การพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาสำหรับการตรวจวัดปรอท
Development of portable paper-based testing device for mercury(II) measurement

โดย
น.ส.ณัฐณิชา วุฒิพลากร

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง การพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาสำหรับการตรวจวัดปรอท

โดย นางสาวณัฐณิชา วุฒิพลากร

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

.... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา จูอนุวัฒนกุล)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ศาสตราจารย์ ดร.อรวรรณ ชัยลภากุล)

.... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เหมืองสิน)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

....

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่......เดือน..................พ.ศ..........

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ☑ ดีมาก ☐ ดี ☐ พอใช้

ชื่อโครงการ การพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาสำหรับการตรวจวัดปรอท
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวณัฐณิชา วุฒิพลากร เลขประจำตัว 5533080523
อาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร.อรวรรณ ชัยลภากุล
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ อุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษควบคู่กับการตรวจวัดสีโดยใช้เงินอนุภาคนาโนสำหรับการหาปริมาณปรอท Hg(II) ได้ถูกพัฒนาขึ้น ดีแอล-เมทไธโอนีนถูกใช้ในการดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโน เพื่อทำให้มีความจำเพาะ และความไวในการตรวจวัด Hg(II) อุปกรณ์กระดาษถูกประดิษฐ์โดยการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง ส่วนการตรวจวัดเชิงสีถูกติดตามได้ด้วย ตาเปล่า ภาพถ่ายจากกล้องดิจิตอล และการประมวลผลจากโปรแกรม เมื่อเติม Hg(II) ลงไปในสารละลายเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปร จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีอย่างชัดเจนจากสีม่วงเป็นสีส้ม โดยสามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ยังได้ศึกษากลไกของเทคนิคนี้ของเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรในภาวะที่มี และไม่มี Hg(II) ด้วยการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้เครื่องฟูริเออร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรมิเตอร์ เครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน ตามลำดับ ได้มีการศึกษาตัวแปรในการตรวจวัดสี เช่น ความเข้มข้นของตัวดัดแปร เวลาในการเกิดปฏิกิริยา ถูกทำให้เหมาะสม เพื่อที่จะได้ภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการตรวจวัด Hg(II) พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานอยู่ในช่วง 50 ถึง 500 ppb ซึ่งมีขีดจำกัดในการตรวจวัด เท่ากับ 38 ppb (S/N = 3) นอกจากนี้ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความจำเพาะต่อการตรวจวัด Hg(II) เทียบกับโลหะชนิดอื่นๆ (As(III) Ni(II) Fe(III) Cu(II) Zn(II) Mg(II) Cd(II) และ Pb(II)) และวิธีนี้ยังถูกประยุกต์ใช้ตรวจวัด Hg(II) ในน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของ Hg(II) ที่ถูกเติมลงไปนั้นมีค่าที่ยอมรับได้

คำสำคัญ: อุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษ , การตรวจวัดเชิงสี , ปรอท

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Title Development of portable paper-based testing device for mercury(II) measurement

Student name Miss Nutnicha Wuttipalakorn ID 5533080523
Advisor Prof. Dr. Orawon Chailapakul
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic year 2015

Abstract

In this research, a colorimetric paper-based testing device using silver nanoparticles (AgNPs) for determination of mercury ion (Hg(II)) has been developed. DL-methionine was used to modify the surface of AgNPs to perform selective and sensitive Hg(II) detection. Paper-based device was fabricated by wax-printing method while colorimetric detection was conducted by naked-eyes, digital camera imaging, and software processing. Upon addition of Hg(II) to the modified AgNPls solution, a distinctive color change from purple to orange can be obviously observed by naked eyes. In addition to study the mechanism of this method, the modified AgNPls in the presence and absence of Hg(II) were characterized using fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), ultraviolet–visible spectroscopy (UV–vis) and transmission electron microscopy (TEM), respectively. Several colorimetric parameters such as modifier concentration and reaction time were optimized to obtain the best condition for Hg(II) measurement. Using optimal conditions, linear calibration curve was found in the range of 50–500 ppb with a limit of detection of 38 ppb (S/N = 3). Moreover, the proposed method displayed high selectivity, compared to other metal ions (As(III), Ni(II), Fe(III), Cu(II), Zn(II), Mg(II), Cd(II), and Pb(II)). In addition, the developed sensor was applied to the determination of Hg(II) in drinking water, tap water and river water, and the results exhibited good recovery of spiked Hg(II).

Keywords: paper-based testing device, colorimetric detection, mercury

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ศาสตราจารย์ ดร.อรวรรณ ชัยลภากุล ที่ให้การสนับสนุน ให้ความรู้ ให้ความช่วยเหลือ อีกทั้งมอบคำแนะนำที่ดีและเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ ทำให้โครงการสามารถสำเร็จลุล่วงได้ตามเป้าหมาย

ขอขอบพระคุณประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา จูอนุวัฒนกุล และกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เหมืองสิน ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าในการตรวจทานแก้ไขรายงานตลอดจนให้คำชี้แนะ และให้เกียรติมาเป็นคณะกรรมการสอบโครงการในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. ภูมิรัตน์ รัตนรัตน์ และพี่ๆในหน่วยปฏิบัติการวิจัยเชิงเคมีไฟฟ้าและแสงทุกคนที่คอยดูแล ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ประจำปีการศึกษา 2558 ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญรูปภาพ	ฌ
สารบัญตาราง	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	5
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 ทฤษฎี	
2.1 โลหะอนุภาคนาโน (metal nanoparticles)	6
2.1.1 เงินอนุภาคนาโน (silver nanoparticles)	7
2.2 ตัวดัดแปรเงินอนุภาคนาโน	8
2.2.1 ดีแอล-เมไทโอนีน (DL-Methionine)	8
2.2.2 ซิทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (CTAB)	8
2.3 อุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพา (portable paper-based testing device)	9
2.4 วิธีการตรวจวัดโดยการเทียบสี (colorimetric method)	10
2.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวัด (method validation)	10
บทที่ 3 การทดลอง	
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	15
3.2 การเตรียมสารละลาย	17
3.2.1 การเตรียมสารละลายของเงินอนุภาคนาโนความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 25 mL	17
3.2.2 การเตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mM ปริมาตร 25 mL	17

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.3 การเตรียมสารละลายของโลหะต่างๆ ความเข้มข้น 1 ppm ปริมาตร 1 mL 17
3.2.4 การเตรียมสารละลายของ DL-methionine ความเข้มข้น 100 mM ปริมาตร 1 mL 17
3.2.5 การเตรียมสารละลายของ CTAB ความเข้มข้น 1 mM ปริมาตร 2 mL 18
3.2.6 การดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโนด้วย DL-methionine และ CTAB 18
3.2.7 การเตรียมตัวอย่างน้ำสำหรับการตรวจวัด 18
3.3 การเตรียมอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพา 18
3.4 ขั้นตอนการตรวจวัด 19
3.4.1 การทดสอบหาชนิดและความเข้มข้นของตัวดัดแปรเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสม 19
3.4.2 การทดสอบหาความเข้มข้นของ NaCl ที่เหมาะสม 19
3.4.3 การทดสอบหาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Hg(II) กับเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสม 20
3.4.4 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีและความเข้มข้นของ Hg(II) 20
3.4.5 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด และขีดจำกัดในการหาปริมาณ 20
3.4.6 การศึกษาผลของการทำซ้ำ 21
3.4.7 การศึกษาความจำเพาะและผลของตัวรบกวนต่างๆ 21
3.4.8 การศึกษาสัณฐานวิทยาของเงินอนุภาคนาโนเมื่อเติมและไม่เติม Hg(II) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ 21
3.4.9 การทดสอบกับตัวอย่างจริง 22
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง
4.1 ผลการศึกษาเพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของตัวดัดแปรเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสม 23
4.2 ผลการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของ NaCl ที่เหมาะสม 28
4.3 ผลการศึกษาเพื่อหาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Hg(II) กับเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสม 30

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะวิทยาศาสตร์

4.4 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีและความเข้มข้นของ Hg(II) 32

4.5 ผลการศึกษาผลของการทำซ้ำ 34

4.6 ผลการศึกษาความจำเพาะและผลของตัวรบกวนต่างๆ 36

4.7 ผลการศึกษาสัณฐานวิทยาของเงินอนุภาคนาโน โดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน 38

4.7.1 ผลการศึกษาเงินอนุภาคนาโนโดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ 38

4.7.2 ผลการศึกษาเงินอนุภาคนาโนโดยใช้เครื่องเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ 38

4.7.3 ผลการศึกษาสัณฐานวิทยาของเงินอนุภาคนาโนโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน 43

4.8 ผลการทดสอบเพื่อหาปริมาณ Hg(II) ที่มีในตัวอย่างน้ำ 44

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 46

เอกสารอ้างอิง 47

ภาคผนวก 50

ประวัติผู้วิจัย 59

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ หน้า

2.1 เงินอนุภาคนาโนที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยโลหะเงิน 7
2.2 โครงสร้างของกรดอะมิโนเมธไธโอนีน 8
2.3 โครงสร้างของซิทิลไตรเมทธิลแอมโมเนียมโบรไมด์ 8
2.4 ลักษณะการปกคลุมของ CTAB บนผิวหน้าของทองคำขนาดนาโน 9
2.5 ตัวอย่างอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาที่พิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง 9
3.1 ตัวอย่างรูปแบบกระดาษกรองที่ออกแบบด้วยโปรแกรม adobe illustrator 19
4.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 1 ppm โดยใช้เงินอนุภาคนาโนที่ไม่ดัดแปรและที่ดัดแปรพื้นผิวตรวจวัด 24
4.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 1 ppm โดยใช้เงินอนุภาคนาโนที่ไม่ดัดแปรและที่ดัดแปรพื้นผิวตรวจวัด 24
4.3 โครงสร้างของ DL-methionine D-methionine และ L-methionine 25
4.4 โครงสร้างของ CTAB 25
4.5 การเปลี่ยนแปลงสีของเงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรหลังหยดสารละลาย Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆ ใน NaCl 0.4 mM 25
4.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและความเข้มข้นต่างๆ ของ DL-methionine ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb 27
4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและความเข้มข้นต่างๆ ของ DL-methionine ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb 27
4.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและความเข้มข้นต่างๆ ของ NaCl ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb 29
4.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและความเข้มข้นต่างๆ ของ NaCl ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb 29
4.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb 31
4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb 31
4.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและ Hg(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ 33
4.13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและครั้งที่ทำการทดลองในการตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ 35

ศูนย์วิทยทรัพยากร
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.14 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและโลหะชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 500 ppb 37
4.15 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและ Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb ที่มีโลหะชนิดต่างๆความเข้มข้น 100 ppb รบกวน 37
4.16 FTIR spectrum ของ DL-methionine 39
4.17 FTIR spectrum ของเงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine 40
4.18 FTIR spectrum ของเงินอนุภาคนาโนที่ไม่ได้ดัดแปรพื้นผิว 41
4.19 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของเงินอนุภาคนาโนที่ไม่ดัดแปรพื้นผิว เงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และเงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine 42
4.20 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงเมื่อผ่านไป 1 นาทีของเงินอนุภาคนาโน เมื่อมีการเติม Hg(II) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 – 10 ppm 42
4.21 แสดงภาพที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านของเงินอนุภาคนาโนในสารละลายที่ไม่มี Hg(II) และมี Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb 43

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ระดับความถูกต้องของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน	11
2.2 ระดับความถูกต้องของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน	12
2.3 ระดับความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน	13
4.1 สรุปข้อมูลที่ได้จากศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มสีและความเข้มข้นของปรอท	33
4.2 ผลจากการศึกษาการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำ	45
5.1 สภาวะที่เหมาะสมที่สำหรับการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ในสารละลาย	46
6.1 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อหาปริมาณความเข้มข้น ของ DL-methionine ที่เหมาะสมในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb	50
6.2 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อหาปริมาณความเข้มข้น ของ NaCl ที่เหมาะสมในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb	51
6.3 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 6 ครั้งเพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรง ของการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆ	52
6.4 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อหาเวลาที่เหมาะสม ในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb	53
6.5 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 10 ครั้งเพื่อศึกษาผลจากการทำซ้ำ ของการตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ	54
6.6 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาความจำเพาะ ในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb	55
6.7 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาผลของตัวรบกวน ในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb	56
6.8 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำจากแหล่งน้ำ	57
6.9 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างน้ำประปา	57
6.10 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำ	58

ศูนย์วิทยทรัพยากร
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

ปรอทเป็นโลหะหนักชนิดหนึ่งที่มีความเป็นพิษสูง แม้ปนเปื้อนในปริมาณต่ำก็สามารถสะสมในร่างกาย และถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารได้ ปัจจุบันพบการปนเปื้อนของโลหะปรอทในแหล่งน้ำ อาหาร และผลิตภัณฑ์เสริมความงามหลายชนิด โดยรูปทั่วไปของปรอทมี 3 รูป คือ ธาตุ เกลืออนินทรีย์ และสารประกอบอินทรีย์ แต่ละรูปมีความเป็นพิษไม่เท่ากัน (1) รูปไดเวเลนซ์ (Hg(II)) เป็นรูปทั่วไปที่เสถียรของปรอท และเป็นพิษต่อมนุษย์อย่างร้ายแรง เมื่อร่างกายได้รับสะสมจะเป็นอันตรายต่อสมอง ระบบประสาท ไต และระบบต่อมไร้ท่อ (2) สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อมสหรัฐ (USEPA) กำหนดให้ปริมาณความเข้มข้นสูงสุดของ Hg(II) ในน้ำดื่มต้องไม่เกิน 0.002 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (3) ในขณะที่ประเทศไทยกำหนดให้ปริมาณความเข้มข้นสูงสุดของ Hg(II) ในน้ำดื่มต้องไม่เกิน 0.001 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (4) จากข้อมูลข้างต้น การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ Hg(II) จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

เทคนิคทั่วไปที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณปรอทในรูป Hg(II) มีหลายวิธี เช่น เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์ปชัน สเปกโทรสโกปี เทคนิคอะตอมมิก อิมิดชัน สเปกโทรสโกปี เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า และเทคนิคการตรวจวัดการเกิดฟลูออเรสเซนต์ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เทคนิคเหล่านี้ต้องใช้เครื่องมือที่มีความซับซ้อน ผู้ใช้ต้องมีความชำนาญ รวมถึงมีค่าใช้จ่ายในการทดลองสูง จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า เทคนิคการตรวจวัดเชิงสีประยุกต์ใช้ร่วมกับอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพา จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยแก้ไขปัญหาการปนเปื้อนของ Hg(II) ในตัวอย่างที่สนใจ และสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงสีได้ง่ายด้วยตาเปล่า สำหรับอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพามีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง ยุคเริ่มต้นประดิษฐ์ขึ้นเพื่อใช้ตรวจวินิจฉัยโรค เช่น ชุดตรวจการตั้งครรภ์และตรวจปัสสาวะ (5) ต่อมาในปี 2008 Martinez และคณะพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาที่ตรวจวัดกลูโคสและโปรตีนได้ในเวลาเดียวกัน (6) และมีการนำอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพามาใช้ตรวจวัดโลหะ โดยพัฒนาให้สามารถตรวจวัดโลหะได้หลายชนิดพร้อมกัน (7) ซึ่งอุปกรณ์ชนิดนี้มีข้อดีที่เหนือกว่าวิธีการตรวจวัด Hg(II) แบบดั้งเดิม คือ ประดิษฐ์ง่าย ราคาถูก และใช้สารปริมาณน้อย

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า การวิเคราะห์หาปริมาณ Hg(II) ด้วยอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษที่เคลือบด้วยโลหะอนุภาคนาโนกำลังเป็นที่สนใจ เช่น ทองอนุภาคนาโน (8) และเงินอนุภาคนาโน (9) สำหรับหลักการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเงินอนุภาคนาโนเมื่อเติมสารละลาย Hg(II) จะสัมพันธ์กับหลักการของปฏิกิริยารีดอกซ์ โดย Hg(II) มีค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐาน (E^{o}) มากกว่า Ag(I) ทำให้ Hg(II) สามารถรับอิเล็กตรอนจากเงินอนุภาคนาโนแล้วเกิดการฟอกจางสีขึ้นได้ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังต้องใช้ขั้นตอนการเพิ่มความเข้มข้นของ Hg(II) ผ่านการหยดสารละลายตัวอย่างซ้ำหลายครั้งบนอุปกรณ์ดังกล่าวทำให้สิ้นเปลืองเวลา หากไม่มีขั้นตอนการเพิ่มความเข้มข้น ขีดจำกัดการตรวจวัด Hg(II) ที่ได้จะมีค่าสูงเกินที่ USEPA กำหนดไว้ และใช้ประเมินความเป็นพิษของ Hg(II) ไม่ได้

งานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาโดยใช้เงินอนุภาคนาโนที่มีการดัดแปรสำหรับการตรวจวัดเชิงสีของ Hg(II) ให้มีขีดจำกัดการตรวจวัดในระดับต่ำ และนำอุปกรณ์ไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างจริงจากสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำได้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค. ศ. 2003 Boaventura F. Reis และคณะ (10) ได้ศึกษาวิธีการตรวจวัด Hg(II) โดยใช้เทคนิค cold vapour atomic fluorescence spectrometric (CV-AFS) โดยในการตรวจวัดพบว่ามีความถูกต้องและแม่นยำสูง แม้ไม่ได้มีการทำ pretreatment ก่อนการทดลอง

ในปี ค. ศ. 2005 Mojtaba Shamsipur และคณะ (11) ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัด Hg(II) ในน้ำ โดยใช้เทคนิค CV-AAS หาปริมาณ Hg(II) ที่ถูกดูดซับอย่างจำเพาะบนแผ่น octadecyl silica membrane ที่ดัดแปรด้วย isopropyl 2-[(isopropoxycarbothiolyl)disulfanyl]ethane thioate (IIDE) จากการศึกษาพบว่าขีดจำกัดในการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ 0.005 ng mL^{-1} และวิธีนี้สามารถประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณ Hg(II) ได้ทั้งในตัวอย่างน้ำประปา รวมทั้งตัวอย่างเส้นผมของมนุษย์

