

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์โลหะหนักในน้ำดื่มของโรงเรียน
ในเขตจังหวัดนครศรีธรรมราชด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคบนกระดาษ

Method Development for Determination of Heavy Metals
in Drinking Water of Schools in Nakhon Si Thammarat
by Paper-Based Microfluidic Devices

เบญจวรรณ นิลวงศ์* สุนิศา เม้าะสนิ** และ อาชีษะห์ ดอเลาะ**
Benjawan Ninwong*, Sunisa Mohsani** and Aseesah Doloh**

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์นิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) ในน้ำดื่มด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคบนกระดาษ อุปกรณ์ที่สร้างโดยการสกรีนด้วยเทียนและออกแบบให้สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วและมีความจำเพาะเจาะจงต่อการวิเคราะห์โลหะทั้งสามชนิด บริเวณตรวจวัดจะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนระหว่างนิกเกิล(II) กับ Dimethylglyoxime (DMG) เกิดเป็นสีชมพู ส่วนอะลูมิเนียม(III) จะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงเกิดเป็นสีน้ำเงิน และเหล็ก(II) จะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับ 1,10-phenanthroline ให้สีส้มแดง หาความเข้มข้นด้วยโปรแกรม Image J ในโหมดสีเทาภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมกราฟมาตรฐานของนิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 1–15 มิลลิกรัมต่อลิตร ($R^2=0.9985$) 0.05–15 มิลลิกรัมต่อลิตร ($R^2=0.9952$) และ 0.005–1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ($R^2=0.9975$) ตามลำดับขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) ของนิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) เท่ากับ 1, 0.05 และ 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.0, 1.1 and 0.6% ($n = 10$) ตามลำดับสามารถนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์นิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) ในน้ำดื่มของโรงเรียนในจังหวัดนครศรีธรรมราชได้ซึ่งจากการตรวจวัดปริมาณโลหะนิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) พบว่าตรวจไม่พบการปนเปื้อนของโลหะทั้งสามชนิดในตัวอย่งน้ำดื่มของโรงเรียนทั้ง 21 แห่ง ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 84–120% เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน(Inductively coupled plasma optical emission spectrometry, ICP-OES) ทั้งสองวิธีให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (t-test) ดังนั้นวิธีนี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการวิเคราะห์นิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) ที่สามารถทำได้รวดเร็ว ย่อยสลายได้ดีเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

คำสำคัญ: โลหะ, อุปกรณ์ของไหลจุลภาคบนกระดาษ, น้ำดื่ม

* อาจารย์ประจำหลักสูตรเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
e-mail: ben-benone@hotmail.com

** นักศึกษาระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

Abstract

A colorimetric method was developed for determination of iron (Fe(II)), nickel (Ni(II)) and aluminum (Al(III)) ions. The analytical device constructed by solid wax printing on filter paper. The Fe(II) was detected by reaction of Fe(II) with 1,10-phenanthroline in the red/orange ferro in complex $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ formed. In term of the Ni(II) determination, dimethylglyoxime (DMG) was used to produce bright pink Ni-DMG. For the Al(III) detection, analyzed by using cyanid in extracted from red cabbage. The colors in detection zone were immediately changed after dropping the three ions, and the colors changing depended on their concentrations. The color intensities were analyzed by using Image J software in gray mode. Under the optimum conditions, the linear range between the color intensity and the concentration of Ni(II), Al(III) and Fe(II) were found to be 1–15 mg L⁻¹ ($R^2=0.9985$) 0.05–15 mg L⁻¹ ($R^2=0.9952$) and 0.005–1.0 mg L⁻¹ ($R^2=0.9975$), respectively. The limits of detection (LOD) for Ni(II), Al(III) and Fe(II) were found at 1.0, 0.05 and 0.005 mg L⁻¹, while the relative standard deviation (%RSD) were 1.0, 1.1 and 0.6% (n=10), respectively. The developed method can be successfully applied to the determination of metal ions for drinking water samples of schools in Nakhon Si Thammarat. The recoveries were in the range of 84–120%. The procedure provides rapid, sensitive and selective for metal ions detection in water samples, minimal reagent usage, low cost, and is especially suitable for on-site environmental monitoring.

