



การวิเคราะห์ปริมาณปรอทอินทรีย์ในน้ำด้วยวิธีการสกัดแบบ Solidified floating organic drop microextraction โดยเทคนิคอิเล็กโตรเทอร์มอลอะตอมมิก แอบซอร์พชันสเปกโตรเมตรี

อภิญา ตักดีอนุพงศ์กุล, วิภารัตน์ เชื้อชวด ชัยสิทธิ์*, รัตนา สนั่นเมือง และยุทธพงษ์ อุดแน่น

Determination of Inorganic Mercury in Water Samples by Solidified Floating Organic Drop Microextraction with Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry

Apinya Sakanupongkul, Wipharat Chuachud Chaiyasith*, Ratana Sananmuang and Yuthapong Udnan

ภาควิชาเคมี และสถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านปิโตรเลียม ปิโตรเคมีและวัสดุขั้นสูง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

Department of Chemistry and Research Center for Academic Excellence in Petroleum, Petrochemical and Advanced Materials, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok, 65000

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

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการสกัดแบบ Solidified floating organic drop microextraction (SFODME) เพื่อเพิ่มความเข้มข้นและวิเคราะห์ปริมาณปรอทอินทรีย์ (Hg(II)) ในตัวอย่างน้ำ โดยใช้ 4-ไนโตร-ออร์โธ-ฟีนิลลีนไดเอมีน (4-NOPD) เป็น คีเลตติ้งเอเจนต์ และตรวจวัดด้วยเทคนิคอิเล็กโตรเทอร์มอลอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรเมตรี ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ได้แก่ ผลของพีเอช ชนิดและปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์ ความเข้มข้นของสารคีเลต เวลาและความเร็วรอบในการคนสารละลาย จากผลการทดลองพบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานอยู่ในช่วง 0.83 – 8.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์มีค่าเท่ากับ 0.25 ไมโครกรัมต่อลิตร ค่าประสิทธิภาพในการเพิ่มความเข้มข้นเท่ากับ 25.70 ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) มีค่าเท่ากับ 2.04 ที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อลิตร (n = 5) และได้นำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นไปวิเคราะห์ปริมาณปรอทอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำ โดยทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยการศึกษาค่าร้อยละการกลับคืน พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 80.8 – 101.7%

คำสำคัญ: ปรอท การสกัดแบบ SFODME อิเล็กโตรเทอร์มอลอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรเมตรี 4-ไนโตร-ออร์โธ-ฟีนิลลีนไดเอมีน

Abstract

The objective of the present work was to develop the extraction method by solidified floating organic drop microextraction (SFODME) for the determination of inorganic mercury (Hg(II)) in water samples using 4-nitro-o-phenylenediamine (4-NOPD) as a chelating reagent and detected by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). The optimized conditions, i.e. effect of pH, types of extraction solvent, volume of extraction solvent, 4-NOPD concentration, extraction time and stirring rate were studied. Under the optimized conditions, the calibration graph was linear in the range of 0.83 – 8.0 µg/L with a detection limit (LOD) of 0.25 µg/L. The enrichment factor (EF) was 25.70. The relative standard deviation (%RSD) was 2.04 at the concentration of Hg(II) 0.5 µg/L (n = 5). The proposed method was applied to the determination of inorganic



mercury in water samples. The method validation was evaluated by percentage recovery which was in the range 80.77 – 101.7%

Keywords: Mercury, Solidified floating organic drop microextraction, Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, 4-Nitro-o-phenylenediamine