ในปี ค. ศ. 2007 Whitesides และคณะ (12) ได้ประดิษฐ์อุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษขึ้นเป็นครั้งแรก โดยได้ออกแบบให้มีการนำพอลิเมอร์มาเคลือบบนกระดาษ ทำให้เกิดช่องทางการไหลของสาร โดยขอบเขตของช่องเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) พบว่าสารละลายสามารถแพร่ไปบนช่องทางการไหลบนกระดาษได้เป็นอย่างดี ผู้วิจัยได้นำอุปกรณ์นี้มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์กลูโคส และโปรตีนในปัสสาวะ เทคนิคนี้มีข้อดีคือ ราคาถูก ใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อย สามารถวิเคราะห์สารหลายชนิดได้ในคราวเดียว และสามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับเทคนิคการตรวจวัดเชิงสีได้ แต่มีข้อเสียคือ พอลิเมอร์ที่ใช้เคลือบกระดาษมีราคาแพง

ในปี ค. ศ. 2008 Mojtaba Shamsipur และคณะ (13) ได้ศึกษาวิธีการตรวจวัด Hg(II) โดยการสกัดหา Hg(II) ในเนื้อปลาด้วย tetramethylammonium hydroxide (TMAH) หรือ 6 M HCl ปริมาณเล็กน้อย ภายใต้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค CV-AAS และเทคนิค ICP-AES พบว่าสามารถหาปริมาณปรอทที่มีในเนื้อปลาได้ทั้งในรูป Hg(II) และในรูป methylmercury

ในปี ค. ศ. 2009 Emanuel Carrilho และคณะ (14) ได้ประดิษฐ์อุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษด้วยขี้ผึ้ง ซึ่งทำได้ง่ายและมีราคาถูก โดยเริ่มจากการออกแบบรูปแบบที่เหมาะสมของอุปกรณ์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ จากนั้นพิมพ์ขี้ผึ้งลงบนกระดาษด้วยเครื่องพิมพ์ชนิดขี้ผึ้ง แล้วนำไปให้ความร้อนบนเตาไฟฟ้าเพื่อให้ขี้ผึ้งซึมลงบนกระดาษ เกิดเป็นขอบเขตสำหรับการตรวจวัด ผู้วิจัยได้นำอุปกรณ์นี้มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์กลูโคส คอเรสเตอรอล และโปรตีนในตัวอย่างจริง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในปี ค. ศ. 2010 Elena Chekmeneva และคณะ (15) ได้ศึกษาการสร้างพันธะกันระหว่าง Hg(II) กับหมู่ไทออล (-SH) ของ cysteine (Cys), dipeptide Cys-Gly และ glutathione ในรูปรีดิวซ์ (GSH) ด้วยเทคนิคโวลแทมมิทรี โดยใช้การหมุนของขั้วแผ่นทองคำ โดยพบว่า หากมีจำนวนลิแกนด์ล้อมรอบอะตอมกลางมากเกินพอ จะทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรของ $Hg(thiol)_2$

ในปี ค. ศ. 2012 Amara Apilux และคณะ (16) ได้พัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาร่วมกับการใช้เงินอนุภาคนาโน สำหรับการตรวจวัดเชิงสีเพื่อหา Hg(II) โดยใช้สารละลายตัวอย่างเพียง 2 µL หยดลงบนกระดาษ จะพบว่า Hg(II) ทำให้เงินอนุภาคนาโนเกิดการเปลี่ยนแปลงสีขึ้น โดยข้อดีคือ สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า และเทคนิคนี้มีความจำเพาะต่อการหาปริมาณ Hg(II) โดยช่วงความเป็นเส้นตรงคือ 5-75 ppm และมีขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.12 ppm

ในปี ค. ศ. 2014 Guan-Hua Chen และคณะ (17) ได้ใช้ทองคำอนุภาคนาโน ในการตรวจวัดเชิงสีร่วมกับการพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษสำหรับการตรวจหา Hg(II) ในแหล่งน้ำ โดยใช้ประโยชน์จากการที่ thymine–Hg(II)–thymine (T–Hg(II)–T) ซึ่งเป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์ สามารถเกิดปฏิกิริยากับทองคำอนุภาคนาโน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีขึ้น จากการถ่ายภาพด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือและแปรผลเป็นค่าทางสถิติ พบว่าประสบความสำเร็จในการวิเคราะห์หาปริมาณ Hg(II) ที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างจากแม่น้ำ โดยขีดจำกัดของการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ 50 nM

ในปี ค. ศ. 2014 Thanyaporn Kiatkumjorn และคณะ (18) ได้ทำการดัดแปรพื้นผิวของเงินอนุภาคนาโนด้วย glutathione (GSH) และ L-cysteine (Cys) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ ความไว และความจำเพาะในการตรวจวัด Ni(II) ในการทดลองจะสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดการรวมตัวกัน (aggregation) เพื่อสร้างพันธะของเงินอนุภาคนาโน และ Ni(II) ได้ด้วยตาเปล่า ผู้วิจัยได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปร ด้วยเทคนิค FTIR เทคนิค UV–vis และเทคนิค TEM นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของตัวแปรต่างๆ รวมทั้งตัวรบกวนที่อาจส่งผลต่อการหาปริมาณ Ni(II) ในตัวอย่างน้ำเสีย ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมพบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วง 10-150 ppb ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9971 และขีดจำกัดของการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ 7.02 ppb หรือเท่ากับ 120 nM

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในปี ค. ศ. 2016 Yi Zhang และคณะ (19) ได้ทำการสังเคราะห์ nitrogen-doped carbon dots (NCDs) โดยใช้กรดซิตริกและสารละลายแอมโมเนียเป็นส่วนผสมในการสังเคราะห์เพื่อนำไปใช้พัฒนา fluorescent probes ที่มีความจำเพาะในการตรวจวัด Hg(II) โดยในการตรวจวัด Hg(II) จะสามารถดับแสงฟลูออเรสเซนส์สีฟ้าของ NCDs ได้ด้วยการสร้างพันธะกับ NCDs เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ NCDs-Hg(II) ซึ่งไม่ให้แสงฟลูออเรสเซนส์ ประสิทธิภาพในการตรวจวัดด้วยวิธี turn-off ของ probe พบว่าสามารถตรวจวัด Hg(II) ได้ต่ำสุดที่ 1.48 nM

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัด Hg(II) โดยการใช้เงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-Methionine และ CTAP ร่วมกับการใช้เทคนิคการตรวจวัดเชิงสี สำหรับตรวจวัด Hg(II) ในสารตัวอย่างจริง เช่น น้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำทั่วไป

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ประยุกต์ใช้เงินอนุภาคนาโนร่วมกับอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาสำหรับการหาปริมาณปรอท Hg(II) โดยได้ทำการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของตัวดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโน รวมทั้งภาวะต่างๆที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดเชิงสี นอกจากนี้ยังได้ศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจวัด อันได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดของการตรวจวัด ขีดจำกัดในการหาปริมาณ และผลของตัวรบกวนต่างๆ เพื่อยืนยันความใช้ได้ของวิธี แล้วนำอุปกรณ์นี้ไปใช้ทดสอบหาปริมาณ Hg(II) ในตัวอย่างจริง เช่น น้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำทั่วไปด้วย

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถออกแบบอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาชนิดใหม่สำหรับการตรวจวัด Hg(II) โดยใช้สมบัติของเงินอนุภาคนาโนร่วมกับการตรวจวัดเชิงสี เพื่อทำให้สามารถตรวจวัดได้ทันที ง่าย และมีประสิทธิภาพสูง

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
ทฤษฎี

2.1 โลหะอนุภาคนาโน (metal nanoparticles)

โลหะอนุภาคนาโน (metal nanoparticles) (20) คือ โลหะอนุภาคขนาดเล็กที่มีขนาดตั้งแต่ 1-100 นาโนเมตร สามารถดัดแปลงการจัดเรียงตัวของอะตอมหรือโมเลกุล เพื่อให้เกิดสมบัติพิเศษได้หลากหลายวิธี โดยอนุภาคนาโนจะมีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับโลหะขนาดอนุภาคปกติ ทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีบนผิวหน้าวัสดุได้ง่ายขึ้น มีความแข็งแรงและทนทานต่อการแตกหักสูงกว่าโลหะชนิดเดียวกันที่มีอนุภาคใหญ่กว่า นอกจากนี้ โลหะที่มีโครงสร้างผลึกระดับนาโน ยังมีสมบัติต้านทานกระแสไฟฟ้าได้มากขึ้น มีความจุความร้อนจำเพาะมากขึ้น สามารถขยายตัวได้ดีขึ้น และมีการละลายต่ำ ทำให้อนุภาคนี้สามารถสะสมอยู่ภายในเซลล์ได้ ด้วยสมบัติดังกล่าว โลหะอนุภาคนาโนจึงถูกนำมาใช้งานในด้านต่างๆอย่างกว้างขวาง และมีปริมาณการใช้งานเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้โลหะอนุภาคนาโนที่สำคัญ เช่น การนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคและการฉายภาพทางการแพทย์ (nano-diagnostics and imaging) และการตรวจคัดกรอง (nano-screening) ซึ่งปัจจุบันมีการพัฒนาชุดตรวจที่ใช้โลหะอนุภาคนาโนเป็นส่วนตรวจวัด ทำให้เพิ่มความไวในการตรวจวินิจฉัย และรักษาโรคต่างๆ โดยใช้โลหะอนุภาคนาโนเป็นตัวนำส่งยาเฉพาะเป้าหมาย ทำให้ดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดี และออกฤทธิ์ได้เร็วขึ้น

อนุภาคนาโน แบ่งตามลักษณะของการเกิด ได้ 3 ประเภท ได้แก่

1. โลหะอนุภาคนาโนที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (natural nanoparticles) เช่น อนุภาคโลหะที่เกิดจากควันไฟป่า การระเบิดของภูเขาไฟ และอนุภาคที่เกิดจากการระเหยของน้ำในมหาสมุทร

2. โลหะอนุภาคนาโนที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ (anthropogenic nanoparticles) ที่เป็นผลผลิตจากกิจกรรมการเผาไหม้ต่างๆ เช่น การเผาไหม้จากเครื่องยนต์ดีเซล ควันบุหรี่ และสารตกค้างจากสีทาบ้าน

3. โลหะอนุภาคนาโนที่มนุษย์ผลิตขึ้นโดยใช้นาโนเทคโนโลยี เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ (engineered nanoparticles) สำหรับในประเทศไทยพบว่า โลหะที่สังเคราะห์เป็นอนุภาคนาโน และนิยมนำมาใช้คือ ไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) ซิลิกอนไดออกไซด์ (SiO_2) ซิลเวอร์ออกไซด์ (Ag_2O) ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) และทองคำอนุภาคนาโน (Au_2O_3)

2.1.1 เงินอนุภาคนาโน (silver nanoparticles)

เงินอนุภาคนาโน (silver nanoparticles) (21) คือหนึ่งในโลหะอนุภาคนาโนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น โดยเงินอนุภาคนาโนสามารถผลิตได้หลากหลายวิธี ทั้งการทำให้เม็ดโลหะเงินขนาดใหญ่มีขนาดเล็กลงโดยการบด (grinding) การระเหิด (sublimation) การลอกด้วยแสงเลเซอร์ (laser ablation) หรือการรีดิวซ์ไอออนของโลหะเงินให้เป็นอะตอมของโลหะเงินด้วยวิธีทางเคมีและวิธีทางกายภาพพร้อมกับการควบคุมการโตของอนุภาคนาโนที่เกิดจากการรวมตัวของอะตอมเงิน โดยถ้าสามารถควบคุมรูปแบบการโตของอนุภาคนาโนได้ ก็จะสามารถกำหนดขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนได้ ส่งผลให้สามารถควบคุมสมบัติพิเศษต่างๆ ของอนุภาคนาโนได้ตามต้องการ เช่น สมบัติเชิงแสง สมบัติการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา สมบัติเชิงแม่เหล็กไฟฟ้า สำหรับสมบัติเชิงแสงนั้น หากสามารถควบคุมให้เงินอนุภาคนาโนกลับมารวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนที่มีขนาดใหญ่ขึ้นได้ ก็จะทำให้เปลี่ยนไปเป็นสีอื่นได้ ซึ่งมีประโยชน์ต่องานวิจัยที่นำเงินอนุภาคนาโน ไปประยุกต์ใช้ในการเป็นไบโอเซ็นเซอร์ตรวจวัดสารชีวภาพ โดยงานวิจัยนี้เลือกที่จะพัฒนาอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษแบบพกพาที่ใช้เงินอนุภาคนาโนเป็นส่วนตรวจวัด Hg(II) ซึ่งช่วยเพิ่มความไวและประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์ได้

ภาพที่ 2.1 เงินอนุภาคนาโนที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยโลหะเงิน

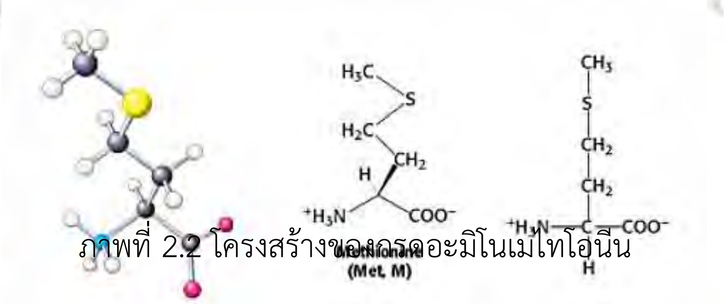
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 ตัวดัดแปรเงินอนุภาคนาโน

การดัดแปรพื้นผิวของเงินอนุภาคนาโน สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ รวมทั้งเพิ่มความจำเพาะในการเป็นตัวตรวจวัดเชิงสีได้ โดยในงานวิจัยที่มีมาก่อนหน้านี้ ได้มีการใช้สารหลายชนิดมาเป็นตัวดัดแปรพื้นผิวของเงินอนุภาคนาโน เช่น rhodamineB B (22), aptamer (23), thymine (24) และ L-cysteine (25) สำหรับงานวิจัยนี้ ได้เลือกใช้ DL-methionine และ CTAB ซึ่งมีโครงสร้างเหมาะสมที่จะใช้เป็นลิแกนด์สำหรับดัดแปรพื้นผิวโลหะอนุภาคนาโน

2.2.1 ดีแอล-เมไทโอนีน (DL-Methionine)

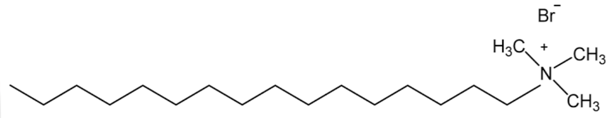
ดีแอล-เมไทโอนีน ถูกจัดอยู่ในกลุ่มกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (sulfur amino acids) ซึ่งมีซีสเทอีน (cysteine) และซีสทีน (cystine) รวมอยู่ด้วย และจัดเป็นกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid, EAA) ที่ร่างกายสัตว์สร้างไม่ได้หรือสร้างได้แต่ไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร โครงสร้างประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group, -COOH) หมู่อะมิโน (amino group, $-NH_2$) อะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom, -H) และหมู่ R (side chain) ที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ โดยมีหมู่อะมิโนเกาะติดกับคาร์บอนที่ตำแหน่งแอลฟา เมไทโอนีนจึงถูกจัดเป็น non polar methyl thioester group ดังแสดงในภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของกรดอะมิโนเมไทโอนีน

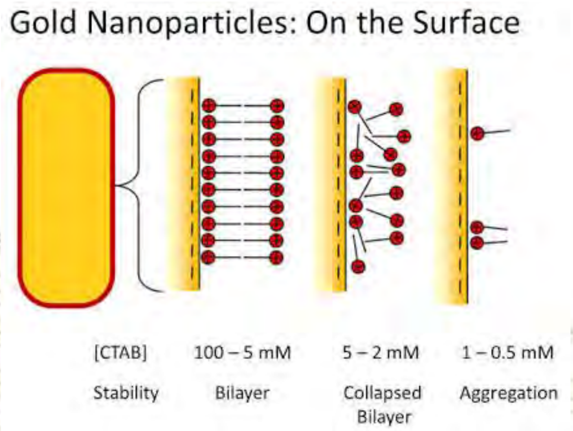
2.2.2 ซิทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (CTAB)

ซิทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ หรือ CTAB เป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ชนิดหนึ่ง มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{16}H_{33}N(CH_3)_3^+Br^-$ นิยมนำมาใช้เป็นส่วนผสมที่สำคัญในการผลิตแท่งนาโน จากการทดลอง นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่า CTAB จะทำหน้าที่ปกคลุมผิวหน้าของแท่งนาโนเหมือนกับการทำงานของสบู่และน้ำยาล้างจาน ทำให้แท่งนาโนสามารถละลายในน้ำได้



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของซิทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



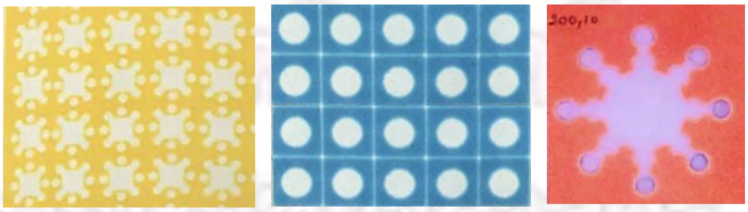
ภาพที่ 2.4 ลักษณะการปกคลุมของ CTAB บนผิวหน้าของทองคำขนาดนาโน

2.3 อุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพา (portable paper-based testing device)