Keywords: Metals, Paper-based microfluidic device, Drinking water

1. บทนำ

น้ำเป็นสิ่งจำเป็น เพราะมนุษย์ต้องใช้น้ำในการดำรงชีวิตประจำวัน โดยเฉพาะน้ำดื่มต้องเป็นน้ำที่สะอาดและมีคุณภาพ หากน้ำไม่สะอาดอาจส่งผลเสียต่อร่างกาย น้ำดื่มที่ใช้ในครัวเรือนจะมีการดูแลและควบคุมมากกว่าน้ำดื่มที่ใช้บริโภคในชุมชน เช่น โรงเรียน ซึ่งการดูแลอาจจะน้อยกว่า เพราะขาดคน หรืองบประมาณ จึงมีโอกาสน้ำดื่มที่เด็กนักเรียนจะบริโภคน้ำที่ไม่มีคุณภาพ แล้วเกิดการสะสมของโรคต่างๆ ตามมา คุณภาพน้ำดื่มในโรงเรียนส่วนใหญ่ยังไม่ดีพอ จากรายงานผลสำรวจพบว่าน้ำจากทุกแหล่งยังผ่านมาตรฐานไม่ครบร้อยละแปดสิบห้าของน้ำที่ไม่ได้มาตรฐานเนื่องจากมีเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนเกินมาตรฐานมีการปนเปื้อนด้วยสารเคมีได้แก่ แคลเซียมเหล็กตะกั่วแมงกานีสและมีปัญหาทางกายภาพไม่เหมาะสมคือมีความขุ่นและสีเกินมาตรฐาน

เหล็ก (Iron) เป็นโลหะที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติ การตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการบริโภค ต้องตรวจลักษณะทางกายภาพ เคมี สารพิษ และแบคทีเรีย มาตรฐานคุณภาพน้ำเพื่อบริโภค ซึ่งกำหนดโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2524) เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะที่ปิดสนิทและประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม (2521) เรื่องกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค (มอก.257-2521) กำหนดให้มีปริมาณเหล็กในน้ำดื่มไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

นิกเกิล (Nickel) เป็นโลหะมีสีเทาเงิน โดยส่วนใหญ่ใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาการปล่อยโลหะหนักออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ จึงมีความจำเป็นจะต้องตรวจวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักคุณภาพน้ำเพื่อบริโภค ซึ่งกำหนดโดยองค์การอนามัยโลก (2539) เรื่องมาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภค (2539) กำหนดให้มีปริมาณนิกเกิลในน้ำดื่มไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร

อะลูมิเนียม (Aluminium) เป็นโลหะที่ใช้กันอยู่แพร่หลาย ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเครื่องมือและอุปกรณ์หลายๆชนิด อาทิเช่น อุปกรณ์ไฟฟ้า เครื่องใช้ในครัวเรือน ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาการปล่อยโลหะหนักออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ จึงมีความจำเป็นจะต้องตรวจวิเคราะห์ปริมาณคุณภาพน้ำเพื่อบริโภค ซึ่งกำหนดโดยองค์การอนามัยโลก (2539) เรื่องมาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภค กำหนดให้มีปริมาณอะลูมิเนียมในน้ำดื่มไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เทคนิคทั่วไปที่ใช้วิเคราะห์โลหะหนักมีหลายวิธีเช่นเทคนิค Atomic absorption spectrometry (AAS), Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES) (Katarina, Lenghor & Motomizu, 2007), Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) และ Anodic stripping voltammetry (ASV) (Economou & Voulgaropoulos, 2007) ซึ่งเทคนิคเหล่านี้ต้องใช้ความชำนาญสูงและต้องเสียค่าใช้จ่ายมากในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

