) โดยปริมาณของเอสโตรเจนในสัตว์ขึ้นอยู่กับปริมาณของชนิดและสปีชีส์ของสัตว์นั้น ๆ ดังนั้นในสิ่งแวดล้อมจึงมีแหล่งที่มาสำคัญของเอสโตรเจนจากหลายแหล่ง ได้แก่

1. น้ำทิ้งจากบ้านเรือนและชุมชน

น้ำทิ้งที่มาจากบ้านเรือนและชุมชนเป็นแหล่งที่มาสำคัญของเอสโตรเจนที่พบในสิ่งแวดล้อม ระดับปริมาณของเอสโตรเจนที่ตรวจพบมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงระหว่างขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (Limit of Detection) ถึง 490 นาโนกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงพอที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำได้ (Belfroid *et al.*, 1999) ส่วนใหญ่แล้วเอสโตรเจนในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนและชุมชนเกิดจากการขับออกจากร่างกายของมนุษย์ ของเสียเหล่านี้ถูกปล่อยออกสู่ระบบท่อระบายน้ำโสโครกและสุดท้ายก็จะเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย โดยปกติแล้วร่างกายของผู้หญิงจะขับสารเอสตราไดโอดออกมาประมาณ 2-12 ไมโครกรัมต่อคนต่อวันและขับสารเอสโตรนออกมา 3-20 ไมโครกรัมต่อคนต่อวัน ส่วนสัตว์เพศเมียจะขับถ่ายเอสโตรนออกมาในปริมาณที่ใกล้เคียงกับสัตว์เพศผู้ คือ ประมาณ 5 ไมโครกรัมต่อคนต่อวัน (Gower, 1975)

Johnson *et al.* (2000) ประเมินระดับปริมาณการขับสารเอสโตรเจนออกจากร่างกายของมนุษย์เพศชายและเพศหญิง ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณการขับสารเอสโตรเจนออกจากร่างกายของมนุษย์ (หน่วย : ไมโครกรัมต่อวัน)
(Johnson *et al.*, 2000)

ประเภท	เอสโตรน (Estrone : E1)	เอสตราไดโอด (Estradiol : E2)	เอสโตรออล (Estriol : E3)
ผู้ชาย	3.9	1.6	1.5
ผู้หญิงที่มีประจำเดือน	8	3.5	4.8
ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน	4	2.3	1
ผู้หญิงตั้งครรภ์	600	259	600

นักวิจัยหลายกลุ่มได้รายงานถึงความเข้มข้นของเอสโตรเจนที่ตรวจพบในน้ำเข้าและน้ำออกจากระบบบำบัดน้ำเสียในประเทศต่าง ๆ Barronti *et al.* (2000) ได้ตรวจพบระดับการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำที่เข้าระบบบำบัดน้ำเสียของประเทศอิตาลี 6 แห่ง พบว่าความเข้มข้นของเอสโตรน เอสตราไดโอด และเอสโตรออล มีค่าประมาณ 52, 12 และ 80 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ Temes *et al.* (1999) ได้ตรวจพบระดับการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำทิ้งที่เข้าระบบสู่ระบบบำบัดน้ำเสียของประเทศบราซิล พบว่า ความเข้มข้นของเอสโตรนและเอสตราไดโอด

มีค่าประมาณ 40 และ 21 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ Johnson *et al.* (2000) ได้ตรวจพบปริมาณเอสโตรเจนในน้ำทิ้งที่เข้าสู่กระบวนการบำบัดน้ำเสีย 3 แห่ง ในประเทศเนเธอร์แลนด์ พบว่าความเข้มข้นของเอสโตรเจนมีค่าประมาณ 11-140 นาโนกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของเอสตราไดโอดมีค่าประมาณระดับที่ต่ำกว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (Limit of detection) จนถึง 48 นาโนกรัมต่อลิตร Nasu *et al.* (2000) ได้ตรวจพบปริมาณเอสโตรเจนในน้ำทิ้งก่อนเข้าระบบบำบัดน้ำเสียของประเทศญี่ปุ่น พบว่าความเข้มข้นของ เอสตราไดโอดในน้ำมีค่าประมาณ 30-90 นาโนกรัมต่อลิตรในฤดูใบไม้ร่วง และประมาณ 20-94 นาโนกรัมต่อลิตรในฤดูร้อน

ข้อมูลของปริมาณเอสโตรเจนในน้ำที่ออกจากระบบบำบัดน้ำเสียของประเทศต่าง ๆ มีความเข้มข้นดังแสดงในตารางที่ 2.3 จากตารางพบว่าความเข้มข้นของเอสตราไดโอดอยู่ในช่วงต่ำกว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์จนถึง 64 นาโนกรัมต่อลิตร เอสโตรเจนอยู่ในช่วงต่ำกว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์จนถึง 82 นาโนกรัมต่อลิตร และเอสโตรออลอยู่ในช่วงต่ำกว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์จนถึง 18 นาโนกรัมต่อลิตร และจะเห็นได้ว่า ปริมาณของเอสตราไดโอดของน้ำที่ผ่านออกจากระบบบำบัดในประเทศแคนาดา อังกฤษและญี่ปุ่น มีความเข้มข้นที่สูงกว่าในประเทศอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม จากรายงานการวิจัยนี้ ปริมาณของเอสโตรออลที่ถูพบ พบได้ในประเทศอิตาลีเพียงประเทศเดียวเท่านั้น

ตารางที่ 2.3 ความเข้มข้นของเอสโตรเจนในน้ำที่เข้าและออกจากระบบบำบัดน้ำเสียในประเทศต่าง ๆ

ประเทศ	ผู้ศึกษา	ปริมาณเอสโตรเจนในน้ำ เข้าระบบบำบัด (นาโนกรัมต่อลิตร)			ปริมาณเอสโตรเจนในน้ำออก จากระบบบำบัด (นาโนกรัมต่อลิตร)		
		E1	E2	E3	E1	E2	E3
อิตาลี	Baronti <i>et al.</i> (2000)	52	12	80	2.5-8.21	0.44-3.3	NA
ญี่ปุ่น	Nasu <i>et al.</i> (2000)	NA	30-90	NA	NA	3.2-55	NA
เนเธอร์แลนด์	Johnson <i>et al.</i> (2000)	11-140	< LOD- 48	NA	<0.4-47	<0.1-5.0	NA
บราซิล	Ternes <i>et al.</i> (1999)	40	21	NA	NA	NA	NA
อังกฤษ	Desbrow <i>et al.</i> (2000)	NA	NA	NA	1.4-76	2.7-48	NA
แคนาดา	Ternes <i>et al.</i> (1999)	NA	NA	NA	< LOD- 48	< LOD- 64	NA

NA = not analyzed

LOD = limit of detection

2. ของเสียจากสัตว์

แหล่งที่มาของเอสโตรเจนอาจเกิดจากสัตว์เลี้ยงหลายชนิด ได้แก่ แกะ วัว-ควาย หมู และ สัตว์ปีก (เปิด-ไก่-ห่าน) รวมทั้งสัตว์ชนิดอื่นๆ ด้วย เนื่องจากมีการใช้ยาจำพวกสเตอรอยด์ในสัตว์ โดยใช้เพื่อการคุมกำเนิด การป้องกันความผิดปกติในการสืบพันธุ์ และป้องกันการทำแท้ง (Refsdal, 2000)

งานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการตรวจพบปริมาณเอสโตรเจนในของเสียจากสัตว์ Shemesh และ Shore (1994) ได้ตรวจพบปริมาณเอสตราไดโอดในสัตว์ปีก พบว่าในปีสภาวะและอุจจาระของสัตว์ปีก ความเข้มข้นที่ตรวจพบมีค่าระหว่าง 14 - 553 นาโนกรัมต่อกรัม และ 44 นาโนกรัมต่อกรัม ตามลำดับ Erb *et al.* (1977) ได้ตรวจพบปริมาณเอสตราไดโอดในปีสภาวะของสัตว์ประเภทใน วัว-ควาย พบว่าความเข้มข้นโดยเฉลี่ยของเอสตราไดโอดอยู่ในช่วงประมาณ 13 นาโนกรัมต่อลิตร

3. น้ำผิวดิน

มีงานวิจัยหลายฉบับได้รายงานถึงการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำผิวดิน Tabata *et al.* (2001) ศึกษาระดับปริมาณเอสโตรเจนในช่วงฤดูร้อนและฤดูหนาวของแม่น้ำ 109 สายในประเทศ ญี่ปุ่น พบว่ามีการปนเปื้อนของเอสตราไดโอดใน 222 ตัวอย่างจาก 256 ตัวอย่างในช่วงฤดูร้อน โดย มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 2.1 นาโนกรัมต่อลิตร ในขณะที่น้ำตัวอย่างที่ทำการเก็บในช่วงฤดูใบไม้ร่วง ตรวจพบเอสตราไดโอดใน 189 ตัวอย่างจาก 261 ตัวอย่าง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.8 นาโนกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2.4 Belfroid *et al.* (1999) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์เอสโตรเจนในน้ำ ตัวอย่างที่เก็บรวบรวมจากบริเวณชายฝั่งทะเลและปากอ่าวของแหล่งน้ำในประเทศเนเธอร์แลนด์ จำนวน 11 แห่ง พบว่า เอสโตรเจนถูกพบใน น้ำตัวอย่างที่เก็บได้ 7 แห่ง โดยมีความเข้มข้นโดยเฉลี่ย 0.3 นาโนกรัมต่อลิตร ขณะที่เอสตราไดโอด ถูกพบในน้ำตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้เพียง 4 แห่งและ เอททินิลเอสตราไดโอด ถูกพบในน้ำตัวอย่าง 3 แห่งโดยความเข้มข้นที่พบมีค่าไม่เกิน 1 นาโนกรัมต่อลิตร Baronti *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษาปริมาณของเอสโตรเจนในแม่น้ำ Tiber ของประเทศ อิตาลี พบว่า มีความเข้มข้นของเอสโตรเจน เอสตราไดโอด และเอสโตรน ประมาณ 0.33, 0.11 และ 1.5 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการตรวจพบปริมาณเอสโตรเจนในประเทศเยอรมนี มี ลักษณะการตรวจพบที่คล้ายคลึงกันกับประเทศเนเธอร์แลนด์ (Belfroid *et al.*, 1999; Kuch และ Ballschmitter, 2001)

ตารางที่ 2.4 ความเข้มข้นของฮอร์โมนในน้ำผิวดิน

ประเทศ	ความเข้มข้น (นาโนกรัมต่อลิตร)			อ้างอิง
	เอสโตรเจน	เอสตราไดออล	เอสโตรรอล	
ญี่ปุ่น	NA	<LOD-27 (Summer) <LOD-24 (Autumn)	NA	Tabata <i>et al.</i> , 2001
เยอรมนี	0.1-4.1	0.15-3.6	NA	Kuch และ Ballschmitter , 2001
อิตาลี	1.5	0.11	0.33	Baronti <i>et al.</i> , 2000
เนเธอร์แลนด์	<0.1-3.4	<0.3-5.5	NA	Belfroid <i>et al.</i> , 1999

NA = not analyzed

4. น้ำใต้ดิน

การปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำใต้ดินอาจเกิดจากน้ำที่ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียแล้วถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ และมีการดูดซับเอสโตรเจนเข้าสู่ดินและซึมเข้าสู่ใต้ดิน อีกทั้งยังพบว่าการใช้ปุ๋ยธรรมชาติ (ปุ๋ยคอก) ในพื้นที่เกษตรกรรมเกิดการนำพาสารเอสโตรเจนไปสู่ผิวดินและน้ำใต้ดิน (Bushee *et al.*, 1998; Nichols *et al.*, 1997, 1998; Peterson *et al.*, 2001; Shore *et al.*, 1995a, 1995b) Nichols *et al.* (1997, 1998) ได้ทำการศึกษาการเคลื่อนที่ของสารเอสตราไดออลในพื้นที่การทำปุ๋ยคอก พบว่าเอสตราไดออลมีการเคลื่อนย้ายและถูกชะออกจากพื้นที่ในการทำปุ๋ยคอก Shore *et al.* (1995a, 1995b) ทำการศึกษาปริมาณของเอสตราไดออลในน้ำใต้ดินในช่วงฤดูใบไม้ผลิ พบว่าเอสตราไดออลมีความเข้มข้นคงที่อยู่ประมาณ 5 นาโนกรัมต่อลิตร โดยมีสาเหตุมาจากการซึมผ่านของเอสตราไดออลจากในดินไปสู่ใต้ดิน Peterson *et al.* (2001) ทำการวิเคราะห์ปริมาณเอสตราไดออลในน้ำใต้ดินบริเวณที่มีหินปูนปกคลุมในพื้นที่ทางตะวันตกเฉียงเหนือของรัฐอาร์คันซอ สหรัฐอเมริกา พบว่ามีความเข้มข้นของเอสตราไดออลอยู่ในช่วงระหว่าง 6 ถึง 66 นาโนกรัมต่อลิตร

2.1.3 ผลกระทบต่อสัตว์น้ำ

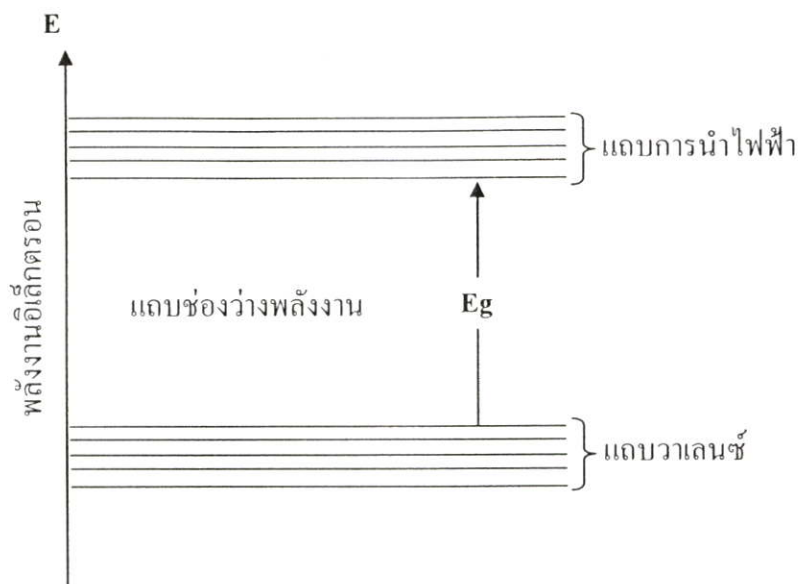
จากข้อมูลข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่าแหล่งที่มาที่สำคัญของเอสโตรเจนในสิ่งแวดล้อม คือ มนุษย์และสัตว์ ซึ่งสามารถขับถ่ายออกได้ทางปัสสาวะเป็นส่วนใหญ่ ทำให้น้ำทิ้งที่มาจากบ้านเรือนและชุมชนเป็นแหล่งที่มาสำคัญของเอสโตรเจนที่พบในสิ่งแวดล้อม ซึ่งเมื่อน้ำทิ้งเหล่านี้ผ่านเข้าสู่กระบวนการบำบัดน้ำเสียแล้วปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมก็ยังคงมีปริมาณของเอสโตรเจนหลงเหลืออยู่

เนื่องจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียในปัจจุบันไม่สามารถที่จะกำจัดเอสโตรเจนออกจากน้ำเสียได้ทั้งหมด) ทำให้มีการปนเปื้อนของเอสโตรเจนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งความเข้มข้นอยู่ในระดับที่สูงพอที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำได้ ทำให้พฤติกรรมทางเพศของสิ่งมีชีวิตเปลี่ยนแปลงไป เช่นทำให้ระดับปริมาณอสุจิในเพศชายลดลงและมีลักษณะความเป็นเพศหญิงในหมู่ประชากรของสัตว์มากขึ้น (Purdom *et al.*, 1994; Harries *et al.*, 1996; Harries *et al.*, 1999; Jobling *et al.*, 1998) ซึ่งรายงานการวิจัยของ Metcalfe *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาถึงผลกระทบของปริมาณของเอสโตรเจนต่อจำนวนเพศของปลา Japanese Medaka ซึ่งได้รับเอสโตรเจน ตั้งแต่ที่ยังเป็นไข่ปลาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นเวลา 100 วัน พบว่าปลามีลักษณะสองเพศเมื่อได้รับเอสโตรเจนที่ระดับความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อลิตร และเปลี่ยนเป็นเพศเมียทั้งหมดเมื่อความเข้มข้นของเอสโตรเจน เพิ่มขึ้นเป็น 1,000 นาโนกรัมต่อลิตร Routledge *et al.* (1998) ทำการศึกษาติดตามถึงผลกระทบของน้ำทิ้งจากโรงงานบำบัดน้ำเสียจากบ้านเรือนและชุมชนต่อปลาที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่ได้รับน้ำทิ้ง พบว่าจำนวนประชากรของปลาโดยส่วนใหญ่เป็นปลาเพศเมีย

2.2 ปฏิกริยาโฟโตไลซิส

2.2.1 หลักการของปฏิกริยาโฟโตไลซิส (Fundamental of Photolysis Reaction)

กระบวนการโฟโตไลซิส (Photolysis Process) เป็นกระบวนการสลายตัวของสารด้วยแสงเกิดขึ้นเมื่ออะตอมหรือโมเลกุลของสารถูกฉายด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet) หรือแสงในช่วงที่เห็นได้ด้วยตาเปล่า (Visible) ซึ่งเป็นแสงที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 200 นาโนเมตร ถึง 800 นาโนเมตร แล้วอะตอมหรือโมเลกุลดูดกลืนแสงเข้าไปเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของสาร เพื่อให้เข้าใจเกี่ยวกับการเกิดปฏิกิริยาในกระบวนการโฟโตไลซิสจึงจำเป็นต้องศึกษาและทำความเข้าใจเกี่ยวกับโครงสร้างของโมเลกุลของสาร โมเลกุลของสารจะมีแถบพลังงานอยู่สองแถบ คือ แถบวาเลนซ์ (Valence band) และแถบการนำไฟฟ้า (Conduction band) แถบพลังงานทั้งสองนี้จะถูกแยกจากกันโดยมีช่องว่างพลังงาน (Band gap) ซึ่งมีช่องว่างพลังงาน หรือแถบต้องห้าม (Eg) กั้นอยู่ ดังแสดงในรูปที่ 2.1



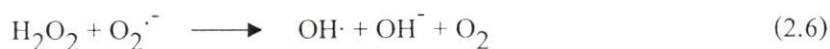
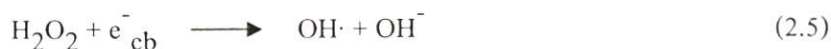
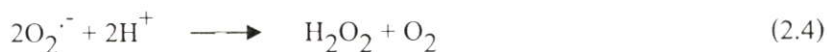
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของแถบพลังงานของโมเลกุล

กระบวนการโฟโตไลซิสในสารละลาย มีหลักการเกิดปฏิกิริยาดังนี้คือ เมื่อแสง (Photon) ซึ่งมีพลังงานเท่ากับหรือสูงกว่าแถบช่องว่างพลังงาน (E_g) อนุภาคของโมเลกุลของสาร ได้มาตกกระทบที่ผิวหน้าอนุภาคโมเลกุลของสาร ทำให้อิเล็กตรอนจำนวนหนึ่งถูกกระตุ้นและเปลี่ยนที่อยู่จากแถบวาเลนซ์ไปยังแถบการนำไฟฟ้า ส่งผลให้เกิดช่องว่าง (Hole) หรือสถานะขาดอิเล็กตรอนที่แถบวาเลนซ์ แสดงด้วยสัญลักษณ์ h^+_{vb} ซึ่งช่องว่างที่เกิดขึ้นในแถบวาเลนซ์ เป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดี (Strong oxidation) ในขณะที่แถบการนำไฟฟ้ามีอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นจากการกระตุ้นแทนด้วยสัญลักษณ์ e^-_{cb} ส่งผลให้แถบการนำไฟฟ้าในสภาวะนี้ ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนที่ดี ซึ่ง h^+_{vb} และ e^-_{cb} สามารถที่จะกลับมายู่ในสภาวะเดิมได้อีก เรียกว่า รีคอมไบเนชัน (Recombination) โดยการให้รับอิเล็กตรอนกับสารอื่น ๆ ที่อยู่ในสารละลาย หรืออาจจะเกิดการทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่อยู่ในสารละลายทำให้เกิดการสลายตัวของโมเลกุลสารอินทรีย์ได้เช่น ช่องว่างในแถบวาเลนซ์ (h^+_{vb}) ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนจาก OH^- และ H_2O ที่อยู่ในสารละลาย เกิดเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล (OH^\cdot) แสดงดังสมการ



ไฮดรอกซิลเรดิคัลซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่แรง (Strong oxidizing agent) มีความไวในการทำปฏิกิริยาสูง (Highly reactive) และทำหน้าที่สลายโมเลกุลสารอินทรีย์ที่อยู่ในสารละลาย หรืออิเล็กตรอนที่แถบการนำไฟฟ้า (e^-_{cb}) ทำปฏิกิริยากับก๊าซออกซิเจนในสารละลาย ทำให้โมเลกุลของ

ถ้าออกซิเจนเปลี่ยนไปอยู่ในรูปซูเปอร์ออกไซด์ไอออนเรดิคัล ($O_2^{\cdot-}$) ซึ่งสามารถที่จะทำปฏิกิริยาต่อไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และเกิดปฏิกิริยากับ e_{cb}^- ทำให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล ($OH\cdot$) ตามลำดับ แสดงดังสมการ



2.2.2 ชนิดของโฟโตไลซิส

โฟโตไลซิสเป็นปฏิกิริยาที่มีแสงเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งแสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน โดยเป็นแหล่งพลังงานกระตุ้นการถ่ายเทอิเล็กตรอน การเกิดปฏิกิริยา Photolysis มี 3 แบบ คือ

1. Direct Photolysis เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น โดยไม่ต้องมี Photosensitizers กล่าวคือ ปฏิกิริยาสามารถเกิดขึ้นได้เองโดยมีแสงเป็นตัวกระตุ้น ไม่จำเป็นต้องมีตัวกระตุ้นอื่น

2. Homogeneous Photolysis and Photocatalysis เป็นวิธีที่ใช้สารละลายเป็นตัวรับแสง สามารถใช้ร่วมกับการทำปฏิกิริยา Chemical Oxidation เป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ ทำให้ลดปริมาณการใช้สารเคมี

3. Heterogeneous Photocatalysis เป็นวิธีที่ใช้ของแข็งเป็นตัวรับแสง (Solid - photosensitizer) โดยแสงจะกระตุ้นให้อิเล็กตรอนใน Valence band ข้ามช่องว่างไปยัง Conductant band ของสารกึ่งนำไฟฟ้า (Semi-conductor) ทำให้เกิดช่องโปรตอนใน Valence band และเกิดช่องอิเล็กตรอนใน Conductant band ช่องโปรตอนและอิเล็กตรอนดังกล่าวจะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox Reaction) ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะถูกดูดซับที่สารกึ่งตัวนำและเมื่อต่อการเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ

2.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจน

1. ค่าพีเอช ประสิทธิภาพในกระบวนการโฟโตออกซิเดชันขึ้นอยู่กับค่าพีเอชในสารละลาย ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา เนื่องจากค่าพีเอชมีผลต่อความสามารถในการดูดกลืนแสงของสาร Liu และ Liu (2003) ทำการศึกษาผลของค่าพีเอชต่อการสลายตัวด้วยแสงของเอสตราไดออลและเอสโตรนในสารละลาย พบว่า การสลายตัวด้วยแสงของเอสตราไดออลและ

เอสโตรนมีผลคล้ายคลึงกัน คือสลายตัวได้ต่ำที่สุดที่พีเอชเท่ากับ 5 และพบว่าค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสเพิ่มขึ้นด้วย

2. ชนิดของแสง แสงที่มีช่วงความยาวคลื่นที่ต่างกัน จำนวนโฟตอนที่เกิดขึ้นย่อมมากน้อยไม่เท่ากัน อัตราการเกิดปฏิกิริยาย่อมแตกต่างกันด้วย Liu และ Liu (2003) ทำการศึกษาชนิดของแสงที่มีผลต่อการสลายตัวด้วยแสงของเอสตราไดโอดและเอสโตรนในสารละลาย พบว่าความเข้มข้นของเอสตราไดโอดและเอสโตรนในสารละลายลดลงเมื่อสัมผัสแสง UV-light ขณะที่ภายใต้แสง UV-Vis-light ความเข้มข้นเอสโตรนลดลงแต่ความเข้มข้นของเอสตราไดโอดไม่เปลี่ยนแปลง

3. ความเข้มของแสง การเพิ่มความเข้มแสงไปยังสารละลายจะเป็นการเพิ่มจำนวนโฟตอนให้มากขึ้นทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยามากขึ้นตามสัดส่วนของความเข้มแสง ความเข้มของแสงมีผลต่อปฏิกิริยา คือ ระดับความเข้มแสงที่ต่ำอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อความเข้มแสง ที่ระดับความเข้มแสงปานกลางอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะแปรผันตามรากที่สองของความเข้มแสง และที่ระดับความเข้มแสงสูงอัตราการเกิดปฏิกิริยาไม่ขึ้นกับความเข้มแสง และอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะมีค่าคงที่ เมื่อถึงจุดจำกัดของการเคลื่อนย้ายมวล

4. อุณหภูมิ การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ของสารละลายมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของสารละลาย ค่าสัมประสิทธิ์อุณหภูมิ (Temperature coefficient) ของการเกิดปฏิกิริยาโดยทั่วไปลดลงประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ต่อองศาของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

5. ปริมาณออกซิเจนละลาย อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของออกซิเจนละลายเพิ่มขึ้น ออกซิเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในปฏิกิริยาโฟโตไลซิส เพราะออกซิเจนจะทำปฏิกิริยากับอิเล็กตรอนที่แถบการนำไฟฟ้า (e_{cb}^-) ทำให้โมเลกุลของก๊าซออกซิเจนเปลี่ยนไปอยู่ในรูปซูเปอร์ออกไซด์อออนเรดิคัล (O_2^-) ซึ่งสามารถที่จะทำปฏิกิริยาต่อไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และเกิดปฏิกิริยากับ e_{cb}^- ทำให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล (OH^\cdot) ซึ่งจะสลายโมเลกุลสารอินทรีย์ที่อยู่ในสารละลาย

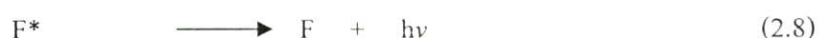
6. ปริมาณอิออนบวก-ลบ โดยปกติแล้วน้ำที่ชุมชนและน้ำเสียอุตสาหกรรมจะมีสารอนินทรีย์ทั้งประจุบวกและประจุลบ (Anion และ Cation) ประกอบอยู่ด้วยนอกเหนือจากสารอินทรีย์ เช่น แมงกานีส (Mg) สังกะสี (Zn) คลอไรด์ (Cl) เป็นต้น ซึ่งอิออนบางชนิดจะขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาและบางชนิดจะเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยา น้ำที่ถูกปนเปื้อนด้วยสารอินทรีย์ หากมีความเข้มข้นของโลหะในน้ำสูง อาจต้องทำการบำบัดขจัดเพื่อกำจัดโลหะบางส่วนออกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสลายตัวของสารอินทรีย์ในปฏิกิริยาโฟโตไลซิส

2.3 การวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี (ลาวัลย์, 2544)

การวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี (Fluorometric analysis) เป็นการวิเคราะห์ที่เกี่ยวเนื่องกับการวัดคุณสมบัติการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของสาร ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการลดพลังงานในรูปการเปล่งแสงหรือลูมิเนสเซนซ์ (Luminescence) ของโมเลกุลที่ถูกกระตุ้น โดยการดูดกลืนพลังงานแสง โดยใช้เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

2.3.1 การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุล

การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุล เป็นปรากฏการณ์ของโมเลกุลที่ถูกกระตุ้น (Excited molecules) เกิดการคายพลังงานออกมาในรูปแสงหรือโฟตอน (Photo emission) ซึ่งขั้นตอนการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ดังสมการ 2.7-2.8



เมื่อโมเลกุลของสารได้รับพลังงานแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและดูดกลืนพลังงานแล้ว โมเลกุลที่ถูกกระตุ้นจะกลับสู่สถานะพื้น โดยการลดพลังงานในกระบวนการที่เรียกว่า การลดการกระตุ้น (Deexcitation หรือ Deactivation process) โมเลกุลส่วนใหญ่สูญเสียพลังงานโดยการคายพลังงานในรูปความร้อนที่เกิดจากการชนกันของโมเลกุล บางโมเลกุลหลังจากสูญเสียพลังงานจากการชนกันแล้วอิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้น (Ground state) โดยการคายพลังงานในรูปแสงหรือเกิดโฟโตลูมิเนสเซนซ์ การกลับสู่สถานะพื้นของอิเล็กตรอนจากชั้นพลังงานของการสั่นต่ำสุดของชั้นพลังงานกระตุ้นสถานะเดี่ยว (Single excited state) แล้วคายพลังงานในรูปแสงนั้นเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า “ฟลูออเรสเซนซ์” โดยส่วนมากการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุลจะเกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นที่ยาวกว่า การดูดกลืนแสง (การเลื่อนความยาวคลื่นที่ยาวขึ้นนี้เรียกว่า “Stokes shift”)

2.3.2 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัม

ฟลูออเรสเซนซ์ของสเปกตรัม คือ การบันทึกค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence intensity : F) กับความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น (Excitation wavelength) หรือ ความยาวคลื่นที่คายพลังงานแสงออกมา (Emission wavelength) เรียกเส้นกราฟที่บันทึกนี้ว่า ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัม (Fluorescence spectrum) ซึ่งมี 2 รูปแบบคือ สเปกตรัมการกระตุ้น (Excitation spectrum) และสเปกตรัมการคายแสงหรือเปล่งแสง (Emission spectrum)

สเปกตรัมกระตุ้นเป็นการบันทึกค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น โดยให้ความยาวคลื่นที่คายพลังงานแสงคงที่ รูปร่างของสเปกตรัมโดยทั่วไปจะ

เหมือนกับสเปกตรัมการดูดกลืนแสง (Absorption spectrum) เพราะค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ไม่ขึ้นอยู่กับความยาวคลื่น ส่วนสเปกตรัมการคายแสงเป็นการบันทึกค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความยาวคลื่นที่คายพลังงานแสง โดยให้ความยาวคลื่นการกระตุ้นคงที่ เนื่องจากสเปกตรัมการคายแสงแสดงลักษณะของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ จึงเกิดที่ความยาวคลื่นที่ยาวกว่าสเปกตรัมการกระตุ้น รูปร่างของสเปกตรัมการคายแสงของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ส่วนมากจะเหมือนกับสเปกตรัมการกระตุ้น ซึ่งความสัมพันธ์แบบนี้เรียกว่า “ภาพเหมือนกระจกสะท้อน” (Mirror-image)

2.3.3 สูตรโครงสร้างกับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารมีผลต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งโดยหลักการ โมเลกุลใดที่ดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตจะเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ แต่พบว่ามีเพียงโมเลกุลของสารเพียงบางชนิดเท่านั้นที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ โดยทั่วไปสารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มักเป็นสารที่มีวงแหวนอะโรมาติก ซึ่งมีระดับพลังงานของการทรานซิชันชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ ที่ต่ำอยู่ในสูตรโครงสร้าง ส่วนสารที่มีหมู่คาร์บอนิลชนิด Aliphatic และ Alicyclic หรือมีพันธะคู่ที่คอนจูเกตกันมาก (Highly conjugated double-bond) ในสูตรโครงสร้างอาจเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ แต่พบน้อยกว่าสารเกิดกลุ่มอะโรมาติก เมื่อต่อวงแหวนเบนซีนด้วย Simple heterocyclic ring จะทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มมากขึ้น

โครงสร้างใดที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้จะเรียกว่า “ฟลูออโรฟออร์” (Fluorophors) ซึ่งโดยทั่วไปมักเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีการคอนจูเกตพันธะคู่ สารใดที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้เองจะเรียกว่า “ฟลูออโรฟออร์จากภายใน” (Intrinsic fluorophors) หากสารใดที่ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์แต่เมื่อทำปฏิกิริยาต่อสูตรโครงสร้างกับฟลูออโรฟออร์บางตัวแล้วเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้จะเรียกฟลูออโรฟออร์ประเภทนี้ว่า “ฟลูออโรฟออร์จากภายนอก” (Extrinsic fluorophors)

ความสัมพันธ์ของปรากฏการณ์การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบอินทรีย์กับสูตรโครงสร้างพบว่า

1. โมเลกุลที่มีโครงสร้างเรโซแนนซ์กับพันธะคู่แบบคอนจูเกตจะเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ยังมีจำนวนพันธะคู่แบบคอนจูเกตมากขึ้นเท่าไร ยิ่งมีความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์มากขึ้นเท่านั้น

2. โมเลกุลอาจเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ถ้าหมู่แทนที่เปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของอิเล็กตรอนในโครงสร้างเรโซแนนซ์กับพันธะคู่ที่คอนจูเกตได้ง่าย

การแทนที่วงแหวนเบนซีนมีผลต่อทั้งความยาวคลื่นของกระบวนการดูดกลืนแสง การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ด้วย เมื่อมีหมู่แทนที่ชนิดหมู่ให้

อิเล็กตรอน เช่น $-OH$, $-NH_2$ และ $-OCH_3$ จะเพิ่มการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ การแทนที่ด้วยฮาโลเจนจะยิ่งลดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เมื่อเพิ่มจำนวนอะตอมของฮาโลเจน การแทนที่ด้วยหมู่คาร์บอกซิลิกหรือคาร์บอนิลบนวงแหวนอะโรมาติก โดยทั่วไปจะยับยั้งการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งผลของหมู่แทนที่ต่อความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ แสดงในตารางที่ 2.5

2.3.4 ผลของพีเอชกับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมู่แทนที่ชนิดกรดหรือด่างจะขึ้นอยู่กับผลของพีเอชของสารละลาย สารตัวเดียวกันในรูปที่แตกตัวและไม่แตกตัวเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นและความเข้มที่ต่างกัน พีเอชมีผลต่อทั้งความเข้มและความยาวคลื่นของการเกิด ฟลูออเรสเซนซ์

ตารางที่ 2.5 ผลของหมู่ที่แทนที่กับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

หมู่แทนที่	ผลต่อความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์
$-OH$, $-OCH_3$, $-OC_2H_5$	เพิ่มขึ้น
$-COOH$, CH_2-COOH	เพิ่มขึ้น
$-N(CH_3)_3^+$, $-NHCOCH$	ลดลงอย่างมาก
$-SH$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$	ลดลง
$-NH_2$, $-NHR$, $-NR$	เพิ่มขึ้น
$-NO_2$, $-NO$	ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์หรือหายไปอย่างสมบูรณ์
$-CN$	เพิ่มขึ้น
$-SO_3H$	ไม่เปลี่ยนแปลง
$-CO$, $-CHO$	ลดลง
Alkyl	เพิ่มขึ้นหรือลดลงเล็กน้อย

2.3.5 ปัจจัยที่มีผลต่อความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

1. **ความเข้มข้น** ค่าความเข้มข้นของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จะเป็นสัดส่วน โดยตรงต่อความเข้มขึ้นเมื่อค่าแอบซอร์เบ้นซ์ของสารละลายในเซลล์ขนาด 1 เซนติเมตรต่ำกว่า 0.02 ถ้าความเข้มขึ้นสูงกว่านี้จะทำให้เกิดทั้ง Self quenching และ Self absorption

2. **Quantum yield** เป็นอัตราส่วนของจำนวนโฟตอนที่คายออกมาต่อจำนวนโฟตอนที่ถูกลูกคลื่น จึงเป็นค่าที่แสดงว่าสารเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มากน้อยเพียงใด สารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มาก จะมีค่า Quantum yield ใกล้ 1 ตัวอย่างเช่น ฟลูออเรสเซนซ์ใน 0.1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 23 องศาเซลเซียส มีค่า Quantum yield เท่ากับ 0.85 และควินิน ใน 0.05 โมลาร์ กรดซัลฟูริก ที่ 23

องศาเซลเซียส มีค่า Quantum yield เท่ากับ 0.54 สารที่ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์มีค่า Quantum yield เท่ากับศูนย์

Quantum yield ที่มีค่ามากมักจะเกี่ยวข้องกับระบบ π, π^* ซึ่งเกิดจาก 2 สาเหตุ ประการแรก คือ ค่าโมลาร์แอบซอร์บิวิตี (Molar absorptivity) ของการทรานซิชันชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ จะมีค่าเป็นร้อยถึง พันเท่าของการทรานซิชันชนิด $n \rightarrow \pi^*$ ซึ่งแสดงถึงโอกาสของการเกิดกระบวนการกระตุ้นชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ นั้นมีมากกว่า ก็มีโอกาสเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มากกว่า

ประการที่สอง ระยะเวลาชีวิต (Life-time) ของการทรานซิชันชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ (10^{-7} ถึง 10^{-9} วินาที) สั้นกว่าเมื่อเทียบกับการทรานซิชันชนิด $n \rightarrow \pi^*$ (10^{-5} ถึง 10^{-7} วินาที) อัตราการเกิด ทรานซิชันชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ ซึ่งเร็วกว่าจะมีโอกาสจะเกิดการคายพลังงานแบบฟลูออเรสเซนซ์ได้ มากกว่าด้วย

3. ความเข้มของแสงที่ตกกระทบ การเพิ่มความเข้มของแสงไปยังสารตัวอย่างจะทำให้ค่า ความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของความเข้มแสง ความเข้มของแสง ขึ้นกับความเข้มของแสงที่เปล่งออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง และคุณสมบัติของโมโนโครมาเตอร์ใน การให้แสงผ่าน และแถบความกว้างของช่องแสงการกระตุ้นจะทำให้ความเข้มของแสง และความไวของวัดค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น แต่ก็ทำให้เกิดปัญหาการซ้อนทับกัน ของสเปกตรัมซึ่งทำให้ความจำเพาะเจาะจงลดลง การเลือกความกว้างของความเข้มของการเกิด ฟลูออเรสเซนซ์จึงต้องพิจารณาระหว่างความไว ความจำเพาะเจาะจง และความคงตัวต่อแสง ประกอบกัน

4. ระยะทางที่แสงผ่าน ระยะทางที่แสงผ่านนั้น บอกเพียงปริมาตรภายในของสารละลาย ตัวอย่างที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์และถูกตรวจวัด ระยะทางที่วัด โดยเครื่องวัดแสงจะขึ้นกับทั้งความ กว้างของช่องแสงการกระตุ้น (Excitation slitwidth) และความกว้างของช่องการคายแสง (Emission slitwidth) ดังนั้นการใช้ไมโครคิวเวต (Microcuvettes) ไม่ทำให้ค่าความเข้มของการเกิด ฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้มีค่าลดลง ในความเป็นจริงหากเกิด Inner-filter quenching และ self-absorption อย่างมีนัยสำคัญ การใช้ไมโครคิวเวตอาจลดการรบกวนผลเหล่านี้ และทำให้ค่า ความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้มีค่าเพิ่มขึ้น

5. ออกซิเจน การมีออกซิเจนอยู่ในสารละลายที่วัดอาจรบกวนได้โดย 2 ทาง คือ การเกิด ออกซิเดชันโดยตรงทำให้สารจากที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้เปลี่ยนไปเป็นสารที่ไม่ฟลูออเรสเซนซ์ หรือการเกิด Quenching โดยออกซิเจนทำให้เกิด Intersystem crossing มากขึ้น จึงทำให้โมเลกุลใน สถานะกระตุ้นเปลี่ยนไปที่สถานะสามมากขึ้นแล้วเกิดฟลูออเรสเซนซ์ลดลง

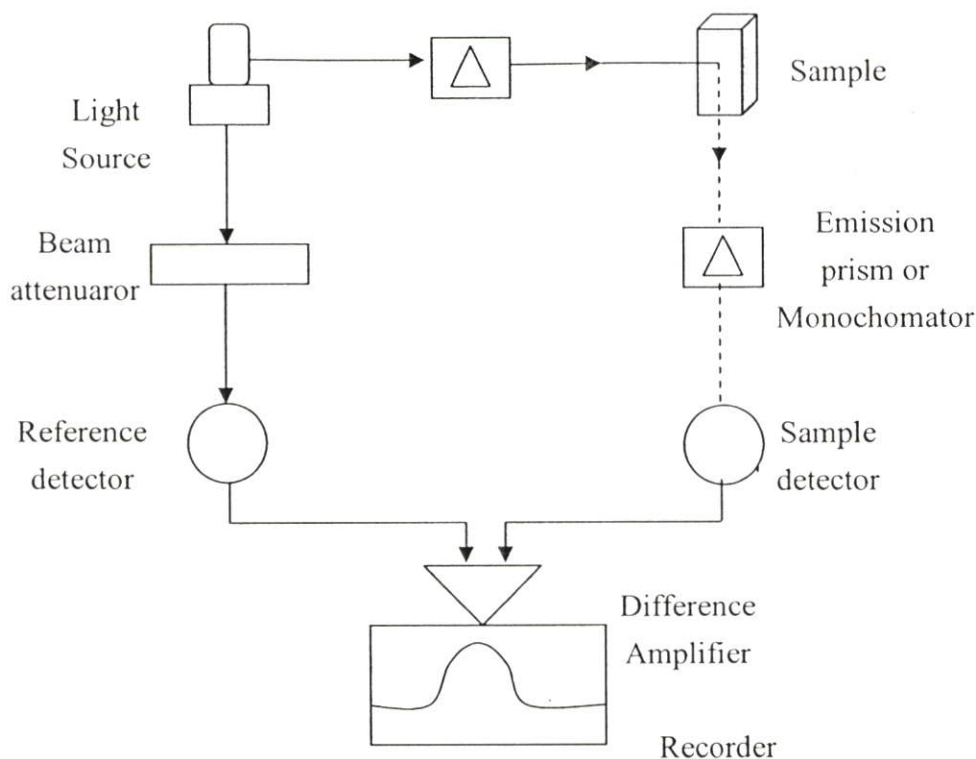
6. พิเอช การเปลี่ยนแปลงพีเอชของสารละลายจะมีผลต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์อย่างมาก ถ้าสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงพีเอช สารประกอบฟีนอล หลายตัวเป็นตัวอย่างของสารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ทั้งในรูปแตกตัวและในรูปที่ไม่แตกตัว แต่สาร

บางชนิดในรูปของไอออนที่แตกต่างกันบางรูปก็ไม่สามารถเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ตัวอย่างเช่น กรณีของอะนีนินที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ แต่ถ้าพีเอชเป็นกรดสารจะอยู่ในรูป Aninium ion จะไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์

7. **อุณหภูมิและความหนืด** การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความหนืด ทำให้ความถี่ของการชนกันระหว่างโมเลกุลเกิดการเปลี่ยนแปลงตามด้วยเช่นกัน การเพิ่มอุณหภูมิหรือความหนืดจะทำให้การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ลดลง เนื่องจากเกิดกระบวนการลดการกระตุ้นของโมเลกุลในสถานะกระตุ้น โดยเกิดการชนกันของโมเลกุลมากขึ้น ในทำนองเดียวกันสารหลายชนิดที่ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ ที่อุณหภูมิห้องสามารถทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้โดยการกระตุ้นที่อุณหภูมิต่ำลงหรือใช้ตัวทำละลายที่หนืดมากขึ้น ค่าสัมประสิทธิ์อุณหภูมิ (Temperature coefficient) ของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์โดยทั่วไปลดลงประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ต่อองศาของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

8. **Quenchers** คือสารตัวอื่นที่ลดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์โดยการชนของโมเลกุลของสาร ทำให้เกิดการสูญเสียพลังงานในรูปความร้อน โดยการดูดกลืนแสงจากการเกิดฟลูออเรสเซนซ์หรือเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในสถานะกระตุ้นของสาร โดยเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนทางเคมีกับสารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ทำให้คุณสมบัติในการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลงไป หรือโดยการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของสาร ธาตุกลุ่มทรานซิชัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งไอออนของโลหะที่มีสี เช่น Cr^{3+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} และ Cu^{2+} และไอออน เช่น Br^- , I^- และ NO_3^- เป็น Quenchers โดยทั่วไป

9. **เครื่องมือ** การจัดองค์ประกอบทั่วไปของเครื่องมือฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer) และสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) แสดงในรูปที่ 2.2 องค์ประกอบหลักนั้นคล้ายกับเครื่องมือที่ใช้ในอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แต่ความแตกต่างในการจัดวางส่วนประกอบทางเรขาคณิต คือการจัดทิศทางของแสงที่เข้าไปยังสารตัวอย่างกับแสงที่คายออกมาจัดให้ทำมุม 90 องศา เพื่อหลีกเลี่ยงการวัดแสงใดๆ ที่ผ่านออกมาพร้อมกับแสงจากการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ เครื่องมือทางฟลูออโรเมทรีเกือบทั้งหมดเป็นชนิดลำแสงคู่เพื่อทดแทนการแกว่งขึ้นลงของกำลังแสงจากแหล่งกำเนิด



รูปที่ 2.2 การจัดเครื่องมือที่ใช้วัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kolodziej และคณะ (2003) ศึกษาปริมาณของฮอร์โมนจำพวกสเตรอยด์ในน้ำทิ้งที่ผ่านกระบวนการบำบัดน้ำเสียแล้ว พบว่า ปริมาณสูงสุดของสารที่พบคือ เอสโตรน (E1) เท่ากับ 4 นาโนกรัมต่อลิตร และปริมาณสูงสุดของ 17 β -เอสตราไดออล (E2) เท่ากับ 12 นาโนกรัมต่อลิตร

Pawloski และคณะ (2004) ศึกษาปริมาณของสารเอสโตเจนของน้ำตัวอย่างจากน้ำที่ปล่อยออกจากโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน 2 แห่งในประเทศเยอรมัน โดยใช้เทคนิค SPE-GC-MS โดยใช้ Reverse phase C18 เป็นวัสดุดูดซับที่บรรจุอยู่ใน SPE Cartridge พบว่า Reverse phase C18 สามารถนำมาใช้ในการเตรียมตัวอย่าง ปริมาณน้ำทิ้งที่ผ่านกระบวนการบำบัดแล้วยังคงมีการปนเปื้อนของ 17 β -เอสตราไดออล (E2) โดยมีระดับปริมาณอยู่ในช่วงระหว่าง 27 ถึง 76 นาโนกรัมต่อลิตร

Hernando และคณะ (2004) ศึกษาสารเคมีที่รบกวนการทำงานของฮอร์โมน โดยใช้เทคนิค SPE-GC-MS เปรียบเทียบกับ GC-Tandem Mass Spectrometry หลังจากผ่านการ Derivatization โดยเลือกใช้ Oasis HLB เป็นวัสดุดูดซับที่บรรจุอยู่ใน SPE พบว่า ปริมาณของ Bisphenol A, 4-tert-octylphenol, เอสโตรน (E1) และ 17 β -เอสตราไดออล (E2) มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงระหว่าง 13.3 ถึง 1105.2 นาโนกรัมต่อลิตร ทั้งสองวิธีการ

Quintana และคณะ (2004) ศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดและการวิเคราะห์เอสโตรเจนในน้ำทิ้งจากชุมชนด้วยเทคนิค SPE-GC-MS โดยเลือกใช้ Oasis HLB เป็นวัสดุดูดซับที่บรรจุใน SPE cartridge พบว่า Oasis HLB สามารถนำมาใช้ในการเตรียมน้ำตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์เอสโตรเจนได้ โดยให้ % recovery มากกว่า 90% สำหรับ เอสโตรน (E1), 17 β -เอสตราไดออล (E2) และ เอสโตรอล (E3)

Liu และ Liu (2003) ศึกษาการสลายตัวด้วยแสงของ เอสตราไดออล (E2) และ เอสโตรน (E1) ในสารละลาย โดยชนิดของแสงที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ UV-light และ UV-Vis-light พบว่า ความเข้มข้นของเอสตราไดออลและเอสโตรนในสารละลายลดลงเมื่อสัมผัสแสง UV-light ขณะที่ภายใต้แสง UV-Vis-light ความเข้มข้นเอสโตรนลดลงแต่ความเข้มข้นของเอสตราไดออลไม่เปลี่ยนแปลง ปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสตราไดออล (E2) และเอสโตรน (E1) เกิดขึ้นในช่วงความเข้มข้น 3 - 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นไปตามหลักปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first-order) อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอสโตรเจนในสารละลายที่ศึกษาเกิดขึ้นต่ำที่สุดที่ pH 5 ซึ่ง pH ช่วงที่ศึกษาอยู่ในช่วง pH 2.0-8.0 และพบว่าค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสเพิ่มขึ้นด้วย

Zuo และคณะ (2005) ศึกษาปริมาณและการสลายตัวด้วยแสงของ 17 α -เอททีนิลเอสตราไดออล (EE2) ในบริเวณปากแม่น้ำ Acushnet พบว่า ปริมาณของ 17 α -เอททีนิลเอสตราไดออล (EE2) มีความเข้มข้นที่สูงกว่า 4.7 นาโนกรัมต่อลิตร ซึ่ง 17 α -เอททีนิลเอสตราไดออล (EE2) ส่งผลกระทบต่อกุ้งล็อบสเตอร์ และปลาชนิดอื่นๆ ในบริเวณชายฝั่งทะเล เกิดกิจกรรมทางชีวภาพที่สูงส่งผลให้มีลักษณะของเพสหญิงเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังพบเอสโตรน (E1) และ 17 β -เอสตราไดออล (E2) มีความเข้มข้นที่สูงกว่า 1.2 และ 0.83 นาโนกรัมต่อลิตรตามลำดับ แม้ว่า 17 α -เอททีนิลเอสตราไดออล (EE2) จะสลายตัวโดยจุลินทรีย์ แต่มันก็สามารถสลายตัวอย่างรวดเร็วภายใต้แสงจากธรรมชาติ และพบว่าค่าครึ่งชีวิตของ 17 α -เอททีนิลเอสตราไดออล (EE2) มีเวลาน้อยกว่า 15 วัน ในช่วงฤดูใบไม้ผลิ

Coleman และคณะ (2004) ศึกษาการสลายตัวอย่างรวดเร็วของเอสโตรเจนโดยปฏิกิริยาโฟโตไลซิส และปฏิกิริยาโฟโตแคตตาไลซิส โดยมีไททาเนียมออกไซด์เป็นตัวคะตะลิสต์ พบว่าปฏิกิริยาโฟโตไลซิส ส่งผลต่อการสลายตัวของ 17 α -เอททีนิลเอสตราไดออล (EE2) มากที่สุดด้วยใช้เวลาการสลายตัวเพียง 120 นาที ตามด้วยเอสโตรน (E1) 360 นาที และส่งผลต่อการสลายตัวของ 17 β -เอสตราไดออล (E2) น้อยที่สุด คือ 485 นาที ส่วนปฏิกิริยาโฟโตแคตตาไลซิสที่มีไททาเนียมออกไซด์เป็นตัวคะตะลิสต์ ศึกษาโดยให้ความเข้มข้นเริ่มต้น 10 ไมโครกรัมต่อลิตร หลังจากการศึกษาพบว่า 17 β -เอสตราไดออล (E2) และ 17 α -เอททีนิลเอสตราไดออล (EE2) ตรวจพบประมาณ 53 นาโนกรัมต่อลิตร ส่วนเอสโตรนตรวจพบ 100 นาโนกรัมต่อลิตร อีกทั้งยังพบว่ากระบวนการส่วนโฟโตแคตตาไลซิสที่มีไททาเนียมออกไซด์เป็นตัวคะตะลิสต์ ส่งผลต่อการ

สลายตัวของ 17 α -เอททินิลเอสตราไดออล (EE2) มากที่สุดโดยใช้เวลาการสลายตัวเพียง 50 นาที ตามด้วยเอสโตรน (E1) 60 นาที และส่งผลต่อการสลายตัวของ 17 β -เอสตราไดออล (E2) น้อยที่สุดคือ 55 นาที ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นไปตามหลักปฏิกิริยอันดับหนึ่งเทียม (pseudo-first-order)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

3.1.1.1 เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ รุ่น RF-5301 PC บริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น

3.1.1.2 เครื่องวัดค่าพีเอช รุ่น 215 บริษัท Denver Instrument Company ประเทศ

สหรัฐอเมริกา

3.1.1.3 ตู้อบให้ความร้อน รุ่น ISOTEMP บริษัท Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.4 เครื่องซั่งน้ำหนักแบบละเอียด รุ่น TC-254 บริษัท Denver Instrument Company

ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.5 อ่างควบคุมอุณหภูมิ รุ่น ISOTEMP 228 บริษัท Fisher Scientific ประเทศ

สหรัฐอเมริกา

3.1.1.6 เครื่องวัดแสง (Lux meter) รุ่น LX-50 บริษัท Digicon ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.7 ปีมสุญญากาศ

3.1.1.8 Vacuum manifold

3.1.1.9 SPE Cartridge ชนิด Bond Elute C18 บริษัท Varian ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.10 SPE Cartridge ชนิด Oasis HLB บริษัท Water Corporation ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.1.11 ไมโครปิเปต ขนาด 10-100 และ 100-1000 ไมโครลิตร รุ่น Nichiryo Le บริษัท

Nichiryo ประเทศญี่ปุ่น

3.1.1.12 หลอด UV-light ขนาด 20, 30 และ 40 วัตต์ บริษัท Narwar ประเทศญี่ปุ่น

3.1.1.13 เซลล์ควอดซ์ชนิดที่มีด้านใส 4 ด้าน

3.1.1.14 เครื่องแก้วต่างๆ

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 เอสโตรน ($C_{18}H_{22}O_2$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka Chemika

3.1.2.2 เอสตราไดออล ($C_{18}H_{24}O_2$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka Chemika

3.1.2.3 เอสโตรรอล ($C_{18}H_{24}O_3$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Fluka Chemika

3.1.2.4 เมทานอล (CH_4O) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Fisher Scientific

3.1.2.5 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba Co., Ltd

3.1.2.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba Co., Ltd

3.1.2.7 เอททิลอะซิเตท ($C_4H_8O_2$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba Reagent

3.1.2.8 น้ำปราศจากไอออน (De-ionized water)

3.2 การตรวจวิเคราะห์สารละลายเอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี

3.2.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสงสำหรับการวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี

3.2.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน (E1) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.2.1.2 นำสารที่เตรียมได้ใส่เซลล์ควอตซ์ชนิดที่มีด้านใสทั้ง 4 ด้านและนำไปวางในเซลล์ภายในเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