กระดาษเป็นวัสดุซึ่งย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ หาซื้อได้ทั่วไปและราคาถูก กระดาษจึงถูกนำมาใช้ในงานที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์สารที่ละลายในของไหลหรือสารมีสถานะเป็นของไหล โดยของไหลในที่นี้อาจจะเป็นของเหลวหรือแก๊สก็ได้

อุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพา (portable paper-based testing device) เป็นการย่อหน้าที่ของห้องปฏิบัติการที่วิเคราะห์สารซับซ้อนลงบนกระดาษแผ่นเล็กๆ แผ่นเดียว และอาศัยเทคโนโลยีเกี่ยวกับของไหลจุลภาค (microfluidics) ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่จัดการของไหลปริมาณน้อยมาเกี่ยวข้อง โดยกระดาษเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (hydrophilic) เมื่อหยดน้ำลงบนกระดาษหรือจุ่มกระดาษลงในน้ำ น้ำจะซึมไปทั่วกระดาษ ดังนั้นเพื่อควบคุมทิศทางการซึมของน้ำหรือสารที่ต้องการวิเคราะห์ จึงต้องมีการทำให้บางบริเวณบนกระดาษไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ซึ่งมีวิธีการหลักๆ 2 วิธี คือ การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) และการจุ่มด้วยขี้ผึ้ง (wax dipping) โดยขี้ผึ้งหรือไขเป็นวัสดุไม่ชอบน้ำที่มีราคาถูกและหาได้ทั่วไป

สำหรับวิธีที่เลือกใช้คือ การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) มีวิธีการคือ ใช้เครื่องพิมพ์ พิมพ์ขี้ผึ้ง ลงบนกระดาษกรองยี่ห้อ Whatman จากนั้นนำไปให้อุ่นที่ 175 องศาเซลเซียส นาน 40 วินาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้ไขละลายเข้าสู่เส้นใยกระดาษ เพื่อให้ไขสร้างแนวกั้นบนกระดาษ



ภาพที่ 2.5 ตัวอย่างอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาที่พิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อสร้างช่องขนส่งของไหลและบริเวณทดสอบบนกระดาษแล้ว สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์จะถูกหยดลงบริเวณทดสอบเพื่อจับเกาะบนเส้นใยกระดาษ หลังจากนั้นจึงหยดสารละลายซึ่งมีสารที่ต้องการวิเคราะห์ลงในช่องขนส่งให้ซึมไปยังบริเวณทดสอบ โดยวิธีการตรวจวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์สำหรับอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษในปัจจุบันมี 4 วิธี คือ การตรวจวัดโดยการเทียบสี (colorimetric detection) การตรวจวัดโดยวิธีการทางไฟฟ้า (electrochemical detection) การตรวจวัดโดยวิธีการทางเคมีเรืองแสง (chemiluminescence detection) และวิธีการเรืองแสงทางไฟฟ้าเคมี (electrochemiluminescence detection)

2.4 วิธีการตรวจวัดโดยการเทียบสี (colorimetric method)

วิธีการตรวจวัดโดยการเทียบสี (colorimetric method) อาศัยหลักการการเปลี่ยนแปลงสีของสารโดยปฏิกิริยาทางเคมี ข้อดีของเทคนิคนี้คือ สามารถวัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณได้อย่างรวดเร็ว เป็นเทคนิคที่ไม่ยุ่งยาก และวิเคราะห์สารได้หลากหลาย เทคนิคนี้ถูกพัฒนาขึ้นมาอย่างต่อเนื่อง เริ่มตั้งแต่วิเคราะห์สีที่เปลี่ยนแปลงด้วยตาเปล่า ต่อมาได้มีการคิดค้นแถบสีมาตรฐาน การประดิษฐ์เครื่องมือเพื่อนำมาเป็นมาตรฐานอ้างอิง ไปจนถึงการสร้างเครื่องมือชนิดพกพาได้เพื่ออำนวยความสะดวกแก่ผู้ใช้ หรืออาจนำเอาเทคโนโลยีคอมพิวเตอร์เข้ามาใช้ควบคู่ด้วย เพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้รวดเร็ว ถูกต้องมากขึ้น ประมวลผลข้อมูลได้แม่นยำ และมีรูปแบบการวิเคราะห์ที่แน่นอนมากยิ่งขึ้น

2.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวัด (method validation)

ก่อนที่จะนำวิธีการวิเคราะห์ใดๆมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง จำเป็นต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีก่อน เพื่อยืนยันความเหมาะสมของวิธีการที่ถูกพัฒนาขึ้น ว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่น ความเที่ยง และยอมรับได้ โดยจะต้องครอบคลุมถึงสมบัติของวิธีการวิเคราะห์ ดังนี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. ความแม่น (accuracy)

หากวิธีการวิเคราะห์สามารถวัดค่าได้ใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริงมากที่สุด แสดงว่า การวิเคราะห์มีความแม่นสูง (high accuracy) แต่ถ้าวัดค่าได้ห่างไกลจากค่าจริง แสดงว่า การวิเคราะห์มีความแม่นต่ำ (low accuracy) การหาความแม่น (accuracy) ทำได้โดย

1.1 วิเคราะห์ certified reference material (CRM) อย่างน้อย 7 ซ้ำ และนำมาคำนวณหาระดับความแม่นในรูปของความคลาดเคลื่อน (relative error) หรือความแม่นสัมพัทธ์ (relative accuracy)

โดยค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ คิดจากสูตร

$$\text{ค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์} = \frac{\text{ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์}}{\text{ค่าที่แท้จริง}} \times 100$$

เมื่อความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์ (absolute error) = ค่าที่วัดได้ – ค่าที่แท้จริง

และค่าความแม่นสัมพัทธ์ คิดจากสูตร

$$\text{ค่าความแม่นสัมพัทธ์} = \frac{\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ค่าที่แท้จริง}} \times 100$$

เกณฑ์การยอมรับระดับความแม่นโดยทั่วไปของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ระดับความแม่นของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน

ความเข้มข้นของสาร	เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์		
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง
มากกว่าระดับ ppm	1-10	0.1-1	0.01-0.1
ระดับ ppm	10-35	1-10	0.1-1
ระดับ ppb และ ppt	>35	10-35	1-10

ที่มา: วิลาวัลย์ (2544)

1.2 ในกรณีที่ไม่สามารถหา CRM ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ได้ สามารถประมาณค่าความแม่นได้ โดยการหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%recovery) โดยใช้ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample) ซึ่งจะมีข้อจำกัดว่าความแม่นที่ได้นั้นครอบคลุมเฉพาะขั้นตอนที่วิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานเท่านั้น การหาการคืนกลับจะทำ 3 ระดับความเข้มข้น และอย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ โดยค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ คิดจากสูตร

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ = (ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน)-(ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติม) x100
(ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม)

เกณฑ์การยอมรับระดับความแม่นโดยทั่วไปของค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ระดับความแม่นของการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ
100 ppm	90 - 107
10 ppm	80 – 110
1 ppm	80 – 110
100 ppb	80 – 110
10 ppb	60 – 115
1 ppb	40 - 120

ที่มา: AOAC manual for Peer Verified Methods program, VA, NOV 1993

2. ความเที่ยง (precision)

ความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำหลายๆ ครั้ง มักจะแสดงด้วยค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ซึ่งการหาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์มี 2 ลักษณะคือ

- การทำซ้ำ (repeatability) หมายถึง ความเที่ยงที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในภาวะเดียวกัน เช่น ใช้วิธีเดียวกัน ทำในห้องปฏิบัติการเดียวกัน ใช้เครื่องมือชุดเดียวกัน และมีผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน

- การผลิตซ้ำ (reproducibility) หมายถึง ความเที่ยงที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ โดยใช้วิธีเดียวกัน แต่ใช้ผู้วิเคราะห์ต่างกัน เครื่องมือคนละเครื่องกัน รวมทั้งทำในห้องปฏิบัติการคนละแห่งกัน

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เกณฑ์การยอมรับระดับความเที่ยงโดยทั่วไป จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ระดับความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
100 ppm	± 5.3
10 ppm	± 7.3
1 ppm	± 11
100 ppb	± 15
10 ppb	± 21
1 ppb	± 30

ที่มา: AOAC manual for Peer Verified Methods program, VA, NOV 1993

โดยค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ คิดจากสูตร

$$\text{ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์} = \frac{\text{ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด}} \times 100$$

3. การหาค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

ขีดจำกัดในการตรวจวัด (limit of detection, LOD) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างโดยขีดจำกัดในการตรวจวัด คิดจากสูตร

$$\text{ขีดจำกัดในการตรวจวัด} = \frac{3 \times \text{ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มสีของสารละลายมาตรฐาน}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

(สมการที่ 2.1)

ขีดจำกัดในการหาปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจพบและอ่านค่าได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และสามารถรายงานค่าได้ ขีดจำกัดในการหาปริมาณ คิดจากสูตร

$$\text{ขีดจำกัดในการหาปริมาณ} = \frac{10 \times \text{ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มสีของสารละลายมาตรฐาน}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

(สมการที่ 2.2)

4. ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity)

ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) แสดงความสามารถของวิธีการวิเคราะห์ที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด

ช่วงความเป็นเส้นตรง ทำได้โดยการวิเคราะห์ CRM หรือสารตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample) ให้มีความเข้มข้นอย่างน้อย 5 ระดับ ตั้งแต่น้อยไปจนมากที่สุด แต่ละระดับความเข้มข้นทำ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟเส้นระหว่างค่าที่วัดได้กับค่าความเข้มข้น จากนั้นคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) โดยทั่วไปเกณฑ์การยอมรับของค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ระหว่าง 0.995 – 1.000

5. ความจำเพาะ (selectivity)

ความจำเพาะ (selectivity) หมายถึง ความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่จะวิเคราะห์เฉพาะสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยที่สารนั้นเป็นเพียงส่วนประกอบหนึ่งในสารละลายนั้นๆ การศึกษาความจำเพาะ ทำได้โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีหรือเติมสารรบกวนอื่นลงไป แล้วตรวจสอบว่าสารรบกวนเหล่านั้นมีผลกระทบต่อการวิเคราะห์หรือไม่ และสารรบกวนเหล่านั้นทำให้การตรวจวัด หรือการหาปริมาณสารที่ต้องการทราบผิดไป (มากขึ้นหรือน้อยลง) หรือไม่

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
การทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. กระดาษกรอง ยี่ห้อ Whatman no.1
2. เครื่องพิมพ์ชนิดขี้ผึ้ง ยี่ห้อ Xerox รุ่น Color Qube 8570
3. เครื่องให้ความร้อน
4. นาฬิกาจับเวลา
5. ไมโครปิเปต
6. ไมโครปิเปตทิป
7. หลอดไมโครทิวป์
8. ขวดกำหนดปริมาตร
9. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettle Toledo
10. เครื่องเขย่าสาร ยี่ห้อ vortex รุ่น genie2
11. กล้องถ่ายภาพดิจิทัล ยี่ห้อ canon รุ่น EOS 1000D
12. กล่องควบคุมแสง
13. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น HEWLETT PACKARD 8453
14. กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน ยี่ห้อ Hitachi รุ่น H-7650
15. เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราดสเปกโทรมิเตอร์ ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Nicolet 6700

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมี

1. silver nanoparticles (AgNPs)
2. DL-methionine
3. Hexadecyl trimetyl ammonium bromide (CTAB)
4. น้ำบริสุทธิ์ (Milli-Q water)
5. sodium chloride (NaCl)
6. mercury(II) nitrate
7. nickel standard (ICP)
8. lead (Pb) standard 1000
9. zinc standard (AA)
10. copper(II) nitrate
11. cadmium standard 1000
12. magnesium chloride
13. sodium (meta) arsenite ($NaAsO_2$)
14. iron(II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 การเตรียมสารละลายของเงินอนุภาคนาโนความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 25 mL

ปิเปตสารละลายเข้มข้นของเงินอนุภาคนาโน ความเข้มข้น 300 ppm มา 16.67 mL แล้วเติมน้ำ milli-Q 8.33 mL ใส่ลงในขวดพลาสติก จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายของเงินอนุภาคนาโนความเข้มข้น 200 ppm

3.2.2 การเตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 mM ปริมาตร 25 mL สำหรับละลาย Hg(II) และโลหะอื่นๆ

เตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.1 mM โดยชั่ง NaCl 0.1461 mg ใส่ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25 mL แล้วละลายด้วยน้ำ milli-Q

เตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.2 mM โดยชั่ง NaCl 0.2922 mg ใส่ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25 mL แล้วละลายด้วยน้ำ milli-Q

เตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.3 mM โดยชั่ง NaCl 0.4383 mg ใส่ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25 mL แล้วละลายด้วยน้ำ milli-Q

เตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.4 mM โดยชั่ง NaCl 0.5844 mg ใส่ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25 mL แล้วละลายด้วยน้ำ milli-Q

เตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.5 mM โดยชั่ง NaCl 0.7305 mg ใส่ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25 mL แล้วละลายด้วยน้ำ milli-Q

3.2.3 การเตรียมสารละลายของโลหะต่างๆ ความเข้มข้น 1 ppm ปริมาตร 1 mL

ปิเปตสารละลายโลหะต่างๆ ได้แก่ Hg(II) As(III) Ni(II) Fe(III) Cu(II) Zn(II) Mg(II) Cd(II) และ Pb(II) ความเข้มข้น 1000 ppm มา 1 µL แล้วเติมสารละลาย NaCl ที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่างๆ 999 mL ใส่ลงในหลอดไมโครทิวป์ จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายโลหะความเข้มข้น 1 ppm

3.2.4 การเตรียมสารละลาย DL-methionine ความเข้มข้น 100 mM ปริมาตร 1 mL

เตรียมสารละลาย DL-methionine ความเข้มข้น 100 mM โดยชั่ง DL-methionine 14.92 mg ใส่ลงในหลอดไมโครทิวป์ขนาด 1000 µL เติมน้ำ milli-Q ปริมาตร 1000 µL จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารจนสารละลายหมด

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.5 การเตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1 mM ปริมาตร 2 mL

เตรียมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 1 mM โดยชั่ง CTAB มา 0.729 mg ใส่ลงในหลอดไมโครทิวป์ขนาด 2000 µL เติมน้ำ milli-Q ปริมาตร 2000 µL จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารจนสารละลายหมด

3.2.6 การดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโนด้วย DL-methionine และ CTAB

ดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโนด้วย DL-methionine ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.2 mM ดังนี้

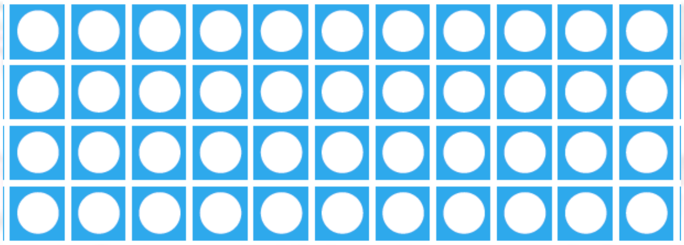
สำหรับ 0.1 และ 0.2 mM ปิเปตสารละลาย DL-methionine 100 mM ปริมาตร 1 และ 2 µL ตามลำดับ ใส่ลงในหลอดไมโครทิวป์ขนาด 1000 µL และปรับปริมาตรด้วยสารละลายเงินอนุภาคนาโนความเข้มข้น 200 ppm ให้เป็น 1 mL ส่วน 0.01 และ 0.05 mM เตรียมจากการเจือจางเงินอนุภาคนาโนความเข้มข้น 0.2 mM นำสารละลายที่ได้ไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารเพื่อให้สารเข้ากัน แล้วปิเปตสารละลายที่ได้ 200 µL ใส่ลงในหลอดไมโครทิวป์ขนาด 250 µL จากนั้นหยด CTAB 1 µL แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารนาน 1 วัน จะได้เงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และ CTAB

3.2.7 การเตรียมตัวอย่างน้ำสำหรับการตรวจวัด

ตัวอย่างจริงที่นำมาตรวจวัดคือ น้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำทั่วไป นำตัวอย่างน้ำมาเจือจาง 100 เท่า โดยปิเปตตัวอย่างน้ำมา 0.2 mL และปรับปริมาตรด้วยสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.4 mM ให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20 mL จากนั้นนำตัวอย่างน้ำที่ถูกเจือจางไปเติม Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆ ให้เป็น spiked sample เพื่อใช้ในการตรวจวัด

3.3 การเตรียมอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพา

การเตรียมอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษ เริ่มจากการออกแบบรูปแบบที่เหมาะสมของอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษด้วยโปรแกรม adobe illustrator จากนั้นพิมพ์ขี้ผึ้งตามรูปแบบที่ออกแบบไว้ลงบนกระดาษกรอง ยี่ห้อ Whatman no.1 ด้วยเครื่องพิมพ์ชนิดขี้ผึ้ง ยี่ห้อ Xerox รุ่น Color Qube 8570 เมื่อพิมพ์เสร็จ นำกระดาษกรองที่ผ่านการพิมพ์ไปอุ่นบนเครื่องให้ความร้อนที่ 175 องศาเซลเซียส นาน 40 วินาที เพื่อให้ขี้ผึ้งละลายเข้าสู่เส้นใยกระดาษ เกิดเป็นแนวกั้นบนกระดาษ



ภาพที่ 3.1 ตัวอย่างรูปแบบกระดาษกรองที่ออกแบบด้วยโปรแกรม adobe illustrator

3.4 ขั้นตอนการตรวจวัด

3.4.1 การทดสอบหาชนิดและความเข้มข้นของตัวดัดพื้นผิวแปรเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสม

ศึกษาและทดสอบหาชนิดตัวดัดแปรที่มีหมู่ $-NH_2$ และ –S ซึ่งเหมาะสมสำหรับดัดแปรเงินอนุภาคนาโน เมื่อได้ชนิดตัวดัดแปรแล้ว ทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยปิเปตเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และ CTAB โดยที่ความเข้มข้นของ DL-methionine คือ 0.01 0.05 0.1 และ 0.2 mM หยดลงในช่องบนอุปกรณ์กระดาษช่องละ 15 μL ตามด้วยหยดสารละลาย Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb ที่ละลายใน NaCl ความเข้มข้น 0.4 mM ลงในแต่ละช่อง ช่องละ 5 μL สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล ทุกๆ 1 นาที นาน 10 นาที แล้วใช้โปรแกรม imageJ ในการแปรผลเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มสี เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ (แกน y) กับความเข้มข้นของ DL-methionine (แกน x)

3.4.2 การทดสอบหาความเข้มข้นของ NaCl ที่เหมาะสม

ปิเปตเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และ CTAP โดยที่ความเข้มข้นของ DL-methionine คือ 0.05 mM หยดลงในช่องบนอุปกรณ์กระดาษช่องละ 15 μL ตามด้วยหยดสารละลาย Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb ที่ละลายใน NaCl ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 mM ลงในแต่ละช่อง ช่องละ 5 μL สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล ทุกๆ 1 นาที นาน 10 นาที แล้วใช้โปรแกรม imageJ ในการแปรผลเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มสี เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ (แกน y) กับความเข้มข้นของ NaCl (แกน x)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.3 การทดสอบหาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Hg(II) กับเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสม

ปิเปตเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และ CTAB โดยที่ความเข้มข้นของ DL-methionine คือ 0.05 mM หยดลงในช่องบนอุปกรณ์กระดาษช่องละ 15 µL ตามด้วยหยดสารละลาย Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb ที่ละลายใน NaCl ความเข้มข้น 0.4 mM ลงในแต่ละช่อง ช่องละ 5 µL สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล โดย 10 นาทีแรกถ่ายภาพทุกๆ 1 นาที หลังจากนั้นถ่ายภาพทุกๆ 5 นาที นาน 30 นาที แล้วใช้โปรแกรม imageJ ในการแปรผลเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มสี เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ (แกน y) กับเวลา (แกน x)

3.4.4 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีและความเข้มข้นของ Hg(II)

ปิเปตเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และ CTAB โดยที่ความเข้มข้นของ DL-methionine คือ 0.05 mM หยดลงในช่องบนอุปกรณ์กระดาษช่องละ 15 µL ตามด้วยหยดสารละลาย Hg(II) ความเข้มข้น 0 10 50 100 250 350 และ 500 ppb ที่ละลายใน NaCl ความเข้มข้น 0.4 mM ลงในแต่ละช่อง ช่องละ 5 µL สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล ที่เวลา 6 นาที แล้วใช้โปรแกรม imageJ ในการแปรผลเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มสีเพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ (แกน y) กับความเข้มข้นของ Hg(II) (แกน x)

3.4.5 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด และขีดจำกัดในการหาปริมาณ

จากการสร้างกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Hg(II) และความเข้มสีเพื่อศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง สามารถคำนวณหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ได้จากสูตร ดังสมการที่ 2.1 และ 2.2

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.6 การศึกษาผลของการทำซ้ำ

ปิเปตเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และ CTAB โดยที่ความเข้มข้นของ DL-methionine คือ 0.05 mM หยดลงในช่องบนอุปกรณ์กระดาษช่องละ 15 µL ตามด้วยหยดสารละลาย Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb ที่ละลายใน NaCl ความเข้มข้น 0.4 mM ลงในแต่ละช่อง ช่องละ 5 µL สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล ที่เวลา 6 นาที แล้วใช้โปรแกรม imageJ ในการแปรผลเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มสี ทำซ้ำทั้งหมด 10 ครั้ง เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ (แกน y) กับจำนวนครั้งที่ทดลอง (แกน x)

3.4.7 การศึกษาความจำเพาะและผลของตัวรบกวนต่างๆ

ปิเปตเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และ CTAB โดยที่ความเข้มข้นของ DL-methionine คือ 0.05 mM หยดลงในช่องบนอุปกรณ์กระดาษช่องละ 15 µL ตามด้วยหยดโลหะชนิดต่างๆ ลงในแต่ละช่อง ช่องละ 5 µL สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล ที่เวลา 6 นาที แล้วใช้โปรแกรม imageJ ในการแปรผลเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มสี เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ (แกน y) กับ โลหะชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 500 ppb (แกน x)

3.4.8 การศึกษาสัณฐานวิทยาของเงินอนุภาคนาโนเมื่อเติมและไม่เติม Hg(II) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์

ศึกษาการดูดกลืนแสงของเงินอนุภาคนาโนเมื่อเติมและไม่เติม Hg(II) โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ยี่ห้อ Agilent technologies รุ่น HEWLETT PACKARD 8453 โดย cuvette ที่ใช้ทำจาก quartz กว้าง 1 เซนติเมตร ช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ 400 – 800 nm

ศึกษาขนาดและรูปร่างของเงินอนุภาคนาโนเมื่อเติมและไม่เติม Hg(II) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (TEM) ยี่ห้อ Hitachi รุ่น H-7650

ศึกษาหมู่ฟังก์ชันของเงินอนุภาคนาโนทั้งแบบไม่ดัดแปรและดัดแปรพื้นผิว โดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Nicolet 6700 ช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ 600 – 4000 cm^{-1} แล้ววิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรม OMNIC

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.9 การทดสอบกับตัวอย่างจริง

ปิเปตเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine และ CTAB โดยที่ความเข้มข้นของ DL-methionine คือ 0.05 mM หยดลงในช่องบนอุปกรณ์กระดาษช่องละ 15 µL ตามด้วย หยดสารละลาย Hg(II) ที่เตรียมในตัวอย่างน้ำดื่มที่เจือจาง 100 เท่าลงในแต่ละช่อง ช่องละ 5 µL สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงด้วยการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล ที่เวลา 6 นาที แล้วใช้โปรแกรม imageJ ในการแปรผลเป็นค่าเฉลี่ยความเข้มสี เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ (แกน y) กับความเข้มข้นของ Hg(II) (แกน x) และทำเช่นเดียวกันในตัวอย่างน้ำประปาและน้ำจากแหล่งน้ำ

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 ผลการทดสอบเพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของตัวดัดแปรเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสม

ในการศึกษาการตรวจวัด Hg(II) ด้วยเงินอนุภาคนาโนทั้งแบบไม่ดัดแปรและดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine (ภาพที่ 4.1) โดยอัตราส่วนปริมาตรที่ใช้ในการตรวจวัดของ Hg(II) ต่อเงินอนุภาคนาโนคือ 1:1 (ปริมาตรรวม 40 µL) พบว่า เงินอนุภาคนาโนที่ไม่ผ่านดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine มีประสิทธิภาพในการตรวจวัด Hg(II) ที่ต่ำกว่า เนื่องจากให้ค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ใกล้เคียงกับสารละลายมาตรฐาน (ใช้ 0.4 mM NaCl เป็น blank) ในขณะที่เงินอนุภาคนาโนที่ผ่านการดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine พบว่า ให้ค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่แตกต่างจากภาวะควบคุมอย่างชัดเจน และสามารถสังเกตเห็นความแตกต่างของสีได้ด้วยตาเปล่า เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มสีเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.2) สรุปได้ว่าการดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโนสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัด Hg(II) ได้

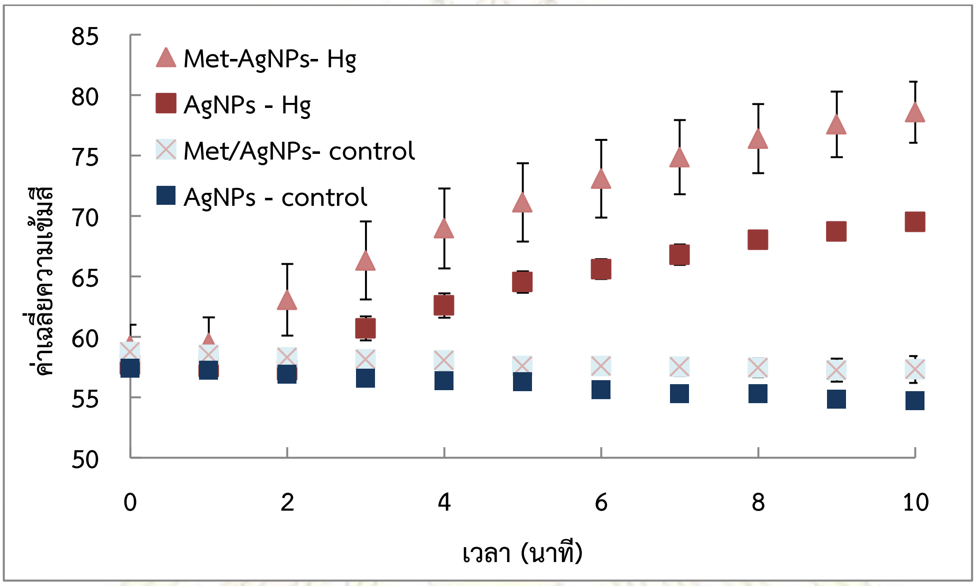
โดยการเลือกใช้ methionine ดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโน พบว่าโครงสร้างของ DL-methionine นั้นมีความเหมาะสมกว่า D-methionine และ L-methionine เนื่องจากหมู่ $-NH_2$ ของ DL- methionine จะอยู่ในระนาบเดียวกันกับสายโซ่หลักทำให้ไม่เกะกะกันเวลาเกาะติดอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคนาโน (โครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 4.3) แต่การใช้ DL-methionine ดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโน Hg(II) เพียงอย่างเดียว พบว่า เงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine ไม่สามารถเก็บไว้ใช้ได้นาน จึงได้เพิ่มการใช้ CTAB (ภาพที่ 4.4) เป็นตัวดัดแปรร่วม โดย CTAB จะทำหน้าที่เป็นสารที่ทำให้เงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรเกิดความคงตัว ลดการเกิดการรวมตัวของเงินอนุภาคนาโน (self-aggregation) และช่วยยืดอายุของเงินอนุภาคนาโนให้สามารถเก็บไว้ใช้ได้นานขึ้น และอัตราส่วนปริมาตรที่ใช้ในการตรวจวัดของ Hg(II) ต่อเงินอนุภาคนาโนคือ 1:1 (ปริมาตรรวม 40 µL) ยังไม่สามารถตรวจวัด Hg(II) ได้ในระดับต่ำพอ โดยการตรวจวัดด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษสามารถตรวจวัดได้ต่ำสุดที่ 0.5 ppm หรือ 500 ppb เท่านั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Hg(II) จะเกิดเปลี่ยนแปลงสี (ภาพที่ 4.5) โดยที่

-ความเข้มข้นของ Hg(II) 1 ppm เงินอนุภาคนาโนจะเปลี่ยนสีจากม่วงน้ำเงินเป็นสีส้ม

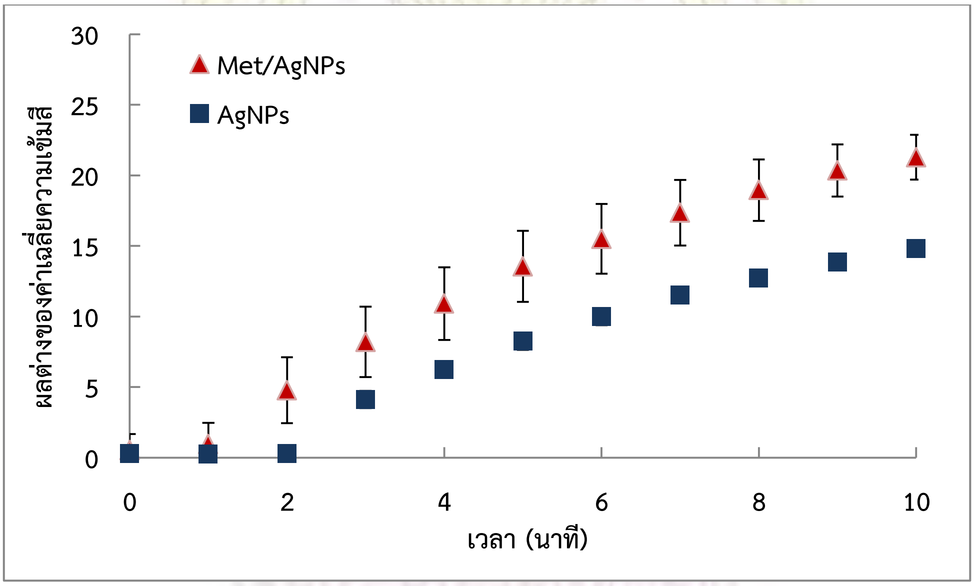
-ความเข้มข้นของ Hg(II) 0.5 ppm เงินอนุภาคนาโนจะเปลี่ยนสีจากม่วงน้ำเงินเป็นสีม่วงแดง

-ความเข้มข้นของ Hg(II) ที่ต่ำกว่า 0.5 ppm พบว่า เงินอนุภาคนาโนไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี

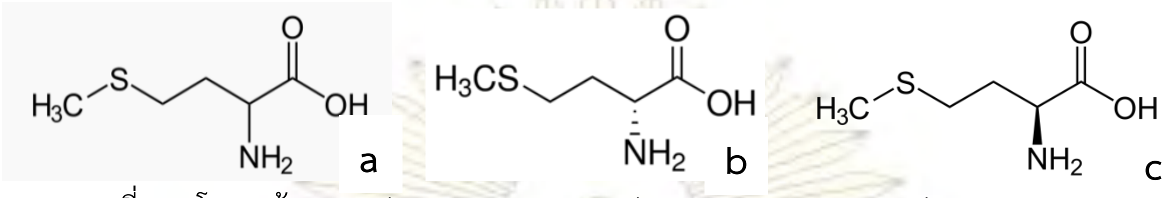
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



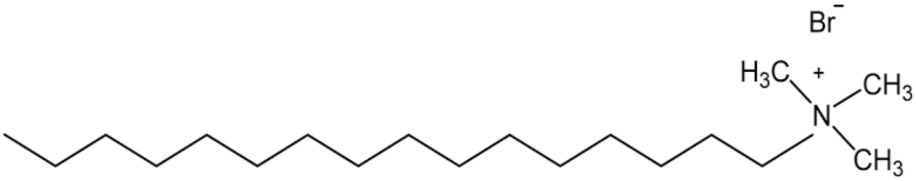
ภาพที่ 4.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 1 ppm โดยใช้เงินอนุภาคนาโนที่ไม่ดัดแปรพื้นผิว (สีน้ำเงิน) และเงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิว (สีน้ำแดง) ในการตรวจวัด



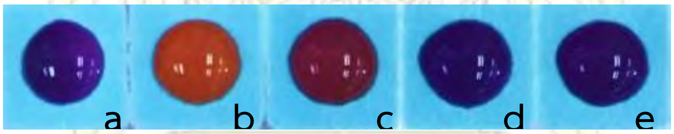
ภาพที่ 4.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 1 ppm โดยใช้เงินอนุภาคนาโนที่ไม่ดัดแปรพื้นผิว (สีน้ำเงิน) และเงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิว (สีน้ำแดง) ในการตรวจวัด



ภาพที่ 4.3 โครงสร้างของ a) DL-methionine b) D-methionine และ c) L-methionine



ภาพที่ 4.4 โครงสร้างของ CTAB



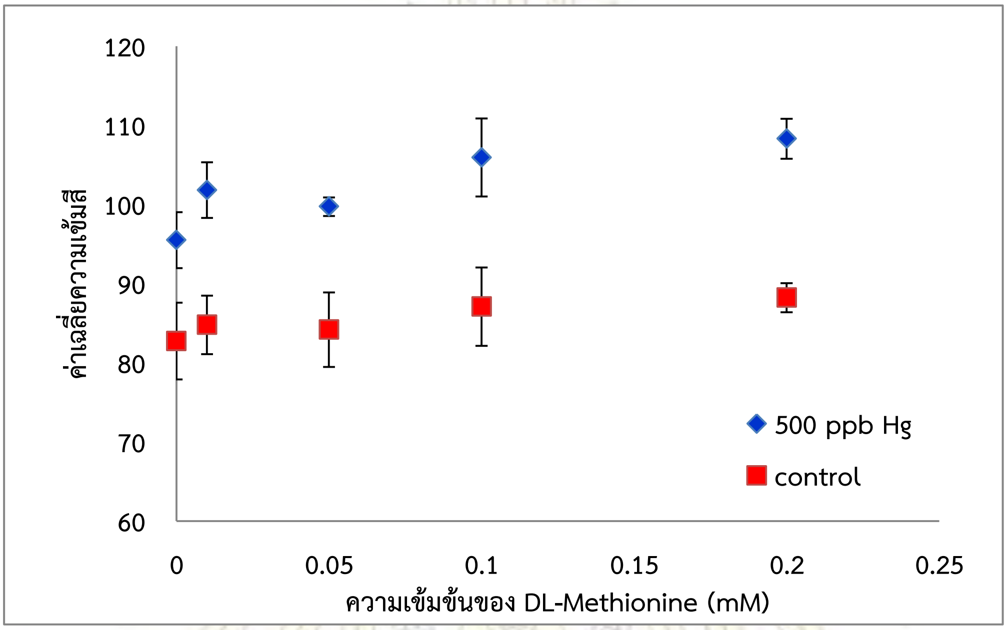
ภาพที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงสีของเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรด้วย DL-methionine หลังหยดสารละลาย Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆใน NaCl 0.4 mM ดังนี้ a) Hg 0 ppm b) Hg 1 ppm c) Hg 0.5 ppm d) 0.1 ppm และ e) 0.05 ppm