บทนำ

ปรอท (Mercury : Hg) เป็นโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงต่อระบบประสาทของมนุษย์และระบบห่วงโซ่อาหารในสิ่งแวดล้อม ทั้งในรูปของปรอทอินทรีย์และปรอทอนินทรีย์ (Ferreira et al., 2015) โดยองค์การอนามัยโลก (WHO) ได้จัดให้ปรอทเป็นหนึ่งในสารเคมีที่เป็นพิษมากที่สุดและมีผลต่อปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญ (Fernández et al., 2015) สปีชีส์ของปรอทที่พบในสิ่งแวดล้อมมีหลายรูปแบบ ได้แก่ ธาตุหรือโลหะ (Hg⁰), ปรอทอนินทรีย์ (Hg(II)), ปรอทอินทรีย์ (MeHg(I), EtHg(I), PhHg(I)) โดยแต่ละรูปแบบจะมีความอันตรายที่แตกต่างกัน ในปัจจุบันแหล่งอุตสาหกรรมต่างๆ จะมีการนำปรอทมาใช้กันอย่างกว้างขวางในกระบวนการผลิต (Gao & Ma, 2011) จึงทำให้เกิดของเสียที่มีการปนเปื้อนของปรอท เป็นผลให้มีการสะสมของปรอทแต่ละสปีชีส์ตกค้างในระบบนิเวศของห่วงโซ่อาหาร เช่น แหล่งน้ำ ดิน สัตว์ เป็นต้น ซึ่งพบว่าการได้รับปริมาณของปรอทเข้าสู่ร่างกาย ส่งผลต่อระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลาย ระบบทางเดินอาหาร ระบบภูมิคุ้มกัน ปอดและไต ดังนั้นการประสานงานภูมิภาค (2011) ได้กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำประปาจะต้องมีปรอทไม่เกิน 0.001 mg/L และกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมได้กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม และน้ำทะเลต้องมีปรอทไม่เกิน 0.002 mg/L, 0.005 mg/L และ 0.1 µg/L ตามลำดับ โดยที่คุณภาพน้ำดื่มจากอุตสาหกรรมน้ำบริโภคจะต้องไม่ตรวจพบปริมาณของปรอทเลย

การวิเคราะห์ปรอทที่มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพ มีความถูกต้องและแม่นยำ ซึ่งในปัจจุบันมีเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีอยู่หลายประเภท เช่น เทคนิคอะตอมมิกแอ็บซอร์ปชันสเปกโตรเมตรี (AAS) อินดักทีฟฟลิคัฟเฟิลพลาสมาแมสสเปกโตรเมตรี (ICP-MS) อินดักทีฟฟลิคัฟเฟิลพลาสมาอะตอมมิกอีมิสชันสเปกโตรเมตรี (ICP-AES) แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เป็นต้น ซึ่งในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในสิ่งแวดล้อมที่มีความเข้มข้นในระดับต่ำมาก อาจเกิดการรบกวนจากสิ่งเจือปนในตัวอย่างที่ส่งผลต่อความแม่นยำและความถูกต้องในการตรวจวัดของเครื่องมือวิเคราะห์ ดังนั้น ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง เพื่อเป็นการกำจัดสิ่งรบกวน และเป็นการเพิ่มความเข้มข้น (Preconcentration) ของปรอทในตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์จึงมีความสำคัญ (Dadfarnia & Shabani, 2010) เนื่องจากเป็นการเพิ่มสภาพไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity) และความเฉพาะเจาะจง (Selectivity) ซึ่งเทคนิคที่นิยมใช้ในการเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ปรอท ได้แก่ เทคนิคการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (Liquid-liquid extraction) (Gaona & Valiente, 2003), เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid phase extraction) (Hashempur, Rofouei, & Khorrami, 2008), และการสกัดโดยอาศัยการเกิดจุดขุ่น (Cloud point extraction) ((Ulusoy, 2014) ; (Garrido, Di Nezio, Lista, Palomeque, & Band, 2004)) เป็นต้น

เนื่องจากเทคนิคการสกัดในการเตรียมตัวอย่างข้างต้น เป็นเทคนิคที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมาก ซึ่งจะส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมทำให้มีการพัฒนาเทคนิคการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณที่น้อยและประหยัดเวลารวมถึงลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ ได้แก่ Single-Drop Microextraction (SDME) (Pena-Pereira, et al., 2009), Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction (HF-LPME) (Ignacio López-García, Rivas, & Hernández-Córdoba, 2012), Dispersive Liquid Liquid Microextraction (DLLME) (Jia, Han, Liu, Duan, & Chen, 2011) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม เทคนิคดังกล่าวข้างต้นก็ยังมีข้อจำกัดในการสกัด เช่น เทคนิค SDME มีข้อจำกัดในส่วนของความไม่เสถียรของหยดตัวทำละลายอินทรีย์และพื้นที่ผิวของหยดตัวทำละลายอินทรีย์ที่จำกัด สำหรับเทคนิค HF-LPME มีข้อจำกัดในส่วนของ การเจือปนจากผล memory effect เนื่องจากการนำเมมเบรนมาใช้ซ้ำและต้องมีการเตรียมเมมเบรนให้มีสภาวะที่



เหมาะสมสำหรับการสกัด และในส่วนของเทคนิค DLLME ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดจำเป็นต้องมีจุดหลอมเหลวสูงและต้องอาศัยเครื่องปั่นเหวี่ยง เป็นต้น

