

การพัฒนาเครื่องโคลด์เวเปอร์อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์

Development of Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometer

เฉลิม จันทรสม* และวนิดา จันทรสม

งานบริหารการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

จิตตรา ดอกบัว

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Chalerm Jansom* and Vanida Jansom

Research Administrative Office, Faculty of Medicine, Thammasat University, Rangsit Centre,

Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Jittra Dokbua

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Thammasat University, Rangsit Centre,

Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะสร้างชุดโคลด์เวเปอร์ประกอบเข้ากับเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ (AAS) ที่มีอยู่ให้สามารถใช้วิเคราะห์ปรอทปริมาณน้อยมาก ๆ ได้ โดยมีต้นทุนต่ำแต่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงหรือเทียบเคียงกับเครื่องโคลด์เวเปอร์อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ (CVAAS) มาตรฐาน เมื่อนำชุดโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นมาประกอบเข้ากับเครื่อง AAS ยี่ห้อ Hitachi รุ่น Z-8200 พบว่าสามารถวิเคราะห์ปรอทปริมาณน้อยมาก ๆ ในตัวอย่างได้ โดยความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.067 ไมโครกรัมต่อลิตร และในช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1-5 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อตรวจสอบความถูกต้องและความแม่นยำของเครื่องมือและวิธีการวิเคราะห์ โดยทดสอบกับสารมาตรฐานอ้างอิง (BCR-150, NIST) และทดสอบสถิติพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณปรอทที่วิเคราะห์ได้ (9.75 ± 0.52 นาโนกรัมต่อกรัม) นั้นสูงกว่าค่าที่แท้จริง (9.4 นาโนกรัมต่อกรัม) เล็กน้อย โดยมีค่าร้อยละของความถูกต้องสัมพันธ์เท่ากับ 103.70 จากการทดสอบวิเคราะห์ตัวอย่างครีมทาหน้า สบู่โฟมล้างหน้า และน้ำดื่มบรรจุขวดพบว่ามีความสัมพันธ์ของการได้กลับคืนเท่ากับ 104.39 และร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์เท่ากับ 4.89 ชุด CVAAS ที่ประกอบขึ้นมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับเครื่อง CVAAS มาตรฐาน และสามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างต่าง ๆ เพื่อให้บริการวิเคราะห์และใช้เพื่อการเรียนการสอนของนักศึกษาได้

คำสำคัญ : ปรอท; เครื่องวิเคราะห์ปรอท; โคลด์เวเปอร์อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์

*ผู้รับผิดชอบบทความ : jchalerm@staff.tu.ac.th

Abstract

The aim of this research was to create a cold vapor atomic absorption spectrometer (CVAAS) for use in the analysis of very small quantities of mercury. This project developed a low-cost alternative with a comparable performance CVAAS. The cold vapor coupled with Hitachi AAS (Model Z-8200) with a limit of detection is 0.067 micrograms per liter. The linearity range is from 0.1 to 5 micrograms per liter. The accuracy and precision of analytical methods were tested against certified reference material (BCR-150, NIST). The results showed that the average amount of mercury is 9.75 ± 0.52 nanograms per gram higher than the standard value (9.4 nanograms per gram), with a relative accuracy test of 103.70 %. Whitening face cream, ginger, and bottled water were also analyzed. The recovery percentage of the analytical method was 104.39 %, and the relative standard deviation was 4.89 %. This laboratory created and assembled CVAAS is close in efficiency to a standard CVAAS. It can be applied for mercury analysis in many types of samples and used for the teaching of students.

Keywords: mercury; mercury analyzer; cold vapor atomic absorption spectrometer

1. บทนำ

ปรอทเป็นโลหะหนักที่สามารถตกค้างในแหล่งน้ำตามธรรมชาติและในอาหาร ได้แก่ ปลา โดยเฉพาะปลาที่มีขนาดใหญ่ หอย เนื้อสัตว์ ผักและสมุนไพร เป็นต้น [1-3] อีกทั้งยังพบว่าการผสมปรอทในเครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาวอีกด้วย ปรอทมีความเป็นพิษสูงหากร่างกายได้รับเพียงเล็กน้อยก็อาจเกิดพิษที่รุนแรงได้ [4-7] แม้ว่าจะพบปรอทในปริมาณที่น้อยมากในอาหารเหล่านี้ แต่ก็มีสารสะสมในร่างกายและสามารถเกิดพิษได้ โดยมีรายงานว่าปรอทความเข้มข้นน้อย ๆ ก็สามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ [8]

ปัจจุบันมีวิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณปรอทอยู่หลายวิธี ซึ่งจะมีค่าไว (sensitivity) ระดับต่าง ๆ กัน เช่น การใช้ชุดทดสอบเบื้องต้น (test kit) สำหรับทดสอบสารปรอทแอมโมเนียในครีมทาหน้า สามารถตรวจหาปริมาณปรอทที่มีในตัวอย่างมาก ๆ ในระดับเปอร์เซ็นต์ วิธี colorimetry สามารถวิเคราะห์

ปรอทปริมาณน้อย ๆ ในตัวอย่างระดับหนึ่งต่อล้านส่วน (part per million, ppm) [9], เทคนิค instrumental neutron activation analysis (INAA), inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP-AES) และ inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) เป็นเทคนิคที่ดีที่สุดและสามารถวิเคราะห์ปรอทปริมาณที่น้อยมาก ๆ ในระดับหนึ่งต่อพันล้านส่วน (part per billion, ppb) ถึงระดับหนึ่งต่อล้านล้านส่วน (part per trillion, ppt)