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

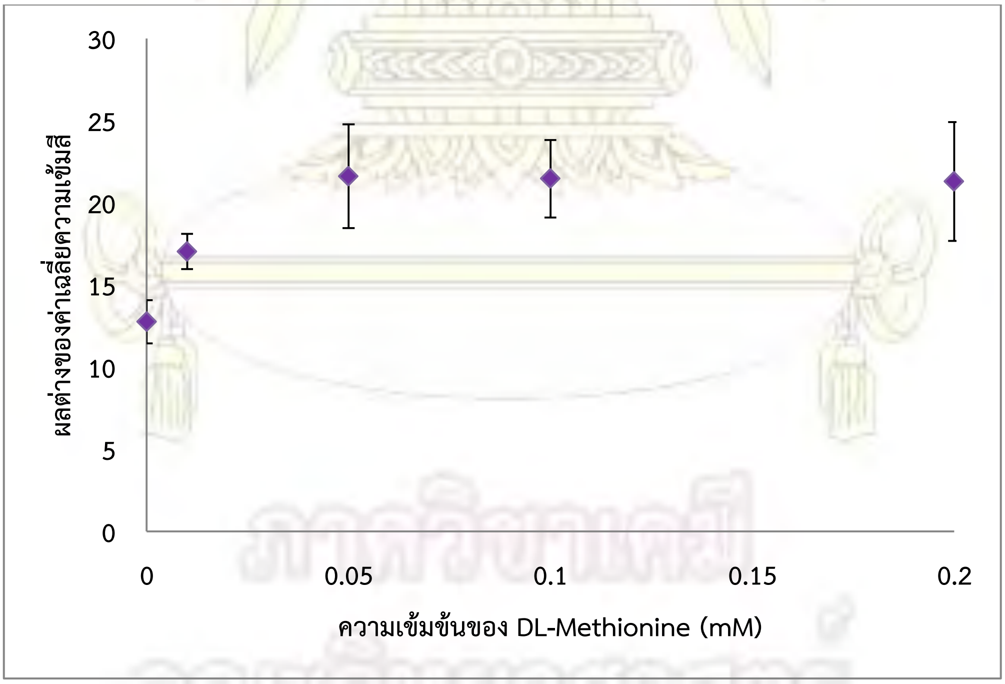
ต่อมาได้ทดสอบหาอัตราส่วนของปริมาตรที่เหมาะสมเพื่อใช้ตรวจวัด Hg(II) ในระดับที่ต่ำลง โดยการทดสอบได้ใช้อัตราส่วนของปริมาตร Hg(II) ต่อเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปร ดังนี้ 1:1 2:1 3:1 และ 4:1 พบว่า อัตราส่วนปริมาตรที่ใช้ตรวจวัดของ Hg(II) ต่อเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสมคือ 3:1 (ปริมาตรรวม 20 µL) เนื่องจากให้ค่าความเข้มสีสูงที่สุด และสามารถสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนที่สุด

แล้วทำการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ DL-methionine ที่ใช้ดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโนเพื่อใช้ในการตรวจวัด Hg(II) (ภาพที่ 4.6) พบว่า DL-methionine ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 mM สามารถใช้ตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้น 500 ppb ได้ทั้งหมด โดยเมื่อพิจารณากราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและความเข้มข้นต่างๆของ DL-methionine ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb (ภาพที่ 4.7) พบว่า DL-methionine ที่ความเข้มข้น 0.01mM มีผลต่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีในการตรวจวัด Hg(II) น้อยที่สุด และให้ผลใกล้เคียงกับการไม่ใช้ DL-methionine ดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโน ในขณะที่ DL-methionine ความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.5 mM มีผลต่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีในการตรวจวัด Hg(II) ใกล้เคียงกัน และให้ค่าที่แตกต่างจากการไม่ใช้ DL-methionine ดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโน สรุปจึงเลือกใช้ DL-methionine ความเข้มข้น 0.05 mM ดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคนาโนเพื่อใช้ในการตรวจวัด Hg(II) เพราะใช้ตัวดัดแปรปริมาณน้อยกว่า

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.6 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและความเข้มข้นต่างๆ ของ DL-methionine ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

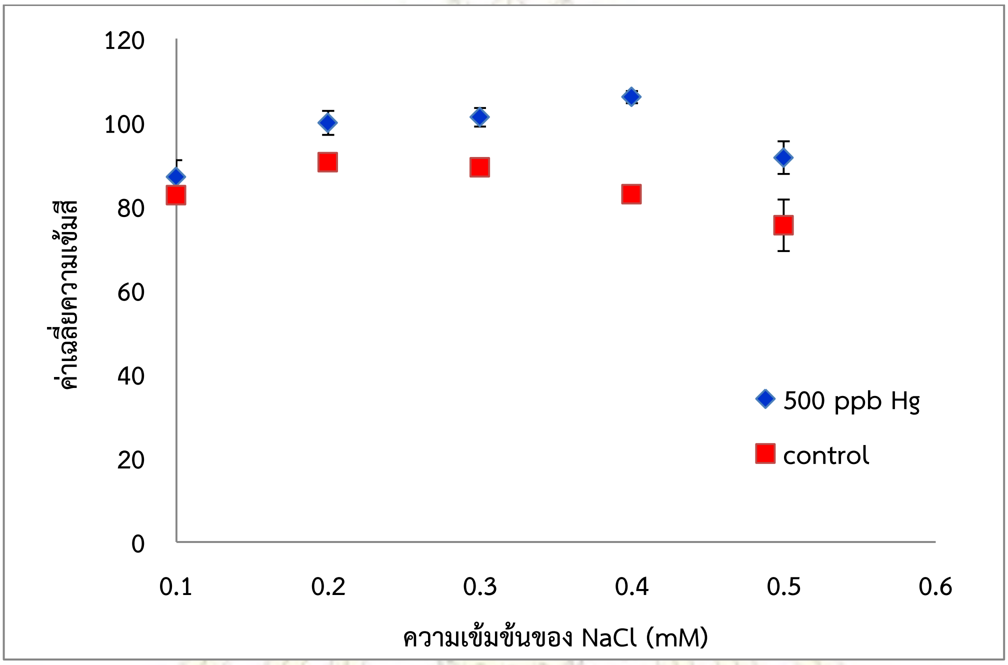


ภาพที่ 4.7 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสี และความเข้มข้นต่างๆของ DL-methionine ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

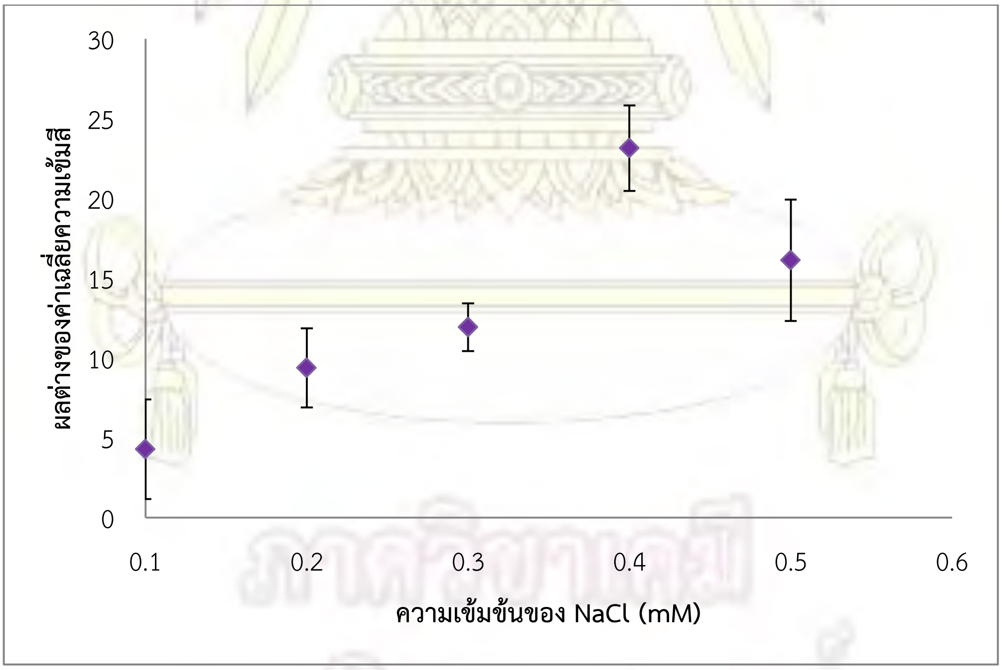
4.2 ผลการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของ NaCl ที่เหมาะสม

จากการทดลองได้ทำการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ NaCl ที่ใช้เป็นตัวกลาง สำหรับการตรวจวัด (ภาพที่ 4.8) พบว่าสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 mM ให้ผลการทดลองที่แตกต่างกัน โดย NaCl ความเข้มข้น 0.4 mM ให้การตรวจวัดที่ดีที่สุด พิจารณาจากค่าเฉลี่ยความเข้มความเข้มสีในการตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้น 500 ppb มีค่าสูงที่สุด และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในการตรวจวัดน้อยที่สุด เมื่อพิจารณาผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสี (ภาพที่ 4.9) พบว่า NaCl ความเข้มข้น 0.4 mM มีค่าผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีสูงกว่า NaCl ที่ความเข้มข้นอื่นๆ อย่างชัดเจน แสดงว่าเมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีจะสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีได้ชัดเจนที่สุด เมื่อเทียบกับภาวะควบคุม (ใช้ 0.4 mM NaCl เป็นภาวะควบคุม)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและความเข้มข้นต่างๆของ NaCl ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

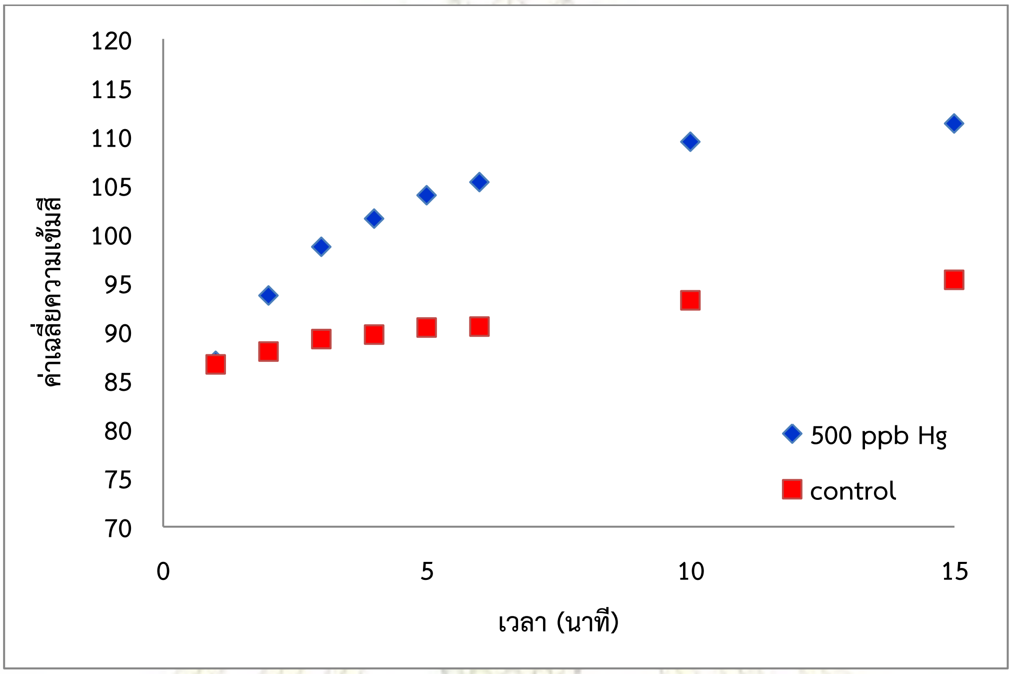


ภาพที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและความเข้มข้นต่างๆของ NaCl ที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

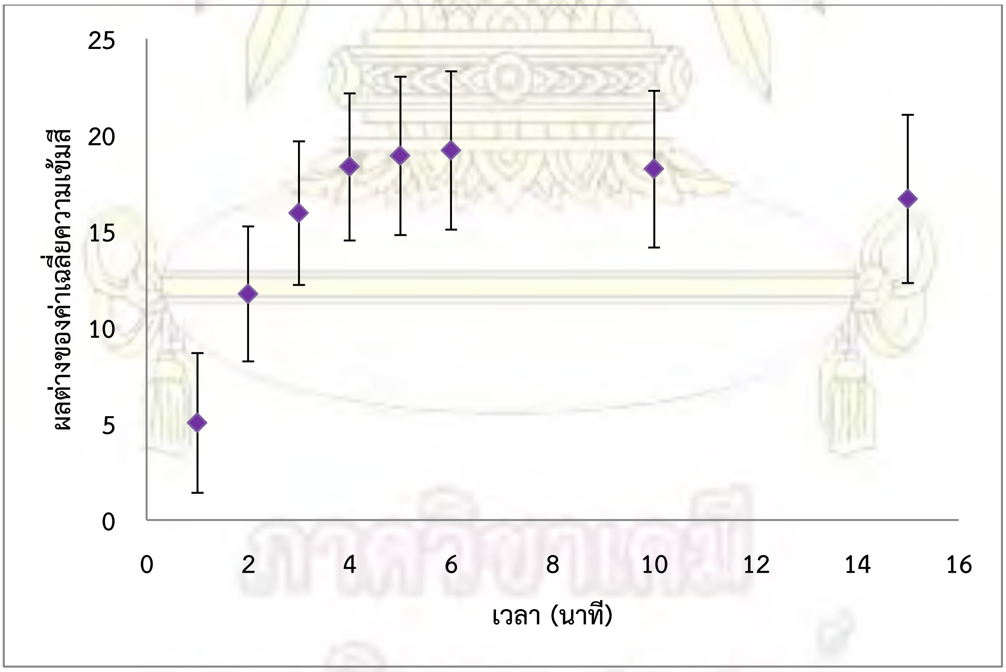
4.3 ผลการศึกษาเพื่อหาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Hg(II) กับเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสม

จากการทดลองเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาระหว่าง Hg(II) กับเงินอนุภาคนาโน (reaction time) เพื่อทำการถ่ายภาพการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นแล้วนำไปวิเคราะห์เป็นค่าทางสถิติ พบว่า ในการตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้น 500 ppb เมื่อเวลาผ่านไปพบว่ามีค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ตรวจวัดได้เพิ่มขึ้น โดยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาจะมีลักษณะโค้งชันขึ้นและเริ่มคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 6 นาที (ภาพที่ 4.10) และจากผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสี (ภาพที่ 4.11) พบว่า ที่เวลา 6 นาทีมีค่าสูงสุด ดังนั้นเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Hg(II) กับเงินอนุภาคนาโนที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ Hg(II) ด้วยเทคนิคการตรวจวัดเชิงสีคือ 6 นาที

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb



ภาพที่ 4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและเวลาที่ใช้ตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

4.4 ผลการทดสอบเพื่อศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีและความเข้มข้นของ Hg(II)

จากการทดลองในหัวข้อ 4.1 จะพบว่าเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine สามารถใช้ตรวจวัด Hg(II) ในสารละลายได้ โดยอัตราส่วนปริมาตรที่เหมาะสมที่ใช้ในการตรวจวัดของ Hg(II) ต่อเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวคือ 3:1 ในการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า (ภาพที่ 4.12) จะเห็นว่า ความเข้มสีที่เกิดขึ้นนั้น แปรผันตามความเข้มข้นของ Hg(II) โดยสารละลาย Hg(II) ที่มีความเข้มข้นสูง จะสังเกตเห็นเป็นสีส้ม ส่วนที่ความเข้มข้นของ Hg(II) ต่ำ จะสังเกตเห็นเป็นสีม่วงแดง และจากการสร้างกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและ Hg(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วง 50-500 ppb สมการความสัมพันธ์คือ $y = 0.0284x + 83.754$ โดย y คือค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ และ x คือ ความเข้มข้นของ Hg(II) ในหน่วย ppb ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) มีค่าเท่ากับ 0.9931

ในการหาขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) หาได้จากสูตร

$$\text{ขีดจำกัดในการตรวจวัด} = \frac{3 \times \text{ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มสีของสารละลายมาตรฐาน}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

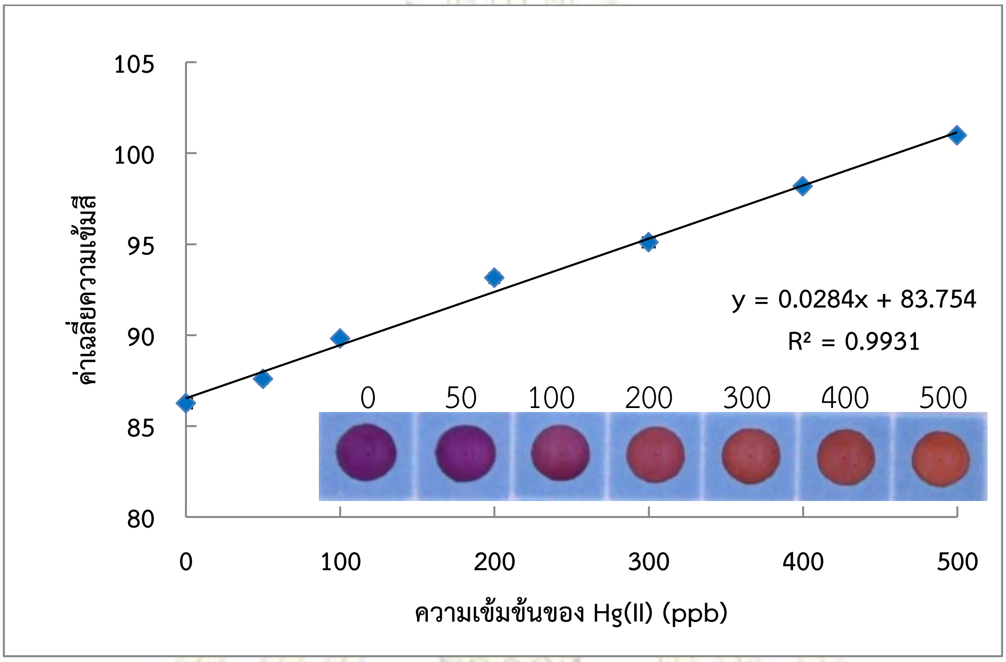
$$\text{ขีดจำกัดในการตรวจวัด} = \frac{3 \times 0.360}{0.0284} = 38.028 \text{ หรือเท่ากับ } 38 \text{ ppb}$$