Khalili Zanjani และคณะ ((Zanjani, Yamini, Shariati, & Jönsson, 2007) ได้พัฒนาเทคนิคการสกัดแบบ Solidified floating organic drop microextraction (SFODME) ในปี ค.ศ. 2007 ซึ่งเป็นเทคนิคการสกัดแบบของเหลวในระดับไมโครรูปแบบใหม่ ที่มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Extraction solvent) ในปริมาณน้อย โดยมีจุดหลอมเหลวใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง (ในช่วง 10 - 30 °C) โดยจะลอยอยู่บนพื้นผิวของสารละลายชั้นน้ำและสารที่สนใจวิเคราะห์จะกระจายระหว่างชั้นตัวทำละลายอินทรีย์และชั้นน้ำ ซึ่งจะอาศัยเครื่องคนสารในการสกัดเพื่อทำให้สารที่สนใจวิเคราะห์เข้าไปอยู่ในเฟสของหยดตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อถึงสภาวะสมดุล ส่วนผสมจะถูกนำไปแช่ในน้ำแข็งเพื่อลดอุณหภูมิ ซึ่งทำให้ตัวทำละลายอินทรีย์กลายเป็นของแข็ง และถูกแยกออก หลังจากนั้นทำการละลายและนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของสารที่สนใจวิเคราะห์ โดยเทคนิคนี้จะมีข้อดี คือ ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ไม่สูง ประสิทธิภาพในการเพิ่มความเข้มข้นสูง ระบบการสกัดทำได้ง่ายและรวดเร็ว มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีสิ่งเจือปน ใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์น้อยและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ซ้ำ (Viñas, Campillo, & Andrich, 2015)

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง พบว่ามีการรายงานการใช้สารสีเลดประเภทต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ปรอททั้งในรูปปรอทอินทรีย์และปรอทอนินทรีย์ โดยเทคนิคการสกัดแบบ SFODME, DLLME, CPE เช่น Sodium diethylthiocarbamate (DDTC), dithizone, 2 - (2'-Thiazolylazo)-p-cresol (TAC) และ 1 - (2 - Pyridilazo)-2 - naphthol (PAN) เป็นต้น ซึ่งยังไม่มีผู้ใดรายงานการศึกษาเทคนิคการสกัดแบบ SFODME โดยใช้ 4-nitro-o-phenylenediamine (4-NOPD) เป็นคีเลติงรีเอเจนท์ ในการเพิ่มความเข้มข้นก่อนการวิเคราะห์ปรอทอนินทรีย์ ในตัวอย่างน้ำมาก่อน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้นำเอาเทคนิคการสกัดแบบ SFODME โดยใช้ 4-NOPD ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับปรอทอนินทรีย์ (Hg(II)) เพื่อเป็นการเพิ่มความเข้มข้นและวิเคราะห์ปรอทที่ปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำผิวดิน และตรวจวัดด้วยเทคนิคอิเล็กโตรเทอร์มอลอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโตรเมตรี (ETAAS)

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

เครื่องมือ

การวิเคราะห์ปรอทอนินทรีย์ในงานวิจัยนี้ ใช้เครื่องอิเล็กโตรเทอร์มอลอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ของบริษัท Varian รุ่น SpectrAA220Z ซึ่งเครื่อง ETAAS ทำงานร่วมกับระบบแก๊สแบบกราวน์แบบ Zeeman (AS-50 Autosampler) โดยใช้หลอดฮอลโลวแคโทดของธาตุปรอท โดยตั้งค่ากระแสเท่ากับ 4.0 mA ซึ่งมีความยาวคลื่นเท่ากับ 253.7 nm และช่องสลิตกว้างเท่ากับ 0.5 nm โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงจะวัดสัญญาณเป็นพื้นที่ใต้พีค (Peak area) ซึ่งในการตรวจวัดปริมาณของปรอทอนินทรีย์จะใช้โปรแกรมการให้อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในแต่ละขั้น แสดงในตารางที่ 1

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เป็นสารเคมีในเกรดงานวิเคราะห์ (Analytical grade) ที่มีความบริสุทธิ์สูง ได้แก่ สารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้น 1000 mg/L (Loba Chemie) สารละลายปรอทที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เตรียมใหม่ทุกวันโดยการเจือจางสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้น 1000 mg/L, 1-Undecanol (Merck), 1-Dodecanol (Merck), 4-nitro-o-phenylenediamine 99% (Merck), สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์และสารละลาย-อะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.1 M, พาลาเดียม (II) ไนเตรต (Pb(NO₃)₂) ที่ความเข้มข้น 10 g/L โดยใช้เป็น เคมีคัลโมดิไฟเออร์ (Merck), เมทานอลและเอทานอล (RCI Labscan), Triton X-100 (Fluka), Triton X - 114 (Sigma-Aldrich), Sodium dodecyl sulphate (Loba Chemie), N-Cetyl-N, N, N-trimethyl ammonium bromide (Loba Chemie) และน้ำปราศจากไอออน