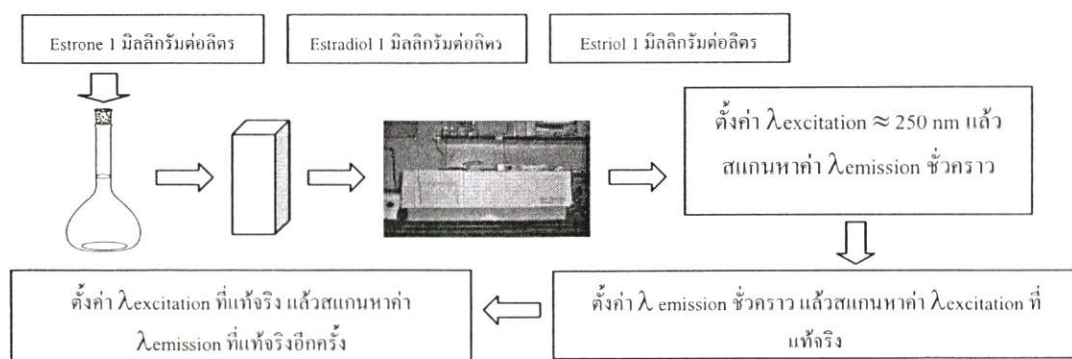
3.2.1.3 เปิดโปรแกรม Rfpc ในเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ต่อกับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

3.2.1.4 เริ่มต้นตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (λ excitation) ช่วงราวไว้ที่ 250 นาโนเมตร แล้วสแกนหาสเปกตรัมของการคายแสง จะทำให้ได้ความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ช่วงราวของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน

3.2.1.5 ตั้งค่าความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 4 แล้วสแกนหาสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน จะทำให้ได้ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (λ excitation) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน

3.2.1.6 ตั้งความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (λ excitation) ที่ได้จากข้อ 5 แล้วสแกนหาสเปกตรัมของการคายแสง จะทำให้ได้ความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ถูกต้องของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน

3.2.1.7 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 3.2.1.1 – 3.2.1.6 โดยเปลี่ยนสารละลายมาตรฐานเป็น เอสตราไดโอดและเอสโตรอด ตามลำดับ



รูปที่ 3.1 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสง สำหรับการวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี

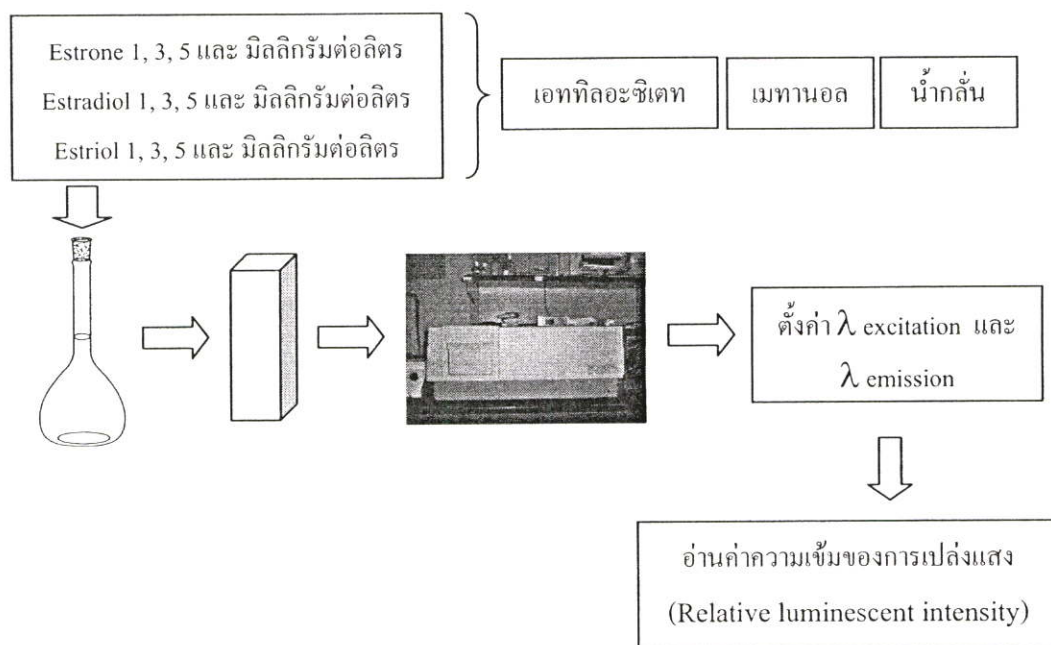
3.2.2 การศึกษาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี

3.2.2.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างเอสโตรน เอสตราไดโอดและเอสโตรอด ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 1, 3, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลาย

3.2.2.2 นำสารที่เตรียมได้ใส่เซลล์ควอตซ์ชนิดที่มีด้านสี่ทั้ง 4 ด้านและนำไปวางในเซลล์ภายในเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

3.2.2.3 ทำการตั้งความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (λ excitation) และ ความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 3.2.1 และทำการอ่านค่าความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ที่วัดได้จากเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

3.2.2.4 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 3.2.2.1 – 3.2.2.3 โดยเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเมทานอลและน้ำกลั่น



รูปที่ 3.2 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี

3.2.3 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

3.2.3.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างเอสโตรน เอสตราไดโอดและเอสโตรอด ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ตัวทำละลายที่ได้จากข้อ 3.2.2

3.2.3.2 นำสารที่เตรียมได้ใส่เซลล์ควอตซ์ชนิดที่มีด้านสี่ทั้ง 4 ด้านและนำไปวางในเซลล์ภายในเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

3.2.3.3 ทำการตั้งความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (λ excitation) และ ความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 3.2.1 และทำการอ่านค่าความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ที่วัดได้จากเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

3.2.4 ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection)

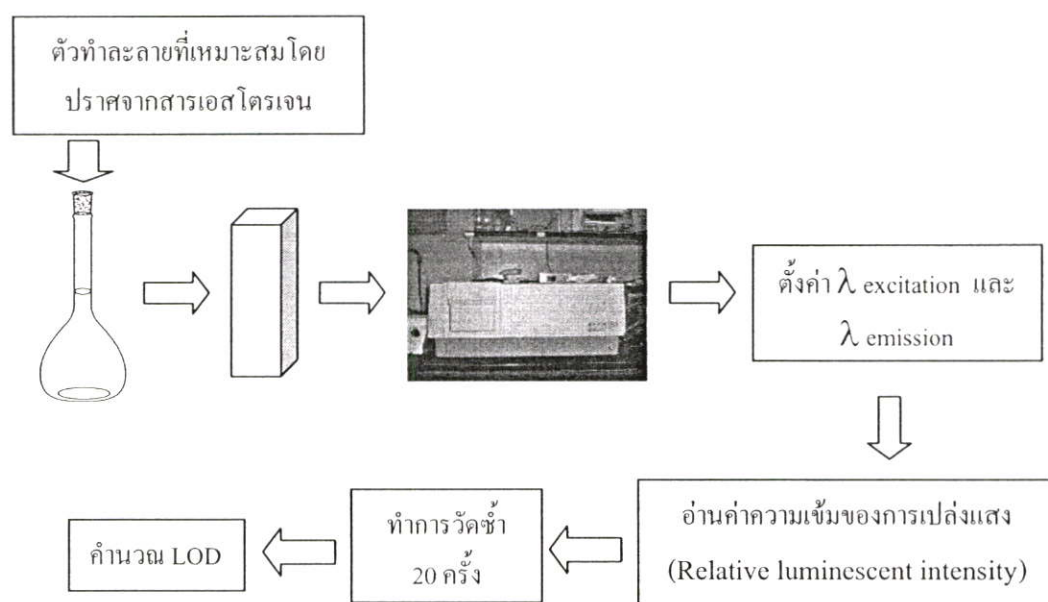
3.2.4.1 เตรียมตัวทำละลายที่ได้จากการทดลอง 3.2.2 โดยปราศจากสารเอสโตรเจน

3.2.4.2 นำสารที่เตรียมได้ใส่เซลล์ควอดซ์ชนิดที่มีด้านใสทั้ง 4 ด้านและนำไปวางในเซลล์ภายในเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

3.2.4.3 ทำการตั้งความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (λ excitation) และ ความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 3.2.1 และทำการอ่านค่าความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ที่วัดได้จากเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ทำการวัดซ้ำ 20 ครั้ง

3.2.4.4 นำค่าความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ที่ได้จากการวัดทั้ง 20 ค่า มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity)

3.2.4.5 นำค่าที่ได้ทั้งหมดมาหาขีดจำกัดในการตรวจวัด หรือความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้



รูปที่ 3.3 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาค้นคว้าความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้

3.2.5 การศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

3.2.5.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างเอสโตรเจน เอสตราไดโอดและเอสโตรอด ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ตัวทำละลายที่ได้จากข้อ 3.2.2

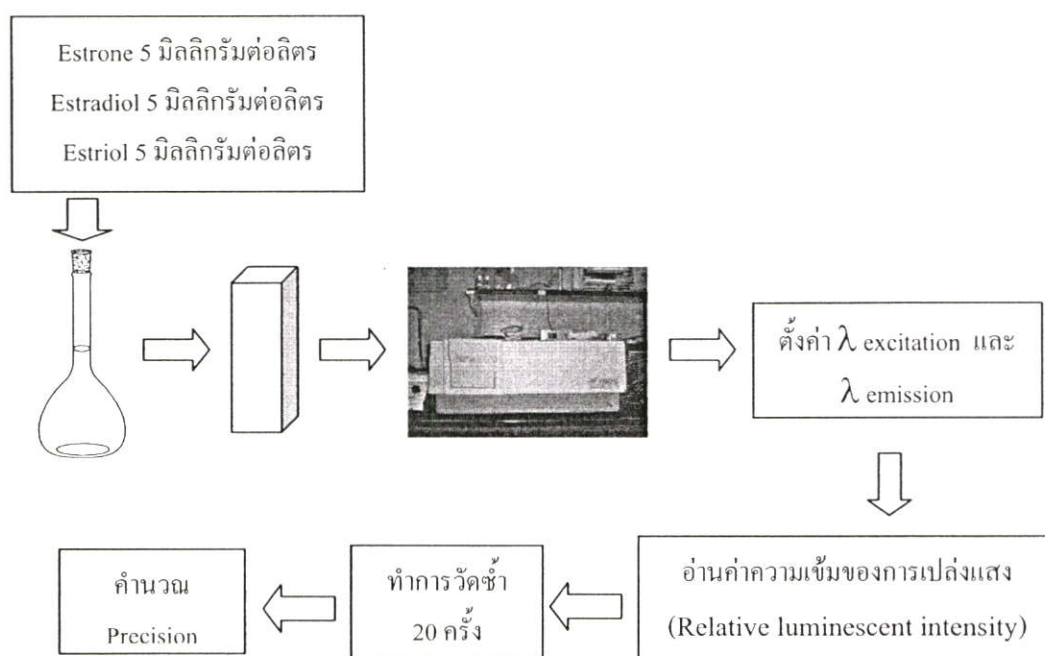
3.2.5.2 นำสารที่เตรียมได้ใส่เซลล์ควอตซ์ชนิดที่มีด้านใสทั้ง 4 ด้านและนำไปวางในเซลล์ภายในเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

3.2.5.3 ทำการตั้งความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (λ excitation) และ ความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 3.2.1 และทำการอ่านค่าความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ที่วัดได้จากเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ทำการวัดซ้ำ 20 ครั้ง

3.2.5.4 คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของความเข้มข้นของสารละลายผสมเอสโตรเจน

3.2.5.5 คำนวณหาร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของความเข้มข้นของสารละลายผสมเอสโตรเจน

3.2.5.6 นำค่าที่ได้ทั้งหมดมาทำการประเมินการยอมรับได้ของความเที่ยงตรง

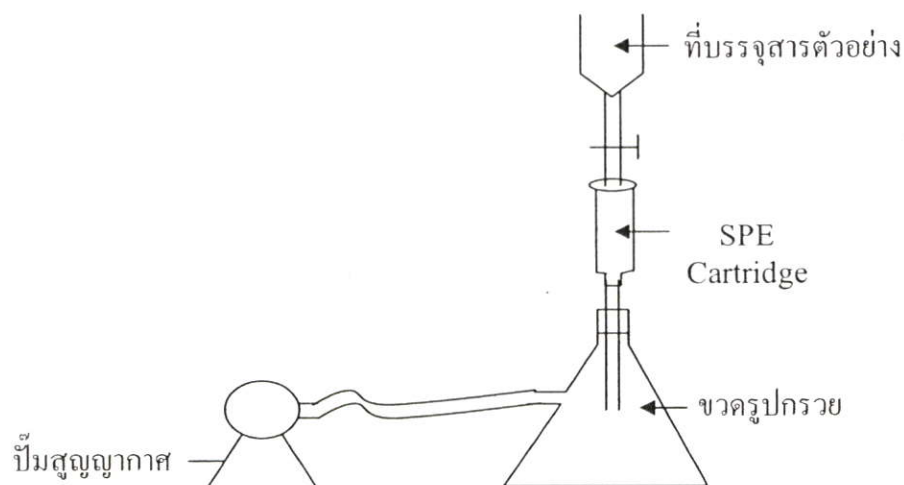


รูปที่ 3.4 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเอสโตรเจนด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด

3.3.1 ทำการต่อ SPE Cartridge ชนิด Bond Elut C18 เข้ากับอุปกรณ์การสกัดอื่น ๆ ดังรูปที่ 3.5

3.3.2 ทำการปรับสภาพ SPE Cartridge ที่ใช้ในการสกัดให้พร้อมรองรับตัวอย่าง โดยเติมเมทานอล 99.99 เปอร์เซ็นต์ และน้ำปราศจากไอออน ปริมาตรอย่างละ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับอัตราการไหลของสารด้วยแรงดันประมาณ 300-350 mm Hg



รูปที่ 3.5 อุปกรณ์สำหรับการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction)

3.3.3 เตรียมสารละลายผสมระหว่างเอสโตรเจน เอสตราไดโอดอล และเอสโตรไดโอดอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

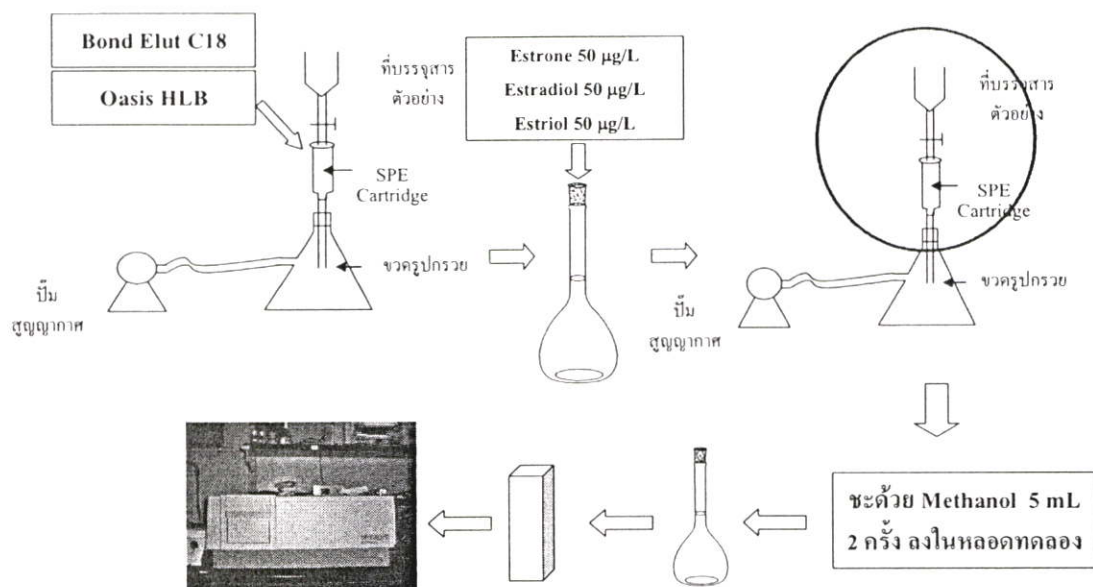
3.3.4 เติมสารละลายเอสโตรเจนที่เตรียมได้ในข้อ 3 ลงในคอลัมน์ Bond Elut C18 ปรับอัตราการไหลออกของสารด้วยแรงดันประมาณ 300-350 mm Hg

3.3.5 ทำการชะสารเอสโตรเจนที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากคอลัมน์ SPE Cartridge โดยการเติมเมทานอล 5 มิลลิลิตร ลงใน Bond Elut C18 ปรับอัตราการไหลออกของสารด้วยแรงดันประมาณ 300-350 mm Hg โดยใช้หลอดทดลองเป็นอุปกรณ์รองรับสารที่ผ่านการชะแล้ว ทำซ้ำอีกครั้ง

3.3.6 นำสารละลายเอสโตรเจนที่ได้จากข้อ 5 เติลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ถ้าปริมาตรไม่ถึง 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 99.99 เปอร์เซ็นต์

3.3.7 นำสารละลายเอสโตรเจนที่ได้จากข้อ 3.3.6 ไปทำการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอสโตรเจนที่ได้จากการสกัด และคำนวณหาประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction) จากร้อยละปริมาณการกลับคืนของสาร

3.3.8 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยในแต่ละครั้งจะทำชุดควบคุมโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลาย เอสโตรเจนควบคู่กันไปด้วย



รูปที่ 3.6 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเอสโตรเจนด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด

3.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของเอสโตรเจนโดยตรงด้วยแสง

3.4.1 การศึกษาความเข้มของแสงที่มีผลต่อการสลายตัว

3.4.1.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างเอสโตรน เอสตราไดโอดและเอสโตรออล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 2 บีกเกอร์

3.4.1.2 นำบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 1 ไปตั้งในชุดทดลองที่บแสงที่ต่อกับหลอด UV-light กำลังวัตต์ เท่ากับ 60 วัตต์

3.4.1.3 เปิดสวิตช์ไฟเพื่อให้แสงจากหลอด UV-light

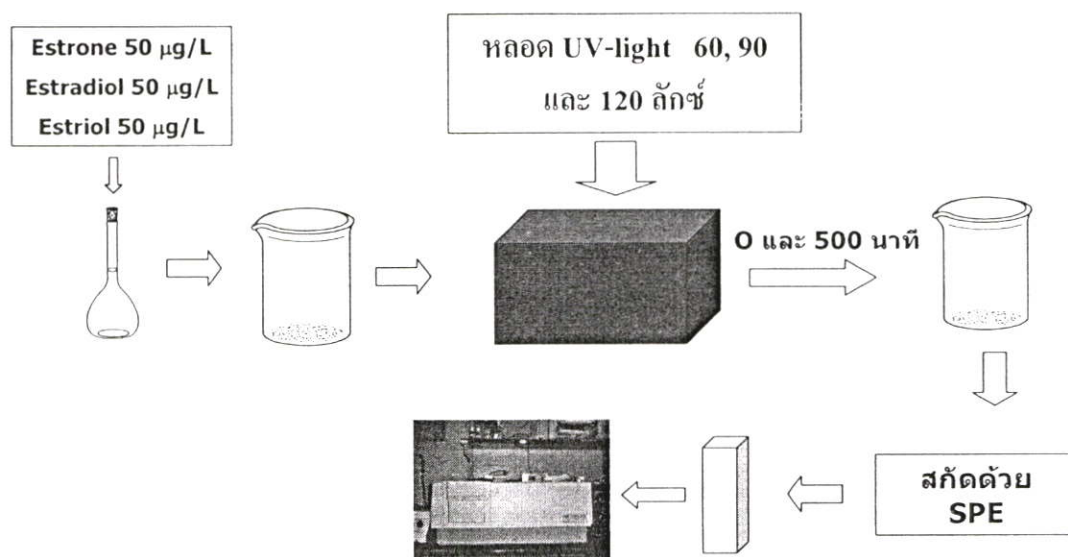
3.4.1.4 เก็บตัวอย่างน้ำโดยสูมหีบบีกเกอร์ออกจากชุดทดลองที่บแสง ที่เวลา 0 และ 500 นาที มาช่วงเวลาละ 1 บีกเกอร์

3.4.1.5 นำน้ำตัวอย่างจากข้อ 4 มาทำการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction) โดยใช้ SPE Cartridge ที่ได้จากการทดลองข้อ 3.3

3.4.1.6 นำน้ำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดไปวัดค่าความเข้มข้นของสารละลายเอสโตรเจนที่เหลือ ด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ด้วยความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง (λ excitation) และ ความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 3.2.1

3.4.1.7 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ซึ่งในการทดลองแต่ละครั้งทำชุดควบคุมควบคู่กันไปด้วยโดยชุดควบคุมจะทำการทดลองเช่นเดียวกันกับสารตัวอย่าง แต่ไม่มีการให้แสงจากหลอด UV-light

3.4.1.8 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 3.4.1.1 – 3.4.1.7 โดยเปลี่ยนกำลังวัตต์ของหลอด UV-light เป็น 90 และ 120 ลักซ์



รูปที่ 3.7 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาความเข้มของแสงที่มีผลต่อการสลายตัว

3.4.2 การศึกษาผลของค่าพีเอชต่อการสลายตัว

3.4.2.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างเอสโตรเจน เอสตราไดโอดและเอสโตรออล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 2 บีกเกอร์

3.4.2.2 ทำการปรับพีเอชของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 3, 7 และ 10 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ และกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์

3.4.2.3 นำบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2.2 ไปตั้งในชุดทดลองที่บแสงที่ต่อกับหลอดที่ UV-light ที่มีความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการสลายตัวจากการทดลองข้อ 3.4.1

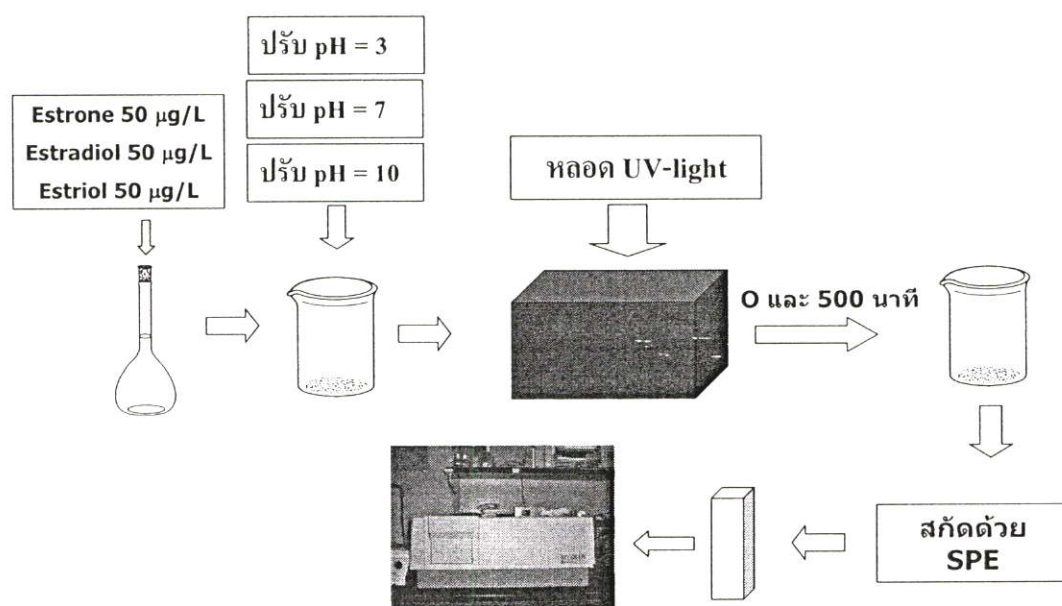
3.4.2.4 เปิดสวิตซ์ไฟเพื่อให้แสง

3.4.2.5 เก็บตัวอย่างน้ำโดยสูมหีบบีกเกอร์ออกจากชุดทดลองที่บแสง ที่เวลา 0 และ 500 นาที มาช่วงเวลาละ 1 บีกเกอร์

3.4.2.6 นำน้ำตัวอย่างจากข้อ 3.4.2.5 มาทำการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction) โดยใช้ SPE Cartridge ที่ได้จากการทดลองข้อ 3.3

3.4.2.7 นำน้ำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดไปวัดค่าความเข้มข้นของสารละลายเอสโตรเจนที่เหลือนำด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ด้วยความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง (λ excitation) และความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 3.2.1

3.4.2.8 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ซึ่งในการทดลองแต่ละครั้งทำชุดควบคุมควบคู่กันไปด้วย โดยชุดควบคุมจะทำการทดลองเช่นเดียวกันกับสารตัวอย่าง แต่ไม่มีการให้แสงจากหลอด UV-light ที่มีความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการสลายตัวจากการทดลองข้อ 3.4.1



รูปที่ 3.8 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาค่าพีเอชที่มีผลต่อการสลายตัว

3.4.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัว

3.4.3.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างเอสโตรเจน เอสตราไดโอดและเอสโตรอด ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 2 บีกเกอร์

3.4.3.2 นำบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.3.1 ไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิโดยปรับอุณหภูมิให้อยู่ที่ 20 องศาเซลเซียส

3.4.3.3 นำชุดทดลองที่บ่งแสงที่ต่อกับหลอด UV-light ที่มีความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการสลายตัวจากการทดลองข้อ 3.4.1

3.4.3.4 เปิดสวิตช์ไฟเพื่อให้แสง

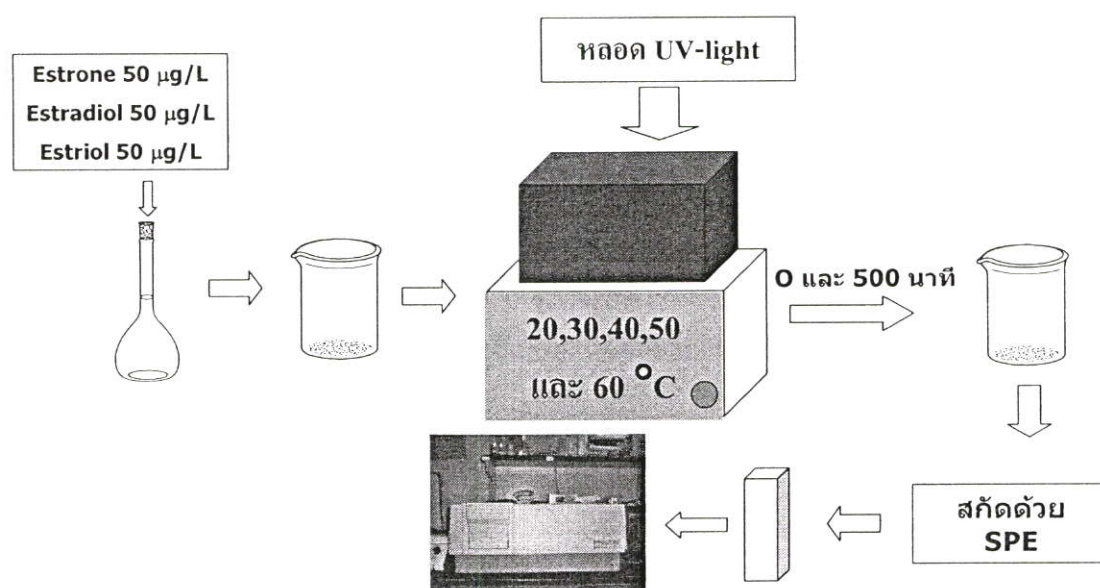
3.4.3.5 เก็บตัวอย่างน้ำโดยสุ่มหยิบบีกเกอร์ออกจากชุดทดลองที่บ่งแสง ที่เวลา 0 และ 500 นาที มาช่วงเวลาละ 1 บีกเกอร์