Cold vapor atomic absorption spectrophotometry (CVAAS) ก็เป็นอีกเทคนิคหนึ่งสำหรับการวิเคราะห์ปรอทที่มีในตัวอย่างระดับหนึ่งต่อล้านล้านส่วน (part per trillion, ppt) ซึ่งมี sensitivity และ accuracy ที่ดีที่สุด โดย Hatt และ Ott ได้ปรับปรุงและนำมาใช้วิเคราะห์เป็นครั้งแรกในการหาปริมาณปรอทที่เจือปนในแร่และสารอินทรีย์ในปี ค.ศ. 1968 หลังจากนั้นได้มีการปรับปรุงเทคนิคนี้ให้ดีขึ้น Tavallali และ NoroziKhah [11] ได้ออกแบบเครื่อง

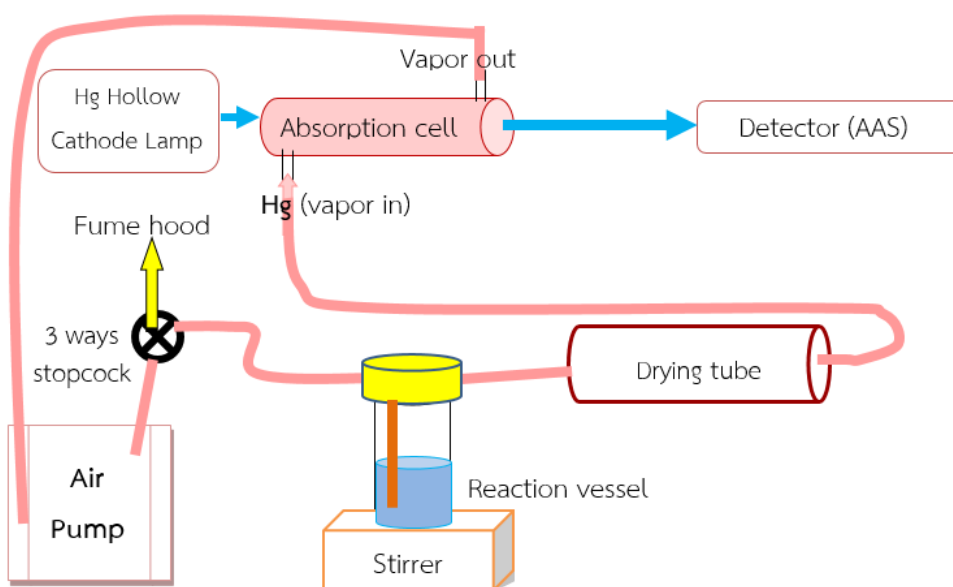
โคลด์เวเปอร์และประกอบเข้ากับเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AAS) แล้วใช้วิเคราะห์หาปรอทในตัวอย่างน้ำทิ้ง โดยความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.051 ppb และ มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.2-10 ppb ปัจจุบัน เครื่อง CVAAS มาตรฐานสามารถวิเคราะห์ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดได้ 0.035 ppb [12] แต่เนื่องจาก เครื่อง CVAAS จะมีราคาสูงมากในปัจจุบัน บางห้องปฏิบัติการก็มีข้อจำกัดที่จะสามารถจัดซื้อมาได้ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะสร้างชุดโคลด์เวเปอร์ เพื่อประกอบกับเครื่อง AAS ที่มีอยู่ ให้สามารถใช้งานได้จริงและสามารถวิเคราะห์ปรอทปริมาณน้อยมาก ๆ ได้ โดยชุดโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นจะมีต้นทุนต่ำ แต่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงหรือเทียบเคียงกับเครื่อง CVAAS มาตรฐานทั่วไป สามารถใช้เป็นต้นแบบในการสร้างชุดโคลด์เวเปอร์ เพื่อประกอบกับเครื่อง AAS ยี่ห้ออื่น ๆ หรือในห้องปฏิบัติการอื่น ๆ กระตุ้นให้มีการพัฒนาเครื่องมือและเทคโนโลยีทางห้องปฏิบัติการ สามารถพึ่งพาตนเอง ประหยัดงบประมาณและลดการนำเข้าได้

สามารถรองรับงานวิจัยของอาจารย์ งานบริการวิเคราะห์จากภายนอก ใช้เพื่อการเรียนการสอนของนักศึกษาระดับปริญญาตรีและใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจากการทำวิทยานิพนธ์ของนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาได้อีกด้วย

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การออกแบบและสร้างเครื่องโคลด์เวเปอร์และประกอบติดตั้งเข้ากับเครื่อง AAS

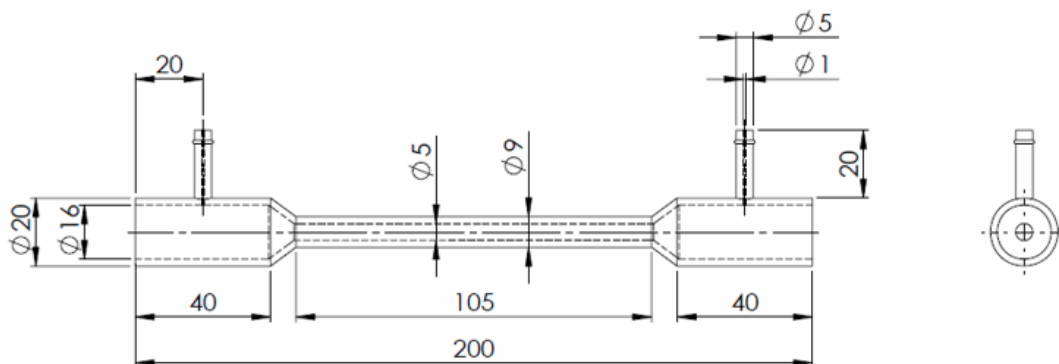
เครื่องโคลด์เวเปอร์ที่จะสร้างขึ้นนั้นเป็นระบบปิด (recirculating system) โดย reduce ให้ Hg^{2+} ion เป็น Hg^0 ใน reaction vessel แล้วผ่านอากาศจาก pump เข้าไปเพื่อไล่อปรอทให้เข้าสู่ absorption cell และปล่อยให้อปรอทหมุนเวียนอยู่ในระบบจนกระทั่งได้ความเข้มข้นสูงสุด ซึ่งดูได้จากค่า absorbance ที่สูงสุดและคงที่ และการติดตั้งเข้ากับเครื่อง AAS (ยี่ห้อ Hitachi รุ่น Z-8200) ประกอบไปด้วยส่วนต่าง ๆ (ดังรูปที่ 1) ดังนี้