การคิดค้นพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่มีขนาดเล็ก และสามารถพกพาได้สะดวกเริ่มให้ความสนใจและเป็นที่ยอมรับกันมากขึ้น อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ (lab-on-paper) เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก (Amara, *et al.*, 2012; Dungchai, Chailapakul & Henry, 2009) เพราะนอกจากสามารถประดิษฐ์ขึ้นได้ง่ายแล้วยังสามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิดในอุปกรณ์ชิ้นเดียว มีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ และปริมาณสารที่ใช้วิเคราะห์อยู่ในระดับไมโครสเกล โดยอุปกรณ์วิเคราะห์นี้ทำจากวัสดุกระดาษซึ่งหาได้ง่าย มีราคาถูก และย่อยสลายได้ดีไม่รบกวนต่อสิ่งแวดล้อม (ปนัดดา อเนกเวียง และริณา ภัทรมานนท์, 2556, ภัทรสุดา รักทอง และริณา ภัทรมานนท์, 2556.)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาการวิเคราะห์โลหะหนักบนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษร่วมกับการตรวจวัดสีที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาที่มีความสะดวกและรวดเร็วและมีประสิทธิภาพและประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดปริมาณโลหะในน้ำดื่มของโรงเรียนในเขตจังหวัดนครศรีธรรมราช

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

2.1 สารเคมี

- | | |
|--|---------------------------------------|
| - $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Fe(II)) | - $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ (Co(II)) |
| - $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Al(III)) | - $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Pb(II)) |
| - ZnCl_2 (Zn(II)) | - HNO_3 |
| - $\text{CdCl}_2 \cdot 2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Cd(II)) | - NaOH |
| - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Cu(II)) | - CH_3COOH |
| - $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Cu(II)) | - NH_3NO_3 |
| - $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Bi(III)) | - NH_3 |
| - $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Ni(II)) | - HCl |
| - FeCl_3 (Fe(III)) | - Benzene |
| - Dimethylglyoxime (DMG) | - Hexene |
| - Ethylenediamine | - Nitrosobenzene |
| - 2-aminopyridine | - Ethyl acetate |
| - 2,6-diaminopyridine | - Silica gel G 60 |
| - Hydroxylamine | - Poly (acrylic acid) |
| - 1,10-phenanthroline | - Acetic acid |
| - Sodium acetate | |

2.2 การเตรียมอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

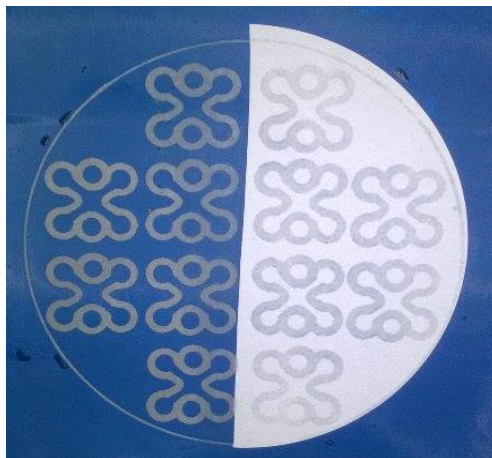
2.2.1 อุ่นแผ่นความร้อนให้ความร้อนอยู่ที่ 50 °C จากนั้นทับด้วยกระดาษทิชชูแผ่นใหญ่เพื่อใช้กันความร้อน

2.2.2 วางกระดาษกรองเบอร์ 1 บนแผ่นความร้อนโดยกระดาษกรองจะต้องแบ่งครึ่ง จากนั้นวางบล็อกทับบนกระดาษกรอง

2.2.3 ทำการสกรีนเทียนให้ทั่วบริเวณที่มีการกำหนดบริเวณร่องการไหลเป็นเวลา 30 วินาที

2.2.4 ยกบล็อกขึ้นแล้วดึงกระดาษกรองออกจากบล็อก

2.2.5 กระดาษกรอง 1 แผ่นจะได้อุปกรณ์ 12 ชิ้นแสดงภาพที่ 1



ภาพที่ 1 อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศที่ได้จากการสกรีนด้วยเทียน