การเตรียมตัวอย่าง



เก็บตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปาและน้ำผิวดินทั้งหมด 13 ตัวอย่าง โดยใช้ขวดพลาสติกโพลีเอทิลีนเทรฟทาเลต (PET) ที่สะอาด ปริมาตร 600 mL ในการเตรียมตัวอย่างจะนำตัวอย่างน้ำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นจึงนำมาสกัดด้วยเทคนิค SFODME

วิธีการสกัดด้วยเทคนิค SFODME

ปีเปตสารละลายมาตรฐานปรอทหรือสารละลายตัวอย่างปริมาตร 10 mL ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 15 mL ปรับ pH ให้เท่ากับ 2 ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นเติมคลีเลติงรีเอเจนต์ 4-NOPD ความเข้มข้น 2 mmol/L ปริมาตร 0.1 mL แล้วปิดฝาขวดแล้วนำไปคนให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องคนสารที่ความเร็วรอบเท่ากับ 500 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงนำมาเติม 1-Undecanol ปริมาตร 70 μ L แล้วปิดฝาขวดให้สนิทและนำไปสกัดที่ความเร็วรอบเท่ากับ 1150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 นาที ในระหว่างการสกัดจะสังเกตเห็นการแยกของสารละลายตัวอย่างและเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์โดยที่เฟสของตัวทำละลายอินทรีย์จะลอยอยู่ด้านบนของสารละลายตัวอย่าง หลังจากสกัดครบตามเวลาแล้วจึงนำขวดแก้วไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 20 นาที ซึ่งจะทำให้เฟสของตัวทำละลายอินทรีย์เป็นของแข็ง แล้วจึงตักเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ใส่ลงในขวดแก้วขนาดเล็ก (vial) จากนั้นจึงละลายด้วยเอทานอล ปริมาตร 0.1 μ L แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยเทคนิค ETAAS

ตารางที่ 1 โปรแกรมการให้อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในแต่ละขั้นสำหรับการตรวจวัดปริมาณปรอทด้วยเทคนิค ETAAS

ขั้นที่	โปรแกรมอุณหภูมิ	อุณหภูมิ ($^{\circ}$ C)	เวลา (วินาที)	อัตราการไหลของแก๊สอาร์กอน (L/min)
1	Drying	165	39.0	3.0
2	Ashing	250	7.8	3.0
3	Atomizing	1300	2.8	0.0
4	Cleaning	1800	2.0	3.0

ผลการศึกษา

ผลของพีเอช

พีเอชของสารละลายมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของคลีเลติงรีเอเจนต์กับปรอท โดยค่า พีเอชจะส่งผลต่อความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนและประสิทธิภาพในการสกัด เนื่องจากค่าพีเอชของสารละลายตัวอย่างที่เหมาะสมจะทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรและสามารถถูกสกัดเข้าไปอยู่ในเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดี ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาค่าพีเอชในช่วง 2.0 – 10.0 พบว่าพีเอช เท่ากับ 2 ให้สัญญาณการวิเคราะห์มากที่สุด ดังรูปที่ 1 จะเห็นว่าที่พีเอชมากกว่า 2 สัญญาณจะลดลง เนื่องจากค่าพีเอชที่สูงเกินไป จะทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง 4-NOPD กับปรอทที่ไม่เสถียร ดังนั้นจึงเลือกค่าพีเอช เท่ากับ 2 เป็นสภาวะที่เหมาะสมของงานวิจัยนี้ผลของชนิดและปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์