รูปที่ 1 ผังส่วนประกอบต่าง ๆ ของเครื่องโคลด์เวเปอร์

2.1.1 absorption cell เป็นส่วนที่ไอของปรอทผ่านเข้ามาแล้วเกิดการดูดกลืนแสงจาก hollow cathode lamp สามารถนำไปสวมบน burner ใน

เครื่อง AAS มีท่อสำหรับสวมสายยางเพื่อให้อากาศเข้า-ออก ช่วงตรงกลางมี diameter 9 มิลลิเมตร หน้าที่ต่างแต่ละด้านมี diameter 20 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 แบบของ absorption cell

2.1.2 reaction vessel เป็นขวดหรือ test tube (glass or plastic with screw end) สำหรับใส่ตัวอย่าง มีฝาปิดที่เจาะรู 2 รู เพื่อต่อท่อให้อากาศจาก pump เข้าและออกสู่ drying tube ตรงทางอากาศเข้าจะมี fine jet tube ต่อไว้เพื่อพ่นอากาศเข้าใน reaction vessel

2.1.3 drying tube บรรจุสารดูดความชื้น ป้องกันไอน้ำไม่ให้เกาะหน้าต่างของ absorption cell

2.1.4 air pump ทำหน้าที่พ่นอากาศเข้าใน reaction vessel เข้าสู่ absorption cell ทำให้มีการหมุนเวียนของไอปรอทในระบบ

2.1.5 three ways stopcock มี stopper สำหรับปรับทิศทางของอากาศเข้าและออกจากระบบ

2.1.6 สายยางขนาดต่าง ๆ เพื่อเชื่อมต่อกันในแต่ละส่วน

2.1.7 magnetic stirrer ใช้คนสารละลายใน reaction vessel เมื่อเติม reducing agent ลงไปแล้วเพื่อให้เกิดสมดุลของปรอทในภาวะที่เป็นไอและในสารละลาย

2.2 การทดสอบระบบเบื้องต้น

หลังจากติดตั้งเครื่องโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นเข้ากับเครื่อง AAS แล้วจึงเริ่มทดสอบเบื้องต้น โดยใช้สารละลายมาตรฐานของปรอทความเข้มข้น 0.1, 0.5, 5.0 และ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร (ppb) เริ่มจากดูดสารละลายมาตรฐานของปรอท 50 มิลลิลิตร ใส่ใน reaction vessel ใส่ magnetic bar แล้วเติม 10 % SnCl_2 2 มิลลิลิตร ปิดจุกทันที (ปรับ 3-ways stopcock ให้เป็น closed system) วางบน magnetic stirrer คนสารละลายจนเข้ากันดี แล้วหยุดการคน เปิด air pump อ่านค่า absorbance ซึ่งบันทึกในรูปของ peak height จนได้ maximum peak height ซึ่งจะได้ค่าคงที่ แล้วปรับ 3-ways stopcock ให้ไอปรอทออกสู่ hood เพื่อล้างระบบ

2.3 การปรับสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์

ทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปรอท โดยปรับเปลี่ยนรูปร่างและขนาดของ reaction vessel ลักษณะของ fine jet tube ที่พ่น

อากาศเข้าไปใน reaction vessel ขนาดและความยาวของสายยางที่ใช้ต่อกันในแต่ละส่วน ชนิดและปริมาณของสารดูดความชื้นและปริมาณอากาศ (air flow rate) ที่เหมาะสมที่พ่นเข้าไปในระบบโดย diaphragm pump และปรับเปลี่ยนการตั้งค่า measurement parameter ต่าง ๆ ของเครื่อง AAS

2.4 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปรอท

การวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำดื่ม สมุนไพร และครีมทาหน้า โดยนำตัวอย่างมาย่อย (digest) ดัดแปลงจากวิธีการของ Chow และคณะ [13] และวิธีการของ Lau และคณะ [14] โดยตวงน้ำดื่มมา 200 มิลลิลิตร หรือชั่งขิงมา 3 กรัม ส่วนครีมทาหน้าจะชั่ง 0.1 กรัม ปิเปต 30 % (v/v) กรดไนตริก (Merck, Suprapur®) 20 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ ปิดด้วยกระจกนาฬิกาย่อยสารละลายด้วยความร้อนบนเตาความร้อนเป็นเวลาประมาณ 30 นาที เติมกรดไนตริกอีก 20 มิลลิลิตร ย่อยสารละลายตัวอย่างต่อจนได้สารละลายใสและมีปริมาตรเหลือน้อยกว่า 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นแบบปราศจากไอออน ทดลองเช่นเดียวกับการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานแล้วคำนวณหาปริมาณปรอทในตัวอย่าง

2.5 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (test method validation)

2.5.1 การทดสอบหาค่า linearity และ range

Linearity ทดสอบโดยการเตรียมสารมาตรฐานปรอท ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 75 และ 100 ppb วิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสงเทียบเป็นความเข้มข้นหน่วยไมโครกรัมต่อลิตร ทำ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟเส้น โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงจากค่าความสูงของพีค (peak height) ที่เครื่องวัด