2.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศ

2.3.1 สำหรับการวิเคราะห์นิกเกิล(II) โดยนำอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศติดบนเทปกาวที่ซึ่งไว้กับกระจกนาฬิกา แล้วนำไปหยดสารละลาย Dimethylglyoxime ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 0.9 ไมโครลิตร 3 ครั้ง หยด $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O}$ ที่อัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 0.7 ไมโครลิตร 2 ครั้ง และสารละลายนิกเกิล(II) หรือสารละลายตัวอย่างปริมาตร 14 ไมโครลิตรหยด 2 ครั้ง ที่บริเวณตรงกลางของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศ จะเกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีชมพู ซึ่งทุกครั้งที่หยดต้องรอให้แห้งก่อนที่จะหยดซ้ำ และในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ ทำการทดลองโดยการปรับเปลี่ยนปริมาตรที่ใช้ในการหยดของสารละลาย Dimethylglyoxime สารละลายตัวอย่าง ความเข้มข้นและปริมาตรของสารละลาย $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O}$ (Mentele, *et al.*, 2012)

2.3.2 สำหรับการวิเคราะห์อะลูมิเนียม(III) โดยนำอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศติดบนเทปกาวที่ซึ่งไว้กับกระจกนาฬิกา แล้วนำไปหยดสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงที่ความเข้มข้น 16,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร 2 ครั้ง และสารละลายอะลูมิเนียม(III) หรือตัวอย่างปริมาตร 14 ไมโครลิตรหยด 2 ครั้ง ที่บริเวณตรงกลางของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศ จะเกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงินทุกครั้งที่ยอดต้องรอให้แห้งก่อนที่จะหยดซ้ำ ซึ่งในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ ทำการทดลองโดยการปรับเปลี่ยนปริมาตรที่ใช้ในการหยดของสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงและสารละลายตัวอย่าง (Warangkhan, Wanlapa & Thawatchai, 2014)

2.3.3 สำหรับการวิเคราะห์เหล็ก(II) โดยนำอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศติดบนเทปกาวที่ซึ่งไว้กับกระจกนาฬิกา หยดสารแต่ละตัวบริเวณตรงจวดโดยหยด Hydroxylamine 0.5 ไมโครลิตร, Poly(acrylic acid) 0.5 ไมโครลิตร และ 1,10-phenanthroline 0.5 ไมโครลิตร ที่บริเวณตรงจวด เมื่ออุปกรณ์แห้งแล้วหยดสารละลายเหล็กหรือตัวอย่าง ปริมาตร 10 ไมโครลิตรหยด 2 ครั้ง ที่บริเวณตรงกลางของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศจะปรากฏเป็นสีส้มแดงที่บริเวณตรงจวดทุกครั้งที่ยอดต้องรอให้แห้งก่อนที่จะหยดซ้ำ และในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ ทำการทดลองโดยการปรับเปลี่ยนปริมาตรที่ใช้ในการหยดของสารละลาย

Hydroxylamine, Poly(acrylic acid), 1,10-phenanthroline และสารละลายตัวอย่าง (Mentele, *et al.*, 2012)

2.3.4 สแกนอุปกรณ์แล้วบันทึกเป็นไฟล์รูปภาพ จากนั้นประมวลผลด้วยโปรแกรม Image J ในโหมดสีเทาเพื่อหาค่าความเข้มสีเฉลี่ย (Martinez, *et al.*, 2008)

2.4 การสุ่มตัวอย่างน้ำดื่ม

การสุ่มตัวอย่างน้ำดื่มของโรงเรียนในจังหวัดนครศรีธรรมราช จะเลือกการสุ่มตัวอย่างตามเขตพื้นที่การศึกษา โดยเป็นกลุ่มตัวอย่างของโรงเรียนในเขตพื้นที่การศึกษาประถมศึกษา เพราะมีความเสี่ยงสูงกว่าเขตพื้นที่การศึกษามัธยมศึกษาเขตพื้นที่การศึกษา แบ่งออกเป็น 4 ได้แก่

เขต 1 อำเภอเมืองนครศรีธรรมราช อำเภอพระพรหม อำเภอเฉลิมพระเกียรติ และอำเภอลานสกา

เขต 2 อำเภอบางขัน อำเภอลำพูน อำเภอทุ่งใหญ่ อำเภอนาบอน อำเภอทุ่งสง อำเภอฉวาง อำเภอพิปูน และอำเภอช้างกลาง