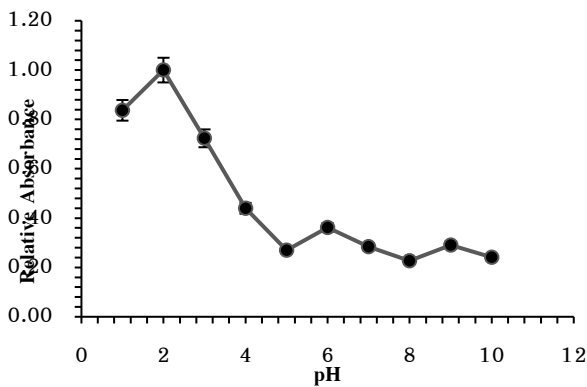
การเลือกชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์เป็นตัวแปรที่สำคัญในกระบวนการสกัด เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (Distribution coefficient : K) ของสารที่สนใจในระหว่างชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์และสารละลายชั้นน้ำ ณ สภาวะสมดุล ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เลือกใช้จะต้องมีการระเหยต่ำ ความหนาแน่นและการละลายน้ำต่ำ เพื่อให้ตัวทำละลายอินทรีย์เสถียรในระหว่างการสกัด ซึ่งจำเป็นต้องมีความเฉพาเจาะจงสูง จะส่งผลให้สามารถสกัดสารที่สนใจได้ดี ซึ่งทำการศึกษาชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ระหว่าง 1-Undecanol และ 1-Dodecanol พบว่า 1-Undecanol ให้สัญญาณการวิเคราะห์ที่สูงกว่า เนื่องจากคุณสมบัติของ 1-Undecanol ซึ่งมีความหนาแน่นและการระเหยต่ำ และไม่สามารถละลายน้ำได้ จึงเลือกใช้เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการสกัด

ปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์จะมีผลต่อการประสิทธิภาพการสกัดและประสิทธิภาพการเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจ เนื่องจากอัตราการกระจายตัวของสารที่สนใจไปยังหยดของตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อเพิ่มปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์ ปริมาตรสุดท้ายของหยดตัวทำละลายอินทรีย์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้สัญญาณการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้

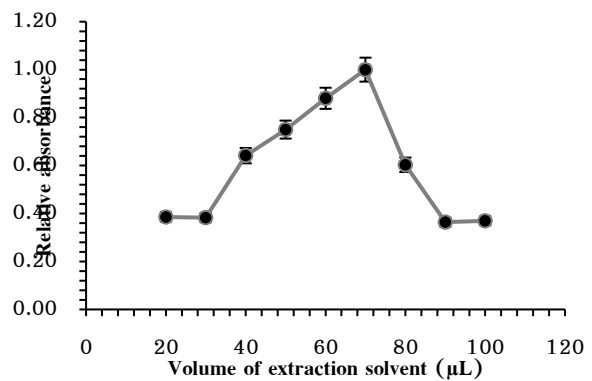


ประสิทธิภาพการเพิ่มความเข้มข้นจะลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของสารที่สนใจลดลง (สารที่สนใจถูกเจือจางมากขึ้น) โดยทำการศึกษาในช่วง 20 - 100 μL พบว่า ปริมาตรของ 1-Undecanol เท่ากับ 70 μL เป็นสภาวะที่เหมาะสม ดังรูปที่ 2

ผลของความเข้มข้นของ 4-Nitro-*o*-phenylenediamine (4-NOPD)
 ความเข้มข้นของ 4-NOPD มีผลต่อสัญญาณการวิเคราะห์ เนื่องจากในการสกัดจำเป็นต้องใช้ 4-NOPD ที่มีความเข้มข้นเหมาะสมและมีปริมาณมากพอที่จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งถ้าความเข้มข้นของ 4-NOPD ไม่เหมาะสมจะส่งผลให้โปรบไม่สามารถถูกสกัดเข้าไปอยู่ในเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ได้หมด จากการศึกษาความเข้มข้นของ 4-NOPD ในช่วง 1 - 9 mmol/L พบว่าความเข้มข้นที่ของ 4-NOPD ที่เหมาะสมเท่ากับ 2 mmol/L ให้สัญญาณการวิเคราะห์ที่สูงที่สุด เนื่องจากอัตราส่วนจำนวนโมลของ 4-NOPD กับโปรบที่สภาวะเหมาะสม มีค่าเท่ากับ $2 \times 10^{-7} \text{ mol} : 1.25 \times 10^{-9} \text{ mol}$ (160 : 1) ซึ่งจะเห็นว่าปริมาณของ 4-NOPD มากเกินพอในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรบได้อย่างสมบูรณ์



รูปที่ 1 ผลของ pH ในการสกัดด้วยเทคนิค SFODME โดยใช้ตัวอย่างปริมาตร 10 mL, 4-NOPD 2 mol/L, Undecanol 70 μL , เวลาในการสกัด 18 นาที ที่ความเร็วรอบ 1150 rpm



รูปที่ 2 ผลของปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดแบบ SFODME โดยใช้สภาวะตัวอย่างปริมาตร 10 mL, pH = 2, 4-NOPD 2 mmol/L, เวลาในการสกัด 18 นาที ที่ความเร็วรอบ 1150 rpm