3.4.3.6 นำน้ำตัวอย่างจากข้อ 3.4.3.5 มาทำการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction) โดยใช้ SPE Cartridge ที่ได้จากการทดลองข้อ 3.3

3.4.3.7 นำน้ำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดไปวัดค่าความเข้มข้นของสารละลายเอสโตรเจนที่เหลือนด้วยเครื่องสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ด้วยความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง (λ excitation) และความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 3.2.1

3.4.3.8 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ซึ่งในการทดลองแต่ละครั้งทำชุดควบคุมควบคู่กันไปด้วย โดยชุดควบคุมจะทำการทดลองเช่นเดียวกันกับสารตัวอย่าง แต่ไม่มีการให้แสงจากหลอด UV-light ที่มีความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการสลายตัวจากการทดลองข้อ 3.4.1

3.4.3.9 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 3.4.3.1- 3.4.3.8 โดยปรับเปลี่ยนอุณหภูมิเป็น 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส



รูปที่ 3.9 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการสลายตัว

3.5 การศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน

3.5.1 เตรียมสารละลายผสมระหว่างเอสโตรน เอสตราไดโอดและเอสโตรออลปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย จำนวน 9 บีกเกอร์

3.5.2 ปรับพีเอชของสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.1 ให้มีค่าเท่ากับการทดลองตามข้อ 3.4.2

3.5.3 นำบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.1 ไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิ โดยปรับอุณหภูมิให้อยู่ที่ค่าเท่ากับการทดลองตามข้อ 3.4.3

3.5.4 นำชุดทดลองที่บแสงที่ต่อกับหลอด UV-light ที่มีความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการสลายตัวจากการทดลอง 3.4.1 ไปครอบทับ

3.5.5 เปิดสวิตซ์ไฟเพื่อให้แสง

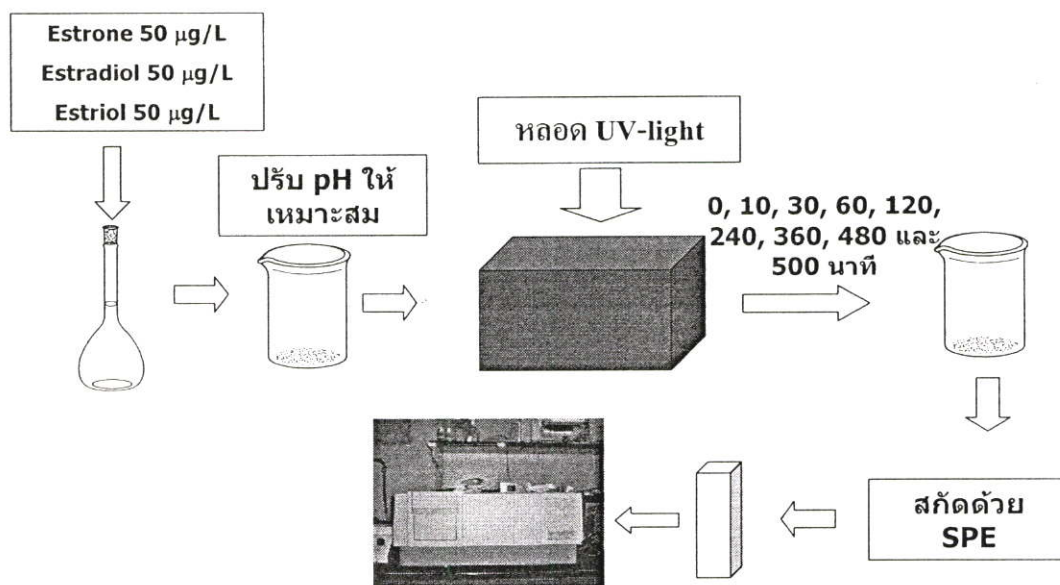
3.5.6 เก็บตัวอย่างน้ำโดยสู่มบีกเกอร์ออกจากชุดทดลองที่บแสง ที่เวลา 0, 10, 30, 60, 120, 240, 360, 480 และ 500 นาที มาช่วงเวลาละ 1 บีกเกอร์

3.5.7 นำน้ำตัวอย่างจากข้อ 6 มาทำการสกัดด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction) โดยใช้ SPE Cartridge ที่ได้จากการทดลองข้อ 3.3

3.5.8 นำน้ำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดไปวัดค่าความเข้มขึ้นของสารละลายเอสโตรเจนที่เหลือ ด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ด้วยความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง (λ excitation) และความยาวคลื่นในการคายแสง (λ emission) ที่ได้จากข้อ 3.2.1

3.5.9 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ซึ่งในการทดลองแต่ละครั้งทำชุดควบคุมควบคู่กันไปด้วย โดยชุดควบคุมจะทำการทดลองเช่นเดียวกันกับสารตัวอย่าง แต่ไม่มีการให้แสงจากหลอด UV-light ที่มีความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการสลายตัวจากการทดลองข้อ 3.4.1

3.5.10 นำผลที่ได้จากการทดลองไปทำการศึกษาจลนพลศาสตร์



รูปที่ 3.10 รูปจำลองขั้นตอนการศึกษากจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน

บทที่ 4

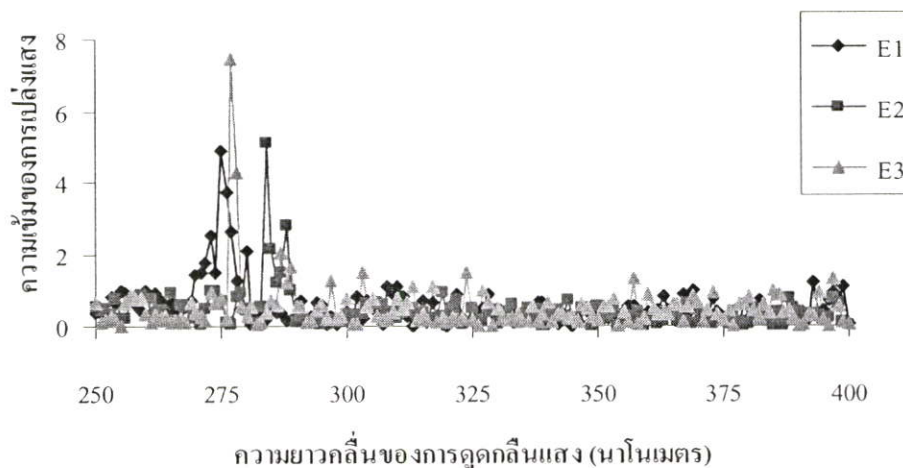
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยแสงหรือโฟโตไลซิส (Photolysis) ของเอสโตรเจน โดยแบ่งขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ 1) การตรวจวิเคราะห์สารละลายเอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี 2) การศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรเจนด้วย SPE cartridge และ 3) การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน

4.1 การตรวจวิเคราะห์เอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี

4.1.1 ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสงสำหรับการวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี

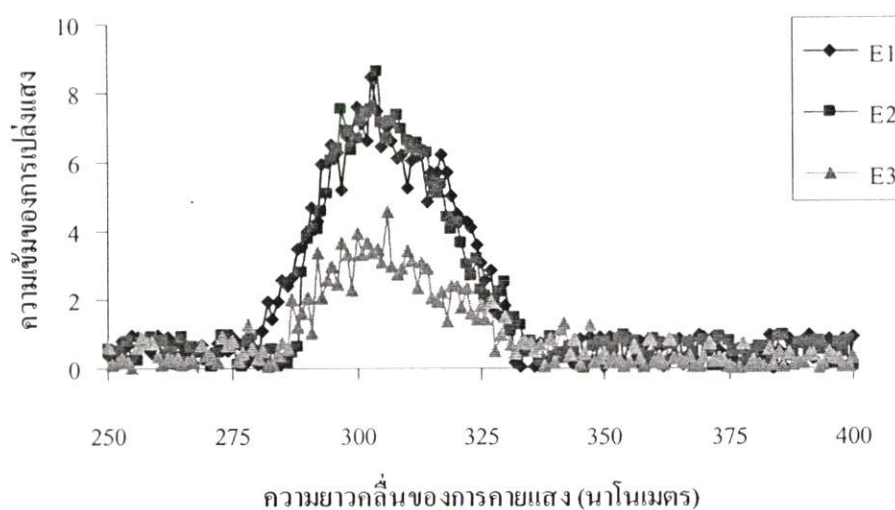
ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสงสำหรับการวิเคราะห์เอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรีทำได้โดย การตรวจวัดสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน ได้แก่ เอสโตรน (E1) เอสตราไดออล (E2) และเอสโตรออล (E3) โดยที่ความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงของสารแต่ละตัวเริ่มต้นที่ 250 นาโนเมตรจนถึง 400 นาโนเมตร จะได้สเปกตรัมความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง (ชั่วคราว) แสดงดังรูปที่ 4.1 (ดูรายละเอียดในตาราง ก-1 – ก-3 ในภาคผนวก ก)



รูปที่ 4.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสง (ชั่วคราว) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ได้จากการทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงค่าต่าง ๆ

จากลักษณะของสเปกตรัมที่ได้จากรูปที่ 4.1 ค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (ชั่วคราว) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน เอสตราไดออล และเอสโตรออล มีค่าประมาณ 275, 284 และ 277 นาโนเมตร ตามลำดับ

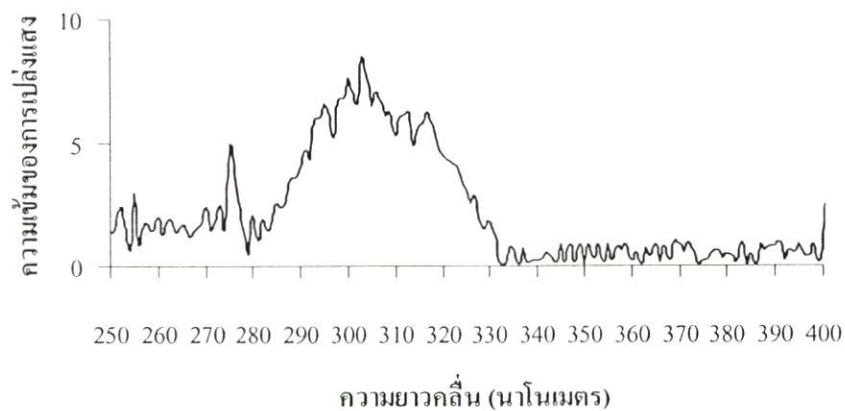
หลังจากนั้นทำการหาความยาวคลื่นในการคายแสงของสารละลายเอสโตรเจน โดยการตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงที่ได้ แล้วทำการสแกนหาความยาวคลื่นในการคายกลืนแสง จะได้สเปกตรัมความยาวคลื่นของการคายกลืนแสง (ชั่วคราว) แสดงดังรูปที่ 4.2 (ดูรายละเอียดในตาราง ก-4 – ก-6 ในภาคผนวก ก)



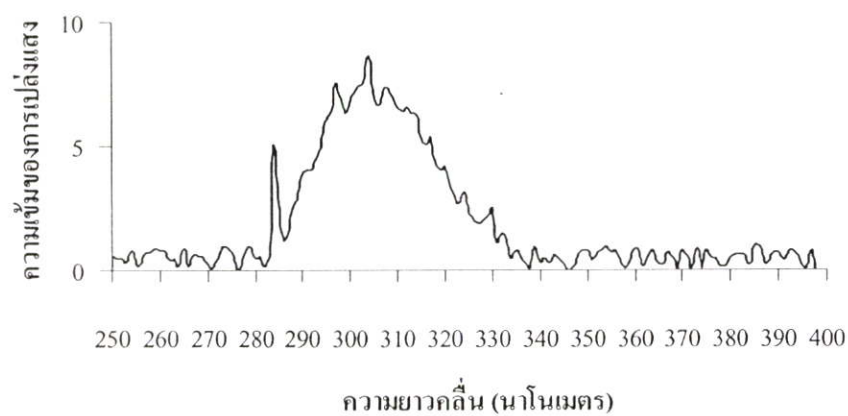
รูปที่ 4.2 สเปกตรัมการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่น

จากลักษณะของสเปกตรัมที่ได้จากรูปที่ 4.2 ค่าความยาวคลื่นในการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน เอสตราไดออล และเอสโตรออล มีค่าประมาณ 303, 304 และ 306 นาโนเมตร ตามลำดับ

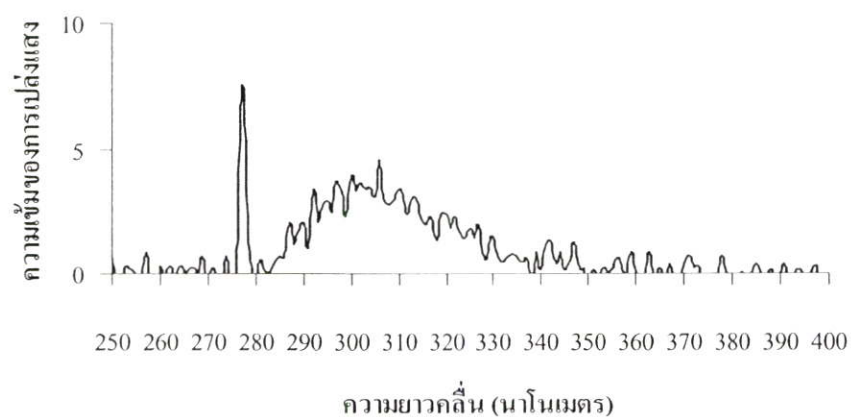
จากนั้นทำการตั้งค่าความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง และความยาวคลื่นของการคายแสง ตามที่ได้ เพื่อหาความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง และความยาวคลื่นของการคายแสงที่แท้จริง สเปกตรัมที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.3 (ก), (ข) และ (ค) (ดูรายละเอียดในตาราง ก-7 – ก-9 ในภาคผนวก ก)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง) ของสารละลายเอสโตรเจน

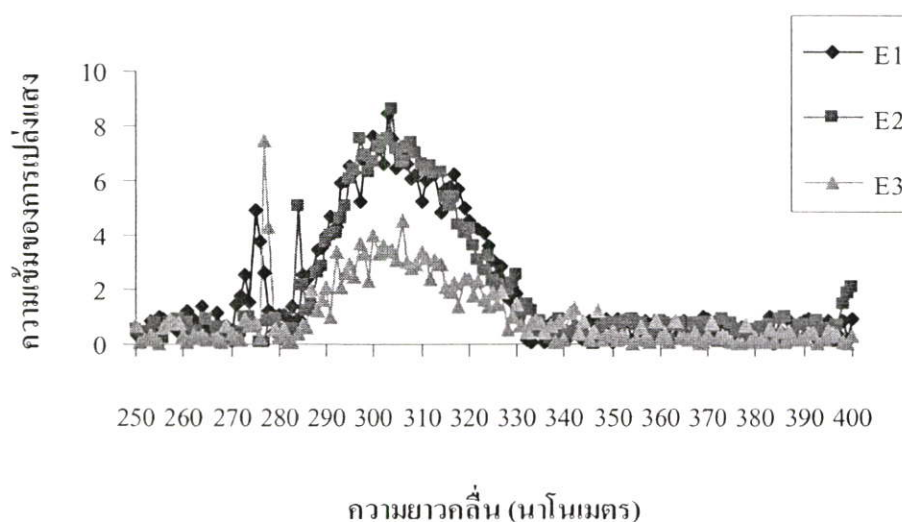
(ก) เอสโตรน (ข) เอสตราไดโอด และ (ค) เอสโตรออล

จากลักษณะของสเปกตรัมที่ได้จากรูปที่ 4.3 (ก) (ข) และ (ค) ค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่สุดในการดูดกลืนแสงและการคายแสงของ เอสโตรเจน เอสตราไดออล และเอสโตรออล สามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสารละลายมาตรฐาน เอสโตรเจน เอสตราไดออล และเอสโตรออล

สารละลายมาตรฐาน	ความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสง (นาโนเมตร)	ความยาวคลื่นของการคายแสง (นาโนเมตร)
เอสโตรเจน	275	303
เอสตราไดออล	284	304
เอสโตรออล	277	306

หลังจากได้ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง และความยาวคลื่นในการคายแสงที่แท้จริงแล้ว นำสารละลายผสมเอสโตรเจน ซึ่งประกอบด้วย สารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดออล และเอสโตรออล มาทำการทดสอบเพื่อยืนยันความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง และความยาวคลื่นในการคายแสงที่แท้จริงที่ได้จากการทดลอง ได้สเปกตรัมดังแสดงในรูปที่ 4.4 (ดูรายละเอียดในตาราง ก-10 – ก-12 ในภาคผนวก ก)



รูปที่ 4.4 สเปกตรัมการของสารละลายผสมเอสโตรเจนหลังทำการตั้งความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง)

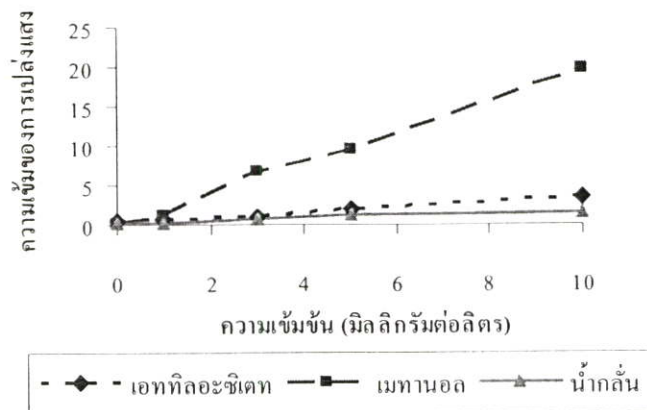
จากลักษณะของสเปกตรัมที่ได้จากรูปที่ 4.4 พบว่าสเปกตรัมของสารละลายผสม เอสโตรเจนที่เกิดขึ้นมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับสเปกตรัมของการหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง และความยาวคลื่นในการคายแสงที่แท้จริงของสารละลายเอสโตรเจน

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นในการคายแสงที่ได้จากการทดลองของสารเอสโตรเจนทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เอสโตรน เอสตราไดออก และเอสโตรอด แล้วพบว่าค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงของเอสโตรน เอสตราไดออก และเอสโตรอด คือ 275, 284 และ 277 นาโนเมตร ตามลำดับ และความยาวคลื่นในการคายแสงของ เอสโตรน เอสตราไดออก และเอสโตรอด คือ 303, 304 และ 306 นาโนเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับท้าวัลย์ ศรีพงษ์ (2544) ที่ว่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงของสารเอสโตรเจนอยู่ในช่วงระหว่าง 250 – 300 นาโนเมตร และความยาวคลื่นในการคายแสงของสารเอสโตรเจนอยู่ในช่วงระหว่าง 300 – 400 นาโนเมตร

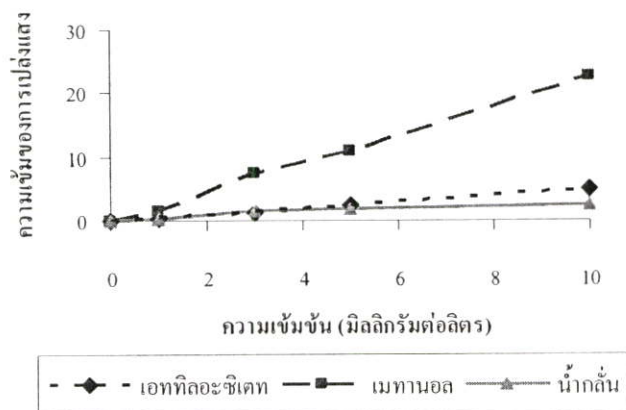
แต่ทั้งนี้ความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นในการคายแสงของสารเอสโตรเจนที่ได้จากการทดลองของผู้วิจัยแต่ละคนอาจจะมีค่าไม่ตรงกัน ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากตัวทำละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์อาจจะแตกต่างกัน ซึ่งการเปลี่ยนตัวทำละลายอาจมีผลอย่างมากต่อความเข้มข้นและการกระจายสเปกตรัมของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นก่อนทำการวิเคราะห์สารเอสโตรเจนกับเครื่องมืออื่น ๆ ควรทำการทดสอบหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและความยาวคลื่นในการคายแสงที่เหมาะสมของสารเอสโตรเจนก่อน เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและน่าเชื่อถือ

4.1.2 ชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี

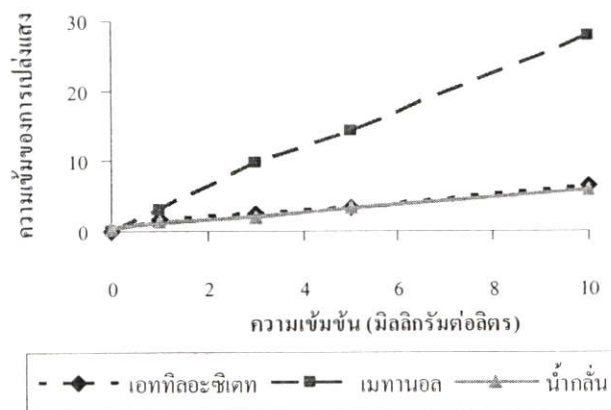
ชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์เอสโตรเจนด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี ทำการศึกษาได้โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มของการเปล่งแสงของสารละลาย เอสโตรน เอสตราไดออก และเอสโตรอดความเข้มข้นต่างๆ กันที่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ เอทิลอะซิเตท เมทานอล และน้ำกลั่น ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.4 (ก) (ข) และ (ค) (ดูรายละเอียดในตาราง ข-1 – ข-9 ในภาคผนวก ข)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.5 ความเข้มของการเปลี่ยนแปลงของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน (ก) เอสโตรน (ข) เอสตราไดออกซอล และ (ค) เอสโตรออล ที่ระดับความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทิลอะซิเตท เมทานอล และน้ำกลั่น

เมื่อพิจารณาการตรวจวัดความเข้มของการเปล่งแสงของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน เอสตราไดออก และเอสโตรออลที่ระดับความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เอทิลอะซิเตท เมทานอล และน้ำกลั่น พบว่าสารละลายมาตรฐานทั้ง 3 ชนิดที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ให้ค่าความเข้มของการเปล่งแสงมากกว่าสารละลายที่ใช้เอทิลอะซิเตทและน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย (รูปที่ 4.5) ซึ่งสาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจากสารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดออก และเอสโตรออลอาจจะไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์เมื่อละลายอยู่ในน้ำ ซึ่งมีสารประกอบจำนวนมากเกิดฟลูออเรสเซนซ์ในตัวทำละลายอินทรีย์ แต่ไม่เกิดเมื่อละลายอยู่ในน้ำ (ลาวัลย์, 2544) จึงส่งผลให้ค่าความเข้มของการเปล่งแสงของสารเอสโตรเจนที่ละลายในน้ำมีค่าน้อย ส่วนสารละลายเอสโตรเจนเมื่อละลายอยู่ในเอทิลอะซิเตทและเมทานอลจะมีหมู่แทนที่ซึ่งจะสามารถส่งผลต่อความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ทำให้มีค่าเพิ่มขึ้น คือ หมู่ -COOH และ หมู่ -OH ตามลำดับ แต่จากการทดลองพบว่าสารเอสโตรเจนที่ละลายอยู่ในเมทานอลให้ค่าความเข้มของการเปล่งแสงมากกว่าเอทิลอะซิเตท ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากเมทานอลมีความสามารถในการรวมตัวกับสารที่ทำการตรวจวัดได้ดีกว่าเอทิลอะซิเตท จึงมีผลทำให้โครงสร้างของโมเลกุลที่เกิดจากการรวมตัวแข็งแรงมากขึ้น ทำให้ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เด่นชัดมากขึ้นอีกด้วย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายสำหรับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน เอสโตรเจน เอสตราไดออก และเอสโตรออลในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี

4.1.3 ความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection, LOD) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน

การวิเคราะห์หา LOD สำหรับสารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดออกและเอสโตรออล ทำได้นำสารละลายแบลนด์ (เมทานอล 99 เปอร์เซ็นต์) มาวัดความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) สุ่มเลือก 20 ค่า แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มแสงจากสารละลายแบลนด์ ได้ผลแสดงดังแสดงในตารางที่ 4.2 (ดูรายละเอียดในตาราง ก-1 – ก-3 ในภาคผนวก ก)

$$\text{ค่าเฉลี่ยความเข้มของการเปล่งแสงของสาร} \quad (\bar{Y}_B) = \frac{\sum_{j=1}^{n_B} Y_{Bj}}{n_B} \quad (4.1)$$

$$\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสาร} \quad (S_B) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{n_B} (Y_{Bj} - \bar{Y}_B)^2}{(n_B - 1)}} \quad (4.2)$$

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ย และเบี่ยงเบนมาตรฐาน สารละลายเบลงค์ (เมทานอล) จากการวัดซ้ำ 20 ครั้ง

พารามิเตอร์	เอสโตรน	เอสตราไดออล	เอสโตรออล
ค่าเฉลี่ย (\bar{X})	0.019	0.014	0.015
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)	0.007	0.006	0.006

นำค่าทั้งหมดมาคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัด หรือความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้

$$\text{ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ (LOD)} = \bar{X} + 3(S_B) \quad (4.3)$$

(3 คือ ค่า $k = \text{Confidence Level of } 99.86\%$ เมื่อความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ $(Y_L) \geq \bar{Y}_B + 3(S_B)$)

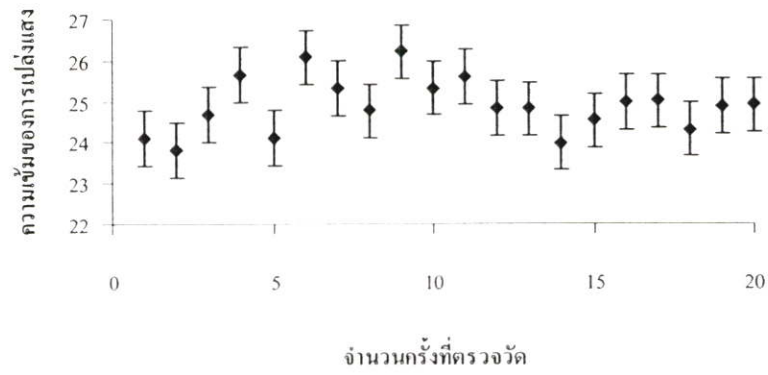
จากการคำนวณ ได้ผลของขีดจำกัดในการตรวจวัด ที่จะสามารถตรวจวัดสารละลาย เอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออล ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้

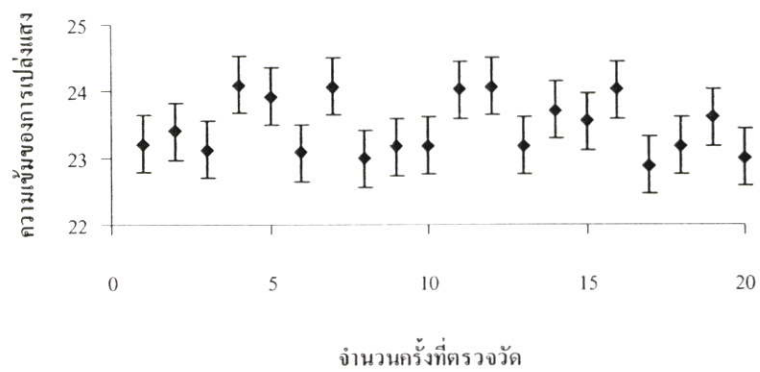
สารละลายมาตรฐาน	ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
เอสโตรน	0.040 ± 0.007
เอสตราไดออล	0.032 ± 0.006
เอสโตรออล	0.033 ± 0.006