เขต 3 อำเภอจุฬาภรณ์ อำเภอหัวไทร อำเภอร่อนพิบูลย์ อำเภอปากพนัง อำเภอเชียรใหญ่และอำเภอชะอวด

เขต 4 อำเภอสิชล อำเภอท่าศาลา อำเภอนบพิตำ อำเภอพรหมคีรี และอำเภอชนอม

การสุ่มตัวอย่างจะเลือกอำเภอละ 1-2 โรงเรียนตามเขตพื้นที่การศึกษา ซึ่งมีตัวอย่างน้ำดื่มทั้งหมด 21 ตัวอย่าง

2.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำดื่มสำหรับการวิเคราะห์

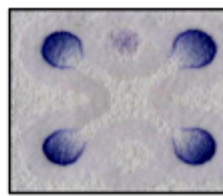
ปิเปตน้ำตัวอย่างมา 15.00 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนโดยใช้กระจกนาฬิกาปิดบีกเกอร์จนสารละลายระเหยเหลือประมาณ 2.5-5.0 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปรับ pH ให้ได้ pH 7.1-7.4 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 โมลาร์ และกรดไฮโดรคลอริก 3 โมลาร์ แล้วนำมาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ส่วนการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทำได้โดยการเติมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในสารละลายตัวอย่างและนำไปย่อยด้วยกรดไนตริกเช่นเดียวกัน และนำตัวอย่างที่เตรียมแล้ว ไปวัดด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษและเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ICP-OES (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry)

3. ผลการดำเนินการวิจัย

3.1 ลักษณะของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ



ก. ลักษณะของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษเมื่อถูกสกรีนด้วยเทียน



ข. ลักษณะการเกิดปฏิกิริยาบนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

ภาพที่ 2 ก. แสดงส่วนที่ไม่ชอบน้ำบนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษที่สกรีนด้วยเทียนเป็นแนวกันเพื่อไม่ให้สารละลายซึมออก ภาพที่ 2 ข. แสดงส่วนที่ชอบน้ำเป็นบริเวณที่สารตัวอย่างเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับสารละลายภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

3.2 สภาวะที่เหมาะสมของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

ในการวิเคราะห์นิกเกิลโมเลกุลของ Dimethylglyoxime 2 โมล จะทำปฏิกิริยากับ Ni^{2+} จำนวน 1 โมล เกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีชมพู ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมสรุปดังตารางที่ 1 สำหรับการวิเคราะห์อะลูมิเนียม ใช้กะหล่ำปลีสีม่วงในการตรวจวัด แสดงสภาวะที่ใช้ดังตารางที่ 2 และในส่วนของวิเคราะห์เหล็กโมเลกุลของ phenanthroline จำนวน 3 โมล จะเกิดปฏิกิริยากับ Fe^{2+} จำนวน 1 โมล เกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีส้มแดง $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ ซึ่งในธรรมชาติจะพบเหล็กในรูป Fe^{3+} ดังนั้นจึงมีการเติม Hydroxylamine เพื่อต้องการรีดิวซ์ให้ Fe^{3+} อยู่ในรูปของ Fe^{2+} และทำปฏิกิริยากับ 1,10-phenanthroline แสดงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์เหล็ก(II) ดังตารางที่ 3

การวิเคราะห์นิกเกิล(II) มีค่าความเข้มข้นและปริมาตรที่เหมาะสมคือ ใช้ Dimethylglyoxime ที่ความเข้มข้น 100 mM ปริมาตร 0.9 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง ซึ่งจากการทดลองพบว่าการหยุดสารละลาย Dimethylglyoxime ซ้ำ จะให้ค่าความเข้มข้นสีเฉลี่ยเพิ่มขึ้น แต่หากมากกว่า 3 ครั้ง ความเข้มข้นสีเฉลี่ยจะไม่เปลี่ยนแปลงและใช้ความเข้มข้นของ $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ที่อัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 0.7 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง ให้ค่าความเข้มข้นสีเฉลี่ยสูงกว่าการหยุดสารละลาย 1 ครั้ง และไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อหยุดสารละลายจำนวน 3 ครั้ง