ผลของเวลาที่ใช้ในการสกัด

เวลาที่ใช้ในการสกัดเป็นอีกตัวแปรหนึ่งที่มีความสำคัญ เพราะในการสกัดต้องการสกัดโปรบจากสารละลายตัวอย่างให้ได้มากที่สุด ซึ่งเวลาที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ความถูกต้อง ความแม่นยำ สภาพไวในการวิเคราะห์และความสามารถในการวิเคราะห์ซ้ำ โดยทำการศึกษาในช่วง 6 - 48 นาที พบว่า เวลาที่เหมาะสมเท่ากับ 18 นาที เนื่องจากให้สัญญาณการวิเคราะห์ที่สูงที่สุด

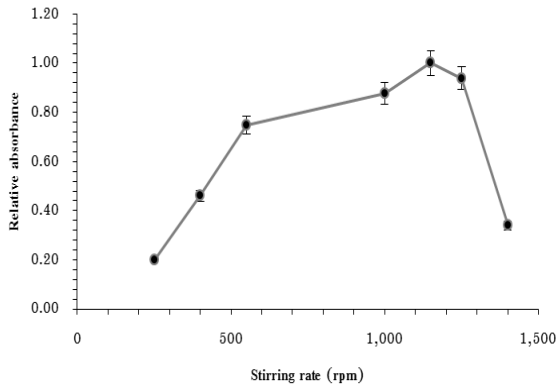
ผลของความเร็วยรอบที่ใช้ในการสกัด

การคนสารละลายตัวอย่างด้วยความเร็วยรอบที่เหมาะสมจะทำให้โปรบในสารตัวอย่างกระจายเข้าสู่เฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดและลดเวลาที่ใช้ในการสกัด แต่อย่างไรก็ตามความเร็วยรอบในการสกัดที่สูงเกินไปจะเกิดการกระเด็นของหยดตัวทำละลายอินทรีย์ ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง โดยทำการศึกษาในช่วง 250 - 1250 รอบต่อนาที จากผลการทดลองดังรูปที่ 3 พบว่า ที่ความเร็วยรอบ 250 รอบต่อนาที เมื่อเพิ่มความเร็วยรอบเพิ่มขึ้นจะทำให้สัญญาณในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้นจนถึง 1150 รอบต่อนาที แต่ที่ความเร็วยรอบมากกว่า 1150 รอบต่อนาที จะทำให้หยดของตัวทำละลายอินทรีย์กระจายตัวและเกิดอิมัลชัน ซึ่งทำให้สัญญาณในการวิเคราะห์ลดลง ดังนั้นความเร็วยรอบที่เหมาะสมเท่ากับ 1150 รอบต่อนาที

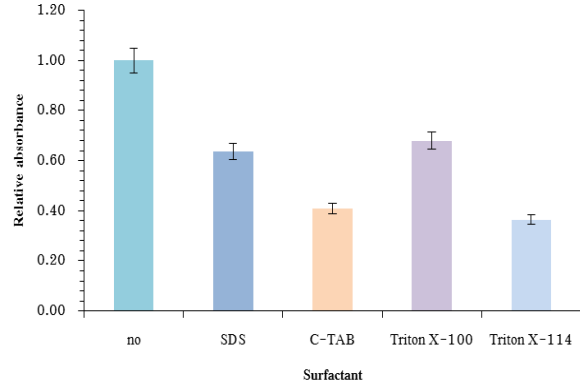


ผลของสารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิวจะช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างสารละลายตัวอย่างและเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ให้ลดลง ทำให้การกระจายตัวของโปรตีนดีขึ้นและถูกสกัดเข้าไปในเฟสตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดี ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มขึ้น โดยในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด ดังรูปที่ 4 พบว่าการเติมสารลดแรงตึงผิวไม่มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัด อีกทั้งยังทำให้เกิดอิมัลชันและแยกหยดของตัวทำละลายอินทรีย์ออกจากสารละลายในชั้นน้ำได้ยาก ดังนั้นในการสกัดด้วยเทคนิค SFODME ยังไม่มีการเติมสารลดแรงตึง เพื่อช่วยในการกระจายเฟส



รูปที่ 3 ผลของความเร็วรอบในการสกัดแบบ SFODME โดยใช้สภาวะตัวอย่างปริมาตร 10 mL, pH = 2, 4-NOPD 2 mmol/L, Undecanol 70 μ L, เวลาในการสกัด 18 นาที



รูปที่ 4 ผลของสารลดแรงตึงผิวที่มีผลต่อการสกัดด้วยเทคนิค SFODME โดยใช้ตัวอย่างปริมาตร 10 mL, pH = 2, 4-NOPD 2 mmol/L, Undecanol 70 μ L, เวลาในการสกัด 18 นาที ที่ความเร็วรอบ 1150 รอบต่อนาที