และขีดจำกัดในการหาปริมาณ คิดจากสูตร

$$\text{ขีดจำกัดในการหาปริมาณ} = \frac{10 \times \text{ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มสีของสารละลายมาตรฐาน}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

$$\text{ขีดจำกัดในการหาปริมาณ} = \frac{10 \times 0.360}{0.0284} = 126.760 \text{ หรือเท่ากับ } 127 \text{ ppb}$$

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและ Hg(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

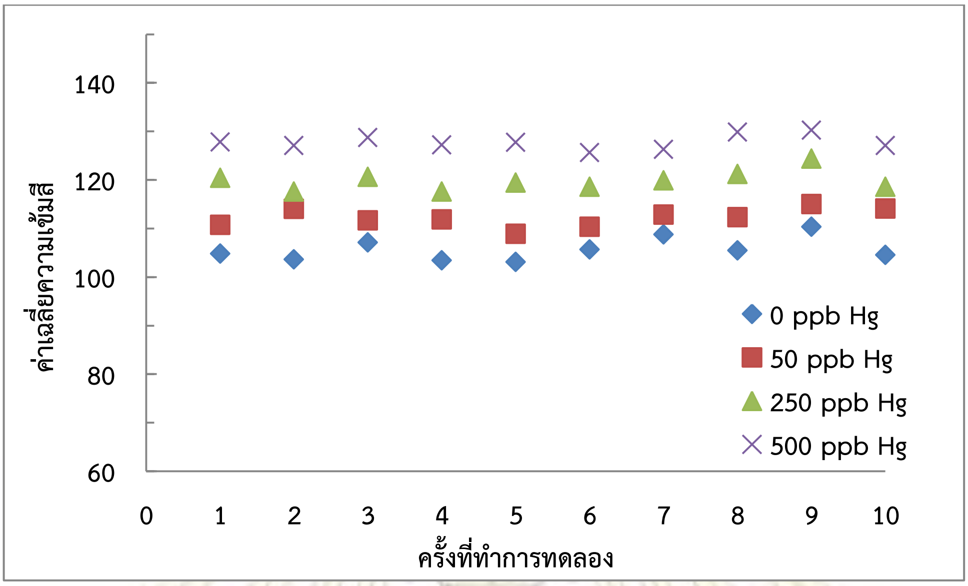
ตารางที่ 4.1 สรุปข้อมูลที่ได้จากศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีและความเข้มข้นของ Hg(II)

ผลการทดลอง	ค่าที่ได้
ช่วงความเข้มข้น	0-500 ppb
สมการเส้นตรง	Y=0.0284x + 83.754
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์	0.9931
ขีดจำกัดในการตรวจวัด (S/N=3)	38 ppb
ขีดจำกัดในการหาปริมาณ (S/N=10)	127 ppb

4.5 ผลการศึกษาผลของการทำซ้ำ

จากการทดลองเพื่อศึกษาผลของการทำซ้ำด้วยการใช้เงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine ตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0 50 250 และ500 ppb ซ้ำทั้งหมด 10 ครั้งในแต่ละความเข้มข้น (ภาพที่ 4.13) พบว่า ในการทำซ้ำแต่ละครั้งให้ค่าความเข้มสีใกล้เคียงกันสำหรับทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ โดยค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ตรวจวัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ Hg(II) เพิ่มขึ้นด้วย สรุปได้ว่า การตรวจวัด Hg(II) ด้วยเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine มีประสิทธิภาพสูงในการทำซ้ำในภาวะเดียวกัน (ภาวะเดียวกัน ในที่นี้หมายถึงการใช้วิธีตรวจวัดแบบเดียวกัน ใช้เครื่องมือชุดเดียวกัน ทำในห้องปฏิบัติการเดียวกัน และใช้ผู้วิเคราะห์คนเดิมตลอดการทดลอง)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและครั้งที่ทำการทดลองในการตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

4.6 ผลการศึกษาความจำเพาะและผลของตัวรบกวนต่างๆ

จากการทดลองเพื่อศึกษาว่าเงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine มีความจำเพาะในการตรวจวัด Hg(II) หรือไม่ ด้วยการใช้อนุภาคเงินขนาดนาโนเมตรที่ดัดแปรพื้นผิวตรวจวัดโลหะทั้งสิ้น 9 ชนิด ได้แก่ Hg(II) As(III) Ni(II) Fe(III) Cu(II) Zn(II) Mg(II) Cd(II) และ Pb(II) ความเข้มข้น 500 ppb ที่ละลายใน 0.4 mM NaCl พบว่า เมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า การตรวจวัด Hg(II) มีการเปลี่ยนแปลงสีชัดเจนที่สุด โดยเปลี่ยนสีจากสีม่วงน้ำเงินไปเป็นสีแดงอมม่วง ในขณะที่ Ni(II), Cu(II), Cd(II) และ Pb(II) มีการเปลี่ยนแปลงสีเล็กน้อยจากสีม่วงน้ำเงินไปเป็นสีม่วงแดง ส่วน As(III), Fe(III), Cu(II) และ Zn(II) พบว่าสีที่สังเกตเห็นยังคงเป็นสีม่วงน้ำเงินอยู่ และเมื่อพิจารณาค่าผลต่างของความเข้มสีในการตรวจวัดโลหะชนิดต่างๆ (ภาพที่ 4.14) พบว่า การตรวจวัดHg(II) ให้ค่าผลต่างของความเข้มสีมากที่สุดเมื่อเทียบกับการตรวจวัดภาวะควบคุม (ใช้ 0.4 mM NaCl เป็นภาวะควบคุม) จึงสรุปได้ว่า อนุภาคเงินนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine มีความสามารถในการตรวจวัด Hg(II) ได้อย่างจำเพาะ

เมื่อทำการทดลองเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของตัวรบกวน โดยการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb ที่มีโลหะชนิดอื่นผสมอยู่ในอัตราส่วน 5:1 (ภาพที่ 4.15) พบว่า Ni(II), Fe(III), Cu(II), Zn(II), Mg(II), Cd(II) และ Pb(II) ความเข้มข้น 100 ppb ไม่รบกวนการตรวจวัด แต่ As(III) รบกวนการตรวจวัด โดยพิจารณาจากค่าห้าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ทั้งทางบวกและลบ (±5% tolerance) พบว่า ค่าเฉลี่ยความเข้มสีของ As(III) ไม่อยู่ในช่วงดังกล่าว แสดงว่า As(III) มีผลต่อการตรวจวัดค่าความเข้มสีที่ถูกต้องของ Hg(II) ดังนั้นในการตรวจวัด Hg(II) ตัวอย่างจะต้องมี As(III) น้อยกว่า 100 ppb ถึงจะทำให้การตรวจวัด Hg(II) มีความถูกต้อง ดังนั้นหากต้องการลดการรบกวนของ As(III) จะต้องเจือจางตัวอย่าง หรือแยกโลหะรบกวนเหล่านี้ออกเพื่อให้มีความเข้มข้นลดลง และไม่ส่งผลกระทบต่อการตรวจวัด Hg(II)

โดยค่าห้าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ทางบวก (+5% tolerance) คิดจากสูตร

ค่าห้าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ = ค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ของ Hg(II) X $\frac{105}{100}$

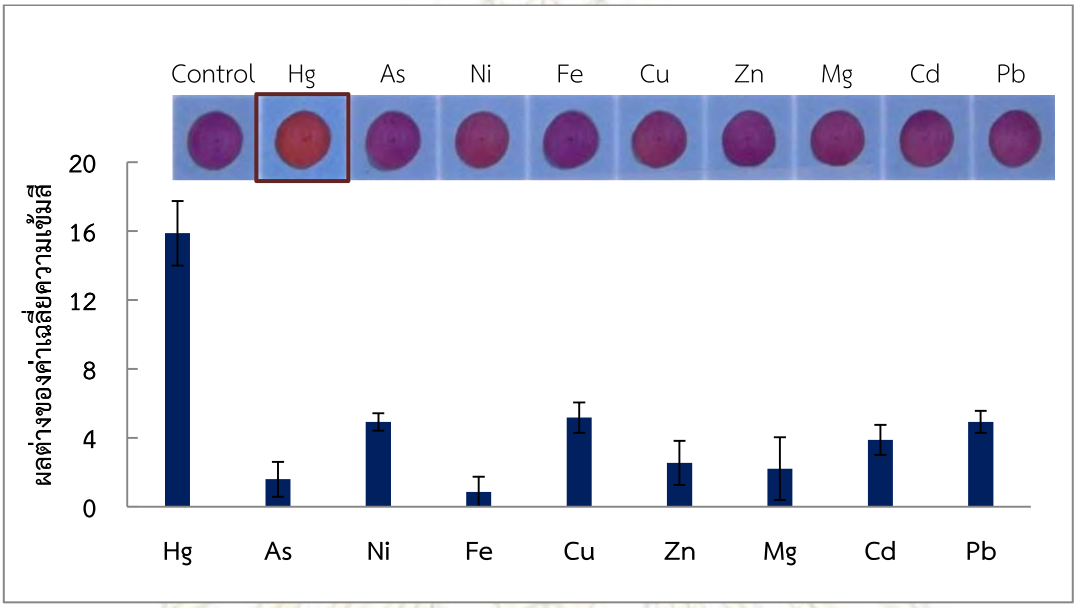
ค่าห้าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนที่รับได้ = $96.31867 \times \frac{105}{100} = 101.1346$

และค่าห้าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ทางลบ (-5% tolerance) คิดจากสูตร

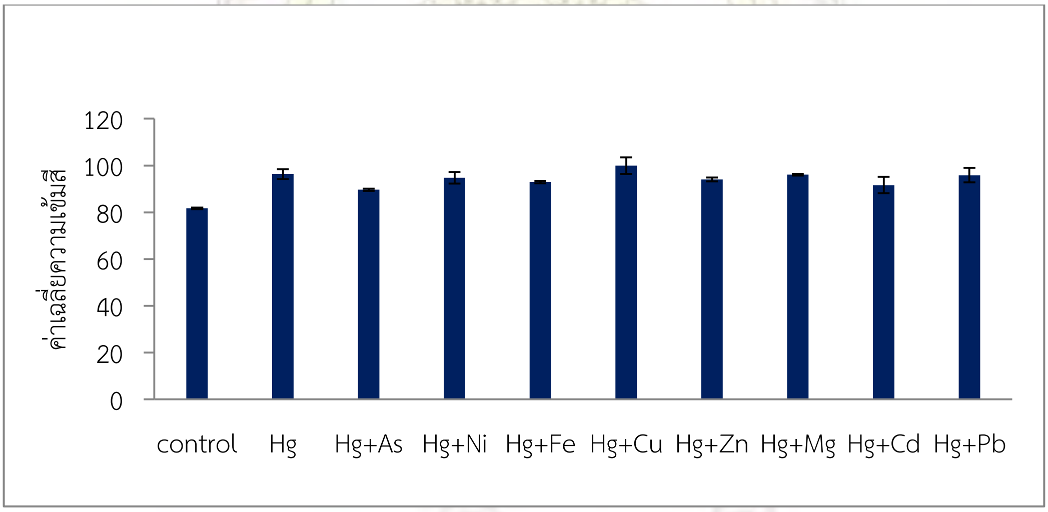
ค่าห้าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ = ค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ตรวจวัดได้ของ Hg(II) X $\frac{95}{100}$

ค่าห้าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ = $96.31867 \times \frac{95}{100} = 91.50273$

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.14 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มสีและโลหะชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 500 ppb และการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น (ภาพประกอบ)



ภาพที่ 4.15 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยความเข้มสีและ Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb ที่มีโลหะความเข้มข้น 100 ppb ชนิดต่างๆ รบกวนอยู่

4.7 ผลการศึกษาสัณฐานวิทยาของเงินอนุภาคนาโนโดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน

4.7.1 ผลการศึกษาเงินอนุภาคนาโนโดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์

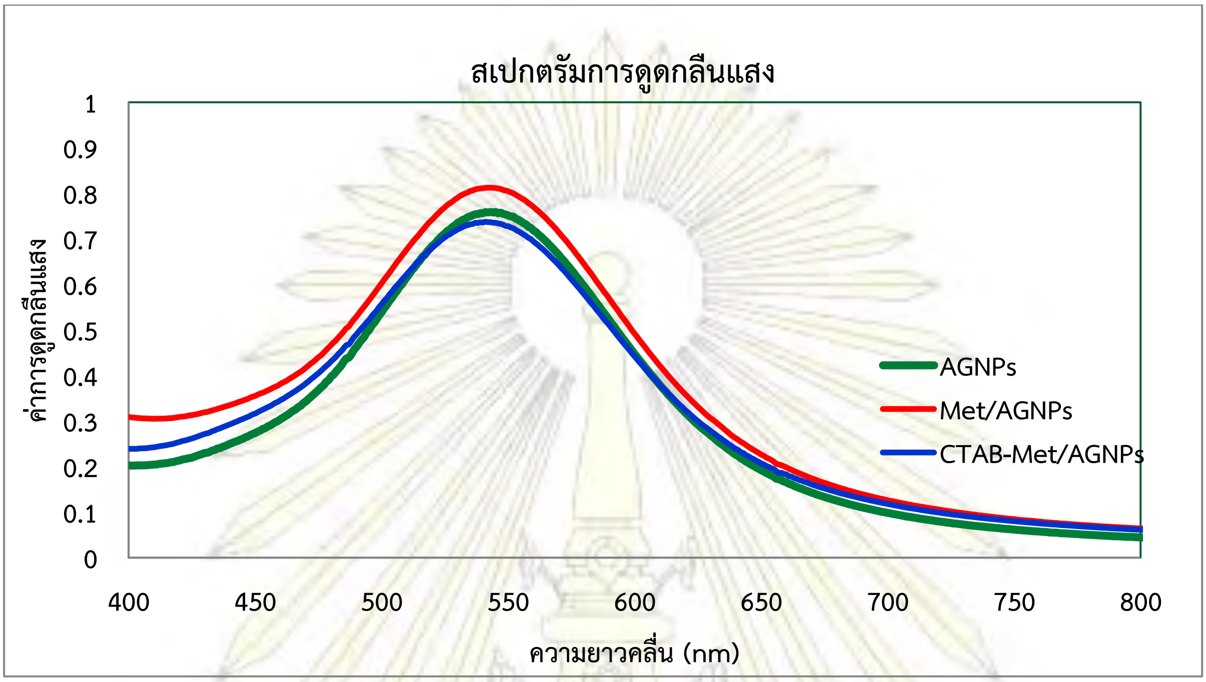
ในส่วนของการศึกษาเงินอนุภาคนาโนด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ โดยเปรียบเทียบอินฟราเรดสเปกตรัมของเงินอนุภาคนาโนที่ไม่ได้ดัดแปรพื้นผิว (ภาพที่ 4.18) และเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine (ภาพที่ 4.17) พบว่า เงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิว จะพบพีคที่ประมาณ 1345 cm^{-1} ซึ่งใกล้เคียงกับพีคของ -OH bending (in-plane) ที่ประมาณ 1339 cm^{-1} ใน DL-methionine (ภาพที่ 4.16) แสดงว่า DL-methionine ไปติดอยู่บนผิวของเงินอนุภาคนาโนจริง

4.7.2 ผลการศึกษาเงินอนุภาคนาโนโดยใช้เครื่องเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

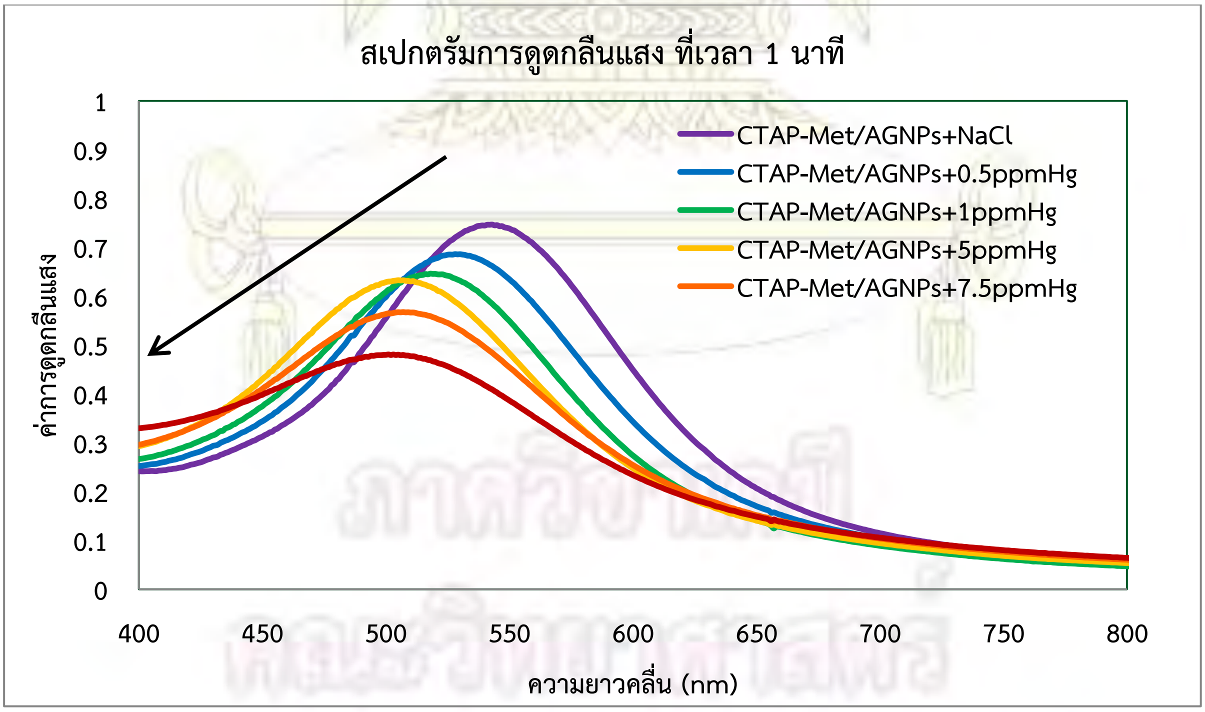
ในการศึกษาเงินอนุภาคนาโนด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (ภาพที่ 4.19) พบว่า เงินอนุภาคนาโนทั้งที่ดัดแปรและไม่ดัดแปรพื้นผิว มีความยาวคลื่นที่ดูดกลืนรังสีสูงสุด (λ_{max}) เท่ากันคือ 543±0.01 nm (n=3) แสดงว่า DL-methionine ที่ใช้ในการดัดแปรพื้นผิวเงินอนุภาคโนนั้น อาจจะมีความเข้มข้นที่น้อยมาก จึงไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของเงินอนุภาคขนาดนาโน

ในการศึกษาสัณฐานวิทยาของเงินอนุภาคนาโน เมื่อเติมและไม่เติม Hg(II) ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (ภาพที่ 4.20) พบว่า เงินอนุภาคนาโนซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่ 543 nm หลังจากเติม Hg(II) ลงไป พบว่า สเปกตรัมเคลื่อนที่ไปในทางที่มีความยาวคลื่นลดลง หรือเกิด hypochromic shift (blue shift) ขึ้นส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง อันเนื่องมาจากเกิดการสร้างพันธะกันระหว่างเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine กับ Hg(II) โดยพบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะยิ่งลดลงมากขึ้น หาก Hg(II) มีความเข้มข้นสูงขึ้น

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



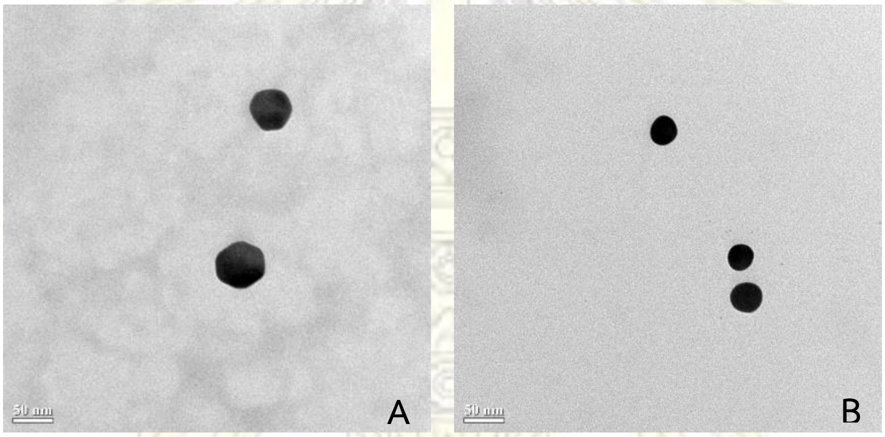
ภาพที่ 4.19 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของเงินอนุภาคนาโนที่ไม่ดัดแปร (เส้นสีเขียว) เงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรด้วย DL-methionine (เส้นสีแดง) และเงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรทั้ง DL-methionine และ CTAB (เส้นสีน้ำเงิน)



ภาพที่ 4.20 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงเมื่อผ่านไป 1 นาทีของเงินอนุภาคนาโน เมื่อมีการเติม Hg(II) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 – 10 ppm

4.7.3 ผลการศึกษาสัณฐานวิทยาของเงินอนุภาคนาโนโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน

เมื่อศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (ภาพที่ 4.21) พบว่า เงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine จะมีขนาดประมาณ 50 nm (ภาพที่ 4.20 A) หลังจากเติม Hg(II) ลงไป พบว่า Hg(II) มีผลทำให้เงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine มีขนาดเล็กลง (ภาพที่ 4.20 B) เนื่องจากสามารถเกิดการสร้างพันธะกับตัวดัดแปรบนพื้นผิวเงินอนุภาคนาโนได้อย่างแข็งแรง ส่งผลให้ตัวดัดแปรหลุดออกจากพื้นผิวเพื่อจับ Hg(II) ดังนั้นเงินอนุภาคนาโนจึงมีขนาดเล็กลง



ภาพที่ 4.21 ภาพที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่านของเงินอนุภาคนาโนในสารละลายที่ไม่มี Hg(II) (ภาพ A) และในสารละลายที่มี Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb (ภาพ B)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.8 ผลการทดสอบเพื่อหาปริมาณ Hg(II) ที่มีในตัวอย่างน้ำ

จากการทดลองเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการประยุกต์ใช้อุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษร่วมกับเงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรด้วย DL-methionine สำหรับการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำ (ตารางที่ 4.2) พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%recovery) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ในทุกความเข้มข้นของ Hg(II) ที่ถูกเติม (ในการตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 ppb %recovery ต้องอยู่ในช่วง 80 – 110 %) และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ก็พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้เช่นกัน (ในการตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 ppb %RSD ต้องอยู่ในช่วง ± 15) แสดงให้เห็นว่า มีประสิทธิภาพและมีความแม่นและความเที่ยงในการตรวจหา Hg(II) ที่เติมลงไป จึงสรุปได้ว่า สามารถใช้เทคนิคการตรวจวัดเชิงสี โดยใช้เงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรด้วย DL-methionine และ CTAB ตรวจหาปริมาณ Hg(II) ที่เติมลงในตัวอย่างจริงได้ด้วยอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษ

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 ผลจากการศึกษาการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำ

ชนิดของตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ Hg(II) ที่เติม (ppb)	ค่าที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้น	
		เปอร์เซ็นต์การคืนกลับ	เปอร์เซ็นต์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
น้ำดื่ม	100	102.5	3.6
	250	109.1	14.3
	500	101.0	8
น้ำประปา	100	107.1	9.1
	250	106.3	12.3
	500	94.8	7.2
น้ำจากแหล่งน้ำ	100	109.8	4.9
	250	109.5	7.4
	500	96.0	13.2

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ ประสบความสำเร็จในการหาชนิดตัวดัดแปรพื้นผิวของเงินอนุภาคนาโนร่วมกับการพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบบนกระดาษแบบพกพาที่มีประสิทธิภาพในการตรวจวัด Hg(II) ได้จำเพาะ ไว และมีประสิทธิภาพในการหาปริมาณ Hg(II) ได้ต่ำในระดับ ppb โดยเมื่อเติม Hg(II) ลงไป เงินอนุภาคนาโนที่ถูกดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine จะสามารถเกิดการฟอกจางและเปลี่ยนแปลงสี ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า และความเข้มของสีที่เกิดขึ้น มีความสัมพันธ์เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ Hg(II) ที่พบในสารละลาย ผลการทดลองหาปริมาณ Hg(II) ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมพบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในช่วง 50 ถึง 500 ppb ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าเท่ากับ 0.9931 ขีดจำกัดของการหาปริมาณมีค่าเท่ากับ 127 ppb และขีดจำกัดของการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ 38 ppb นอกจากนี้ในการทดลองเพื่อหาปริมาณ Hg(II) ในตัวอย่างน้ำดื่ม น้ำประปา และน้ำจากแหล่งน้ำ ด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน Hg(II) ลงไป แล้วหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับที่สูงและอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับภาวะเหมาะสมที่ใช้ในการตรวจหาปริมาณ Hg(II) แสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 ภาวะที่เหมาะสมที่สำหรับการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ในสารละลาย

ตัวแปรที่ศึกษา	ค่าที่เหมาะสม
ความเข้มข้นของ NaCl	0.4 mM
ความเข้มข้นของ DL-methionine	0.05 mM
เวลาที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด	6 นาที
ปริมาตรเงินอนุภาคนาโนที่ใช้ทำปฏิกิริยา	5 µL
ปริมาตร Hg(II) ที่ใช้ทำปฏิกิริยา	15 µL

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. EPA, Mercury Compounds, <http://www.epa.gov/ttnatw01/hlthef/mercury.html>, **2014**.

2. Wang,Y.; Yang, F.; Yang, X., Colorimetric Biosensing of Mercury(II) Ion using Unmodified Gold Nanoparticle Probes and Thrombin-binding Aptamer. *Biosens. Bioelectron*. **2010**, *25,* 1994-1998.

3. EPA, Basic Information about Mercury (inorganic) in Drinking Water, <http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/mercury.cfm>, **2014**.

4. PCD, มาตรฐานคุณภาพน้ำเพื่อการบริโภค, <http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water01.html>, **2009.**

5. Zhao, W. A.; Berg, A., Lab on paper. *Lab on a Chip*. **2008**, *8,* 1988-1991.

6. Martinz, A. W.; Phillips, S. T.; Wiley, B. J.; Gupta, M.; Whitesides, G. M., A Rapid Method for Prototyping Paper-based Microfluidic Devices. *Lab on a Chip*. **2008**, *8,* 2146-2150.

7. Eduardo, D. A.; VirgÍlio, F. D.; Nascimento, F.; Amauri, A. M., Paper-based Diffusive Gradients in Thin Films Technique Coupled to Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectroscopy for the Determination of Labile Mn, Co, Ni, Cu, Zn and Pb in River Water. *Spectrochim. Acta*. **2012,** *71,* 70-74.

8. Chen, G.H.; Chen, W.Y.; Yen, Y.C.; Wang, C.W.; Chang, H.T., Detection of Mercury(II) Ions using Colorimetric Gold Nanoparticles on Paper-based Devices. *Anal. Chem.* **2014,** *86(16),* 6843-6849.

9. Apilux, A.; Siangproh, W.; Praphairaksit, N.; Chailapakul, O., Simple and Rapid Colorimetric Detection of Hg(II) by a Paper-based Device using Silver Nanoplates. *Talanta.* **2012,** *97,* 388-394.

10. Boaventura, F.R.; Eva, R.T.; Jose´, S.B.; A´ngel, M.R.; Miguel, G., Multicommutation cold vapour atomic fluorescence determination of Hg in water. *Talanta.* **2003,** *60,* 809-819.

11. Mojtaba, S.; Ardeshir, S.; Hashem, S.; Mohammad, M.E., Solid phase extraction and determination of sub-ppb levels of hazardous Hg2+ ions. *J. Hard. Mater.* **2005,** *B117,* 129–133

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

12. Tsubaki, K.; Tanima, D.; Sasamori, T.; Tokitoh, N.; Kawabata, T., Colorimetric recognition of the length of a,x-diamines in water. K. Tsubaki rt al. *Tetrahedron Letters.* **2007,** *48,* 2135-2138.
13. Watanabe, S.; Yoshida, K.; Shinkawa, K.; Kumagawa, D.; Seguchi, H., Thioglocose-stabilized gold nanoparticles as a novel platform for colorimetric bioassay based on nanoparticle aggregation. *Colloid. Surface. B.* **2010,** *81(2),* 570-607.
14. Ivan, S.; Irina, K.; Trajče S.; Julijana, C., Determination of inorganic and methylmercury in fish by cold vapor atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Microchem. J.* **2008,** *89,* 42–47.
15. Elena, C.; Jose, M. D.; Cristina, A.; Miquel, E., Binding of Hg2+ by Cys, Cys-Gly and reduced glutathione: Study by differential pulse voltammetry on rotating Au-disk electrode, electrospray ionization mass-spectrometry and isothermal titration calorimetry. *J. Electroanal. Chem.* **2010,** *644,* 20–24.
16. Amara, A.;Weena, S,; Narong, P.; Orawon, C., Simple and rapid colorimetric detection of Hg(II) by a paper-based device using silvernanoplates. *Talanta.* **2012,** *97,* 388–394.
17. Guan-Hua, C.; Wei-Yu, Chen.; Yu-Chun, Yen.; Chia-Wei, Wang.; Huan-Tsung, Chang.; Chien-Fu, Chen., Detection of Mercury(II) Ions Using Colorimetric Gold Nanoparticles on Paper-Based Analytical Devices. *Anal. Chem.* **2014,** *86,* 6843–6849.
18. Thanyaporn, K.; Poomrat, R.; Weena, S.; Orawon, C.; Narong, P., Glutathione and L-cysteine modified silver nanoplates-based colorimetric assay for a simple, fast, sensitive and selective determination of nickel. *Talanta.* **2014,** *128,* 215–220.
19. Yi, Z.; Peipei, C.; Feng, Z.; Xiaoting, F.; Yaling, W.; Yongzhen, Y.; Xuguang, L., Fluorescent probes for “off–on” highly sensitive detection of Hg^{2+} and L-cysteine based on nitrogen-doped carbon dots. *Talanta.* **2016,** *152,* 288–300.
20. Narisa, K.B., Metal Oxide Nanoparticles: Mechanism of Toxicity and Health Impact. *J. Med. Tech. Assoc.* **2014,** *42(3),* 5020-5036.

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

21. THAIST, Research Commercialization: Morphological Controlled Synthesis of Silver Nanoparticles and Related Knowledge Management Enable a Transformation of Research Findings towards Commercial Products, < http://thaist.sti.or.th/thaist-journal/images/files/Journals1/1_งานวิจัยขึ้นห้าง%201-16.pdf>, **2016.**

22. Huang, C.C.; Chang, H.T., Highly sensitive and selective detection of Hg2+ in aqueous solution with mercury-specific DNA and Sybr Green. *Anal. Chem.* **2006,** *78,* 8332–8338.

23. Li, L.; Li, B.; Qi, Y.; Jin, Y., A Label Free Colorimetric Assay for the Detection of Active Botulinum Neurotoxin Type A by SNAP-25 Conjugated Colloidal Gold. *Anal. Bioanal. Chem.* **2009,** *393,* 2051–2057.

24. Liu, X.; Cheng, X.; Bing, T.; Fang, C.; Shangguan, D., Visual detection of Hg2+ with high selectivity using thymine modified gold nanoparticles. *Anal. Sci.* **2010,** *26,* 1169–1172.

25. Chai, F.; Wang, C.G.; Wang, T.T.; Ma, Z.F.; Su, Z.M. Fluorescent Gold Nanoprobes for the Sensitive and Selective Detection for Hg^{2+}. *Nanotechnology.* **2010,** *21,* 025501–025507.

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ตารางที่ 6.1 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของ DL-methionine ที่เหมาะสมในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

DL-methionine (mM)	0	0.01	0.05	0.1	0.2
Hg					
1	90.946	97.399	99.877	101.887	110.874
2	98.174	104.951	100.954	112.213	105.283
3	97.344	103.087	98.340	103.676	108.789
Average	95.488	101.812	99.724	105.925	108.315
SD	3.538	3.519	1.175	4.936	2.527
%RSD	3.705	3.456	1.178	4.660	2.333
Control					
1	76.501	80.655	80.212	83.441	90.438
2	86.414	88.952	87.627	88.878	88.332
3	85.263	84.737	89.396	93.805	87.238
Average	82.726	84.781	85.745	88.708	88.669
SD	4.849	3.711	4.358	4.637	1.455
%RSD	5.862	4.377	5.083	5.227	1.641
Substracted					
1	14.445	16.744	19.665	18.446	20.436
2	11.760	15.999	13.327	23.335	16.951
3	12.081	18.350	8.944	9.871	21.551
Average	12.762	17.031	13.979	17.217	19.646
SD	1.312	1.075	4.821	6.096	2.146
%RSD	10.277	6.310	34.489	35.406	10.925

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6.2 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของ NaCl ที่เหมาะสมในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

NaCl (mM)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Hg						
1	85.237	83.062	102.91	104.075	107.643	90.516
2	79.518	85.970	96.568	99.643	104.342	96.392
3	78.280	91.893	100.231	100.042	106.177	87.928
Average	81.012	86.975	99.903	101.253	106.054	91.612
SD	3.319	4.025	2.848	2.193	1.479	3.879
%RSD	4.097	4.628	2.850	2.166	1.395	4.234
Control						
1	99.978	81.708	91.734	90.215	81.092	69.493
2	86.056	82.645	90.375	88.738	82.420	83.023
3	82.642	83.740	89.458	89.026	85.227	73.949
Average	89.559	82.698	90.522	89.326	82.913	75.488
SD	8.214	0.910	1.024	0.700	1.888	6.167
%RSD	9.172	1.100	1.131	0.784	2.277	8.170
Substracted						
1	-14.741	1.354	11.176	13.860	26.551	21.023
2	-6.538	3.325	6.193	10.905	21.922	13.369
3	-4.362	8.153	10.773	11.016	20.950	13.979
Average	-8.547	4.277	9.381	11.927	23.141	16.124
SD	4.896	3.129	2.476	1.498	2.677	3.805
%RSD	-57.278	73.149	26.392	12.561	11.568	23.598

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6.3 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 6 ครั้งเพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆ

Hg (ppb)	0	50	100	200	300	400	500
1	87.439	85.242	93.248		99.312	99.888	101.939
2	94.154	91.214		97.452	98.718	96.456	101.828
3	83.836	86.441	88.414	92.046	97.869	95.387	98.136
4	83.766	85.059	89.867	93.734	90.397	102.07	103.224
5	85.348	91.031	90.618	94.091	91.381	98.042	99.520
6	82.976	86.615	86.927	88.419	92.932	97.297	101.276
Average	86.253	87.600	89.815	93.148	95.102	98.190	100.987
SD	3.987	2.668	2.248	3.103	3.793	2.321	1.757
%RSD	4.622	3.046	2.503	3.332	3.989	2.363	1.740