ได้มาสร้างเป็นแกน Y และปริมาณความเข้มข้นมาสร้างเป็นแกน X หลังจากนั้นคำนวณหาค่า correlation coefficient (R^2) จากนั้นทดสอบโดยการเตรียมสารมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1 และ 5 ppm ทำ 7 ซ้ำ คำนวณหาค่าความเข้มข้นโดยใช้กราฟมาตรฐานเดียวกันกับการทำ linearity คำนวณหาค่า accuracy และ precision โดยคำนวณค่า % relative accuracy และ relative standard deviation (% RSD)

2.5.2 การทดสอบหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

การทดสอบหาค่า LOD และ LOQ โดยการนำตัวอย่างที่มีปรอทความเข้มข้น 1 ppm มาวิเคราะห์หาปริมาณปรอท โดยการทำซ้ำจำนวน 10 ครั้ง คำนวณหาค่า LOD ($\times 3SD$) และ LOQ ($\times 10SD$)

2.5.3 การทดสอบหาค่า accuracy และ precision

(1) การวิเคราะห์สารมาตรฐานอ้างอิง (certified reference materials, CRM)

การวิเคราะห์ trace element and mercury spiked skim milk powder (BCR-150) ของ NIST ด้วยวิธีและเครื่องมือที่พัฒนาขึ้นซ้ำ 15 ครั้ง คำนวณหา % relative accuracy และ % RSD แล้วทดสอบสถิติโดยใช้ one sample t-test ทดสอบปริมาณปรอทที่วิเคราะห์ได้กับค่าที่แท้จริงของ CRM (ค่าที่แท้จริงของปรอทเท่ากับ 9.4 นาโนกรัมต่อกรัม)

(2) การวิเคราะห์ spiked sample

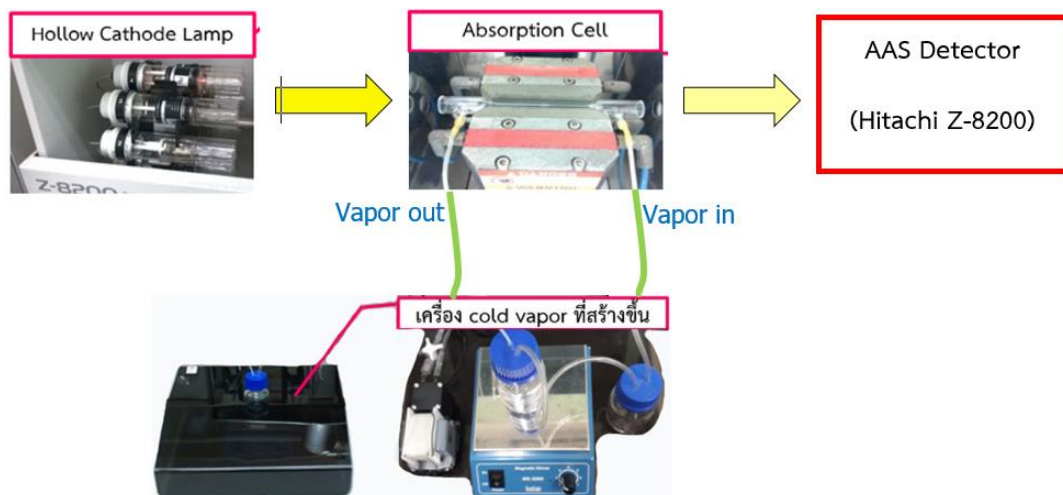
การวิเคราะห์ตัวอย่างสมุนไพรที่มีการเติมสารมาตรฐานปรอทเข้มข้น 10 ppb จำนวน 1.25, 2.5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วคำนวณหาค่า % recovery (ช่วงยอมรับได้มีค่าอยู่ในช่วง 85 ถึง 115 % และ % RSD มีค่าไม่เกิน 10 %)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 เครื่องโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นและการประกอบติดตั้งเข้ากับเครื่อง AAS

การประกอบติดตั้งเครื่องโคลด์เวเปอร์นั้น จะต้องวางให้ใกล้กับเครื่อง AAS มากที่สุดเพื่อให้สาย

ยางที่เชื่อมต่อกันแต่ละส่วนนั้นสั้นที่สุด ซึ่งจะช่วยให้ลดปริมาณอากาศที่หมุนเวียนอยู่ในระบบ โดยเครื่องโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นมีส่วนประกอบต่าง ๆ ที่สำคัญดังนี้ (ดังรูปที่ 3)



รูปที่ 3 เครื่องโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นและการติดตั้งเข้ากับเครื่อง AAS

3.1.1 absorption cell ทำจากแก้ว borosilicate ยาว 200 มิลลิเมตร ช่วงตรงกลางมี diameter 9 มิลลิเมตร หน้าต่างทำด้วย quartz รูปทรงกลม (diameter 20 มิลลิเมตร) การติดตั้ง absorption cell นั้นต้องอยู่บน burner ของ AAS ซึ่งอยู่ตรงกลางของส่วนแม่เหล็ก (zeeman) พอตีและต้องไม่บังลำแสงที่ส่องผ่านจาก hollow cathode lamp ไปยัง detector เมื่อทดสอบหา maximum wavelength พบว่าเท่ากับ 253.7 นาโนเมตร โดยมีค่า photomultiplier voltage = 366 โวลต์

3.1.2 reaction vessel ได้น้ำขนาด 3 ชนิด มาทดลอง คือ ขวดแก้วใสของ Scott Duran ขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร และขวดพลาสติก polypropylene (Nalgene) ขนาด 60 มิลลิลิตร มาใช้เป็น reaction vessel เพื่อเปรียบเทียบกัน ขวดทั้ง 3 ชนิด มีฝาปิดที่

สามารถปิดได้สนิท สามารถเจาะรูที่ฝาปิด เพื่อสวมสายยางโดยไม่มีอากาศรั่วหรือซึมออกจากขวดได้ แต่ขนาดเหมาะสมที่สุด คือ ขวดแก้วใสของ Scott Duran ขนาด 50 มิลลิลิตร เนื่องจากจะเกิดช่องว่างของอากาศเหนือสารละลายน้อยที่สุด

3.1.3 drying tube ได้ทดลองเปรียบเทียบสารที่ใช้ดูดความชื้น 2 ชนิด คือ H_2O moisture trap (ยี่ห้อ SGE, part number 103487) และกรดซัลฟริก เข้มข้นบรรจุในขวดแก้วใสของ Scott Duran ขนาด 50 มิลลิลิตร พบว่าสามารถดูดความชื้นได้ดีเหมือนกัน โดยสังเกตจากการเกาะของไอน้ำที่เกิดขึ้นที่หน้าต่างของ absorption cell และค่า absorbance ของ blank ยังคงที่แม้จะวัดตัวอย่างไปจำนวนมากแล้ว

3.1.4 air pump ใช้ diaphragm pump (ยี่ห้อ KNF micro diaphragm gas pumps, model:

NMP 830 KTE เป็นรุ่นที่ทนต่อการกัดกร่อนของสารเคมี แต่มี flow rate เท่ากับ 1.6 ลิตรต่อนาที ซึ่งมากเกินไปจึงต้องติดตั้งวาล์วปรับ flow rate ให้ลดลงเหลือเท่ากับ 0.6 ลิตรต่อนาที

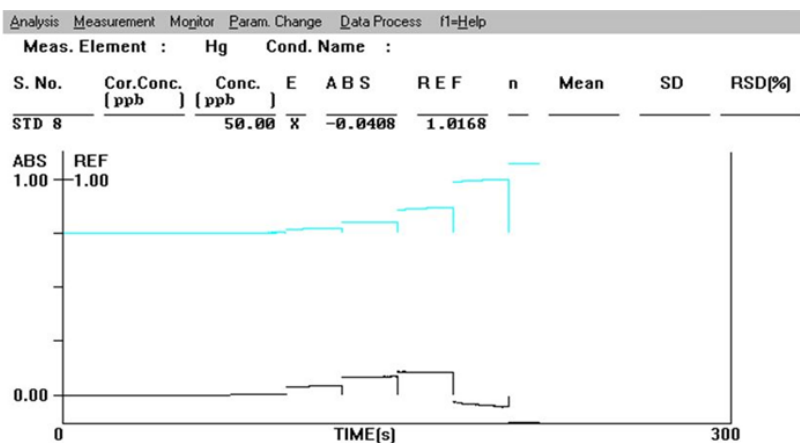
3.1.5 three ways stopcock วาล์วที่นำมาใช้ คือ วาล์วจากชุดให้น้ำเกลือ (IV set) เพราะมีขนาดพอดีกับสายยางที่ใช้ในระบบ สะอาดและราคาถูก สามารถเปลี่ยนได้ทันทีถ้าเสื่อมหรือชำรุดเนื่องจากหาได้ง่าย

3.1.6 สายยางที่ต่อกันในส่วนต่าง ๆ เดิมใช้สายยางจากชุดให้น้ำเกลือ (IV set) เหมือนกัน แต่มีสีขุ่นอาจมองไม่เห็นไอน้ำที่เกาะอยู่ และสายยางค่อนข้างบางซึ่งอาจจะไม่ทนเมื่อใช้ในระยะยาว จึงเปลี่ยนมาใช้ tygon tubing ขนาด diameter ขนาด 1/8 นิ้ว เป็นสายยางใสและใช้สายยาง Teflon ขนาด diameter 1/16 นิ้ว เป็น fine jet tube และสายยาง silicone ขนาด diameter 1/4 นิ้ว เพื่อต่ออากาศจาก three ways valve ไปยัง hood

3.1.7 magnetic stirrer เนื่องจากที่ก้นขวดที่ใช้เป็น reaction vessel มีพื้นที่น้อยและยังต้องมี fine jet tube อยู่ จึงต้องใช้ magnetic bar ขนาดเล็ก (10 มิลลิเมตร) แล้วปรับความเร็วรอบในการปั่นไม่น้อยกว่า 300 รอบต่อนาที เพื่อให้สารละลายผสมกันได้ดีและเร็วขึ้น แต่ต้องไม่เกิน 500 รอบต่อนาที เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดสารละลายแกว่งมากจนเกินไป

3.2 การทดสอบระบบเบื้องต้น

หลังจากติดตั้งเครื่องโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นเข้ากับเครื่อง AAS แล้วเริ่มทดสอบ CVAAS โดยใช้สารละลายมาตรฐานของปรอท แล้วอ่านค่า maximum absorbance (peak height) จากการทดสอบระบบเบื้องต้นพบว่าเมื่อระเหยของปรอทเกิดขึ้นในระบบโคลด์เวเปอร์และผ่านเข้าไปใน absorption cell ทำให้เครื่อง AAS สามารถวัดและบันทึกค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของปรอทซึ่งอยู่ในรูปของ peak height ได้ (ดังรูปที่ 4)



รูปที่ 4 peak ที่ได้จากการทดสอบเบื้องต้น หลังจากติดตั้งเครื่องโคลด์เวเปอร์เข้ากับ AAS

3.3 การปรับสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์

การทดสอบระบบเบื้องต้นพบว่า CVAAS ที่สร้างขึ้นนั้นสามารถใช้งานวิเคราะห์ปรอทได้ แต่ค่า

absorbance ที่ได้ยังค่อนข้างต่ำ จึงจำเป็นต้องปรับแก้ไขส่วนต่าง ๆ เช่น ปรับขนาดและระยะของสายยางที่ใช้ต่อกันแต่ละส่วนให้เล็กและสั้นที่สุดเพื่อลดปริมาณอากาศที่หมุนเวียนในระบบ เพิ่มรอบการหมุนของ

stirrer เป็น 500 รอบต่อนาที เปิดปั๊มเพื่อพ่นอากาศทันทีหลังจากเติม SnCl_2 เพื่อผลิตไอปรอทได้เร็วและมากขึ้น และปรับเปลี่ยนการตั้งค่า measurement

parameter ต่าง ๆ ของเครื่อง AAS ดังรูปที่ 5 เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด

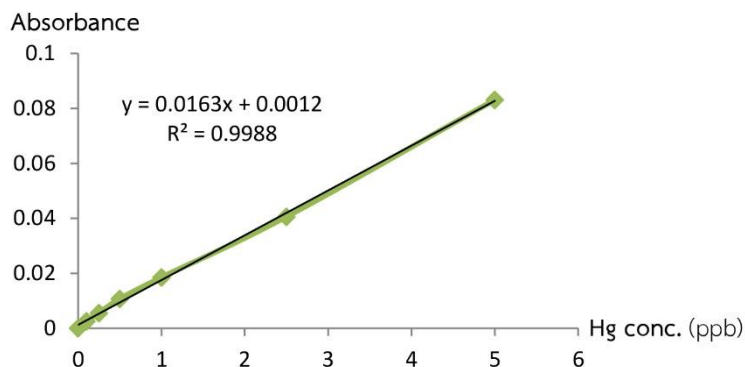
fi=Help

Meas. Param. Element : Hg Cond.Name:

Wavelength	: 253.7 nm	Measurement Mode	: Absorbance
W.L. Set Method	: Auto	Signal Mode	: BKG Correct
PMT Voltage	: 520 V	Curve Order/Renewal	: 1st / Renewal
Slit Width	: 1.30 nm	STD Replicates	: 1
Lamp Current	: 6.0 mA	Sample Replicates	: 1
Atomizer	: Q. Cell	Calculation	: Peak Height
Flame	: None	STD Conc. Unit	: ppb
Fuel Flow	: 0.0 l/min	Sample Conc. Unit	: ppb
Oxidant Pressure	: (160) kPa	STD Conc.	
Flow	: () l/min	1 : 0.00	2 : 0.10
Burner Height	: (15.0) mm	3 : 0.25	4 : 0.50
Time Constant	: 1.00 s	5 : 1.00	6 : 2.50
Measurement Time	: 20.0 s	7 : 5.00	8 : 10.00
Delay Time	: 0 s	9 : 25.00	10 :

Meas. P. Order Set End

รูปที่ 5 การตั้งค่า measurement parameter ของเครื่อง AAS



รูปที่ 6 กราฟมาตรฐานของปรอท

3.4 ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

3.4.1 ผลการทดสอบ linearity และ range
เมื่อปรับแก๊สส่วนประกอบต่าง ๆ ของเครื่องโคลด์เวเปอร์และปรับเปลี่ยนการตั้งค่า measurement parameter ของ AAS แล้วจึงทดสอบสารมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5, 1,

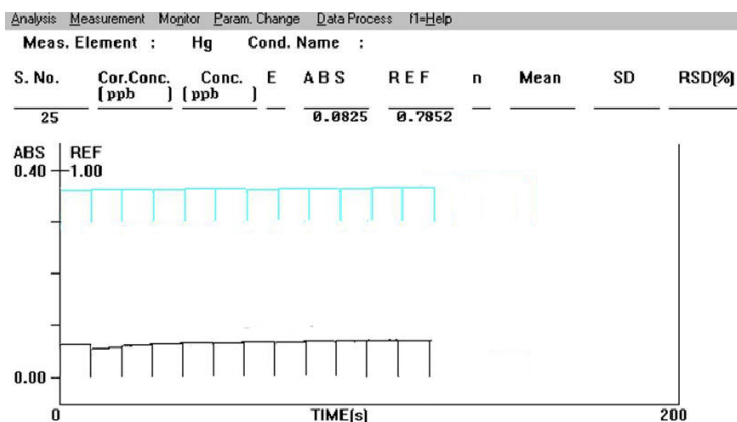
2.5, 5, 10 และ 25 ppb พบว่าได้มี range อยู่ในช่วงเท่ากับ 0.1-5.0 ppb สมการของกราฟมาตรฐาน คือ $y = 0.0163x + 0.0013$ และ ค่า correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 0.9988 ดังรูปที่ 6

3.4.2 ผลการทดสอบ % relative accuracy และ relative standard deviation (% RSD)

การทดสอบสารมาตรฐานปรอทที่ความ

เข้มข้น 1.0 และ 5.0 ppb โดยใช้สภาวะเดียวกัน บันทึกค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของปรอทซึ่งอยู่ในรูปของ peak height ดังรูปที่ 7 เมื่อคำนวณหาค่า accuracy และ precision พบว่าที่ความเข้มข้น 1 และ 5 ppb ได้

ค่า % relative accuracy เท่ากับ 98.55 และ 99.08 ตามลำดับ ส่วนค่า %RSD ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 5.0 ppb เท่ากับ 2.53 และ 0.7042 ตาม ลำดับ

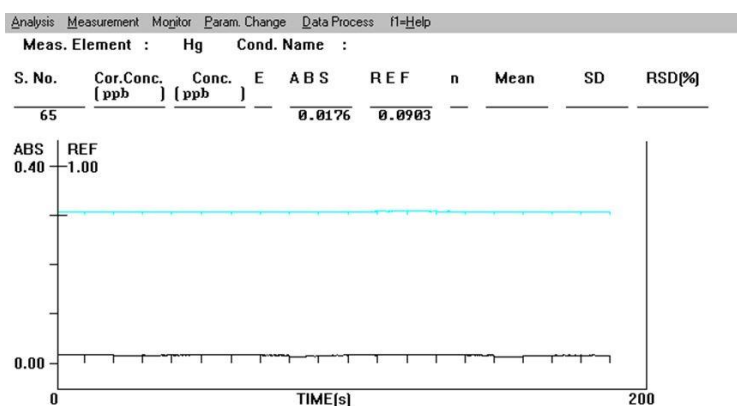


รูปที่ 7 peak ที่ได้จากการทดสอบ
ค่า % relative accuracy
และ % RSD

3.4.3 ผลการทดสอบ limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

การทดสอบสารมาตรฐานปรอทที่มีความเข้มข้น 1.0 ppb โดยใช้สภาวะเดียวกัน แล้วบันทึกค่า

การดูดกลืนคลื่นแสงของปรอทซึ่งอยู่ในรูปของ peak height ดังรูปที่ 8 พบว่ามีค่า LOD เท่ากับ 0.067 ppb และ LOQ เท่ากับ 0.2126 ppb



รูปที่ 8 peak ที่ได้จากการทดสอบ
ค่า LOD และ LOQ

3.4.4 ผลการทดสอบ accuracy และ precision

(1) ผลการวิเคราะห์ certified reference materials (CRM)

การทดสอบหาค่า accuracy และ precision โดยการวิเคราะห์ trace elements and mercury spiked skim milk powder (BCR-150) ของ NIST ซ้ำจำนวน 15 ครั้ง พบว่าค่าเฉลี่ยของ

ปริมาณปรอทที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 9.75 ± 0.52 นาโนกรัมต่อกรัม โดยมี % RSD เท่ากับ 5.36 % และมีค่าความถูกต้องสัมพัทธ์ (% relative accuracy) เท่ากับ 103.70 % และเมื่อทดสอบสถิติ one sample t-test พบว่าปริมาณปรอทเฉลี่ยที่ได้จากวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือและวิธีการที่พัฒนาขึ้นนั้นมีค่าสูงกว่าค่าที่แท้จริง (9.4 นาโนกรัมต่อกรัม)

(2) ผลการวิเคราะห์ spiked sample

การวิเคราะห์ตัวอย่างสมุนไพรที่เติมสารมาตรฐานปรอทเข้มข้นต่าง ๆ แล้วคำนวณผลพบว่าได้ค่า % recovery เท่ากับ 104.39 % และ % RSD เท่ากับ 4.89 % ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (% recovery มีค่าอยู่ในช่วง 85 ถึง 115 % และ % RSD มีค่าไม่เกิน 10 %)

3.4.5 ผลการทดสอบวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่าง

การนำตัวอย่างมาทำการย่อยด้วยวิธี digestion แล้ววิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยเครื่องมือที่พัฒนาขึ้นนั้นพบว่าในตัวอย่างซึ่งมีปริมาณปรอทเท่ากับ 33.81 ± 2.12 ppb ตัวอย่างครีมทาหน้ามีปริมาณปรอทเท่ากับ $24,928.57 \pm 212.32$ ppm และน้ำดื่มบรรจุขวดมีปริมาณปรอทน้อยกว่า 0.067 ppb (น้อยกว่า LOD)

4. สรุปและอภิปรายผล

การทดสอบหาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (range) พบว่าอยู่ในช่วง 0.1-5 ppb และยังพบว่าหากปรอทมีความเข้มข้นมากกว่า 8 ppb จะทำให้ค่า absorbance ที่ได้นั้นมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้หากความเข้มข้นของปรอทในตัวอย่างสูงเกินกราฟมาตรฐานจะสังเกตได้จากค่า reference (REF) ที่มีค่ามากด้วย ดังนั้นหากพบว่าตัวอย่างมีค่า reference มากกว่า 1.0 ให้เจือจางตัวอย่างนั้น ให้ได้ค่า

reference น้อยกว่า 1.0 จึงจะได้ค่า absorbance ที่ถูกต้อง

ตามมาตรฐานคุณภาพน้ำเพื่อการบริโภคได้กำหนดมาตรฐานสูงสุดสำหรับปรอทที่มีได้ไม่เกิน 1.0 ppb [15] ซึ่งเครื่อง CVAAS ที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.067 ppb จึงถือว่าสามารถใช้งานสำหรับวิเคราะห์น้ำเพื่อการบริโภคได้ เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่อง CVAAS ที่พัฒนาขึ้นกับงานวิจัยของ สุริยง และคณะ [16] ที่พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในเครื่องสำอางโดยใช้เทคนิค CVAAS เหมือนกัน แต่ใช้สารละลาย sodium borohydride เป็นตัวรีดิวซ์สารละลายปรอทให้กลายเป็นไอออน มีช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน 10-100 ppb และค่า LOD เท่ากับ 0.4 ppb แต่เมื่อเปรียบเทียบค่า LOD กับเครื่องโคลด์เวเปอร์มาตรฐานที่มีค่าเท่ากับ 0.0350 ppb [12] นั้นจะเห็นว่าค่า LOD ของเครื่องโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นสูงกว่าเครื่องโคลด์เวเปอร์มาตรฐานประมาณสองเท่า ซึ่งต้องมีการพัฒนาให้ใกล้เคียงหรือเทียบเคียงต่อไป

เมื่อทดสอบวิเคราะห์ certified reference materials (CRM), trace elements and mercury spiked skim milk powder (BCR-150) ของ NIST ด้วยวิธีการและเครื่องมือที่พัฒนาขึ้น พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณปรอทที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 9.75 ± 0.52 นาโนกรัมต่อกรัม แต่เมื่อทดสอบสถิติ (one sample t-test) พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณปรอทที่วิเคราะห์ได้นี้สูงกว่าค่าอ้างอิงที่แท้จริงเล็กน้อย

ชุดโคลด์เวเปอร์ที่สร้างและประกอบขึ้นมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับเครื่องโคลด์เวเปอร์มาตรฐาน โดยมีต้นทุนต่ำ รวมอุปกรณ์ทั้งหมดประมาณ 65,000 บาท แต่มีอุปกรณ์หลัก ๆ ที่มีราคาสูง คือ hollow cathode lamp, magnetic stirrer และ air pump แต่เมื่อเทียบกับราคาของเครื่องโคลด์เวเปอร์มาตรฐาน

นั้นถือว่าถูกกว่ามาก สามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบในการสร้างชุดโคลด์เวเปอร์เพื่อประกอบกับเครื่อง AAS ยี่ห้ออื่น ๆ ในการวิเคราะห์ปรอทปริมาณน้อยมาก ๆ ได้ และปัจจุบันชุดโคลด์เวเปอร์ที่สร้างขึ้นนี้ได้นำมาให้บริการวิเคราะห์และใช้สำหรับการเรียนการสอนของนักศึกษาเพื่อหาปริมาณปรอทในตัวอย่างต่าง ๆ ได้อย่างไรก็ตาม เมื่อเทียบความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้กับเครื่องมาตรฐานทั่วไป ยังพบว่าเครื่องโคลด์เวเปอร์ที่พัฒนาขึ้นนั้นใช้วิเคราะห์ปรอทปริมาณต่ำมาก ๆ ได้ไม่ค่อยดีและการทดสอบแต่ละครั้งต้องใช้ปริมาณสารตัวอย่างจำนวนมาก ดังนั้นการวิจัยต่อไปในอนาคตจึงควรมีการพัฒนาปรับปรุงโคลด์เวเปอร์นี้ให้สามารถวิเคราะห์ที่ปริมาณต่ำมาก ๆ ได้ดีขึ้น อีกทั้งควรปรับลดปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบแต่ละครั้งด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปี 2556

6. รายการอ้างอิง

- [1] Olivero, J., 2005, Mercury in the aquatic environment of the village of Caimito at the Mojana region, North of Columbia, Water Air Soil Poll. 159: 409-420.
- [2] แวตา ทองระอา, 2546, การเปลี่ยนรูปแบบของสารปรอทในดินตะกอนบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและความเป็นพิษของสารปรอทเมื่อได้รับอิทธิพลจากความเค็ม, จุลสารสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา 14(2): 1-4.
- [3] ณรงค์ ณ เชียงใหม่ และอรุณโชติ คงพล, 2530, ปริมาณสารปรอทในปลาจากทะเลสาบสงขลา, ว.สงขลานครินทร์ 9: 237-240.
- [4] จิราภรณ์ อ่ำพันธ์, อันตรายจากปรอท, แหล่งที่มา : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic/a_tx_1_001c.asp?info_id=79, 2 เมษายน 2558
- [5] Hishida, K., 1987, Mina-Mata and Itai-Itai, Look Japan 33: 26.
- [6] โยธิน เบญจวงษ์, ชาญพงศ์ ตั้งคณะกุล และมาลี เซ็นเสถียร, 2535, ตำราอายุรศาสตร์ทั่วไป, เรือนแก้วการพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- [7] Bakir, F., Al-Khalidi, A., Clarkson, T.W. and Greenwood R., 1976, Clinical observations on treatment of alkylmercury poisoning in hospital patients. In conference on intoxication due to Alkylmercury-treated seed, Bull. W.H.O. 53(Suppl.): 87-92.
- [8] สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และอมรา คัมภีรานนท์, 2541, พิษของโลหะหนักต่อสารพันธุกรรม : ปรอท, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- [9] สุนทร ชูจันทร์, 2522, การวิเคราะห์ปรอทด้วยวิธี colorimetry และการกำจัดปรอทจากน้ำทิ้งของห้องปฏิบัติการเคมีและโรงงานอุตสาหกรรม, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- [10] สุมลธา หนูคาบแก้ว, นุชนาถ รังคดิกล และ จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์, 2548, การประเมินปริมาณธาตุในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรในประเทศไทย, การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 31, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.
- [11] Tavallali, H. and NoroziKhah, H., 2009.

- Design of cold vapor system and assembled on atomic absorption spectrometer for mercury determination in several waste water samples, *Int. J. Chem. Tech. Res.* 1: 390-393.
- [12] Aaron, H., Determination of As, Se and Hg in Waters by Hydride Generation/cold Vapor Atomic Absorption Spectroscopy, Available source: https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/APP_PinAAcle-ToxicMetalsinWaterbyHG-CVAA.pdf, April 5, 2016
- [13] Chow, P.Y.T., Chua, T.H., Tang, K.F. and Ow, B.Y., 1995. Dilute acid digestion procedure for the determination of lead, copper and mercury in traditional Chinese medicines by atomic absorption spectrometry, *Analyst* 120: 1221-1223.
- [14] Lau, O., Hon, P., Cheung, C. and Chau, M. 1985. Determination of mercury in medicinal pills by cold vapor atomic absorption spectrometry, *Analyst* 110: 483-485.
- [15] กรมควบคุมมลพิษ, มาตรฐานคุณภาพน้ำเพื่อการบริโภค, แหล่งที่มา : http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water01.html, 20 เมษายน 2559
- [16] สุรัชฌาปิยะวรสกุล, ยุวดี เชี่ยววัฒนา และอติยา ศิริภิญญานนท์, 2554, การวิเคราะห์ปริมาณปรอทในเครื่องสำอางด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรเมตรีโดยวัดการดูดกลืนแสงของไอปรอทจากปฏิกิริยาโคลด์เวเปเปอร์, นิทรรศการโครงงานวิทยาศาสตร์ ครั้งที่ 12 (Sci. Ex. 2011), คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.