การประยุกต์ใช้วิธีการสกัดด้วยเทคนิค SFODME ในการหาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างน้ำ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้น ได้นำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำผิวดิน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำผิวดิน ค่าร้อยละการกลับคืนด้วยการสกัดแบบ SFODME โดยใช้วิธีเทียบกราฟมาตรฐาน (Calibration method) และวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition method)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่เติม (μ g/L)	ปริมาณที่พบ (μ g/L \pm SD)	ร้อยละการกลับคืน (% \pm SD)
น้ำดื่ม 1	0	ND	-
	3	2.55 \pm 0.06	85.0 \pm 1.9
	5	4.10 \pm 0.18	82.0 \pm 3.6
น้ำดื่ม 2	0	ND	-
	3	2.82 \pm 0.07	94.0 \pm 2.4
	5	4.06 \pm 0.05	81.2 \pm 0.9
น้ำดื่ม 3	0	ND	-
	3	2.65 \pm 0.12	88.3 \pm 3.9
	5	4.54 \pm 0.12	90.8 \pm 2.3
น้ำประปา 1	0	ND	-
	3	2.59 \pm 0.12	86.3 \pm 4.0



	5	4.04 ± 0.17	80.8 ± 3.3
น้ำผิวดิน 1*	0	0.08 ± 0.02	-
	3	2.75 ± 0.05	86.3 ± 1.5
	5	4.67 ± 0.23	91.8 ± 4.6
	7	7.20 ± 0.11	101.7 ± 1.6

ND = Not detectable (ไม่สามารถตรวจวัดได้), n = 3, * น้ำผิวดินวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition method)

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทอนินทรีย์โดยใช้วิธีเทียบกราฟมาตรฐานในตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำประปา 10 ตัวอย่าง ไม่พบปริมาณปรอทอนินทรีย์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มจากอุตสาหกรรมน้ำบริโภคที่กำหนดไว้ว่า ในน้ำดื่มจะต้องไม่มีปริมาณของปรอทอยู่เลย และเป็นไปตามมาตรฐานคุณภาพน้ำประปาที่กำหนดให้ปริมาณปรอทไม่เกิน 1 µg/L จากการศึกษาค่าร้อยละการกลับคืนในการวิเคราะห์ปรอทอนินทรีย์ในตัวอย่างน้ำดื่มและน้ำประปาจากการเติมปรอทอนินทรีย์ที่ความเข้มข้น 3 และ 5 µg/L พบว่าอยู่ในช่วง 81.2 – 94.0 % และ 80.8 – 86.3% ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ทางเคมีวิเคราะห์ และผลการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทอนินทรีย์โดยใช้วิธีการเติมสารมาตรฐานในตัวอย่างน้ำผิวดิน 3 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณของปรอท 0.08 ± 0.02 µg/L ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดินที่กำหนดให้ปริมาณปรอทไม่เกิน 2 µg/L และค่าร้อยละการกลับคืนในการวิเคราะห์ปรอทอนินทรีย์ในตัวอย่างน้ำผิวดินจากการเติมปรอทอนินทรีย์ที่ความเข้มข้น 3, 5 และ 7 µg/L พบว่าอยู่ในช่วง 86.3 – 101.7% ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ทางเคมีวิเคราะห์

อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

ในงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาเทคนิคการสกัดแบบ SFODME เพื่อใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นและหาปริมาณของปรอทอนินทรีย์ในตัวอย่างน้ำ โดยใช้ 4-NOPD เกิดประกอบเชิงซ้อนกับปรอทอนินทรีย์และตรวจวัดด้วยเทคนิคอิเล็กโตรเทอร์มอลอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปคโตรเมตรี พบว่า เทคนิคที่พัฒนาขึ้นให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์และขีดจำกัดต่ำสุดในการหาปริมาณที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่น ๆ คือ เทคนิค DLLME (Gao et.al., 2011 ; Yang et al., 2014), เทคนิค CPE (Ulusoy, 2014), เทคนิค SPE (Carrera et.al., 2016), เทคนิค EME (Kamyabi et.al., 2017) และเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพในการเพิ่มความเข้มข้นที่ดีกว่าเทคนิค SDME (Pena-Pereira et al., 2009), เทคนิค HFSLM (Fontàs et.al., 2005) เนื่องจากเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมีความเฉพาะเจาะจงกับการสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของปรอทอนินทรีย์กับ 4-NOPD มีสภาพไวในการวิเคราะห์ที่สูงและมีประสิทธิภาพในการเพิ่มความเข้มข้นถึง 25.50 เท่า ด้วยข้อดีของเทคนิคการสกัดที่พัฒนาขึ้น ที่มีระบบการสกัดรวดเร็วและขั้นตอนการสกัดง่าย ราคาไม่แพง ใช้ปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดปริมาณน้อย จึงเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนอกจากนำมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณปรอทอนินทรีย์ในตัวอย่างน้ำแล้ว ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณปรอทอนินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร เช่น ปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม เช่น ตะกอนท้องน้ำ และตัวอย่างทางคลินิกวิทยา เช่น ผม ปัสสาวะ ซึ่งสามารถต่อยอดงานวิจัยเพิ่มเติมได้ในอนาคตต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษาในระดับปริญญาโทและขอขอบคุณภาควิชาเคมี สถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านปิโตรเลียม ปิโตรเคมี และวัสดุขั้นสูง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือและสถานที่สำหรับการทำวิจัย