การวิเคราะห์อะลูมิเนียม(III) ใช้สารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วงที่ความเข้มข้น 16,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง ซึ่งพบว่าเมื่อหยุดสารสกัดมากกว่า 2 ครั้ง ความเข้มข้นสีเฉลี่ยเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นเพื่อประหยัดเวลาในการวิเคราะห์จึงหยุดเพียง 2 ครั้งโดยการวิเคราะห์อะลูมิเนียม(III) จะหยุดสารสกัดในช่องเปรียบเทียบ เพื่อสังเกตสี

ที่เปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น อีกทั้งหากมีสารรบกวนสามารถหยุดเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง

การวิเคราะห์เหล็ก(II) ใช้ความเข้มข้นของHydroxylamine 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง พบว่าหากหยุดสารละลาย Hydroxylamine มากกว่า 2 ครั้ง ให้ความเข้มข้นไม่เปลี่ยนแปลง และ Poly(acrylic acid) จำนวน 0.5 ไมโครลิตร ใช้เพื่อให้สารเชิงซ้อนเกิดความเสถียรส่วนความเข้มข้นของ 1,10-phenanthroline 8 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง เช่นเดียวกับ Hydroxylamine

ในส่วนของสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่างใช้ปริมาตร 14 ไมโครลิตร หยุดจำนวน 2 ครั้ง สำหรับการวิเคราะห์นิกเกิล(II) และอะลูมิเนียม(III) และใช้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง สำหรับการวิเคราะห์เหล็ก(II) ซึ่งหากใช้สารละลายมากกว่า จะทำให้เกิดการแพร่ติดขอบอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ ซึ่งยากต่อการวัดด้วยโปรแกรม Image J นอกจากนี้ในการตรวจวัดตัวอย่างจริงสามารถหยุดสารละลายตัวอย่างซ้ำได้มากกว่า 2 ครั้ง

ตารางที่ 1 แสดงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์นิกเกิล(II)

| พารามิเตอร์ | ช่วงการศึกษา | ค่าที่เหมาะสม |
|--|--------------|---------------|
| ปริมาตรของ Dimethylglyoxime (ไมโครลิตร) | 0.5-1.0 | 0.9×3 |
| อัตราส่วนของแอมโมเนีย (โดยปริมาตร) | 1:1-3:1 | 1:1 |
| ปริมาตรของแอมโมเนีย (ไมโครลิตร) | 0.5-1.0 | 0.7×2 |
| ปริมาตรสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่าง (ไมโครลิตร) | 8-18 | 14×2 |

ตารางที่ 2 แสดงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์อะลูมิเนียม(III)

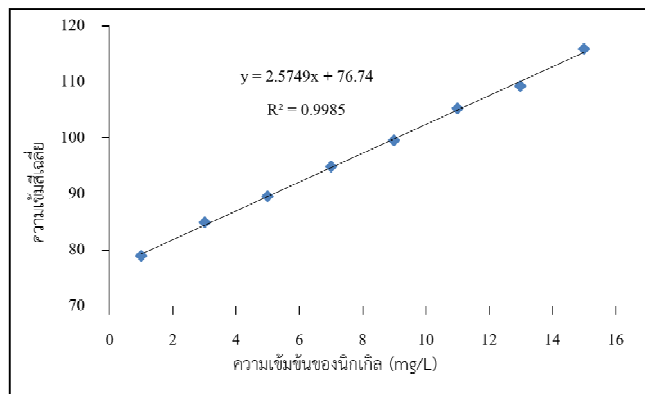
| พารามิเตอร์ | ช่วงการศึกษา | ค่าที่เหมาะสม |
|---|--------------|---------------|
| ปริมาตรของสารสกัดกะหล่ำปลีสีม่วง (ไมโครลิตร) | 0.5-1.0 | 0.6×2 |
| ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม(III) (ไมโครลิตร) | 6-16 | 14×2 |

ตารางที่ 3 แสดงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์เหล็ก(II)