4.1.4 ความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

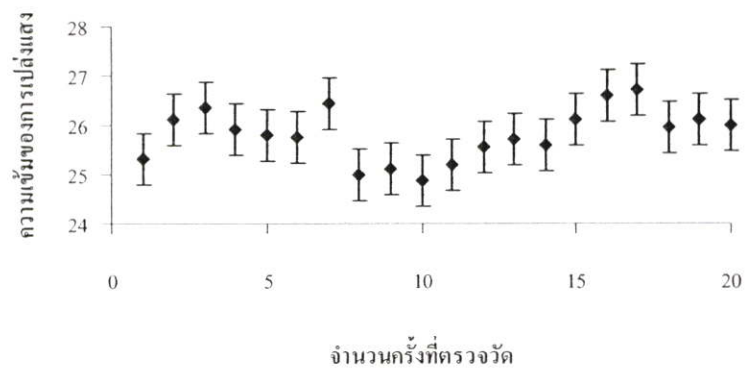
ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์สารละลายเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออล ด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี หาได้โดยวัดซ้ำความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออล ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 20 ครั้ง ผลที่ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.5 (ก) (ข) และ (ค) (ดูรายละเอียดในตาราง ก-4 – ก-6 ในภาคผนวก ก)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.6 ความชื้นของการเปลี่ยนแปลงของสารละลายมาตรฐานเอสโตรเจน (ก) เอสโตรเจน (ข) เอสตราไดออก และ (ค) เอสโตรไดออก ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรจากการวัดซ้ำ 20 ครั้ง

ภายหลังจากการนำค่าจากการวัดซ้ำ 20 ครั้ง ของสารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดโอด และ เอสโตรออล มาคำนวณค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (%RSD) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของ สารละลายเอสโตรเจน ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการวัดซ้ำ 20 ครั้ง

พารามิเตอร์	เอสโตรเจน	เอสตราไดโอด	เอสโตรออล
ค่าเฉลี่ย (\bar{X})	24.902	23.475	25.814
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)	0.661	0.427	0.520
ค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (%RSD)	2.653	1.817	2.013

จากตารางพบว่า ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของการเปล่งแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลาย มาตรฐานเอสโตรเจน คือ 24.902 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) คือ 0.661 และค่าร้อยละของการ เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าเท่ากับ 2.653 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น ของการเปล่งแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานเอสตราไดโอด คือ 23.475 และค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (S.D.) คือ 0.427 และค่าร้อยละของ การเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าเท่ากับ 1.817 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของการเปล่งแสงที่ตรวจวัด ได้จากสารละลายมาตรฐาน เอสโตรออล คือ 25.814 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) คือ 0.520 และค่าร้อยละของการเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าเท่ากับ 2.013 เปอร์เซ็นต์

จากนั้นทำการคำนวณ expected %RSD จาก Horwitz's equation จากสูตร

$$\text{Expected \% RSD} = 0.66 \times 2 \times C^{-0.1505} \quad (\text{เมื่อ } C \text{ คือ ความเข้มข้น}) \quad (4.4)$$

จากการทดลองเมื่อทำการคำนวณ ได้ expected %RSD ได้เท่ากับ 8.287 และนำค่า expected %RSD และ %RSD ที่ได้จากการทดลองมาทำการประเมินการยอมรับได้ของ ความเที่ยงตรงตามที่ระบุใน The AOAC manual for the Peer Verified Methods program (1993) จากสูตร

$$\text{HORRAT} = \frac{\%RSD_{\text{lab}}}{\%RSD_{\text{expected}}} \quad (4.5)$$

(ค่า HORRAT ที่ยอมรับ คือ น้อยกว่า 2 (<2))

จากการคำนวณ HORRAT เพื่อประเมินการยอมรับได้ของความเที่ยงตรง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่า HORRAT เพื่อประเมินการยอมรับได้ของความเที่ยงตรง

พารามิเตอร์	เอสโตรน	เอสตราไดออล	เอสโตรออล
HORRAT (Horwitz ratio)	0.320	0.219	0.243

จากตารางพบว่าค่า HORRAT ของเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออล มีค่าน้อยกว่า 2 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.320, 0.219 และ 0.243 ตามลำดับ นั้นแสดงว่า ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์เอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออลนี้ ยอมรับได้

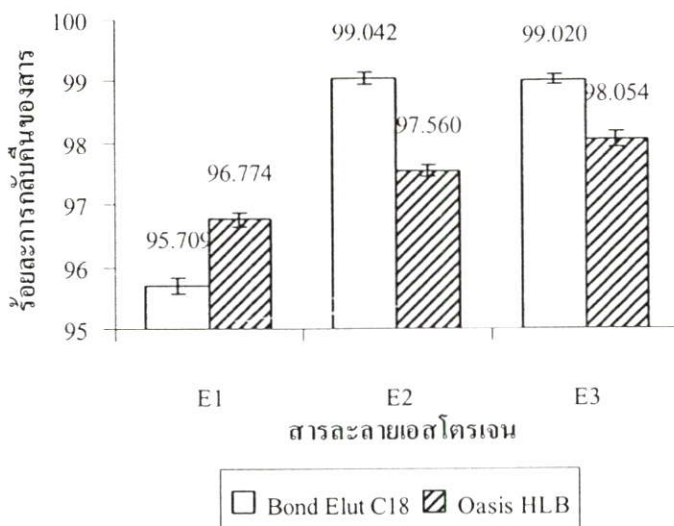
4.2 ผลของชนิดของ SPE Cartridge ต่อประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรเจนด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง

ประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรเจนด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด ทำการศึกษาโดยทำการสกัดสารละลายผสมระหว่างเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออลด้วยเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction) กำหนดให้ความเข้มข้นของสารแต่ละตัวเท่ากับ 50 ไมโครกรัม ต่อลิตร SPE Cartridge 2 ชนิดที่ทำการศึกษา ได้แก่ Bond Elut C18 และ Oasis HLB ทำการหาประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรเจนของ SPE Cartridge 2 ชนิดด้วยการวิเคราะห์ร้อยละปริมาณการกลับคืน (% recovery) โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละการกลับคืนของสาร} = \frac{\text{ความเข้มข้นของสารหลังการสกัด}}{\text{ความเข้มข้นของสารก่อนการสกัด}} \times 100$$

$$\text{โดยความเข้มข้นของสารก่อนการสกัด} = \frac{\text{ปริมาณเนื้อสารก่อนการสกัด}}{\text{ปริมาตรสุทธิหลังจากการชะสารออกจากคอลัมน์}}$$

ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.7 (ดูรายละเอียดในตาราง ง-1 – ง-8 ในภาคผนวก ง)



รูปที่ 4.7 เปรียบเทียบร้อยละปริมาณการกลับคืนของสารเอสโตรเจน เอสตราไดโอด และเอสโตรอด เมื่อสกัดด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด

จากรูปพบว่า % recovery ของสารละลายเอสโตรเจนหลังจากผ่านการสกัดด้วย SPE Cartridge 2 ชนิดทั้ง Bond Elut C18 และ Oasis HLB มีลักษณะใกล้เคียงกันและเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด พบว่าไม่พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P > 0.05$) (ดูรายละเอียดในตาราง ข-1 ในภาคผนวก ข)

โดย % recovery ของเอสโตรเจนที่สกัดโดยใช้ Bond Elut C18 และ Oasis HLB มีค่าเท่ากับ 95.709 ± 0.127 และ 96.774 ± 0.115 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ % recovery ของเอสตราไดโอดที่สกัดโดยใช้ Bond Elut C18 และ Oasis HLB มีค่าเท่ากับ 99.042 ± 0.103 และ 97.560 ± 0.095 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ % recovery ของเอสโตรอดที่สกัดโดยใช้ Bond Elut C18 และ Oasis HLB มีค่าเท่ากับ 99.020 ± 0.085 และ 98.054 ± 0.134 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

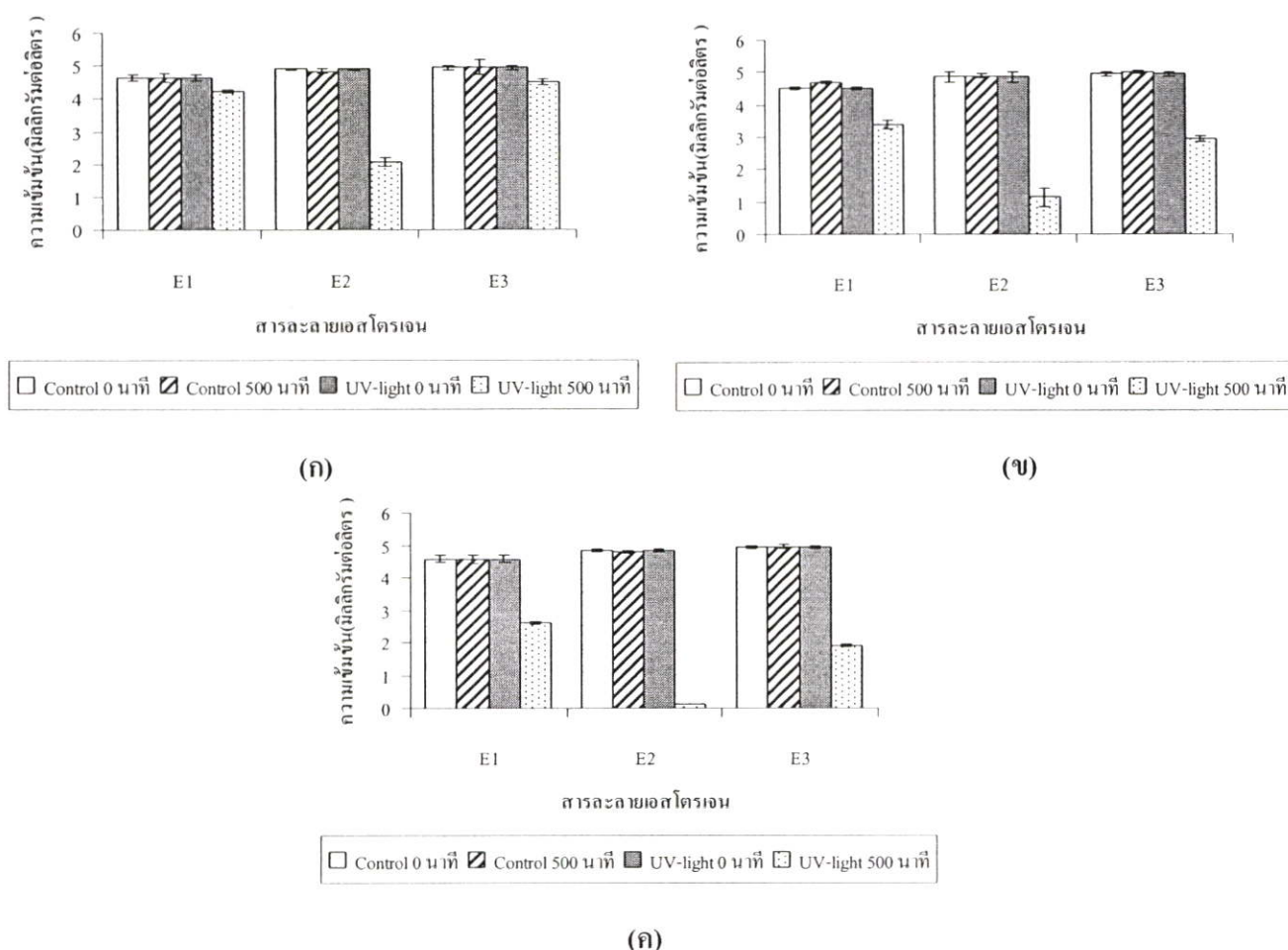
จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรเจน เอสตราไดโอด และเอสโตรอด โดยใช้ SPE Cartridge 2 ชนิด ได้แก่ Bond Elut C18 ที่มีตัวดูดซับเป็นสาร Silica based ซึ่งมีคุณสมบัติที่ผิวของตัวดูดซับเป็น Hydrophobic bonded silica และ Oasis HLB ที่มีตัวดูดซับเป็นสาร Polystyrene divinylbenzene ซึ่งมีคุณสมบัติที่ผิวของตัวดูดซับเป็น Hydrophilic-Lipophilic-Balanced มีค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากบนผิวของตัวดูดซับทั้งสองชนิดมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) 2 แบบ คือ free hydroxyl (OH) และ reactive hydroxyl (HOH) ซึ่งแสดงควมมีขั้วและมีคุณสมบัติเป็นกรดเล็กน้อย มีบทบาทสำคัญในกลไกการแยกสาร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง reactive hydroxyl มีความแรงมากในการเกิดพันธะกับสารที่สภาพขั้ว ซึ่งหมู่

ไฮดรอกซิลนี้ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการดูดซับสารที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยแรงกระจาย แรงไดโพล-ไดโพล แรงเหนี่ยวนำและพันธะไฮโดรเจน ดังนั้นจึงเลือก Bond Elut C18 เป็น SPE Cartridge ในการสกัดเอสโตรเจน เนื่องจาก ราคาขายต่ำกว่า Oasis HLB ซึ่งราคาขายของ Bond Elut C18 และ Oasis HLB เท่ากับ 104 และ 254 บาท ต่ออัน ตามลำดับ (ราคาที่ซื้อเมื่อ มกราคม พ.ศ. 2550)

4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน

4.3.1 ผลของความเข้มของแสงที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจน

ผลของความเข้มของแสงต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจนทำการศึกษาโดยวัดความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรน เอสตราไดออก และเอสโตรอด ภายหลังจากการให้แสงยูวีเป็นเวลา 500 นาที ที่ระดับความเข้มของแสงต่างๆ กัน ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.8 (ก) (ข) และ (ค) (ดูรายละเอียดในตาราง จ-1 ในภาคผนวก จ)

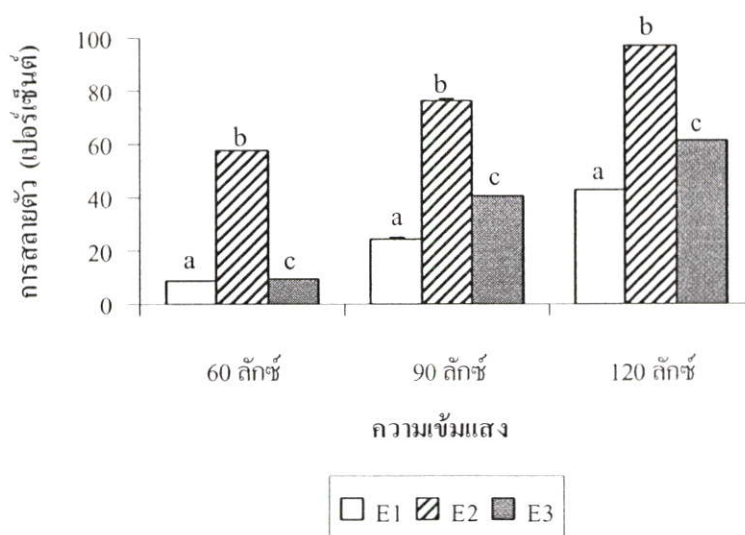


รูปที่ 4.8 ความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรน เอสตราไดออก และเอสโตรอด ภายหลังจากการให้แสงยูวีเป็นเวลา 500 นาที ที่ระดับความเข้มของแสงต่างๆ กัน (ก) 60 ลักซ์ (ข) 90 ลักซ์ และ (ค) 120 ลักซ์

จากรูปพบว่าเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นชุดควบคุมที่เวลา 0 นาที และ 500 นาที (อุณหภูมิที่ 0 นาที ประมาณ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่ 500 นาที ประมาณ 32 องศาเซลเซียส) ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีค่าไม่แตกต่างกัน และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA เปรียบเทียบความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของชุดควบคุมที่เวลา 0 นาที และ 500 นาที ไม่พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P > 0.05$) (ดูรายละเอียดในตาราง ช-2 – ช-4 ในภาคผนวก ช)

ส่วนในชุดทดลองที่ผ่านแสงยูวีความเข้มแสง 60 ลักซ์, 90 ลักซ์ และ 120 ลักซ์ เป็นเวลา 0 นาที และ 500 นาที (อุณหภูมิที่ 0 นาที ประมาณ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่ 500 นาที ประมาณ 32 องศาเซลเซียส) พบว่าเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลาย เอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออลที่ 0 นาที มีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ไม่พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P > 0.05$) และในชุดทดลองที่ 500 นาที เมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรออล มีค่าแตกต่างกัน กล่าวคือ ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจนมีค่าลดลง และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาความเข้มแสงที่มีผลต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสโตรเจน พบว่า ณ ความเข้มแสงที่เท่ากัน สารละลายเอสโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีการสลายตัวได้มากขึ้นแตกต่างกัน ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของเอสโตรเจนที่ความเข้มแสงต่าง ๆ เป็นเวลา 500 นาที

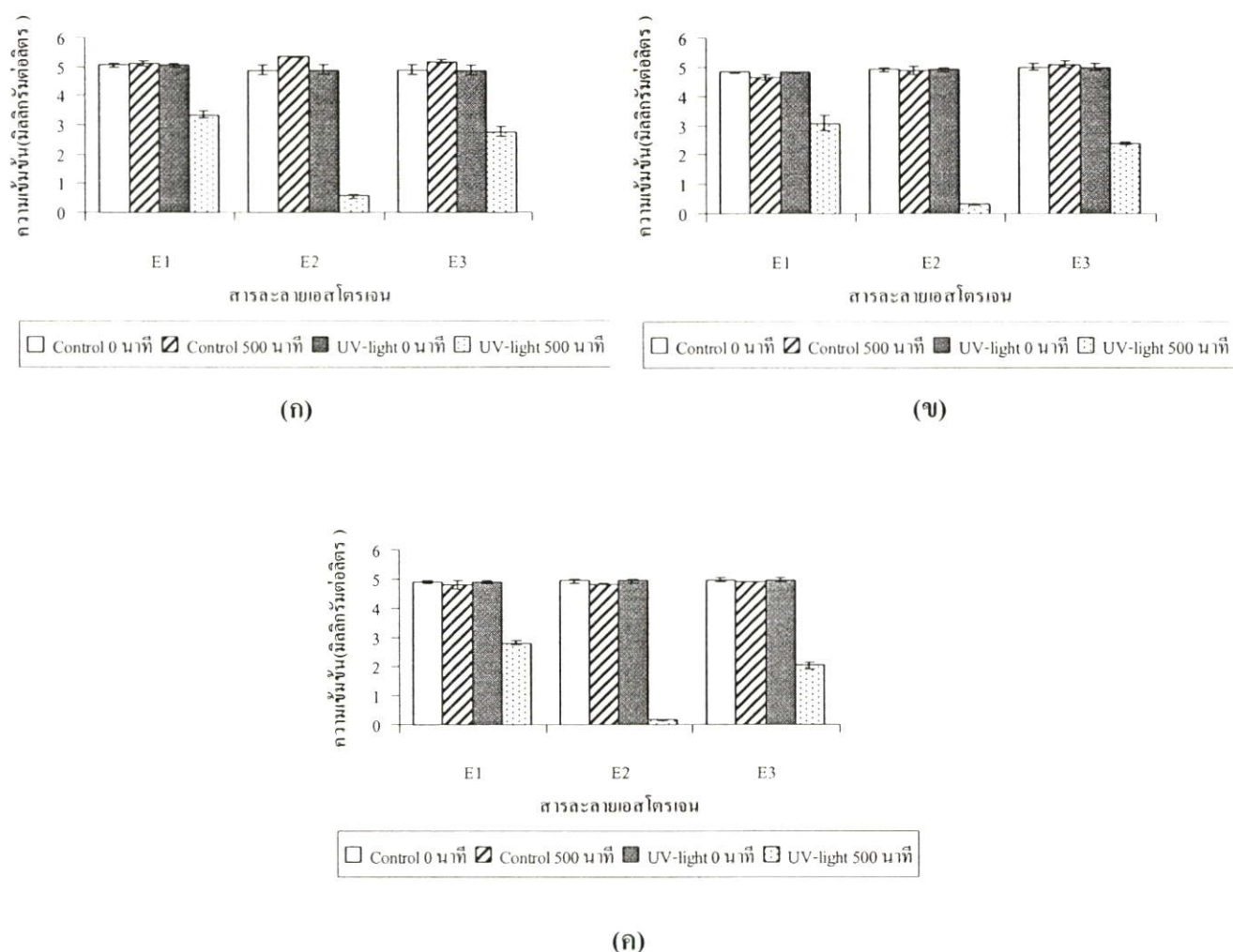
จากรูปพบว่าเมื่อความเข้มแสงเพิ่มมากขึ้น สารเอสโตรเจนมีการสลายตัวเพิ่มมากขึ้น โดยมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เอสตราไดโอดอลมีการสลายตัวได้มากที่สุด รองลงมาคือ เอสโตรอล และเอสโตรอนมีการสลายตัวได้น้อยที่สุด ซึ่งความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การสลายตัวเมื่อความเข้มแสงเพิ่มมากขึ้น กราฟจะแสดงเลขยกกำลังที่แตกต่างกัน

โดยที่เอสตราไดโอดอลมีการสลายตัวที่ความเข้มแสงที่ 60 ลักซ์, 90 ลักซ์ และ 120 ลักซ์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 57.690, 76.555 และ 97.933 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเอสโตรอล มีการสลายตัวที่ความเข้มแสงที่ 60 ลักซ์, 90 ลักซ์ และ 120 ลักซ์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 9.815, 40.621 และ 61.476 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเอสโตรอน มีการสลายตัวที่ความเข้มแสงที่ 60 ลักซ์, 90 ลักซ์ และ 120 ลักซ์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 8.836, 24.690 และ 42.994 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของเอสโตรอน เอสตราไดโอดอล และเอสโตรอลในสารละลายลดลงมากที่สุด เมื่อผ่านแสงจากหลอดยูวี (UV-light) ขนาด 120 ลักซ์ ทั้งนี้อาจจะเป็นเนื่องมาจากความเข้มแสงที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวนโฟตอนเพิ่มมากขึ้น แล้วมาตกกระทบที่ผิวหนังอนุภาคโมเลกุลของสาร ส่งผลให้เกิดสภาวะขาดอิเล็กตรอนที่แถบวาเลนซ์ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดีและสภาวะอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นที่แถบการนำไฟฟ้า ส่งผลให้ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดี ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการให้-รับอิเล็กตรอนกับสารอื่นๆ ที่อยู่ในสารละลาย หรืออาจจะเกิดปฏิกิริยากับสารอื่นที่อยู่ในสารละลาย ทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของความเข้มแสง ทำให้เกิดการสลายตัวของโมเลกุลของสารอินทรีย์ได้ ดังนั้นจึงส่งผลให้ความเข้มข้นของเอสโตรอน เอสตราไดโอดอล และ เอสโตรอลในสารละลายลดลงด้วย

4.3.2 ผลของค่าพีเอชที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจน

ผลของค่าพีเอชต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจนทำการศึกษาโดยวัดความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรอน เอสตราไดโอดอล และเอสโตรอลที่ทำการปรับค่าพีเอชของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 3, 7 และ 10 ภายหลังจากการให้แสงยูวีที่ความเข้มแสง 120 ลักซ์เป็นเวลา 500 นาที ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.10 (ก) (ข) และ (ค) (ดูรายละเอียดในตาราง จ-2 ในภาคผนวก จ)



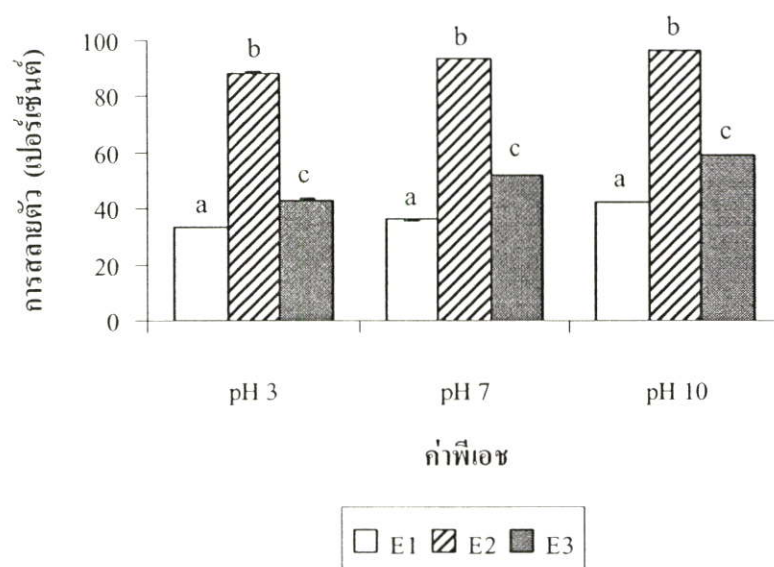
รูปที่ 4.10 ความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรเจน เอสตราไดออล และเอสโตรรอล ภายหลังจากการให้แสงยูวีเป็นเวลา 500 นาที เมื่อสารละลายมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่างๆ กัน (ก) pH 3 (ข) pH 7 และ (ค) pH 10

จากรูปพบว่าเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นชุดควบคุมที่เวลา 0 นาที และ 500 นาที ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีค่าไม่แตกต่างกัน และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA เปรียบเทียบความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของชุดควบคุมที่เวลา 0 นาที และ 500 นาที ไม่พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P > 0.05$) (ดูรายละเอียดในตาราง ข-5 – ข-7 ในภาคผนวก ข)

ส่วนในชุดทดลองที่ทำการปรับค่าพีเอชของสารละลายให้เท่ากับ pH 3, pH 7 และ pH 10 และผ่านแสงยูวีความเข้มแสง 120 ลักซ์ เป็นเวลา 0 นาที และ 500 นาที พบว่าเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดออล และ เอสโตรรอลที่ 0 นาที มีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ไม่พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญ

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P > 0.05$) และในชุดทดลองที่ 500 นาที เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดออล และเอสโตรรอล มีค่าแตกต่างกัน กล่าวคือ ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจนมีค่าลดลง และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาค่าพีเอชที่มีผลต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสโตรเจนพบว่า ณ ค่าพีเอชที่เท่ากัน สารละลายเอสโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีการสลายตัวได้มากน้อยแตกต่างกัน ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของเอสโตรเจนที่ค่า pH ที่ต่างกัน เมื่อผ่านแสงยูวี 120 ลักซ์ เป็นเวลา 500 นาที

จากรูปพบว่าเมื่อค่าพีเอชเพิ่มมากขึ้น สารเอสโตรเจนมีการสลายตัวเพิ่มมากขึ้น โดยมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เอสตราไดออลมีการสลายตัวได้มากที่สุด รองลงมาคือ เอสโตรรอล และเอสโตรเจนมีการสลายตัวได้น้อยที่สุด ซึ่งความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การสลายตัวเมื่อค่าพีเอชเพิ่มมากขึ้น กราฟจะแสดงเลขยกกำลังที่แตกต่างกัน

โดยที่เอสตราไดออลมีการสลายตัวที่ค่าพีเอชที่เท่ากับ pH 3, pH 7 และ pH 10 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 88.637, 93.756 และ 96.536 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเอสโตรรอล มีการสลายตัวที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เท่ากับ pH 3, pH 7 และ pH 10 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 43.330, 51.872 และ 59.285 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเอสโตรเจน มีการสลายตัวที่ค่าพีเอชที่เท่ากับ pH 3, pH 7 และ pH 10 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 33.709, 36.388 และ 42.157 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