เอกสารอ้างอิง

- Carrera, S., Santiago, G., & Vega, M. (2016). Spectrophotometric determination of dithizone–mercury complex by solid phase microextraction in micropipette tip syringe packed with activated carbon xerogel. *Microchemical Journal*, 129, 133–136.
- Dadfarinia, S., & Shabani, A. M. H. (2010). Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals A review. *Analytica Chimica Acta*, 658(2), 107–119.
- Fernández, E., Vidal, L., Martín-Yerga, D., del Carmen Blanco, M., Canals, A., & Costa-García, A. (2015). Screen-printed electrode based electrochemical detector coupled with ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction and microvolume back-extraction for determination of mercury in water samples. *Talanta*, 135, 34–40.
- Ferreira, S. L., Lemos, V. A., Silva, L. O., Queiroz, A. F., Souza, A. S., da Silva, E. G., et al. (2015). Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices a review. *Microchemical Journal*, 121, 227–236.
- Fontàs, C., Hidalgo, M., Salvadó, V., & Anticó, E. (2005). Selective recovery and preconcentration of mercury with a benzoylthiourea–solid supported liquid membrane system. *Analytica Chimica Acta*, 547(2), 255–261.
- Gao, Z., & Ma, X. (2011). Speciation analysis of mercury in water samples using dispersive liquid–liquid microextraction combined with high–performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 702(1), 50–55.
- Gaona, X., & Valiente, M. (2003). Stability study on a Westöö–based methodology to determine organo–mercury compounds in polluted soil samples. *Analytica Chimica Acta*, 480(2), 219–230.
- Garrido, M., Di Nezio, M., Lista, A., Palomeque, M., & Band, B.F. (2004). Cloud–point extraction/ preconcentration on–line flow injection method for mercury determination. *Analytica Chimica Acta*, 502(2), 173–177.
- Hashempur, T., Rofouei, M. K., & Khorrami, A. R. (2008). Speciation analysis of mercury contaminants in water samples by RP–HPLC after solid phase extraction on modified C 18 extraction disks with 1, 3–bis (2–cyanobenzene) triazene. *Microchemical Journal*, 89(2), 131–136.
- Jia, X., Han, Y., Liu, X., Duan, T., & Chen, H. (2011). Speciation of mercury in water samples by dispersive liquid–liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectro–metry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 66(1), 88–92.
- Kamyabi, M. A., & Aghaei, A. (2017). A simple and selective approach for determination of trace Hg(II) using electromembrane extraction followed by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 128, 17–21.
- López-García, I., Rivas, R. E., & Hernández-Córdoba, M. (2012). Hollow fiber based liquid–phase microextraction for the determination of mercury traces in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 743, 69–74.
- Pena-Pereira, F., Lavilla, I., Bendicho, C., Vidal, L., & Canals, A. (2009). Speciation of mercury by ionic liquid–based single-drop microextraction combined with high–performance liquid chromatography–photodiode array detection. *Talanta*, 78(2), 537–541.



- Ulusoy, H. i. (2014). Determination of trace inorganic mercury species in water samples by cloud point extraction and UV-vis spectrophotometry. *Journal of AOAC International*, 97(1), 238-244.
- Viñas, P., Campillo, N., & Andruch, V. (2015). Recent achievements in solidified floating organic drop microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 68, 48-77.
- Yang, F., Li, J., Lu, W., Wen, Y., Cai, X., You, J., et al. (2014). Speciation analysis of mercury in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled to capillary electrophoresis. *Electro-phoresis*, 35(4), 474-481.
- Zanjani, M. R. K., Yamini, Y., Shariati, S., & Jönsson, J. Å. (2007). A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. *Analytica Chimica Acta*, 585(2), 286-293.