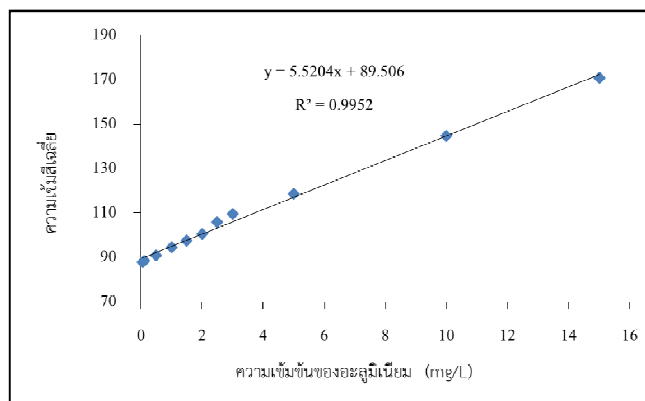
| พารามิเตอร์ | ช่วงการศึกษา | ค่าที่เหมาะสม |
|--|--------------|---------------|
| ปริมาตร Hydroxylamine (ไมโครลิตร) | 0.5-1.3 | 0.5×2 |
| ปริมาตร Poly(acrylic acid) (ไมโครลิตร) | 0.5-1.3 | 0.5 |
| ปริมาตร 1,10-phenanthroline (ไมโครลิตร) | 0.5-1.3 | 0.5×2 |
| ปริมาตรสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่าง (ไมโครลิตร) | 5-25 | 10×2 |

3.3 กราฟมาตรฐาน

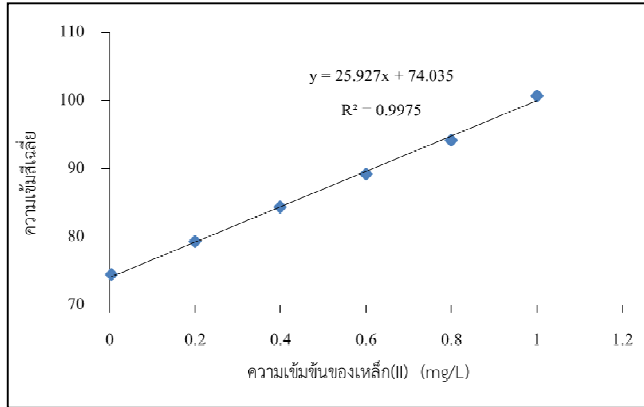
ภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมกราฟมาตรฐานของนิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) อยู่ในช่วงความเข้มข้น 1–15 มิลลิกรัมต่อลิตร ($R^2=0.9985$) 0.05–15 มิลลิกรัมต่อลิตร ($R^2=0.9952$) และ 0.005–1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ($R^2=0.9975$) และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.0, 1.1 and 0.6% ($n = 10$) ตามลำดับ แสดงกราฟมาตรฐานของโลหะทั้งสามชนิดดังภาพที่ 3-5 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) จากการตรวจวัดจริงของนิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) เท่ากับ 1, 0.05 และ 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งหากมีค่าต่ำกว่าค่าที่รายงาน พบว่าไม่สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงของสีได้



ภาพที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานนิกเกิล(II)ในช่วงความเข้มข้น 1 – 15 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม(III) ในช่วงความเข้มข้น 0.05 – 15 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก(II) ในช่วงความเข้มข้นต่ำ 0.005 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.4 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำดื่ม

จากวิเคราะห์โลหะนิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) ด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคบนกระดาษของน้ำดื่มในโรงเรียน จากกลุ่มตัวอย่างในจังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่าตรวจไม่พบการปนเปื้อนของโลหะทั้ง 3 ชนิด ในโรงเรียนทั้ง 21 แห่ง ซึ่งตามข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค (มอก.257-2521) กำหนดให้มีปริมาณเหล็กในน้ำดื่มไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และองค์การอนามัยโลกได้กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภค (2539) ให้มีปริมาณนิกเกิลในน้ำดื่มไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณอะลูมิเนียมไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยการเติมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับอยู่ในช่วง 89–111% และ 85–96% สำหรับการวิเคราะห์นิกเกิล(II) และอะลูมิเนียม(III) ตามลำดับ ในส่วนการวิเคราะห์เหล็ก(II) เติมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับอยู่ในช่วง 84–120% ซึ่งผลการวิเคราะห์หอยอมรับได้ตามมาตรฐานขององค์กร AOAC INTERNATIONAL เมื่อเปรียบเทียบวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นด้วยวิธีมาตรฐาน (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry, ICP-OES) ให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การวิจารณ์และสรุป

อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณนิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(III) ในตัวอย่างน้ำดื่มจากโรงเรียนในจังหวัดนครศรีธรรมราชจากการศึกษาให้ค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของการวิเคราะห์นิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) อยู่ในช่วง 89–111%, 85–96% และ 84–120% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคบนกระดาษกับวิธี ICP-OES พบว่าผลการวิเคราะห์ของทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (t-test) เทคนิคที่พัฒนาขึ้นเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับใช้วิเคราะห์นิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) ที่ใช้งานง่าย สะดวก ราคาถูก สร้างจากวัสดุที่หาได้ง่าย

ย่อยสลายได้ดี เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์นิกเกิล(II) อะลูมิเนียม(III) และเหล็ก(II) ในภาคสนามได้

ในการวิเคราะห์นิกเกิล ยังคงมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดที่สูง ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากข้อกำหนดขององค์รอนามัยโลกสำหรับปริมาณของนิกเกิลในน้ำบริโภคมีค่าต่ำกว่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดนิกเกิลด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น ซึ่งผู้วิจัยจะดำเนินการพัฒนาให้มีขีดจำกัดที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ในลำดับถัดไป อีกทั้งควรปรับวิธีเพื่อให้สามารถวิเคราะห์โลหะทั้ง 3 ชนิด ได้แบบพร้อมกัน (Simultaneous detection)

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ให้การสนับสนุน แนะนำ ให้เกิดงานวิจัยนี้ อีกทั้งโรงเรียนในจังหวัดนครศรีธรรมราช ทั้ง 21 แห่ง ที่ให้การอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างน้ำดื่ม

6. เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท. ฉบับที่ 61 (2524).
- กระทรวงอุตสาหกรรม สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. น้ำบริโภค มอก. 257-2549. ฉบับประกาศและงานทั่วไป. เล่มที่ 123 ตอนที่ 64ง.
- ปนัดดา อเนกเวียง และ รินา ภัทรมานนท์. (2556). ความก้าวล้ำของเทคโนโลยีไบโอเซนเซอร์: นวัตกรรมสู่โลกอนาคต. *วารสารคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 41(2), 262-280.
- ภัทรสุดา รักทอง และ รินา ภัทรมานนท์. (2556). การพัฒนาไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษสู่ระบบการวินิจฉัยโรคใกล้ขีดผู้ป่วย. *วารสารคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 41(4), 873-884.
- Amara, A.; Weena, S.; Narong, P. & Orawan, C.(2012). Simple and rapid colorimetric detection of Hg(II) by a paper-based device using silver nanoplates. *Talanta*, 97, 388-394.
- Dungchai, W.; Chailapakul, O.& Henry, C. S.(2009). Electrochemical detection for paper-based microfluidics. *Anal. Chem.*, 81, 5821-5826.
- Economou, A.& Voulgaropoulos, A. (2007).On-line stripping voltammetry of trace metals at a flow-through bismuth-film electrode by means of a hybrid flow-injection/sequential-injection system. *Talanta*, 71, 758-765.

- Katarina, R. K.; Lenghor, N. & Motomizu, S. (2007). On-line preconcentration method for the determination of trace metals in water sample using a fully automated pretreatment system coupled with ICP-AES. **Anal. Sci.**, 23, 343-350.
- Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Carrilho, E.; Thomas, S. W.; Sindi, H. & Whitesides, G. M. (2008). Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis. **Anal. Chem.**, 80, 3699-3707.
- Mentele, Mallory M; Cunningham, J; Koehler, K; Volckens, J. & Henry, Charles S. (2012). Microfluidic paper-based analytical device for particulate metals. **Anal. Chem.**, 84, 4474-4480.
- Warangkhan, K.; Wanlapa, A. & Thawatchai, T. (2014). Effectively simultaneous naked-eye detection of Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III) using cyaniding extracted from red cabbage as chelating agent". **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 126, 98-104.