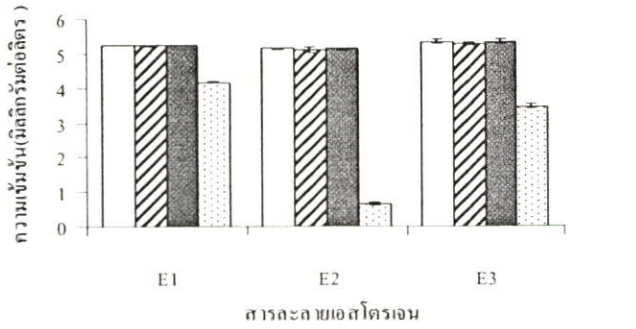
จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของเอสโตรเจน เอสตราไดออกอล และเอสโตรออลในสารละลายลดลงมากที่สุด เมื่อทำการปรับค่าพีเอช (pH) ของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 10 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu และ Liu (2003) ที่ศึกษาผลของค่าพีเอชต่อการสลายตัวของแสงของเอสตราไดออกอลและเอสโตรเจน ซึ่งพบว่าค่าพีเอชเท่ากับ 5 เอสโตรเจนสลายตัวได้น้อยที่สุด ในขณะที่ค่าพีเอชที่สูงขึ้น ส่งผลให้เกิดอัตราการสลายตัวที่เพิ่มขึ้นด้วย ทำให้ความเข้มข้นของเอสโตรเจน เอสตราไดออกอลและเอสโตรออลในสารละลายลดลง

4.3.2 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจน

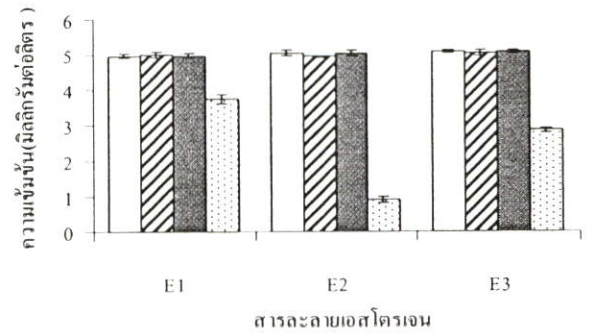
ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการกำจัดเอสโตรเจนทำการศึกษาโดยวัดความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรเจน เอสตราไดออกอล และเอสโตรออลที่ ภายหลังตั้งในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 20, 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส และให้แสงยูวีที่ความเข้มแสง 120 ลักซ์เป็นเวลา 500 นาที ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.12 (ก) (ข) (ค) (ง) และ (จ) (ดูรายละเอียดในตาราง จ-3 ในภาคผนวก จ)

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นชุดควบคุมที่เวลา 0 นาที ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีค่าไม่แตกต่างกัน และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA เปรียบเทียบความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของชุดควบคุมที่เวลา 0 นาที ไม่พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P > 0.05$) ส่วนในชุดควบคุมที่ 500 นาที ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดออกอล และเอสโตรออล มีค่าแตกต่างกัน กล่าวคือ ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจนมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) (ดูรายละเอียดในตาราง ช-5 – ช-7 ในภาคผนวก ช)

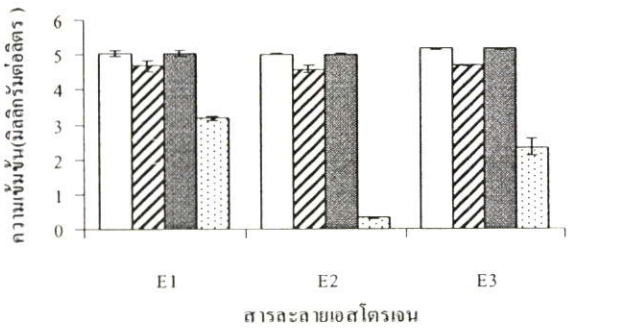
ส่วนในชุดทดลองที่ทำการควบคุมอุณหภูมิให้เท่ากับ 20, 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส และผ่านแสงยูวีความเข้มแสง 120 ลักซ์ เป็นเวลา 0 นาที และ 500 นาที พบว่าเมื่อค่าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดออกอล และเอสโตรออลที่ 0 นาที มีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ไม่พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P > 0.05$) และในชุดทดลองที่ 500 นาที เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจน เอสตราไดออกอล และเอสโตรออล มีค่าแตกต่างกัน กล่าวคือ ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของสารละลายเอสโตรเจนมีค่าลดลง และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA พบความแตกต่างของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)



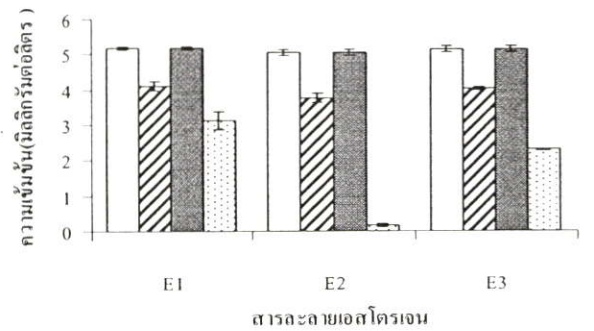
(ก)



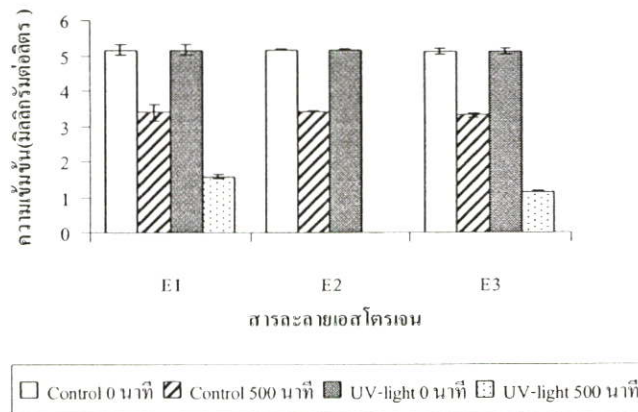
(ข)



(ค)



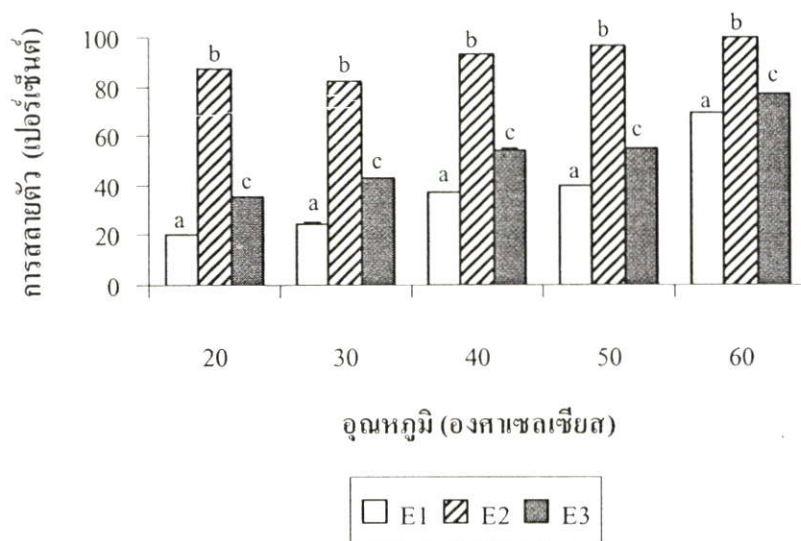
(ง)



(จ)

รูปที่ 4.12 ความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรเจน เอสควัวไคคอล และเอสโตรออล ภายหลังจากการให้แสงยูวีเป็นเวลา 500 นาที เมื่อควบคุมให้มีอุณหภูมิต่างๆ กัน (ก) 20 องศาเซลเซียส (ข) 30 องศาเซลเซียส (ค) 40 องศาเซลเซียส (ง) 50 องศาเซลเซียส และ (จ) 60 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสโตรเจนพบว่า อุณหภูมิที่เท่ากัน สารละลายเอสโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีการสลายตัวได้มากน้อยแตกต่างกัน ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.13

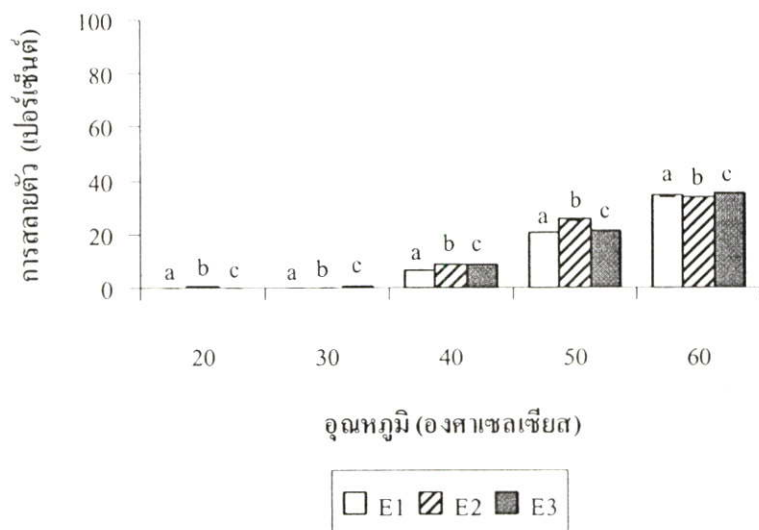


รูปที่ 4.13 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของเอสโตรเจนที่อุณหภูมิที่ต่างกัน เมื่อผ่านแสงยูวี 120 ลักซ์ เป็นเวลา 500 นาที

จากรูปพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น สารเอสโตรเจนมีการสลายตัวเพิ่มมากขึ้น โดยมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เอสตราไดโอะลมีการสลายตัวได้มากที่สุด รองลงมาคือ เอสโตรอล และเอสโตรอนมีการสลายตัวได้น้อยที่สุด ซึ่งความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การสลายตัวเมื่ออุณหภูมิเพิ่มมากขึ้น กราฟจะแสดงเลขยกกำลังที่แตกต่างกัน

โดยที่เอสตราไดโอะลมีการสลายตัวที่อุณหภูมิ 20, 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 87.355, 82.121, 93.350, 96.678 และ 99.709 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน เอสโตรอล มีการสลายตัวที่อุณหภูมิ 20, 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 35.285, 43.577, 54.486, 55.400 และ 77.176 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเอสโตรอนมีการสลายตัวที่อุณหภูมิ 20, 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 20.711, 24.940, 37.006, 39.765 และ 69.351 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการทดลอง อุณหภูมิมีผลต่อปฏิกิริยาอื่นนอกเหนือจากปฏิกิริยาโฟโตไลซิส เนื่องจากในชุดควบคุมซึ่งไม่มีการให้แสงจากหลอดยูวี เมื่อเวลาผ่านไป 500 นาที พบว่า สารละลายเอสโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีการสลายตัว ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.14



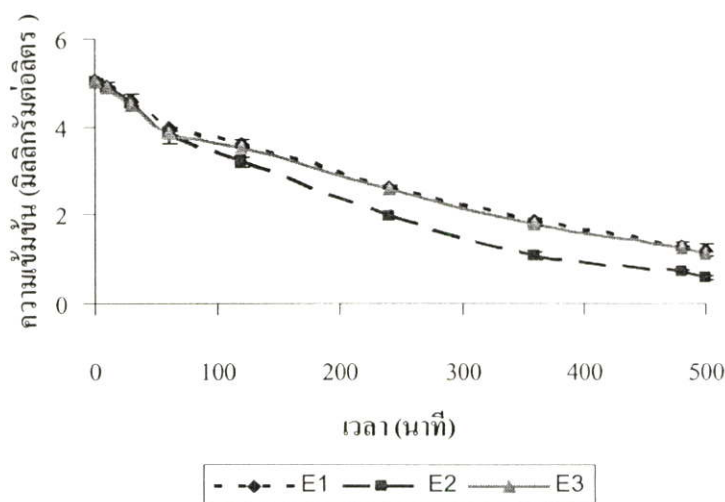
รูปที่ 4.14 เปอร์เซนต์การสลายตัวของเอสโตรเจนที่อุณหภูมิที่ต่างกันในช่วงควบคุมซึ่งไม่มีการให้แสงจากหลอดยูวี เป็นเวลา 500 นาที

จากรูปพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น สารเอสโตรเจนในช่วงควบคุมที่ 500 นาทีมีการสลายตัวเนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้น ซึ่งสลายตัวได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เอสตราไดโอดมีการสลายตัวได้มากที่สุด รองลงมาคือ เอสโตรอด และเอสโตรนมีการสลายตัวได้น้อยที่สุด ซึ่งความแตกต่างของเปอร์เซนต์การสลายตัวเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น กราฟจะแสดงเลขยกกำลังที่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของเอสโตรน เอสตราไดโอด และเอสโตรอดในสารละลายลดลงมากที่สุด เมื่อทำการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของสารเอสโตรเจนให้เพิ่มขึ้นด้วย ทั้งนี้ อาจจะเนื่องมาจากมีปฏิกิริยาอื่นเกิดขึ้นนอกเหนือจากปฏิกิริยาโฟโตไลซิส ซึ่งปฏิกิริยาอื่นที่เกิดขึ้น อาจจะเป็นปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยความร้อน คือการสลายตัวของสารจะเกิดขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังเห็นได้จากในช่วงควบคุมของการทดลองที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น มีการสลายตัวของสารละลายเอสโตรน เอสตราไดโอด และเอสโตรอดเกิดขึ้น ดังนั้นจึงส่งผลให้ความเข้มข้นของเอสโตรน เอสตราไดโอดและเอสโตรอดในสารละลายลดลง ในขณะที่อุณหภูมิต่ำไม่เกิดการสลายตัวของสารละลายเอสโตรเจน

4.4 การศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน

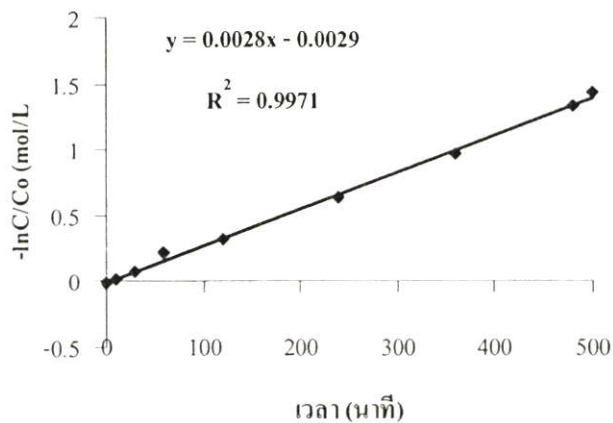
จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของเอสโตรเจน ศึกษาโดยทำการวัดความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของเอสโตรน เอสตราไดออก และเอสโตรอด ภายหลังจากการให้แสงยูวี 120 ลักซ์ เป็นเวลา 0, 10, 30, 60, 120, 240, 360, 480 และ 500 นาที และทำการปรับ pH ของสารละลายเอสโตรเจนให้เท่ากับ 10 และควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.15 (ดูรายละเอียดในตาราง ฉ-1 – ฉ-3 ในภาคผนวก ฉ)



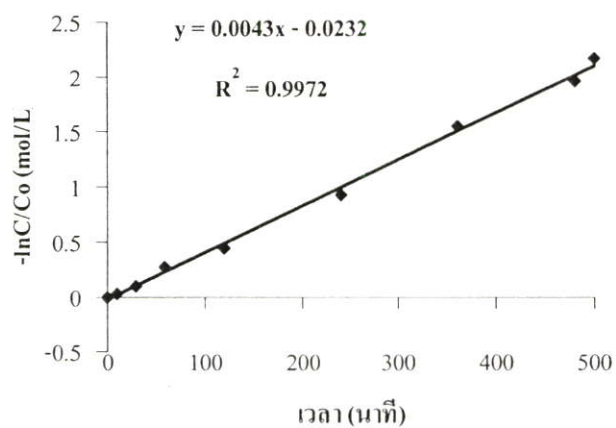
รูปที่ 4.15 ความเข้มข้นที่เหลือของเอสโตรเจน ภายหลังจากการให้แสงยูวี 120 ลักซ์ เป็นเวลา 0, 10, 30, 60, 120, 240, 360, 480 และ 500 นาที และทำการปรับ pH ของสารละลายเอสโตรเจนให้เท่ากับ 10 และควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส

จากรูปพบว่าความเข้มข้นของเอสโตรน เอสตราไดออก และเอสโตรอดลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยแนวโน้มของความเข้มข้นที่ลดลงของสารละลายเอสโตรเจนทั้งสามชนิดมีแนวโน้มเดียวกับการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัว กล่าวคือ เอสตราไดออกมีความเข้มข้นลดลงมากที่สุด รองลงมาคือ เอสโตรอด และเอสโตรนมีความเข้มข้นลดลงน้อยที่สุด

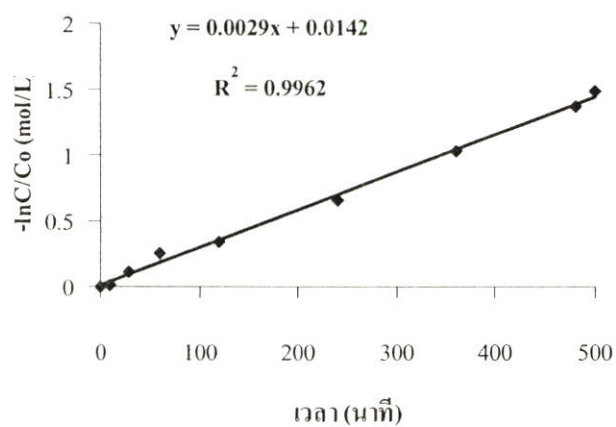
จากการทดลองความเข้มข้นของสารตั้งต้นหรือผลิตภัณฑ์เป็นฟังก์ชันกับเวลา สามารถหาค่าคงตัวอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น โดยการเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เป็นฟังก์ชันกับเวลา จะได้กราฟสมการเส้นตรงสอดคล้องกับสมการ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.16 (ก) (ข) และ (ค) (ดูรายละเอียดในตาราง ฉ-4 ในภาคผนวก ฉ)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.16 กราฟสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเอสโตรเจนที่เป็นฟังก์ชันกับเวลา (ก) เอสโตรน (ข) เอสตราไดออล และ (ค) เอสโตรออล

จากรูปพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเอสโตรเจนที่เป็นฟังก์ชันกับเวลา สอดคล้องกับหลักความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง กล่าวคือ เมื่อเขียนกราฟระหว่าง $-\ln(C/C_0)$ กับเวลา แล้วจะได้กราฟเป็นเส้นตรงมีค่าความชันคือ ค่าคงที่อัตราเร็วของปฏิกิริยา ดังสรุปได้ในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ค่าคงที่ของอัตราเร็วของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารเอสโตรเจน

พารามิเตอร์	เอสโตรน	เอสตราไดออล	เอสโตรอล
ค่าคงที่ของอัตราเร็วของปฏิกิริยา	0.0028	0.0043	0.0049

จากตารางพบว่าค่าคงที่อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่ได้จากการทดลองของเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรอล ค่าเท่ากับ 0.0028, 0.0043 และ 0.0029 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อดูจากค่า R-Squared แล้วมีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของ สารเอสโตรน เอสตราไดออล และเอสโตรอล เป็นไปตามหลักปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First-order-reaction) กล่าวคือ อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน เอสโตรน (E1) เอสตราไดโอด (E2) และเอสโตรอด (E3) เท่ากับ 275, 284 และ 277 นาโนเมตร ตามลำดับ และความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการคายแสงของสารละลายมาตรฐาน เอสโตรน (E1) เอสตราไดโอด (E2) และเอสโตรอด (E3) เท่ากับ 303, 304 และ 306 นาโนเมตร ตามลำดับ

5.1.2 เมทานอลเหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน เอสโตรน เอสตราไดโอด และเอสโตรอดในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออโรเมตรี

5.1.3 ความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ของสารเอสโตรน เท่ากับ 0.040 ± 0.007 มิลลิกรัมต่อลิตร สารเอสตราไดโอด เท่ากับ 0.032 ± 0.006 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารเอสโตรอด เท่ากับ 0.033 ± 0.006 มิลลิกรัมต่อลิตร

5.1.4 ความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์ ค่า HORRAT ของเอสโตรน เอสตราไดโอด และเอสโตรอด มีค่าน้อยกว่า 2 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.320, 0.219 และ 0.243 ตามลำดับ แสดงว่า ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์เอสโตรน เอสตราไดโอด และเอสโตรอดนี้ ยอมรับได้

5.1.5 Bond Elut C18 มีความเหมาะสมใช้เป็น SPE Cartridge ในการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (solid phase extraction) เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการสกัดไม่แตกต่างกับ Oasis HLB และยังมีราคาขายต่ำกว่า Oasis HLB ซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์

5.1.6 สารละลายเอสโตรเจนเมื่อผ่านแสงที่มีความเข้มตั้งแต่ 60-120 ลักซ์ สามารถสลายตัวได้มากที่สุดที่ความเข้มแสง 120 ลักซ์ ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าสารละลายเอสโตรเจนมีแนวโน้มการสลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มแสงเพิ่มสูงขึ้น

5.1.7 เมื่อทำการปรับพีเอชของสารละลายเอสโตรเจนให้มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 3-10 พบว่าที่ค่าพีเอช 10 สารเอสโตรเจนสามารถสลายตัวได้มากที่สุด ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าสารละลายเอสโตรเจนมีแนวโน้มการสลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอชสารละลายเอสโตรเจนมีค่าสูงขึ้น

5.1.8 เมื่อทำการปรับอุณหภูมิของสารละลายเอสโตรเจนอยู่ในช่วง 20-60 องศาเซลเซียส พบว่าสารละลายเอสโตรเจนสามารถสลายตัวได้มากที่สุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าสารละลายเอสโตรเจนมีแนวโน้มการสลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอชอุณหภูมิของสารละลายเอสโตรเจนมีค่าสูงขึ้น

5.1.9 จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาโฟโตไลซิส พบว่า ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order reaction) นั่นคือ อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ใช้น้ำจากแหล่งน้ำจริงแทนการใช้น้ำกลั่นในการวิเคราะห์

5.2.2 ทำการศึกษาความเข้มแสงที่เพิ่มมากขึ้น ค่าพีเอชที่สูงขึ้น และอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น เพื่อดูการสลายตัวของสารเอสโตรเจน

5.2.3 การศึกษาปฏิกิริยาโฟโตไลซิสกับสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อในกลุ่มอื่น เช่น Bisphenol-A, Alkylphenol, BPA เป็นต้น

5.2.4 การศึกษาปฏิกิริยาโฟโตไลซิสร่วมกับการใช้สารอื่นเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (โฟโตแคตตาไลซิส) เช่น ไททานเนียมไดออกไซด์

5.2.5 การศึกษาต้นทุนค่าใช้จ่ายและพลังงานในสลายตัวสารเอสโตรเจนด้วยปฏิกิริยาโฟโตไลซิส

บรรณานุกรม

- ลาวัลย์ ศรีพงษ์. 2544. การวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี. พิมพ์ครั้งที่ 1. นครปฐม : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร. หน้า 2-66.
- Adlercreutz H., Fostis Y., bannwart C., Hamalainen E., Bloigu S., Ollus A., 1986. Urinary estrogen profile determination in young Finnish vegetarian and omnivorous women. **J. Steroid. Biochem.** 24, 289-296.
- Aldo L., Alessandro B., Ilaria DL., Angelo F., Giovanna F. Alessandra M., 2004. Analytical methodologies for determining the occurrence of endocrine disrupting chemicals in sewage treatment plants and natural waters. **Analytica. Chimica. Acta.** 501, 79-88.
- AOAC Peer Verified Method Program, 1993. **Manual on Policies and Procedures.** Arlington, USA.
- Barronti C., Curini R., D'Ascenzo G., Di Corcia A., Gentili A., Samperi R., 2000. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. **Envi. Sci. Technol.** 34, 5059-5066.
- Belfroid AC., van der Horst A., Vethaak AD., Schafer AJ., Rijs GBJ., Wegener J., Cofino WP., 1999. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and wastewater in the Natherlands. **Sci. Total. Environ** 225, 101-108.
- Bushee El., Edwards DR., Moore PA., 1998. Quality of runoff from plots treated with municipal sludge and horse bedding. **Trans. ASAE.** 41, 1035-1041.
- Coleman HM., Routledge EJ., Sumpter JP., Eggins BR., Byrne JA., 2004. Rapid loss of estrogenicity of steroid estrogens by UVA photolysis and photocatalysis over an immobilized titanium dioxide catalyst. **Water Research.** 38, 3233-3240.
- Danish Environmental Protection Agency (Danish EPA), 2003. **Evaluation of analytical chemical methods for detection of estrogens in the environment.** Working Report No.44. Danish Ministry of the Environmental, Denmark.
- Desbrow C., Routledge EJ., Brighty GC., Sumpter JP., Waldock M., 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. I. Chemical fractionation and in vitro biological screening. **Environ. Sci. Technol.** 32, 1549-1558.
- Erb RE., Chew BP., Keller HF., 1977. Relative concentrations of estrogen and progesterone in milk and bold, and excretion of estrogen in urine. **J. Anim. Sci.** 46, 617-626.

- Franke R. and Franke C., 1999. Model reactor for photocatalysis degradation of persistent chemicals in ponds and waste water. **Chemosphere**. 39, 2651-2659.
- Gower DB., 1975. **Catabolism and Excretion of Steroids**. In: Makin HLJ, editor. Biochemistry of steroid hormones. Oxford: Blackwell. 127-148.
- Guang-Guo Y., Rai S. K., Ying-Jun R., 2002. Occurrence and fate of hormone steroid in the environment. **Environment International**. 28, 545-551.
- Harries, JE., Sheahan, DA., Jobling, S., Matthiessen, P., Neall, P., Routledge, EJ., Rycroft, R., Sumpter, JP., Tylor, T., 1996. A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters. **Environ. Toxicol. Chem.** 15, 1993 – 2002.
- Harries, JE., Janbakhsh, A., Jobling, S., Matthiessen, P., Sumpter, JP., Tylor, CR., 1999. Estrogenic potency of effluent from two sewage treatment works in the United Kingdom. **Environ. Toxicol. Chem.** 18, 923-937.
- Hernando, M.D., Mezcuca, M., Gómez, M.J., Malato, O., Aqüera, A., Fernández-Alba, A.R. 2004. Comparative study of analytical methods involving gas chromatography-mass spectrometry after derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of selected endocrine disrupting compounds in wastewaters. **J. Chromatogr. A**. 1047, 129-135.
- Hiroshi Y., Howard ML., Yoshihisa S., Masatoshi M., 2003. Effects of physical-chemical characteristics on the sorption of selected endocrine disruptors by dissolved organic matter surrogates. **Environ. Sci. Technol.** 37, 2646-2657.
- Isobe T., Shiraishi H., Yasuda M., Shinoda A., Suzuki H., Morita M., 2003. Determination of estrogens and their conjugates in water using solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**. 984, 195-202.
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, CR., Brighty, G., Sumpter, JP., 1998. Widespread sexual disruption in wild fish. **Environ. Sci. Technol.** 32, 2498-2506.
- Johnson AC., Belfroid A., Di Corcia A., 2000. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. **Sci. Total. Environ.** 256, 163-173.

- Jurgens MD., Holthaus KE., Johnson AC., Smith J.L., Hetheridge M., Williams RJ., 2002. The potential for estradiol and ethylestradiol degradation in English rivers. **Environ. Toxicol. Chem.** 21, 480-488.
- Kolodziej, EP., Gray, JL., Sedlak DL., 2003. Quantification of steroid hormones with pheromonal properties in municipal waste water effluent. **Environ. Toxicol. Chem.** 22(11), 2622-2629.
- Korner W., Bolz U., Sussmuth W., Hiller G., Schuller W., Hanf V., Hagemayer H., 2000. Input/Output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany. **Chemosphere.** 40, 1131-1142.
- Kuch HM. and Ballschmiter K., 2001. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the pictogram per liter range. **Environ. Sci. Technol.** 35, 3201-3206.
- Lai KM., Johnson KL., Scrimshaw MD., Lester JN., 2000. Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems. **Environ. Sci. Technol.** 34, 3890-3894.
- Ling W., Ya-Qi C., Bin H., Chun-Gang Y., Da-Zhong S., Jing S., Gui-Bin J., 2006. Determination of estrogens in water by HPLC-UV-using cloud point extraction. **Talanta.** 70, 47-51.
- Liu B., and Liu X., 2003. Direct photolysis of estrogens in aqueous solution. **Sci. Total Environ.** 320, 269-274.
- Malle, C., Daniel, P., Asmaa, MS., Sara, TK., Yves, L., 2004. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). **Sci. Total Environ.** 324, 55-66.
- Metcalf CD., Metcalfe TL., Kiparissis Y., Koenig BG., Khan C., Hughes RJ., Croley TR., March RE., Potter T., 2001. Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by *vivo* assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). **Environ. Toxicol. Chem.** 20, 297-308.
- Nasu M., Goto M., Kato H., Oshima Y., Tanaka H., 2000. Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. **Water Sci. Technol.** 43(2), 101-108.
- Nghiem LD., Schafer. AI., Waite TD., 2002. Adsorption interactions between membranes and trace contaminants. **Desalination.** 147, 269-274.

- Nichols DJ., Daniel TC., Moore Jr PA., Edwards DR., Pote DH., 1997. Runoff of estrogen hormone 17 beta-estradiol from poultry litter applied to pasture. **J. Environ. Qual.** 26, 1002-1106.
- Nichols DJ., Daniel TC., Moore Jr PA., Pote DH., 1998. Use of grass filter strips to reduce 17 beta-estradiol in runoff from fescue-applied poultry litter. **J. Soil Water Conserv.** 53, 74-77.
- Pawlowski, S., Ternes, TA., Bonerz, M., Rastall, AC., Erdinger, L., Braunbeck, T., 2004. Estrogenicity of solid phase-extracted water samples from two municipal sewage treatment plant effluents and river Rhine water using the yeast estrogen screen. **Toxicology in Vitro.** 18, 129-138.
- Peterson EW., Davis RK., Omdorff HA., 2001. 17 β -Estradiol as an indicator of animal waste contamination in mantled karst aquifers. **J. Environ. Qual.** 29, 826-34.
- Purdom, CE., Hardiman, PA., Bye, VJ., Eno, NC., Tyler, CR., Sumpter, JP., 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment work. **Chem. Ecol.** 8, 275-285.
- Quintana, J.B., Carpinteiro, J., Rodriguez, I., Lorenzo, R.A., Carro, A.M., Cela, R. 2004. Determination of natural and synthetic estrogens in water by gas chromatography with mass spectrometric detection. **J. Chromatogr. A.** 1024, 177-185.
- Refsdal AO., 2000. To treat or not to treat : a proper use of hormones and antibiotics. **Amin. Reprod. Sci.** 60/61, 109-119.
- Routledge EJ., Sheahan D., Desbrow C., Brighty GC., Waldock M., Sumpter JP., 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. *In vivo* responses in trout and roach. **Environ. Sci. Technol.** 32, 1559-1565.
- Segmuller BE., Armstrong BL., Dunphy R., Oyler AR., 2000. Identification of autoxidation and photodegradation products of ethynylestradiol by on-line HPLC-NMR and HPLC-MC. **J. Pharmaceutical Anl.** 23, 927-937.
- Shemesh M. and Shore LS. 1994. **Effect of hormones in the environment on reproduction in cattle.** In Fileds MJ, Sand RS, editors. Factors affecting calf crop. Boca Raton, FL: CRC Press. 287-297.
- Shore LS., Correll DL., Chakraborty PK., 1995a. **Relationship of fertilization with chick manure and concentrations of estrogens in small streams.** In: Steele K, editor. Animal waste and the land-water interface. Boca raton, FL: CRC Press. 155-162.

- Shore LS., Kapulnik Y., Gurevich M., Wininger S., Badamy H., Shemesh M., 1995b. Induction of phytoestrogen production in *Medicago sativa* leaves by irrigation with sewage water. **Environ. Exp. Bot.** 35, 363-369.
- Synder SA., Keith TL., Verbrugge DA., Synder EM., Gross TS., Kannan K., Giesy JP., 1999. Analytical methods for detection of selected estrogenic compounds in aqueous mixture. **Environ. Sci. Technol.** 33, 2814-2820.
- Tabata A., Kashiwa S., Ohnishi Y., Ishikawa H., Miyamoto N., Itoh M., et al., 2001. Estrogenic influence of estradiol-17 β , p-nonylphenol and bisphenol A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at detected environmental concentrations. **Water Sci. Technol.** 43(2), 109-116.
- Ternes TA., stumpf M., Mueller J., Haberer K., Wilken R-D., Servos M., 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. **Sci. Total. Environ.** 225, 81-90.
- William, CL., and Stancel, GM., 1996. "Estrogens and Progestins" Eds.: Hardman, J.G., Goodman Gilman, A., and Limbird, L.E., p.9
- Zuo Y., Zhang K., Deng Y., 2005. Occurrence and photochemical degradation of 17 α -ethinylestradiol in Acushnet River estuary. **Chemosphere.** 63, 1583-1590.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

ตารางแสดงข้อมูลการศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมใน
การดูดกลืนแสงและการคายแสงของสารละลายเอสโตรเจน

ตารางที่ ก-1 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสง (ช่วงขาว) ของสารละลาย
ไอโซโทรน ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.385	275	4.892	300	0.381
251	0.408	276	3.733	301	0.146
252	0.368	277	2.652	302	0.847
253	0.820	278	1.242	303	0.219
254	0.676	279	0.474	304	0.725
255	0.976	280	2.087	305	0.639
256	0.911	281	0.058	306	0.370
257	0.798	282	0.303	307	0.040
258	0.593	283	0.488	308	1.079
259	0.434	284	0.206	309	0.895
260	0.970	285	0.444	310	1.093
261	0.262	286	0.398	311	0.838
262	0.937	287	0.409	312	0.298
263	0.722	288	0.152	313	0.022
264	0.370	289	0.140	314	0.209
265	0.662	290	0.390	315	0.707
266	0.447	291	0.711	316	0.132
267	0.189	292	0.243	317	0.672
268	0.542	293	0.297	318	0.271
269	0.691	294	0.667	319	0.081
270	1.422	295	0.609	320	0.010
271	1.460	296	0.043	321	0.593
272	1.767	297	0.247	322	0.904
273	2.507	298	0.038	323	0.215
274	1.503	299	0.181	324	0.129

ตารางที่ ก-1 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
325	0.428	351	0.239	377	0.207
326	0.333	352	0.199	378	0.034
327	0.504	353	0.445	379	0.603
328	0.858	354	0.188	380	0.243
329	0.358	355	0.399	381	0.249
330	0.484	356	0.559	382	0.693
331	0.167	357	0.565	383	0.316
332	0.307	358	0.064	384	0.324
333	0.345	359	0.099	385	0.361
334	0.354	360	0.391	386	0.181
335	0.349	361	0.181	387	0.151
336	0.244	362	0.450	388	0.344
337	0.190	363	0.821	389	0.406
338	0.634	364	0.426	390	0.331
339	0.635	365	0.260	391	0.367
340	0.075	366	0.095	392	0.205
341	0.364	367	0.869	393	1.198
342	0.080	368	0.322	394	0.210
343	0.345	369	0.969	395	0.436
344	0.282	370	0.117	396	0.708
345	0.001	371	0.136	397	0.956
346	0.110	372	0.216	398	0.705
347	0.462	373	0.758	399	1.081
348	0.400	374	0.404	400	0.071
349	0.544	375	0.146		
350	0.228	376	0.334		

ตารางที่ ก-2 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูคลื่นแสง (ชั่วคราว) ของสารละลาย
เอสตราไดโอดอล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.566	277	0.059	304	0.577
251	0.443	278	0.808	305	0.599
252	0.500	279	0.951	306	0.667
253	0.320	280	0.462	307	0.609
254	0.774	281	0.517	308	0.351
255	0.223	282	0.126	309	0.406
256	0.213	283	0.562	310	0.215
257	0.736	284	5.076	311	0.365
258	0.745	285	2.143	312	0.441
259	0.900	286	1.198	313	0.481
260	0.789	287	1.466	314	0.346
261	0.773	288	2.795	315	0.386
262	0.397	289	1.004	316	0.232
263	0.463	290	0.119	317	0.099
264	0.140	291	0.257	318	0.206
265	0.909	292	0.165	319	0.950
266	0.151	293	0.053	320	0.259
267	0.612	294	0.072	321	0.512
268	0.564	295	0.308	322	0.693
269	0.531	296	0.040	323	0.066
270	0.233	297	0.153	324	0.099
271	0.066	298	0.098	325	0.486
272	0.474	299	0.107	326	0.127
273	0.992	300	0.338	327	0.158
274	0.973	301	0.179	328	0.381
275	0.693	302	0.311	329	0.444
276	0.112	303	0.339	330	0.034

ตารางที่ ก-2 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
331	0.382	355	0.280	379	0.003
332	0.309	356	0.212	380	0.047
333	0.610	357	0.262	381	0.454
334	0.038	358	0.362	382	0.424
335	0.355	359	0.022	383	0.355
336	0.510	360	0.246	384	0.120
337	0.175	361	0.254	385	0.015
338	0.437	362	0.079	386	0.370
339	0.012	363	0.174	387	0.023
340	0.100	364	0.359	388	0.772
341	0.289	365	0.366	389	0.505
342	0.451	366	0.162	390	0.372
343	0.221	367	0.123	391	0.307
344	0.689	368	0.584	392	0.348
345	0.237	369	0.033	393	0.328
346	0.041	370	0.448	394	0.284
347	0.495	371	0.237	395	0.141
348	0.504	372	0.048	396	0.243
349	0.003	373	0.029	397	0.759
350	0.537	374	0.180	398	0.617
351	0.393	375	0.106	399	0.110
352	0.206	376	0.031	400	0.015
353	0.391	377	0.380		
354	0.021	378	0.109		

ตารางที่ ก-3 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูคลื่นแสง (ชั่วคราว) ของสารละลาย
เอสโตรอล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.655	277	7.465	304	0.562
251	0.100	278	4.275	305	0.768
252	0.167	279	0.559	306	0.254
253	0.293	280	0.292	307	0.137
254	0.147	281	0.525	308	0.219
255	0.002	282	0.064	309	0.383
256	0.633	283	0.112	310	0.787
257	0.887	284	0.406	311	0.492
258	0.741	285	0.730	312	0.638
259	0.771	286	0.597	313	1.110
260	0.336	287	2.027	314	0.169
261	0.098	288	1.207	315	0.354
262	0.302	289	1.619	316	0.184
263	0.203	290	0.550	317	1.073
264	0.291	291	0.556	318	0.110
265	0.117	292	0.119	319	0.202
266	0.191	293	0.145	320	0.087
267	0.233	294	0.414	321	0.222
268	0.100	295	0.599	322	0.188
269	0.671	296	0.230	323	0.243
270	0.405	297	1.243	324	1.468
271	0.258	298	0.204	325	0.168
272	0.156	299	0.301	326	0.009
273	0.917	300	0.776	327	1.008
274	0.680	301	0.071	328	0.638
275	0.782	302	0.069	329	0.009
276	0.215	303	1.454	330	0.509

ตารางที่ ก-3 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
331	0.194	355	0.406	379	0.591
332	0.150	356	0.134	380	0.845
333	0.214	357	1.298	381	0.444
334	0.332	358	0.053	382	0.212
335	0.123	359	0.220	383	0.617
336	0.087	360	0.873	384	0.368
337	0.534	361	0.503	385	0.969
338	0.126	362	0.348	386	0.860
339	0.344	363	0.399	387	0.407
340	0.657	364	0.325	388	0.420
341	0.094	365	0.597	389	0.214
342	0.354	366	0.621	390	0.024
343	0.332	367	0.119	391	0.070
344	0.236	368	0.556	392	0.338
345	0.258	369	0.834	393	0.300
346	0.095	370	0.669	394	0.912
347	0.616	371	0.089	395	0.189
348	0.490	372	0.449	396	0.022
349	0.268	373	0.950	397	1.288
350	0.150	374	0.335	398	0.574
351	0.527	375	0.187	399	0.106
352	0.568	376	0.426	400	0.063
353	0.740	377	0.021		
354	0.002	378	0.618		

ตารางที่ ก-4 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลาย
ไอโซโทรน ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.385	275	0.892	300	7.600
251	0.408	276	0.733	301	7.137
252	0.368	277	0.652	302	6.626
253	0.820	278	0.242	303	8.457
254	0.676	279	0.474	304	7.504
255	0.976	280	0.087	305	6.460
256	0.911	281	1.072	306	7.003
257	0.798	282	1.953	307	6.637
258	0.593	283	1.417	308	6.110
259	0.434	284	1.945	309	6.230
260	0.970	285	2.545	310	5.256
261	0.262	286	2.382	311	6.032
262	0.937	287	2.605	312	6.162
263	0.722	288	3.485	313	6.226
264	0.370	289	3.564	314	4.846
265	0.662	290	4.014	315	5.690
266	0.447	291	4.686	316	5.731
267	0.189	292	4.308	317	6.242
268	0.542	293	5.915	318	5.704
269	0.691	294	5.975	319	5.038
270	0.422	295	6.525	320	4.507
271	0.460	296	6.291	321	4.319
272	0.767	297	5.200	322	4.259
273	0.507	298	6.722	323	4.089
274	0.503	299	6.802	324	3.599

ตารางที่ ก-4 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
325	3.069	351	0.903	377	0.584
326	2.551	352	0.285	378	0.631
327	2.847	353	0.908	379	0.329
328	1.680	354	0.173	380	0.454
329	1.511	355	0.844	381	0.384
330	1.842	356	0.245	382	0.179
331	1.275	357	0.818	383	0.996
332	0.181	358	0.669	384	0.012
333	0.056	359	0.861	385	0.491
334	0.753	360	0.211	386	0.085
335	0.733	361	0.562	387	0.864
336	0.063	362	0.042	388	0.602
337	0.760	363	0.748	389	0.763
338	0.196	364	0.362	390	0.815
339	0.210	365	0.872	391	0.959
340	0.256	366	0.136	392	0.278
341	0.344	367	0.796	393	0.674
342	0.534	368	0.275	394	0.586
343	0.417	369	0.992	395	0.861
344	0.122	370	0.914	396	0.521
345	0.880	371	0.529	397	0.391
346	0.167	372	0.939	398	0.850
347	0.920	373	0.527	399	0.132
348	0.183	374	0.067	400	0.905
349	0.906	375	0.230		
350	0.062	376	0.283		

ตารางที่ ก-5 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลาย
เอสตราไดโอด ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.566	277	0.059	304	8.645
251	0.443	278	0.808	305	7.140
252	0.500	279	0.951	306	6.706
253	0.320	280	0.462	307	7.227
254	0.774	281	0.517	308	7.395
255	0.223	282	0.126	309	6.988
256	0.213	283	0.562	310	6.613
257	0.736	284	0.076	311	6.417
258	0.745	285	0.143	312	6.562
259	0.900	286	0.198	313	6.315
260	0.789	287	0.466	314	6.283
261	0.773	288	0.652	315	5.409
262	0.397	289	2.818	316	5.097
263	0.463	290	3.776	317	5.386
264	0.140	291	4.010	318	4.423
265	0.909	292	4.057	319	4.049
266	0.151	293	4.583	320	4.222
267	0.612	294	5.064	321	3.633
268	0.564	295	6.042	322	3.041
269	0.531	296	6.422	323	2.666
270	0.233	297	7.555	324	3.201
271	0.066	298	6.921	325	2.303
272	0.474	299	6.338	326	2.119
273	0.992	300	6.662	327	1.919
274	0.973	301	7.194	328	1.979
275	0.693	302	7.457	329	2.256
276	0.112	303	7.526	330	2.508

ตารางที่ ก-5 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
331	1.102	355	0.727	379	0.174
332	1.469	356	0.780	380	0.510
333	1.238	357	0.506	381	0.635
334	0.471	358	0.106	382	0.636
335	0.812	359	0.347	383	0.654
336	0.541	360	0.842	384	0.208
337	0.257	361	0.753	385	0.937
338	0.079	362	0.160	386	0.985
339	0.917	363	0.663	387	0.320
340	0.328	364	0.798	388	0.321
341	0.457	365	0.284	389	0.690
342	0.295	366	0.271	390	0.725
343	0.653	367	0.737	391	0.420
344	0.502	368	0.476	392	0.680
345	0.212	369	0.010	393	0.810
346	0.028	370	0.781	394	0.536
347	0.188	371	0.588	395	0.136
348	0.650	372	0.041	396	0.115
349	0.759	373	0.893	397	0.717
350	0.771	374	0.066	398	0.448
351	0.395	375	0.800	399	0.821
352	0.582	376	0.458	400	0.083
353	0.832	377	0.508		
354	0.947	378	0.131		

ตารางที่ ก-6 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการคายแสง (ชั่วคราว) ของสารละลาย
เอสโตรเจน ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.655	277	0.465	304	3.464
251	0.100	278	1.275	305	3.087
252	0.167	279	0.559	306	4.557
253	0.293	280	0.292	307	2.963
254	0.147	281	0.525	308	2.735
255	0.002	282	0.064	309	2.909
256	0.633	283	0.112	310	3.405
257	0.887	284	0.406	311	3.163
258	0.741	285	0.730	312	2.356
259	0.771	286	0.597	313	3.100
260	0.336	287	2.027	314	2.933
261	0.098	288	1.207	315	2.048
262	0.302	289	1.619	316	1.939
263	0.203	290	2.051	317	2.252
264	0.291	291	1.015	318	1.354
265	0.117	292	3.349	319	2.401
266	0.191	293	2.041	320	2.378
267	0.233	294	2.593	321	1.799
268	-0.100	295	2.946	322	2.321
269	0.671	296	2.464	323	1.578
270	0.405	297	3.674	324	1.401
271	0.258	298	3.325	325	1.837
272	0.156	299	2.296	326	1.444
273	0.917	300	3.968	327	1.937
274	0.680	301	3.299	328	0.513
275	0.782	302	3.651	329	1.000
276	0.215	303	3.392	330	1.499

ตารางที่ ก-6 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
331	0.660	355	0.171	379	0.074
332	0.455	356	0.647	380	0.240
333	0.737	357	0.290	381	0.130
334	0.825	358	0.059	382	0.080
335	0.740	359	0.872	383	0.561
336	0.493	360	0.196	384	0.099
337	0.668	361	0.352	385	0.433
338	0.056	362	0.114	386	0.081
339	0.846	363	0.833	387	0.479
340	0.155	364	0.261	388	0.123
341	1.149	365	0.265	389	0.151
342	1.325	366	0.153	390	0.166
343	0.414	367	0.366	391	0.405
344	0.831	368	0.034	392	0.374
345	0.134	369	0.048	393	0.012
346	0.435	370	0.320	394	0.123
347	1.255	371	0.739	395	0.435
348	0.143	372	0.234	396	0.360
349	0.270	373	0.286	397	0.297
350	0.444	374	0.215	398	0.051
351	0.153	375	0.072	399	0.034
352	0.303	376	0.010	400	0.334
353	0.243	377	0.026		
354	0.034	378	0.727		

ตารางที่ ก-7 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูคลื่นแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง)
ของสารละลายเอสโตรเจน ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	1.385	275	4.892	300	7.600
251	1.408	276	3.733	301	7.137
252	2.368	277	2.652	302	6.626
253	1.820	278	1.242	303	8.457
254	0.676	279	0.474	304	7.504
255	2.976	280	2.087	305	6.460
256	0.911	281	1.072	306	7.003
257	1.798	282	1.953	307	6.637
258	1.593	283	1.417	308	6.110
259	1.434	284	1.945	309	6.230
260	1.970	285	2.545	310	5.256
261	1.262	286	2.382	311	6.032
262	1.937	287	2.605	312	6.162
263	1.722	288	3.485	313	6.226
264	1.370	289	3.564	314	4.846
265	1.662	290	4.014	315	5.690
266	1.447	291	4.686	316	5.731
267	1.189	292	4.308	317	6.242
268	1.542	293	5.915	318	5.704
269	1.691	294	5.975	319	5.038
270	2.422	295	6.525	320	4.507
271	1.460	296	6.291	321	4.319
272	1.767	297	5.200	322	4.259
273	2.507	298	6.722	323	4.089
274	1.503	299	6.802	324	3.599

ตารางที่ ก-7 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
325	3.069	351	0.903	377	0.584
326	2.551	352	0.285	378	0.631
327	2.847	353	0.908	379	0.329
328	1.680	354	0.173	380	0.454
329	1.511	355	0.844	381	0.384
330	1.842	356	0.245	382	0.179
331	1.275	357	0.818	383	0.996
332	0.181	358	0.669	384	0.012
333	0.056	359	0.861	385	0.491
334	0.753	360	0.211	386	0.085
335	0.733	361	0.562	387	0.864
336	0.063	362	0.042	388	0.602
337	0.760	363	0.748	389	0.763
338	0.196	364	0.362	390	0.815
339	0.210	365	0.872	391	0.959
340	0.256	366	0.136	392	0.278
341	0.344	367	0.796	393	0.674
342	0.534	368	0.275	394	0.586
343	0.417	369	0.992	395	0.861
344	0.122	370	0.914	396	0.521
345	0.880	371	0.529	397	0.391
346	0.167	372	0.939	398	0.850
347	0.920	373	0.527	399	0.132
348	0.183	374	0.067	400	0.905
349	0.906	375	0.230		
350	0.062	376	0.283		

ตารางที่ ก-8 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูคลื่นแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง)
ของสารละลายเอสตราไดออล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.566	277	0.059	304	8.645
251	0.443	278	0.808	305	7.140
252	0.500	279	0.951	306	6.706
253	0.320	280	0.462	307	7.227
254	0.774	281	0.517	308	7.395
255	0.223	282	0.126	309	6.988
256	0.213	283	0.562	310	6.613
257	0.736	284	5.076	311	6.417
258	0.745	285	2.143	312	6.562
259	0.900	286	1.198	313	6.315
260	0.789	287	1.466	314	6.283
261	0.773	288	2.652	315	5.409
262	0.397	289	2.818	316	5.097
263	0.463	290	3.776	317	5.386
264	0.140	291	4.010	318	4.423
265	0.909	292	4.057	319	4.049
266	0.151	293	4.583	320	4.222
267	0.612	294	5.064	321	3.633
268	0.564	295	6.042	322	3.041
269	0.531	296	6.422	323	2.666
270	0.233	297	7.555	324	3.201
271	0.066	298	6.921	325	2.303
272	0.474	299	6.338	326	2.119
273	0.992	300	6.662	327	1.919
274	0.973	301	7.194	328	1.979
275	0.693	302	7.457	329	2.256
276	0.112	303	7.526	330	2.508

ตารางที่ ก-8 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
331	1.102	355	0.727	379	0.174
332	1.469	356	0.780	380	0.510
333	1.238	357	0.506	381	0.635
334	0.471	358	0.106	382	0.636
335	0.812	359	0.347	383	0.654
336	0.541	360	0.842	384	0.208
337	0.257	361	0.753	385	0.937
338	0.079	362	0.160	386	0.985
339	0.917	363	0.663	387	0.320
340	0.328	364	0.798	388	0.321
341	0.457	365	0.284	389	0.690
342	0.295	366	0.271	390	0.725
343	0.653	367	0.737	391	0.420
344	0.502	368	0.476	392	0.680
345	0.212	369	0.010	393	0.810
346	0.028	370	0.781	394	0.536
347	0.188	371	0.588	395	0.136
348	0.650	372	0.041	396	0.115
349	0.759	373	0.893	397	0.717
350	0.771	374	0.066	398	-1.448
351	0.395	375	0.800	399	-1.821
352	0.582	376	0.458	400	-2.083
353	0.832	377	0.508		
354	0.947	378	0.131		

ตารางที่ ก-9 ค่าที่ได้จากการสแกนหาความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงและการคายแสง (ที่แท้จริง)
ของสารละลายเอสโตรอล ตั้งแต่ 250-400 นาโนเมตร

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.655	277	7.465	304	3.464
251	-0.100	278	4.275	305	3.087
252	-0.167	279	0.559	306	4.557
253	0.293	280	-0.292	307	2.963
254	0.147	281	0.525	308	2.735
255	-0.002	282	0.064	309	2.909
256	-0.633	283	0.112	310	3.405
257	0.887	284	0.406	311	3.163
258	-0.741	285	0.730	312	2.356
259	-0.771	286	0.597	313	3.100
260	0.336	287	2.027	314	2.933
261	-0.098	288	1.207	315	2.048
262	0.302	289	1.619	316	1.939
263	-0.203	290	2.051	317	2.252
264	0.291	291	1.015	318	1.354
265	0.117	292	3.349	319	2.401
266	0.191	293	2.041	320	2.378
267	0.233	294	2.593	321	1.799
268	-0.100	295	2.946	322	2.321
269	0.671	296	2.464	323	1.578
270	-0.405	297	3.674	324	1.401
271	0.258	298	3.325	325	1.837
272	-0.156	299	2.296	326	1.444
273	-0.917	300	3.968	327	1.937
274	0.680	301	3.299	328	0.513
275	-0.782	302	3.651	329	1.000
276	0.215	303	3.392	330	1.499

ตารางที่ ก-9 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
331	0.660	355	0.171	379	-0.074
332	0.455	356	0.647	380	-0.240
333	0.737	357	0.290	381	-0.130
334	0.825	358	-0.059	382	0.080
335	0.740	359	0.872	383	-0.561
336	0.493	360	0.196	384	0.099
337	0.668	361	-0.352	385	0.433
338	-0.056	362	-0.114	386	0.081
339	0.846	363	0.833	387	-0.479
340	0.155	364	-0.261	388	0.123
341	1.149	365	0.265	389	-0.151
342	1.325	366	-0.153	390	-0.166
343	0.414	367	0.366	391	0.405
344	0.831	368	-0.034	392	-0.374
345	0.134	369	-0.048	393	0.012
346	0.435	370	0.320	394	0.123
347	1.255	371	0.739	395	-0.435
348	0.143	372	0.234	396	-0.360
349	0.270	373	0.286	397	0.297
350	-0.444	374	-0.215	398	-0.051
351	0.153	375	-0.072	399	0.034
352	-0.303	376	-0.010	400	-0.334
353	0.243	377	-0.026		
354	0.034	378	0.727		

ตารางที่ ก-10 ค่าความยาวคลื่นของสารเอสโตรเจนที่ได้เมื่อทำการตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูคลื่นแสงและการคายแสงของสารละลายผสมเอสโตรเจน

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.385	275	4.892	300	7.600
251	0.408	276	3.733	301	7.137
252	0.368	277	2.652	302	6.626
253	0.820	278	1.242	303	8.457
254	0.676	279	0.474	304	7.504
255	0.976	280	1.087	305	6.460
256	0.911	281	1.072	306	7.003
257	0.798	282	0.953	307	6.637
258	0.593	283	1.417	308	6.110
259	0.434	284	0.945	309	6.230
260	0.970	285	2.545	310	5.256
261	1.262	286	2.382	311	6.032
262	0.937	287	2.605	312	6.162
263	0.722	288	3.485	313	6.226
264	1.370	289	3.564	314	4.846
265	0.662	290	4.014	315	5.690
266	0.447	291	4.686	316	5.731
267	1.189	292	4.308	317	6.242
268	0.542	293	5.915	318	5.704
269	0.691	294	5.975	319	5.038
270	0.422	295	6.525	320	4.507
271	1.460	296	6.291	321	4.319
272	1.767	297	5.200	322	4.259
273	2.507	298	6.722	323	4.089
274	1.503	299	6.802	324	3.599

ตารางที่ ก-10 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
325	3.069	351	0.903	377	0.584
326	2.551	352	0.285	378	0.631
327	2.847	353	0.908	379	0.329
328	1.680	354	0.173	380	0.454
329	1.511	355	0.844	381	0.384
330	1.842	356	0.245	382	0.179
331	1.275	357	0.818	383	0.996
332	0.181	358	0.669	384	0.012
333	0.056	359	0.861	385	0.491
334	0.753	360	0.211	386	0.085
335	0.733	361	0.562	387	0.864
336	0.063	362	0.042	388	0.602
337	0.760	363	0.748	389	0.763
338	0.196	364	0.362	390	0.815
339	0.210	365	0.872	391	0.959
340	0.256	366	0.136	392	0.278
341	0.344	367	0.796	393	0.674
342	0.534	368	0.275	394	0.586
343	0.417	369	0.992	395	0.861
344	0.122	370	0.914	396	0.521
345	0.880	371	0.529	397	0.391
346	0.167	372	0.939	398	0.850
347	0.920	373	0.527	399	0.132
348	0.183	374	0.067	400	0.905
349	0.906	375	0.230		
350	0.062	376	0.283		

ตารางที่ ก-11 ค่าความยาวคลื่นของสารเอสตราไดโอดอลที่ได้เมื่อทำการตั้งค่าความยาวคลื่นในการ
ดูคลื่นแสงและการคายแสงของสารละลายผสมเอสโตรเจน

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.566	277	0.059	304	8.645
251	0.443	278	0.808	305	7.140
252	0.500	279	0.951	306	6.706
253	0.320	280	0.462	307	7.227
254	0.774	281	0.517	308	7.395
255	0.223	282	0.126	309	6.988
256	0.213	283	0.562	310	6.613
257	0.736	284	5.076	311	6.417
258	0.745	285	2.143	312	6.562
259	0.900	286	1.198	313	6.315
260	0.789	287	1.466	314	6.283
261	0.773	288	2.652	315	5.409
262	0.397	289	2.818	316	5.097
263	0.463	290	3.776	317	5.386
264	0.140	291	4.010	318	4.423
265	0.909	292	4.057	319	4.049
266	0.151	293	4.583	320	4.222
267	0.612	294	5.064	321	3.633
268	0.564	295	6.042	322	3.041
269	0.531	296	6.422	323	2.666
270	0.233	297	7.555	324	3.201
271	0.066	298	6.921	325	2.303
272	0.474	299	6.338	326	2.119
273	0.992	300	6.662	327	1.919
274	0.973	301	7.194	328	1.979
275	0.693	302	7.457	329	2.256
276	0.112	303	7.526	330	2.508

ตารางที่ ก-11 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
331	1.102	355	0.727	379	0.174
332	1.469	356	0.780	380	0.510
333	1.238	357	0.506	381	0.635
334	0.471	358	0.106	382	0.636
335	0.812	359	0.347	383	0.654
336	0.541	360	0.842	384	0.208
337	0.257	361	0.753	385	0.937
338	0.079	362	0.160	386	0.985
339	0.917	363	0.663	387	0.320
340	0.328	364	0.798	388	0.321
341	0.457	365	0.284	389	0.690
342	0.295	366	0.271	390	0.725
343	0.653	367	0.737	391	0.420
344	0.502	368	0.476	392	0.680
345	0.212	369	0.010	393	0.810
346	0.028	370	0.781	394	0.536
347	0.188	371	0.588	395	0.136
348	0.650	372	0.041	396	0.115
349	0.759	373	0.893	397	0.717
350	0.771	374	0.066	398	1.448
351	0.395	375	0.800	399	1.821
352	0.582	376	0.458	400	2.083
353	0.832	377	0.508		
354	0.947	378	0.131		

ตารางที่ ก-12 ค่าความยาวคลื่นของสารเอสโตรเจนที่ได้อ่านได้เมื่อทำการตั้งค่าความยาวคลื่นในการ
ดูคลื่นแสงและการคายแสงของสารละลายผสมเอสโตรเจน

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
250	0.655	277	7.465	304	3.464
251	0.100	278	4.275	305	3.087
252	0.167	279	0.559	306	4.557
253	0.293	280	0.292	307	2.963
254	0.147	281	0.525	308	2.735
255	0.002	282	0.064	309	2.909
256	0.633	283	0.112	310	3.405
257	0.887	284	0.406	311	3.163
258	0.741	285	0.730	312	2.356
259	0.771	286	0.597	313	3.100
260	0.336	287	2.027	314	2.933
261	0.098	288	1.207	315	2.048
262	0.302	289	1.619	316	1.939
263	0.203	290	2.051	317	2.252
264	0.291	291	1.015	318	1.354
265	0.117	292	3.349	319	2.401
266	0.191	293	2.041	320	2.378
267	0.233	294	2.593	321	1.799
268	0.100	295	2.946	322	2.321
269	0.671	296	2.464	323	1.578
270	0.405	297	3.674	324	1.401
271	0.258	298	3.325	325	1.837
272	0.156	299	2.296	326	1.444
273	0.917	300	3.968	327	1.937
274	0.680	301	3.299	328	0.513
275	0.782	302	3.651	329	1.000
276	0.215	303	3.392	330	1.499

ตารางที่ ก-12 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่าที่อ่านได้
331	0.660	355	0.171	379	0.074
332	0.455	356	0.647	380	0.240
333	0.737	357	0.290	381	0.130
334	0.825	358	0.059	382	0.080
335	0.740	359	0.872	383	0.561
336	0.493	360	0.196	384	0.099
337	0.668	361	0.352	385	0.433
338	0.056	362	0.114	386	0.081
339	0.846	363	0.833	387	0.479
340	0.155	364	0.261	388	0.123
341	1.149	365	0.265	389	0.151
342	1.325	366	0.153	390	0.166
343	0.414	367	0.366	391	0.405
344	0.831	368	0.034	392	0.374
345	0.134	369	0.048	393	0.012
346	0.435	370	0.320	394	0.123
347	1.255	371	0.739	395	0.435
348	0.143	372	0.234	396	0.360
349	0.270	373	0.286	397	0.297
350	0.444	374	0.215	398	0.051
351	0.153	375	0.072	399	0.034
352	0.303	376	0.010	400	0.334
353	0.243	377	0.026		
354	0.034	378	0.727		

ภาคผนวก ข.

ตารางแสดงข้อมูลการทดสอบชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสม
ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออโรเมทรี

ตารางที่ ข-1 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสโตรน โดยใช้เอททิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.411	0.402
1	0.549	0.727
3	0.728	1.321
5	1.827	2.335
10	3.868	3.354

ตารางที่ ข-2 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสตราไดโอด โดยใช้เอททิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.082	0.110
1	0.388	0.201
3	1.569	0.918
5	2.383	2.777
10	5.378	4.679

ตารางที่ ข-3 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสโตรอด โดยใช้เอททิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.001	0.253
1	1.342	1.931
3	2.245	2.999
5	3.229	3.570
10	6.388	6.728

ตารางที่ ข-4 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสโตรน โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.235	0.315
1	1.876	0.830
3	6.971	6.445
5	9.473	9.772
10	19.693	19.812

ตารางที่ ข-5 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสตราไดโอด โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.031	0.107
1	1.933	1.569
3	7.194	7.447
5	10.652	10.788
10	22.821	22.181

ตารางที่ ข-6 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสโตรอด โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.139	0.079
1	3.392	2.739
3	10.471	9.403
5	14.050	14.567
10	28.480	27.086

ตารางที่ ข-7 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสโตรน โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.152	0.156
1	0.240	0.485
3	0.510	0.951
5	1.535	0.786
10	1.668	1.126

ตารางที่ ข-8 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสตราไดออล โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.071	0.123
1	0.330	0.354
3	1.130	1.718
5	1.589	2.116
10	2.301	2.691

ตารางที่ ข-9 ผลของความเข้มของการเปล่งแสง (Relative luminescent intensity) ของสาร
เอสโตรออล โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 1	ความเข้มของการเปล่งแสง ครั้งที่ 2
0	0.071	0.295
1	1.430	1.300
3	1.830	2.302
5	3.389	3.209
10	5.901	5.921

ภาคผนวก ก.

ตารางแสดงข้อมูลการทดสอบความเหมาะสม
ของวิธีวิเคราะห์

ตารางที่ ค-1 ผลของความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection) ของสารละลายเอสโตรน

ครั้งที่	ความเข้มของการเปล่งแสง
1	0.022
2	0.019
3	0.018
4	0.028
5	0.021
6	0.017
7	0.013
8	0.003
9	0.023
10	0.018
11	0.028
12	0.027
13	0.019
14	0.024
15	0.028
16	0.005
17	0.014
18	0.027
19	0.011
20	0.014

ตารางที่ ก-2 ผลของความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection) ของสารละลายเอสตราไดโอด

ครั้งที่	ความเข้มของการเปล่งแสง
1	0.011
2	0.018
3	0.009
4	0.019
5	0.029
6	0.015
7	0.007
8	0.015
9	0.011
10	0.011
11	0.015
12	0.013
13	0.023
14	0.011
15	0.009
16	0.021
17	0.018
18	0.008
19	0.011
20	0.015

ตารางที่ ก-3 ผลของความเข้มข้นต่ำสุดในระดับที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection) ของสารละลายเอสโตรเจน

ครั้งที่	ความเข้มข้นของการเปลี่ยนแปลง
1	0.018
2	0.019
3	0.007
4	0.017
5	0.013
6	0.015
7	0.008
8	0.009
9	0.013
10	0.011
11	0.024
12	0.013
13	0.025
14	0.012
15	0.016
16	0.006
17	0.011
18	0.029
19	0.014
20	0.021

ตารางที่ ก-4 ผลของความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ของสารละลายมาตรฐานเอสโตรนความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ครั้งที่	ความเข้มของการเปล่งแสง
1	24.117
2	23.832
3	24.691
4	25.661
5	24.115
6	26.068
7	25.324
8	24.767
9	26.210
10	25.333
11	25.615
12	24.834
13	24.815
14	23.992
15	24.533
16	24.988
17	25.012
18	24.324
19	24.887
20	24.913

ตารางที่ ค-5 ผลของความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ของสารละลายมาตรฐานเอสตราไดออล
ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ครั้งที่	ความเข้มของการเปล่งแสง
1	23.218
2	23.411
3	23.123
4	24.095
5	23.915
6	23.083
7	24.065
8	22.993
9	23.167
10	23.178
11	24.023
12	24.060
13	23.188
14	23.719
15	23.554
16	24.025
17	22.888
18	23.178
19	23.615
20	23.004

ตารางที่ ค-6 ผลของความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ของสารละลายมาตรฐานเอสไตรอดล
ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ครั้งที่	ความเข้มของการเปล่งแสง
1	25.332
2	26.117
3	26.345
4	25.932
5	25.814
6	25.773
7	26.421
8	24.999
9	25.108
10	24.879
11	25.215
12	25.554
13	25.724
14	25.587
15	26.115
16	26.581
17	26.701
18	25.978
19	26.110
20	26.004

ภาคผนวก ง.

ตารางแสดงข้อมูลการทดสอบประสิทธิภาพในการสกัด
เอสโตรเจนด้วย SPE Cartridge 2 ชนิด

ตารางที่ ง-1 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรนด้วย Bond Elut C18

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่สกัดได้ (มก./ล.)
1	4.747
2	4.683
3	4.927

ตารางที่ ง-2 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสตราไดออกด้วย Bond Elut C18

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่สกัดได้ (มก./ล.)
1	4.837
2	4.985
3	5.034

ตารางที่ ง-3 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรอดด้วย Bond Elut C18

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่สกัดได้ (มก./ล.)
1	4.940
2	5.041
3	4.872

ตารางที่ ง-4 ผลการคำนวณการวิเคราะห์ห้ร้อยละปริมาณการกลับคืนของสารละลายเอสโตรเจน โดยใช้ SPE Cartridge ชนิด Bond Elut C18 ในการสกัด

สารละลาย	สมการเส้นตรง	ปริมาณเอสโตรเจน (mg/L)		% Recovery
		ปริมาณจริง	ปริมาณที่สกัดได้	
เอสโตรน	$y=4.8026X+1.5024$	5.000	4.862	95.709 ± 0.127
เอสตราไดออก	$y=4.5251X+1.2350$	5.000	4.952	99.042 ± 0.103
เอสโตรอด	$y=4.8280X+1.8700$	5.000	4.951	99.020 ± 0.085

ตารางที่ ง-5 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรนด้วย Oasis HLB

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่สกัดได้ (มก./ล.)
1	4.734
2	4.820
3	4.962

ตารางที่ ง-6 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสตราไดโอดด้วย Oasis HLB

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่สกัดได้ (มก./ล.)
1	4.835
2	4.987
3	4.812

ตารางที่ ง-7 ผลของประสิทธิภาพในการสกัดเอสโตรอดด้วย Oasis HLB

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่สกัดได้ (มก./ล.)
1	5.043
2	4.777
3	4.888

ตารางที่ ง-8 ผลการคำนวณการวิเคราะห์ร้อยละปริมาณการกลับคืนของสารละลายเอสโตรเจน โดยใช้ SPE Cartridge ชนิด Oasis HLB ในการสกัด

สารละลาย	สมการเส้นตรง	ปริมาณเอสโตรเจน (mg/L)		% Recovery
		ปริมาณจริง	ปริมาณที่สกัดได้	
เอสโตรน	$y=4.8026X+1.5024$	5.000	4.839	96.774 ± 0.115
เอสตราไดโอด	$y=4.5251X+1.2350$	5.000	4.878	97.560 ± 0.095
เอสโตรอด	$y=4.8280X+1.8700$	5.000	4.903	98.054 ± 0.134

ภาคผนวก จ.

ตารางแสดงข้อมูลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัว
ของเอสโตรเจนโดยตรงด้วยแสง

ตารางที่ จ-1 ผลของความเข้มของแสงจากหลอดยูวี (UV-light) ที่มีผลต่อการสลายตัวของสารละลายเอสโตรเจน

ความเข้มแสง	สาร	ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่เหลือในชุดควบคุม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นที่เหลือในชุดทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
			0 นาที	500 นาที	0 นาที	500 นาที
60 ลักซ์	E1	1	4.595	4.735	4.595	4.279
		2	4.717	4.551	4.717	4.223
	% การสลายตัว		NA	0.022	NA	8.836
	E2	1	4.929	4.790	4.929	2.165
		2	4.889	4.900	4.889	1.989
	% การสลายตัว		NA	0.000	NA	57.690
	E3	1	4.898	5.115	4.898	4.468
		2	4.994	4.811	4.994	4.592
	% การสลายตัว		NA	0.000	NA	9.815
	90 ลักซ์	E1	1	4.554	4.728	4.554
2			4.478	4.655	4.478	3.505
% การสลายตัว		NA	0.000	NA	24.690	
E2		1	4.977	4.862	4.977	1.356
		2	4.764	4.935	4.764	0.927
% การสลายตัว		NA	0.000	NA	76.555	
E3		1	4.907	4.977	4.907	2.878
		2	5.009	5.032	5.009	3.010
% การสลายตัว		NA	0.000	NA	40.621	
120 ลักซ์		E1	1	4.517	4.499	4.517
	2		4.662	4.660	4.662	2.579
	% การสลายตัว		NA	0.196	NA	42.994
	E2	1	4.806	4.776	4.806	0.128
		2	4.882	4.839	4.882	0.135
	% การสลายตัว		NA	0.764	NA	97.275
	E3	1	4.920	4.907	4.920	1.880
		2	4.977	4.988	4.977	1.933
	% การสลายตัว		NA	0.020	NA	61.467

ตารางที่ จ-2 ผลของค่าพีเอชที่มีผลต่อการสลายตัวของสารละลายไฮโดรเจน

ค่าความเป็นกรด-ด่าง	สาร	ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่เหลือในชุดควบคุม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นที่เหลือในชุดทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
			0 นาที	500 นาที	0 นาที	500 นาที
pH 3	E1	1	5.127	5.072	5.127	3.488
		2	5.001	5.194	5.001	3.265
		% การสลายตัว	NA	0.000	NA	33.709
	E2	1	4.801	5.332	4.801	0.503
		2	5.022	5.377	5.022	0.612
		% การสลายตัว	NA	0.000	NA	88.637
	E3	1	5.014	5.161	5.014	2.908
		2	4.790	5.239	4.790	2.648
		% การสลายตัว	NA	0.000	NA	43.330
pH 7	E1	1	4.847	4.585	4.847	3.262
		2	4.820	4.721	4.820	2.887
		% การสลายตัว	NA	3.744	NA	36.388
	E2	1	4.890	4.983	4.890	0.319
		2	4.976	4.807	4.976	0.308
		% การสลายตัว	NA	0.770	NA	93.635
	E3	1	5.080	5.037	5.080	2.451
		2	4.911	5.182	4.911	2.357
		% การสลายตัว	NA	1.695	NA	51.872
pH 10	E1	1	4.869	4.905	4.869	2.787
		2	4.922	4.722	4.922	2.876
		% การสลายตัว	NA	1.695	NA	42.157
	E2	1	4.880	4.799	4.880	0.161
		2	4.992	4.859	4.992	0.182
		% การสลายตัว	NA	2.168	NA	96.536
	E3	1	5.016	4.904	5.016	2.103
		2	4.936	4.914	4.936	1.949
		% การสลายตัว	NA	1.346	NA	59.285

ตารางที่ จ-3 ผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการสลายตัวของสารละลายเอสโตรเจน

อุณหภูมิ	สาร	ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่เหลือใน ชุดควบคุม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นที่เหลือใน ชุดทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
			0 นาที	500 นาที	0 นาที	500 นาที
20 ° C	E1	1	5.244	5.269	5.244	4.157
		2	5.271	5.238	5.271	4.181
	% การสลายตัว		NA	0.076	NA	20.711
	E2	1	5.146	5.080	5.146	0.613
		2	5.166	5.188	5.166	0.692
	% การสลายตัว		NA	0.427	NA	87.355
	E3	1	5.308	5.326	5.308	3.429
		2	5.415	5.272	5.415	3.511
		% การสลายตัว		NA	0.000	NA
30 ° C	E1	1	5.017	4.953	5.017	3.647
		2	4.927	5.054	4.927	3.817
	% การสลายตัว		NA	0.000	NA	24.940
	E2	1	4.971	4.918	4.971	0.837
		2	5.119	4.954	5.119	0.902
	% การสลายตัว		NA	0.000	NA	82.121
	E3	1	5.103	5.100	5.103	2.911
		2	5.049	4.973	5.049	2.817
		% การสลายตัว		NA	0.788	NA
40 ° C	E1	1	5.097	4.797	5.097	3.113
		2	4.977	4.592	4.977	3.233
	% การสลายตัว		NA	6.810	NA	37.006
	E2	1	4.997	4.511	4.997	0.342
		2	5.047	4.667	5.047	0.311
	% การสลายตัว		NA	8.622	NA	93.489
	E3	1	5.186	4.705	5.186	2.526
		2	5.135	4.672	5.135	2.172
		% การสลายตัว		NA	9.165	NA

ตารางที่ จ-3 (ต่อ)

อุณหภูมิ	สาร	ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นที่เหลือใน ชุดควบคุม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นที่เหลือใน ชุดทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
			0 นาที	500 นาที	0 นาที	500 นาที
50 ° C	E1	1	5.163	4.200	5.163	2.934
		2	5.202	4.039	5.202	3.310
	% การสลายตัว		NA	20.509	NA	39.765
	E2	1	5.009	3.871	5.009	0.148
		2	5.105	3.673	5.105	0.189
	% การสลายตัว		NA	25.410	NA	96.678
	E3	1	5.094	4.056	5.094	2.292
		2	5.220	4.013	5.220	2.309
	% การสลายตัว		NA	21.602	NA	55.400
60 ° C	E1	1	5.276	3.219	5.276	1.630
		2	5.053	3.557	5.053	1.536
	% การสลายตัว		NA	34.405	NA	69.351
	E2	1	5.148	3.420	5.148	0.019
		2	5.177	3.389	5.177	0.010
	% การสลายตัว		NA	34.050	NA	99.709
	E3	1	5.046	3.255	5.046	1.163
		2	5.180	3.358	5.180	1.171
	% การสลายตัว		NA	35.341	NA	77.176

ภาคผนวก ฉ.

ตารางแสดงข้อมูลการศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา
โฟโตไลซิสของเอสโตรเจน

ตารางที่ ฉ-1 ความเข้มข้นที่เหลือหลังเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสโตรน

เวลา (นาท)	ความเข้มข้นที่เหลือในชุดควบคุม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นที่เหลือในชุดทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
0	5.414	5.353	5.095	5.051
10	5.296	5.276	4.831	4.986
30	5.006	4.937	4.705	4.510
60	4.695	4.769	3.996	3.970
120	4.296	4.288	3.581	3.689
240	3.838	3.908	2.612	2.670
360	3.503	3.469	1.922	1.845
480	2.822	2.866	1.236	1.378
500	2.693	2.535	1.096	1.286

ตารางที่ ฉ-2 ความเข้มข้นที่เหลือหลังเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสตราไดโอด

เวลา (นาท)	ความเข้มข้นที่เหลือในชุดควบคุม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นที่เหลือในชุดทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
0	5.232	5.135	5.013	4.994
10	5.017	5.025	4.890	4.852
30	4.750	4.883	4.564	4.478
60	4.665	4.695	3.939	3.691
120	4.157	4.079	3.277	3.135
240	3.638	3.665	1.979	1.971
360	3.133	3.187	1.004	1.121
480	2.782	2.825	0.667	0.732
500	2.596	2.693	0.534	0.613

ตารางที่ ๓-3 ความเข้มข้นที่เหลือหลังเกิดปฏิกิริยาโฟโตไลซิสของสารละลายเอสโตรอล

เวลา (นาที)	ความเข้มข้นที่เหลือในชุดควบคุม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นที่เหลือในชุดทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
0	5.432	5.380	4.980	5.014
10	5.299	5.186	4.924	4.871
30	4.882	4.969	4.472	4.478
60	4.554	4.505	3.890	3.835
120	4.301	4.313	3.552	3.524
240	3.853	3.828	2.603	2.587
360	3.617	3.662	1.815	1.749
480	3.129	3.088	1.238	1.292
500	2.939	2.907	1.153	1.104

ตารางที่ ๓-4 สัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายที่เป็นฟังก์ชันกับเวลา

เวลา (นาที)	$-\ln C/C_0$ (mol/L)		
	E1	E2	E3
0	-0.015	-0.001	0.001
10	0.018	0.026	0.021
30	0.082	0.101	0.111
60	0.227	0.270	0.258
120	0.319	0.444	0.346
240	0.638	0.929	0.656
360	0.976	1.548	1.032
480	1.342	1.966	1.374
500	1.435	2.165	1.488

ภาคผนวก ช.

ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ข-1 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ t-test ของ การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัด Bond Elut C18 และ Oasis HLB

สาร	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	<i>P</i>	ผล
Estrone	0.620	0.05	ND
Estradiol	0.411	0.05	ND
Estriol	0.625	0.05	ND

ND = ขอมรับสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-2 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของความเข้มข้นต่อการสลายตัวของเอสโตรน

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	<i>P</i>	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.370	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.612	0.05	ND
ชุดทดลอง 0 นาที	0.370	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.001	0.05	D

ND = ขอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-3 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของความเข้มข้นต่อการสลายตัวของเอสตราไดโอด

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	<i>P</i>	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.798	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.420	0.05	ND
ชุดทดลอง 0 นาที	0.798	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.005	0.05	D

ND = ขอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-4 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของความเข้มข้นต่อการสลายตัวของเอสไทรอล

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	P	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.979	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.906	0.05	ND
ชุดทดลอง 0 นาที	0.979	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.000	0.05	D

ND = ขอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-5 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของค่าพีเอชต่อการสลายตัวของเอสโตรน

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	P	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.056	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.053	0.05	ND
ชุดทดลอง 0 นาที	0.056	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.025	0.05	D

ND = ขอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-6 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของค่าพีเอชต่อการสลายตัวของเอสตราไดออล

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	P	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.970	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.062	0.05	ND
ชุดทดลอง 0 นาที	0.970	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.008	0.05	D

ND = ขอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-7 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของค่าพีเอชต่อการสลายตัวของเอสไตรออล

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	<i>P</i>	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.734	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.078	0.05	ND
ชุดทดลอง 0 นาที	0.734	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.023	0.05	D

ND = ยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-8 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของเอสโตรน

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	<i>P</i>	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.097	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.000	0.05	D
ชุดทดลอง 0 นาที	0.097	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.000	0.05	D

ND = ยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-9 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของเอสตราไดออล

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	<i>P</i>	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.172	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.000	0.05	D
ชุดทดลอง 0 นาที	0.172	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.000	0.05	D

ND = ยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ตารางที่ ข-10 ผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ANOVA ของการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของเอสตราไดออล

กลุ่ม	ผลการทดสอบทางสถิติ		
	Sig.	<i>P</i>	ผล
ชุดควบคุม 0 นาที	0.057	0.05	ND
ชุดควบคุม 500 นาที	0.000	0.05	D
ชุดทดลอง 0 นาที	0.057	0.05	ND
ชุดทดลอง 500 นาที	0.000	0.05	D

ND = ยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) D = ปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล	นางสาววิณา จิตรนิรัตน์
วัน/ เดือน/ ปีเกิด	22 กันยายน พ.ศ. 2525
ที่อยู่	21 หมู่ 1 ต.นาจอมเทียน อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี 20250
ประวัติการศึกษา	
ปริญญาตรี	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (เกียรตินิยมอันดับ 2) มหาวิทยาลัยราชภัฏราชนครินทร์ จ.ฉะเชิงเทรา พ.ศ.2546
มัธยมศึกษา	โรงเรียนสาธิต “พิบูลบำเพ็ญ” มหาวิทยาลัยบูรพา พ.ศ.2542
ประสบการณ์การทำงาน	
พ.ศ.2546	ฝึกประสบการณ์วิชาชีพวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมที่ โรงแยกก๊าซธรรมชาติ ระยอง บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน)
พ.ศ.2548-2550	อาจารย์ผู้ช่วยสอน (TA) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
การนำเสนอผลงาน	
พ.ศ. 2547	นำเสนอผลงานเรื่อง Effect of ozonation on bacteria and phytoplankton in the water from shrimp pond ในงานประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประทศไทย ครั้งที่ 30 ระหว่างวันที่ 18 – 20 ตุลาคม พ.ศ. 2547 ณ อาคารอิมแพค เมืองทองธานี