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6.4 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้น 500 ppb

time(min)	1	2	3	4	5	6	10	15	20	25	30
Hg											
1	90.244	97.221	103.021	106.131	108.359	109.947	114.337	115.875	117.051	118.151	118.746
2	88.232	94.554	98.914	101.541	103.873	105.041	108.812	110.706	111.919	112.577	113.276
3	82.524	89.263	94.146	97.091	99.714	100.926	105.192	107.382	109.005	109.887	110.353
Average	87.000	93.679	98.694	101.588	103.982	105.305	109.447	111.321	112.658	113.538	114.125
SD	3.582	3.623	3.973	4.043	3.867	4.039	4.119	3.828	3.644	3.770	3.811
%RSD	4.117	3.867	4.025	3.980	3.719	3.836	3.764	3.439	3.234	3.320	3.339
Control											
1	89.271	91.171	91.843	92.579	93.338	93.561	96.958	99.279	101.014	103.265	104.45
2	90.438	91.419	92.902	93.18	93.727	93.634	96.119	97.501	98.805	99.682	100.205
3	80.161	81.262	82.915	83.345	84.115	84.284	86.527	89.153	89.649	91.672	92.570
Average	86.623	87.950	89.220	89.701	90.393	90.493	93.201	95.311	96.489	98.206	99.075
SD	5.0323	5.182	4.907	4.931	4.866	4.810	5.183	4.836	5.390	5.309	5.384
%RSD	5.810	5.892	5.500	5.497	5.383	5.315	5.562	5.074	5.586	5.406	5.435
Substracted											
1	0.973	6.050	11.178	13.552	15.021	16.386	17.379	16.596	16.037	14.886	14.296
2	2.206	3.135	6.012	8.361	10.146	11.407	12.693	13.205	13.114	12.895	13.071
3	2.363	8.001	11.231	13.746	15.599	16.642	18.665	18.229	19.356	18.215	17.783
Average	0.377	5.729	9.474	11.886	13.589	14.812	16.246	16.010	16.169	15.332	15.050
SD	2.095	2.190	2.682	2.732	2.679	2.640	2.811	2.292	2.793	2.404	2.187
%RSD	556.163	38.234	28.305	22.985	19.716	17.822	17.305	14.317	17.276	15.680	14.530

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 6.5 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 10 ครั้งเพื่อศึกษาผลจากการทำซ้ำของการตรวจวัด Hg(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Hg (ppb)	0	50	250	500
1	104.842	110.744	120.408	127.787
2	103.628	114.062	117.625	127.110
3	107.115	111.648	120.612	128.747
4	103.419	111.880	117.571	127.186
5	103.110	108.896	119.458	127.770
6	105.650	110.324	118.578	125.628
7	108.783	112.878	119.891	126.269
8	105.512	112.302	121.216	129.872
9	110.351	115.039	124.386	130.239
10	104.529	114.111	118.579	127.072
Average	105.694	112.188	119.832	127.768
SD	2.328	1.853	1.970	1.435
%RSD	2.203	1.651	1.644	1.123

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6.6 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาความจำเพาะในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

	control	Hg	As	Ni	Fe	Cu	Zn	Mg	Cd	Pb
1	90.048	105.515	92.856	95.888	91.177	95.731	86.322	88.614	88.646	86.930
2	92.511	109.690	93.027	96.663	93.169	97.685	87.247	92.623	88.060	87.334
3	93.029	107.771	94.886	95.580	92.441	96.482	89.129	90.063	89.964	88.034
Average	91.116	106.992	92.709	96.044	90.262	96.299	88.566	88.900	87.223	86.185
SD	1.424	1.869	1.007	0.499	0.902	0.882	1.279	1.816	0.872	0.637
%RSD	1.563	1.747	1.086	0.520	0.999	0.915	1.444	2.042	0.100	0.740

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6.7 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาผลของตัวรบกวนในการตรวจวัด Hg(II) ความเข้มข้น 500 ppb

	control	Hg	Hg+As	Hg+Ni	Hg+Fe	Hg+Cu	Hg+Zn	Hg+Mg	Hg+Cd	Hg+Pb
1	82.015	94.811	89.557	92.213	93.254	95.569	93.141	96.225	88.346	91.987
2	81.870	99.069	90.194	94.289	93.185	103.317	94.037	96.312	95.945	98.351
3	81.281	95.076	89.146	97.605	92.284	101.049	94.890	95.593	90.591	97.309
Average	81.722	96.319	89.632	94.702	92.908	99.978	94.023	96.043	91.627	95.882
SD	0.348	2.134	0.472	2.432	0.484	3.563	0.782	0.351	3.492	3.053
%RSD	0.425	2.215	0.527	2.569	0.521	3.564	0.832	0.365	3.811	3.184

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 6.8 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างน้ำดื่ม

spiked Hg (ppb)	0	100	250	500
1	92.212	97.740	128.930	102.360
2	93.518	105.510	95.980	109.250
3	92.495	104.270	102.530	91.440
average	92.742	102.507	109.147	101.017
SD	0.614	3.734	15.602	8.032
RSD	0.663	3.642	14.294	7.952

ตารางที่ 6.9 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างน้ำประปา

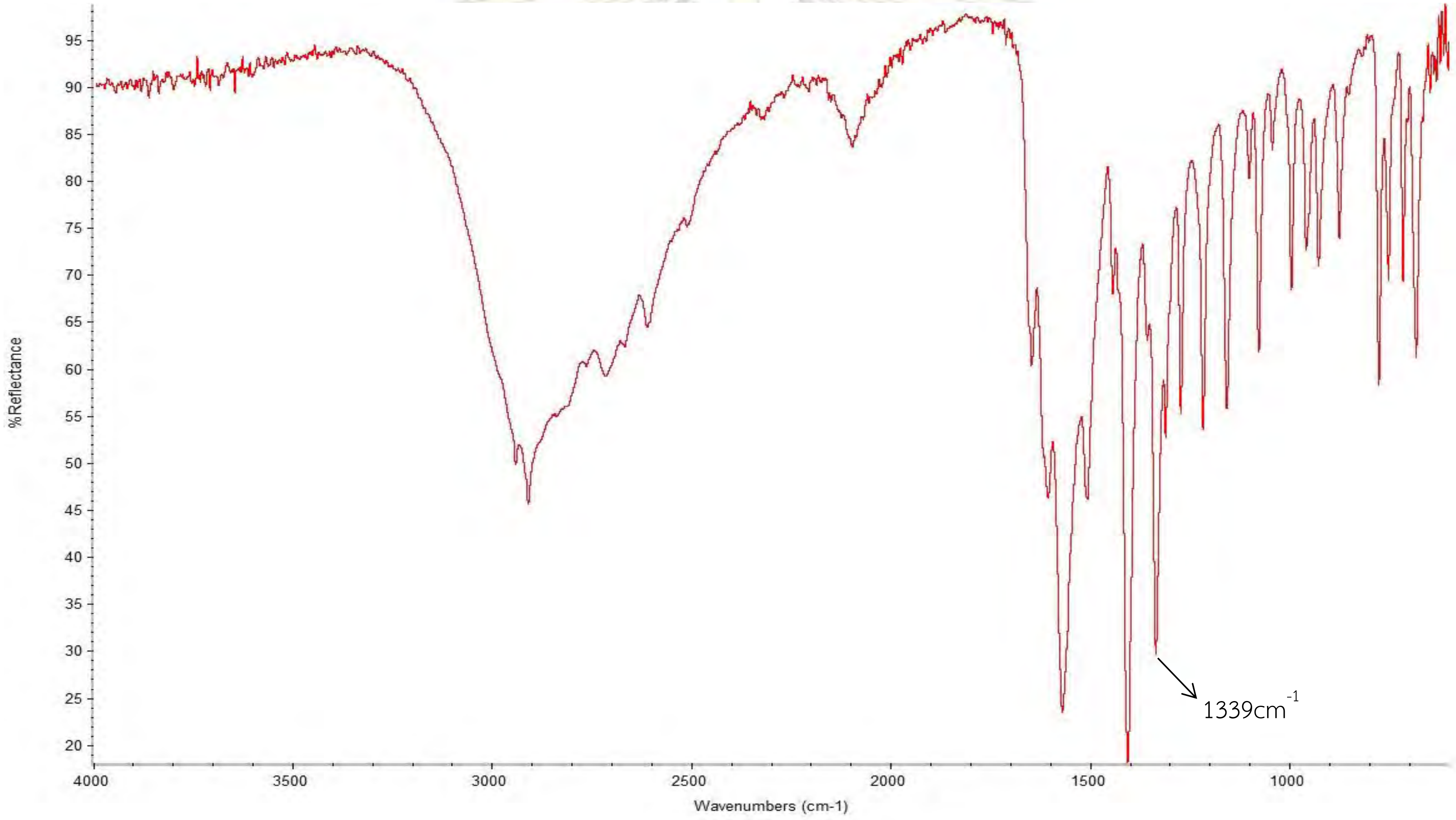
spiked Hg (ppb)	0	100	250	500
1	93.814	99.350	115.680	102.240
2	94.211	102.430	113.822	86.930
3	94.525	119.590	89.470	95.170
average	94.183	107.123	106.323	94.780
SD	0.319	9.754	13.081	6.854
RSD	0.338	9.106	12.303	7.231

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6.10 ค่าเฉลี่ยความเข้มสีจากการทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อศึกษาการตรวจหาปริมาณ Hg(II) ความเข้มข้นต่างๆที่ถูกเติม (spiked) ลงในตัวอย่างน้ำจากแม่น้ำ

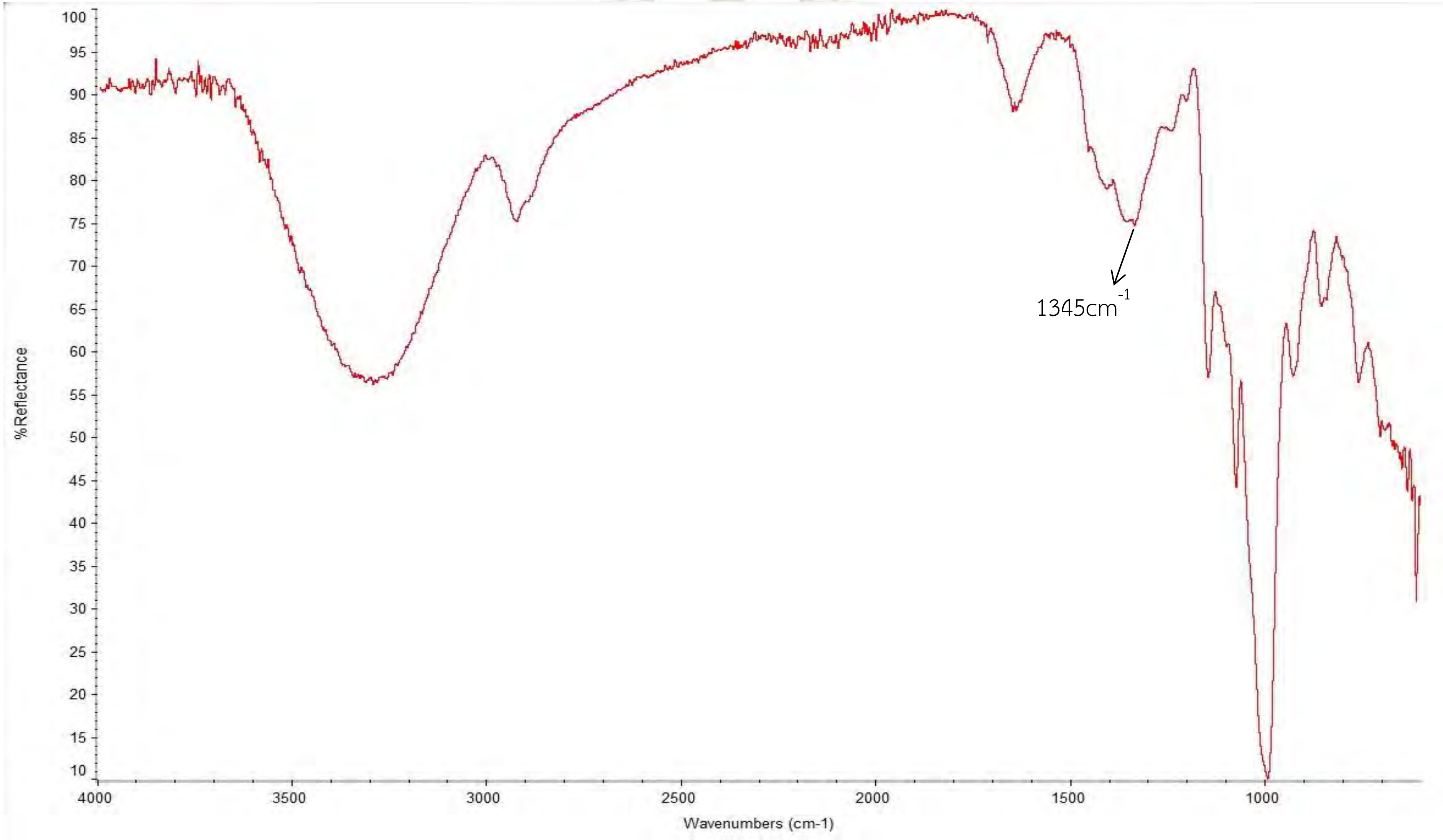
spiked Hg (ppb)	0	100	250	500
1	91.958	110.990	119.860	85.710
2	92.634	114.990	103.001	90.160
3	91.852	103.270	105.540	112.090
average	92.148	109.750	109.467	95.983
SD	0.379	5.329	8.130	12.635
RSD	0.412	4.855	7.427	13.163

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

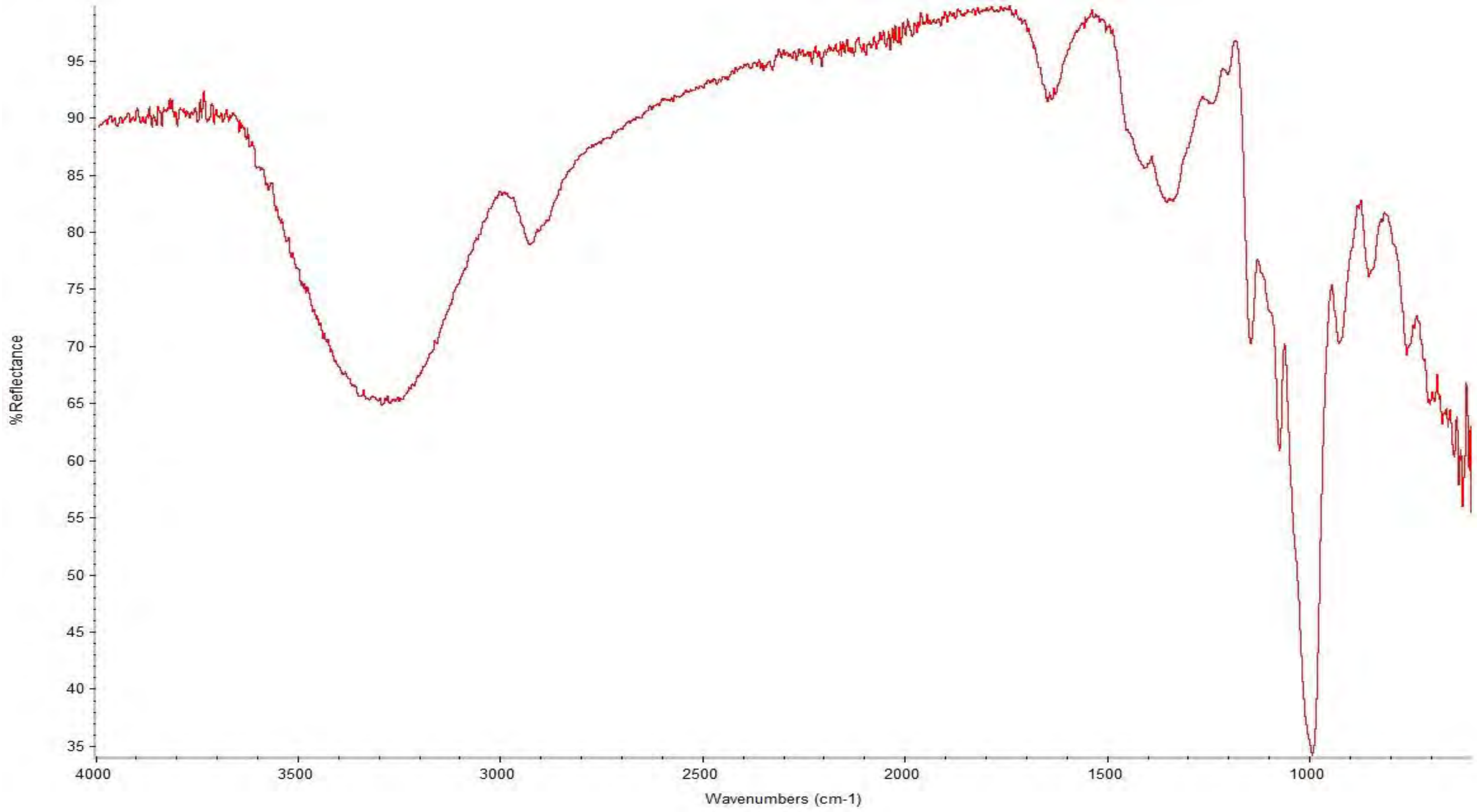


ภาพที่ 4.16 FTIR spectrum ของ DL-methionine

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์



ภาพที่ 4.17 FTIR spectrum ของเงินอนุภาคนาโนที่ดัดแปรพื้นผิวด้วย DL-methionine



ภาพที่ 4.18 FTIR spectrum ของเงินอนุภาคนาโนที่ไม่ได้ดัดแปรพื้นผิว

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวณัฐณิชา วุฒิพลากร เกิดเมื่อวันที่ 5 กันยายน พ.ศ. 2536 จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายสายสามัญ แผนกวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์จากโรงเรียนศึกษานารี เมื่อปีการศึกษา 2554 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2555 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจากจบการศึกษาปริญญาตรี คือ 69/8 หมู่ 6 ซอยประชาอุทิศ 105 ถนนประชาอุทิศ แขวงทุ่งครุ เขตทุ่งครุ จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10140

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย