

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สารประกอบสารหนู (Arsenic compounds) เป็นสารพิษที่พบในสิ่งแวดล้อมซึ่งมาจากธรรมชาติ และจากมนุษย์ ความเป็นพิษของสารหนูมีผลกระทบต่อประชากรทั่วไป เนื่องจากสามารถแพร่กระจายได้กว้าง สารหนูทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ระบบประสาทบกพร่อง โรคเบาหวาน รวมถึงโรคมะเร็งในหลาย ส่วนของร่างกาย มนุษย์ได้รับสารประกอบสารหนูที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมจากอาหาร น้ำดื่มและการหายใจ หรือจากการสัมผัสผิวน้ำ โดยสาเหตุหลักมาจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารประกอบสาร หนู ความเป็นพิษและการได้รับสารหนูของมนุษย์ทำให้สารหนูจัดเป็นสารพิษอันดับหนึ่ง จาก Agency for toxic substances and disease registry, Centers for Disease control and prevention, สหรัฐอเมริกา สารประกอบสารหนูได้นำมาใช้งานได้หลากหลายทั้งทางอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมผลิต แก้วและเซมิคอนดักเตอร์และการผลิตหลอดไฟแอลอีดี อุตสาหกรรมผลิตอัลลอยด์สำหรับแบตเตอรี่รถยนต์ นิยมใช้สารประกอบสารหนูเป็นสารป้องกันรักษาเนื้อไม้เช่น เสาเข็มหรือในอุตสาหกรรมทำเรือ ทำให้เกิดการ ปนเปื้อนของสารหนูส่งทะเลได้ ด้านการเกษตรใช้เป็นสารปราบศัตรูพืช สารปราบวัชพืช สารเร่งโตในสุกร สารเติมแต่งในอาหารสัตว์ปีก โดยในอดีตได้มีการใช้สารหนูอินทรีย์เป็นยากำจัดศัตรูพืช แต่ปัจจุบันนิยมใช้ สารหนูอินทรีย์ได้แก่ methylarsenate แทน นอกจากนี้ในอดีตยังมีการใช้สารประกอบสารหนูจำพวก organo-arsenicals เป็นอาวุธเคมี ในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 และสงครามโลกครั้งที่ 2 อย่างไรก็ตามการ ปนเปื้อนของสารประกอบที่เป็นพิษดังกล่าวยังคงตกค้างและสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมจนถึงปัจจุบัน

สารประกอบสารหนูจะสะสมในดิน สามารถปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมได้ทางอากาศ น้ำ หรือฝุ่นละออง สารหนูที่อยู่ในธรรมชาติจะปนอยู่กับแร่ทองแดงและแร่ตะกั่วสามารถปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมจากการทำเหมืองแร่และถลุงแร่ สารหนูจะออกจากแหล่งอุตสาหกรรมจากฝุ่นละอองขนาดเล็กและตกตะกอนเป็นอนุภาค ขนาดใหญ่ปนเปื้อนในดินซึ่งสามารถถูกชะล้างได้ด้วยน้ำฝน สารประกอบสารหนูในอนุภาคขนาดเล็กสามารถ อยู่ในอากาศได้นานและแพร่กระจายได้กว้าง สารประกอบสารหนูไม่ถูกทำลายในสิ่งแวดล้อม สารประกอบสาร หนูสามารถเปลี่ยนรูปได้ในธรรมชาติโดยการทำปฏิกิริยากับออกซิเจนหรือโมเลกุลชนิดอื่นๆในอากาศ น้ำ หรือ ดิน หรือจากแบคทีเรียในดินหรือตะกอนดิน สารประกอบสารหนูหลายชนิดสามารถละลายได้ดีในน้ำ มีการพบ การปนเปื้อนของสารประกอบสารหนูในแหล่งน้ำต่างๆ เช่น ทะเลสาบ แม่น้ำ หรือน้ำบาดาล นอกจากนี้พบว่ การปนเปื้อนของสารประกอบสารหนูชั้นสุดท้ายจะสะสมอยู่ในตะกอนดินใต้ทะเลสาบ แม่น้ำหรือทะเล ซึ่งมี สาหร่าย ปลาหรือหอยบางชนิดได้รับและสะสมสารประกอบสารหนูระหว่างการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยัง พบว่าสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติ เช่นสาหร่าย แบคทีเรีย หรือพืชบางชนิดในวัฏจักรสิ่งแวดล้อมสามารถสะสมและ เปลี่ยนรูปสารประกอบสารหนูได้

สารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมมีหลายชนิด สารประกอบสารหนูในธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นสาร หนูอนินทรีย์ (inorganic arsenic; As(III), As(V)) ซึ่งพบว่ามีความเป็นพิษมากกว่าสารหนูอินทรีย์ (organic arsenic, methylated arsenic compounds, arsenobetaine) อย่างไรก็ตามพบว่าสารหนูอินทรีย์ประเภท methylated arsenic compounds โดยเฉพาะอย่างยิ่ง tetramethylarsonium ion ได้มีรายงานถึงความเป็นพิษรุนแรง โดยความเป็นพิษของ methylated arsenic compounds จะเพิ่มขึ้นตามจำนวนของหมู่ methyl ที่มีในสารประกอบ ดังนั้นในการศึกษาปริมาณของสารหนูที่อยู่ในรูปของสารหนูทั้งหมด (total arsenic concentration) ไม่สามารถให้ข้อมูลที่เพียงพอสำหรับการศึกษาความเป็นพิษของสารประกอบสาร หนู เนื่องจากความเป็นพิษขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบสารหนู (chemical species) ข้อมูลที่ถูกต้อง เกี่ยวกับชนิดของสารประกอบสารหนูจึงมีความสำคัญในการศึกษาความเป็นพิษ การเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อม

การสะสมในสิ่งมีชีวิตขึ้นกับชนิดของสารประกอบสารหนูรวมถึงการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารหนูในวัฏจักรสิ่งแวดล้อม

ดังนั้นในการที่จะได้รับข้อมูลอย่างครบถ้วนและถูกต้องของความเป็นพิษและการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อม การวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง ในงานวิจัยนี้จึงพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ที่มีสภาพไวสูงและเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) และเชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวัด mass spectrometer detector ซึ่งเป็นเครื่องตรวจวัดที่มีสภาพไวและสามารถพิสูจน์ยืนยันชนิดของสารได้ นอกจากนี้ยังใช้เทคนิค purge and trap สำหรับการเตรียมและเพิ่มความเข้มข้นเพื่อพัฒนาให้มีขีดจำกัดการตรวจวัดในระดับต่ำ ($\mu\text{g/L}$) ของสารประกอบสารหนูแต่ละชนิดในสิ่งแวดล้อมได้ เพื่อที่นำวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ ไปใช้ในการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมเพื่อเป็นข้อมูลที่ถูกต้อง ครบถ้วน สามารถนำไปใช้ในการบ่งบอกถึงชนิดและความเป็นพิษที่แท้จริงของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมได้ นอกจากนี้สามารถบอกถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนู ตลอดจนทำนายวัฏจักรของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ชนิดสารประกอบสารหนู ด้วยเทคนิค gas chromatography -mass spectrometry
2. เพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap
3. เพื่อศึกษาวิธีการเก็บและการรักษาตัวอย่างสารประกอบสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม
4. เพื่อหาปริมาณสารประกอบสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม
5. เพื่อศึกษาผลกระทบความเป็นพิษของสารประกอบสารหนูที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อประชาชนและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ
6. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อม
7. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนูในวัฏจักรสิ่งแวดล้อม (น้ำทะเล)

ขอบเขตการวิจัย

1. พัฒนาการวิเคราะห์สารประกอบสารหนู 4 ชนิด ได้แก่ As(III), As(V), monomethylarsonic acid (MMA) และ dimethylarsinic acid (DMA) ด้วยเทคนิค gas chromatography-mass spectrometry โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารประกอบสารหนู
2. พัฒนาการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นสารประกอบสารหนู โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพสกัดสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap
3. พัฒนาการเก็บและการรักษาสารประกอบสารหนูในตัวอย่าง ตลอดจนศึกษาปัจจัยที่มีต่อความเสถียรของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์
4. หาปริมาณสารประกอบสารหนู 4 ชนิดในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมเช่น น้ำทะเล ตะกอนดิน หอยแมลงภู่ และสาหร่าย
5. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปของสารประกอบสารหนู เช่น ความเป็นกรดเบส ไอออนบางชนิด อุณหภูมิ การสะสมและกระบวนการเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต

6. ศึกษาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนูในวัฏจักรน้ำทะเล โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสารหนูอนินทรีย์ (inorganic arsenic) เป็นสารหนูอินทรีย์ชนิด methylated species

ทฤษฎี สมมุติฐานและกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

มนุษย์ได้รับสารประกอบสารหนูจากอาหาร น้ำดื่มและการหายใจ หรือจากการสัมผัสดินหรือน้ำที่มีการปนเปื้อน อย่างไรก็ตามวิธีการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูยังจำกัด ปัจจุบันข้อมูลส่วนใหญ่ของสารหนูในสิ่งแวดล้อมยังเป็นข้อมูลของสารหนูรวม (total arsenic) ไม่ใช่ข้อมูลของสารประกอบสารหนูแต่ละชนิด (arsenic speciation) ทำให้ไม่ทราบข้อมูลที่แท้จริงของชนิดของสารประกอบสารหนูที่มนุษย์ได้รับเข้าสู่ร่างกาย โดยชนิดของสารประกอบสารหนูจะเป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงการยืดเหนี่ยวอยู่ในอนุภาคหรือแร่ธาตุที่สามารถดูดซึมและสะสมได้ในพืชหรือสัตว์ ดังนั้นในการศึกษาปริมาณของสารหนูที่อยู่ในรูปของสารหนูทั้งหมดไม่สามารถให้ข้อมูลที่เพียงพอสำหรับการศึกษาความเป็นพิษของสารประกอบสารหนู เนื่องจากความเป็นพิษขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบสารหนู ข้อมูลที่ถูกต้องเกี่ยวกับชนิดของสารประกอบสารหนูจึงมีความสำคัญในการศึกษาความเป็นพิษ การเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อมและการสะสมในสิ่งมีชีวิตขึ้นกับชนิดของสารประกอบสารหนู รวมถึงการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารหนูในวัฏจักรสิ่งแวดล้อม

ความตระหนักถึงการปนเปื้อนของสารประกอบสารหนูที่เพิ่มขึ้นในสิ่งแวดล้อม การได้รับและสะสมของสารประกอบสารหนูและความเป็นพิษของสารประกอบสารหนู ทำให้จำเป็นต้องพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ที่มีสภาพไวสูงและเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูซึ่งมีอยู่ในระดับต่ำ ($\mu\text{g/L}$) ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ระหว่างกระบวนการเก็บตัวอย่าง (sampling) การเก็บรักษาตัวอย่าง (storage) การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation and treatment) การสกัดตัวอย่าง (extraction) ตลอดจนการวิเคราะห์ (analysis) สารประกอบสารหนูสามารถเปลี่ยนรูปหรือเปลี่ยนแปลงเลขออกซิเดชันได้ เช่นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมในสิ่งมีชีวิต หรือการสูญหายจากการถูกดูดซับหรือการระเหยกลายเป็นไอของสารประกอบสารหนู ซึ่งเป็นสาเหตุให้ข้อมูลที่ได้อาจไม่ถูกต้อง

งานวิจัยเกี่ยวกับสารประกอบสารหนูนิยมใช้เทคนิค hydride ควบคู่กับเทคนิคทาง atomic spectroscopy เช่น AAS AFS หรือ ICP-AES ซึ่งเทคนิคดังกล่าวเป็นเทคนิคที่ง่าย รวดเร็วและมีสภาพไวสูง อย่างไรก็ตามเทคนิคดังกล่าวให้ข้อมูลที่เป็นความเข้มข้นของสารหนู As(III) หรือ As(V) และ total arsenic เท่านั้น ไม่สามารถให้ข้อมูลที่ครบถ้วนได้ ซึ่งงานวิจัยเกี่ยวกับการจำแนกชนิดของสารประกอบสารหนูนิยมใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี (gas chromatography (GC) หรือ high performance liquid chromatography (HPLC)) โดยเทคนิค HPLC ที่มีเครื่องตรวจวัด mass spectrometer (LC-MS) หรือเครื่องตรวจวัด ICP-MS (LC-ICP-MS) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการจำแนกชนิดของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมเนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีสภาพไวสูง แต่เทคนิคดังกล่าวต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพงมาก อีกทั้งค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เทคนิค Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) ซึ่งใช้เครื่องมือที่มีสภาพไว มีราคาถูก ใช้เวลาในการวิเคราะห์รวดเร็ว โดยพัฒนาการวิเคราะห์ด้วยการเปลี่ยนอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนูเป็นสารประกอบที่ระเหยเป็นไอได้ง่าย และใช้เทคนิค purge and trap สำหรับการสกัดและการเพิ่มความเข้มข้นในการวิเคราะห์สารประกอบสารหนูที่มีความเข้มข้นในระดับต่ำ ($\mu\text{g/L}$) ในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ในงานวิจัยจะพัฒนาวิธีการเก็บตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่างและขั้นตอนการสกัดตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์ที่เกิดการสูญเสียของสารประกอบสารหนูน้อยที่สุด เพื่อข้อมูลที่มีความเที่ยงและความแม่นยำ สามารถนำไปวิเคราะห์สารประกอบสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมได้จริง โดยข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมสามารถบอกถึงความเป็นพิษของสารประกอบสารหนู บอกระดับการปนเปื้อนในตัวอย่าง

สิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆ สามารถบอกถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนู ตลอดจนทำนาย วัฏจักรของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการวิเคราะห์และจำแนกชนิดของสารประกอบสารหนูที่เป็นวิธีมาตรฐานในการ วิเคราะห์ใน ตัวอย่างน้ำ ดิน และตัวอย่างของแข็งชนิดต่างๆ
2. ผลการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูสามารถตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติทางเคมี วิเคราะห์และสิ่งแวดล้อมได้เช่น Analytica Chemica Acta หรือ Talanta หรือ Environmental Science and Technology
3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบสารหนูสามารถนำไปประเมินถึงระดับการปนเปื้อนใน สิ่งแวดล้อมและแหล่งอาหารได้ ทำให้สามารถเฝ้าระวังและวางแผนการป้องกันการปนเปื้อนของ สารประกอบสารหนูที่มีผลต่อประชาชนได้อย่างถูกต้อง
4. ผลการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมสามารถทำนายการเปลี่ยนรูปของ สารประกอบสารหนู ภายใต้สภาวะต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ ทำให้ช่วยควบคุมความเป็นพิษของ สารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. พัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบสารหนู 4 ชนิดได้แก่ As(III), As(V), monomethylarsonic acid (MMA) และ dimethylarsinic acid (DMA) ด้วยเทคนิค gas chromatography-mass spectrometry
 2. พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นสารประกอบสารหนู โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อ ประสิทธิภาพสกัดสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap โดยทำการศึกษาปัจจัยที่มี ผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัดได้แก่ การเปลี่ยนอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนู ชนิดของตัวดูด ซับ (Trap) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด ปริมาตรและน้ำหนักของสารตัวอย่างที่ใช้ อุณหภูมิของตัวดูดซับระหว่างการดูดซับ อุณหภูมิของการ desorp สารออกจากตัวดูดซับ การเติม เกลือบางชนิดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด
 3. พัฒนาวิธีการเก็บและการรักษาสารประกอบสารหนูในตัวอย่าง ตลอดจนศึกษาปัจจัยที่มีต่อความ เสถียรของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการ เก็บรักษาตัวอย่าง ระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่าง สภาพความเป็นกรดเบสในการเก็บรักษา ตัวอย่าง การเติมสารเคมีช่วยรักษาสภาพตัวอย่าง
 4. ศึกษา method validation ของวิธีการวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานได้แก่ ขีดจำกัดการตรวจวัด ขีดจำกัดการหาปริมาณ สภาพไวในการตรวจวัด ความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์
 5. หาปริมาณสารประกอบสารหนู 4 ชนิดในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม หาปริมาณสารประกอบสารหนูใน ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างจากบริเวณชายหาดบางแสน อ่างศิลาและท่าเรือแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี โดยเก็บตัวอย่างน้ำทะเล ตะกอนดิน หอยแมลงภู่ สาหร่ายในบริเวณเดียวกันหรือใกล้กัน ได้แก่ น้ำ ทะเล ตะกอนดิน หอยแมลงภู่ และสาหร่าย
- ในการเก็บตัวอย่างจะทำการเก็บตัวอย่างทุกชนิดภายในวันเดียวกัน บันทึกข้อมูลความเป็นกรดเบส อุณหภูมิ ความเค็มของน้ำทะเล ฯลฯ ทุกครั้งที่มีการเก็บตัวอย่าง

6. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปของสารประกอบสารหนู ได้แก่ ความเป็นกรดเบส ไอออนบางชนิด อุณหภูมิ การสะสมและกระบวนการเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต
7. ศึกษาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนูในวัฏจักรน้ำทะเล โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสารหนูอนินทรีย์ (inorganic arsenic) เป็นสารหนูอินทรีย์ชนิด methylated species

หมายเหตุโครงการวิจัยนี้เป็นโครงการต่อเนื่อง 3 ปี รายงานวิจัยนี้เป็นรายงานโครงการวิจัยในปีที่ 1 ของโครงการทั้งหมด

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

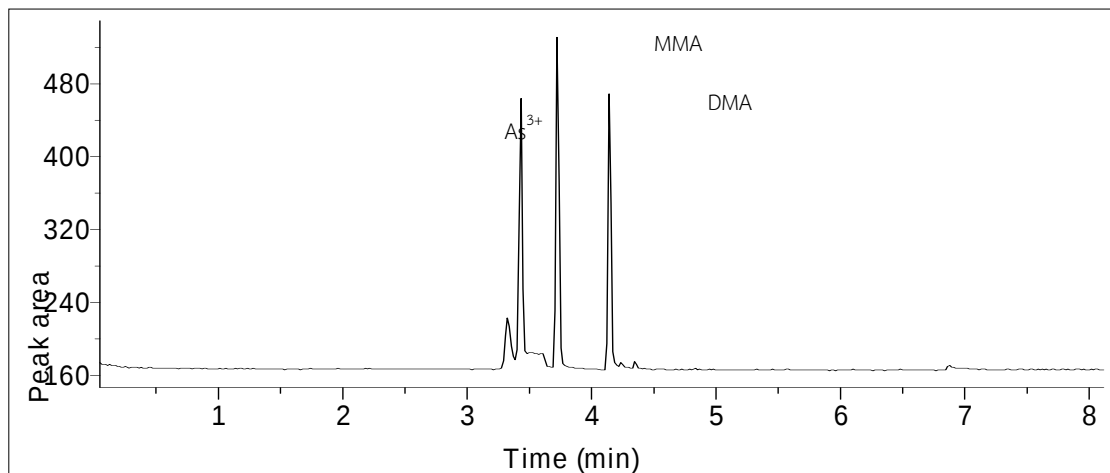
การศึกษาการแยกสารประกอบสารหนูด้วย GC-MS

การศึกษาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบสารหนู 4 ชนิด ได้แก่ As(III), As(V), monomethylarsonic acid (MMA) และ dimethylarsinic acid (DMA) ด้วยเทคนิค gas chromatography-mass spectrometry ได้สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารประกอบสารหนู 3 ชนิด ได้แก่ As(III), MMA และ DMA สำหรับ As(V) และ As (III) ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ เนื่องจาก As(V) และ As(III) เมื่อเกิดอนุพันธ์กับ NaBH₄ แล้วจะอยู่ในรูปเดียวกันคือ AsH₃ จึงจะต้องศึกษาสภาวะที่ในการแยก As(V) และ As (III) ต่อไป

สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารประกอบสารหนู 3 ชนิด แสดงดังตารางที่ 1 โครมาโทแกรมการแยกสารประกอบสารหนู 3 ชนิด แสดงดังรูป 1 โดยสามารถแยกสารประกอบสารหนูได้อย่างสมบูรณ์และใช้เวลาในการแยกน้อยกว่า 5 นาที

ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารประกอบสารหนู

ปัจจัย	สภาวะที่เหมาะสม
คอลัมน์	DB5-MS (60m x0.32 mm i.d., 1 micron film thickness)
แก๊สพา	He (อัตราการไหล 1.5 mL/min)
Temperature program:	50°C (0.5 min) เพิ่มขึ้น 100°C (20 °C/min) และเพิ่มเป็น 200 °C (50 °C/min) คงที่ 3 min
Mass detector	SIM mode m/z 75, 77, and 78 สำหรับ As(III) m/z 76, 90, and 92 สำหรับ MMA m/z 75, 90, and 106 สำหรับ DMA



รูปที่ 1 โครมาโทแกรมการแยกสารหนู 3 ชนิด ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

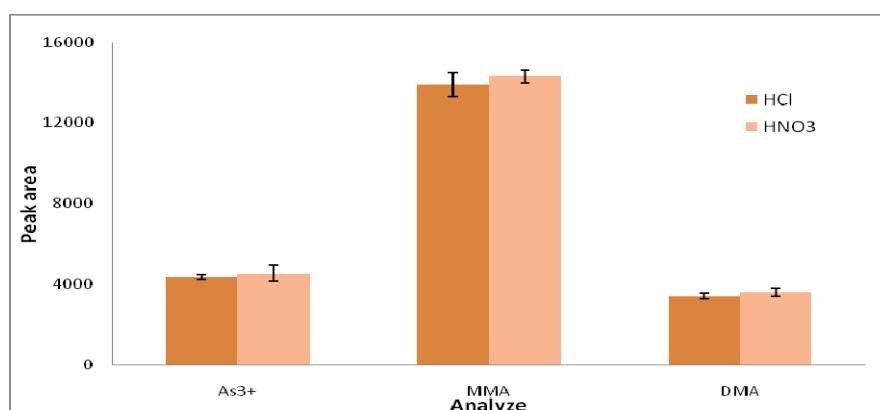
การศึกษาการเปลี่ยนอนุพัณสารประกอบกับสารหนูด้วย NaBH₄

1. ชนิดของสารรีเอเจนต์ที่ใช้เปลี่ยนอนุพัณสารประกอบสารหนู

ได้ศึกษาชนิดของสารรีเอเจนต์เพื่อเปลี่ยนอนุพัณของสารประกอบสารหนูเพื่อให้ได้อนุพัณที่ระเหยเป็นไอง่ายและเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS โดยในงานวิจัยนี้ได้ชนิดของสารเพื่อเปลี่ยนอนุพัณคือ NaBH₄ เพื่อเปลี่ยนสารประกอบสารหนูที่ให้อยู่ในรูปสารประกอบไฮไดรด์ (hydride) ที่มีจุดเดือดต่ำลง สามารถวิเคราะห์ได้โดย purge and trap และ GC-MS โดยเมื่อเทียบกับสารรีเอเจนต์ที่ใช้เปลี่ยนอนุพัณชนิดอื่น พบว่า NaBH₄ มีราคาถูก ไม่มีกลิ่นเหม็นเมื่อเทียบการสารชนิดอื่น และอนุพัณที่ได้สามารถแยกโดย GC และใช้เวลาในการแยกน้อยกว่า 5 นาที

2. ชนิดของกรดในการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนอนุพัณ

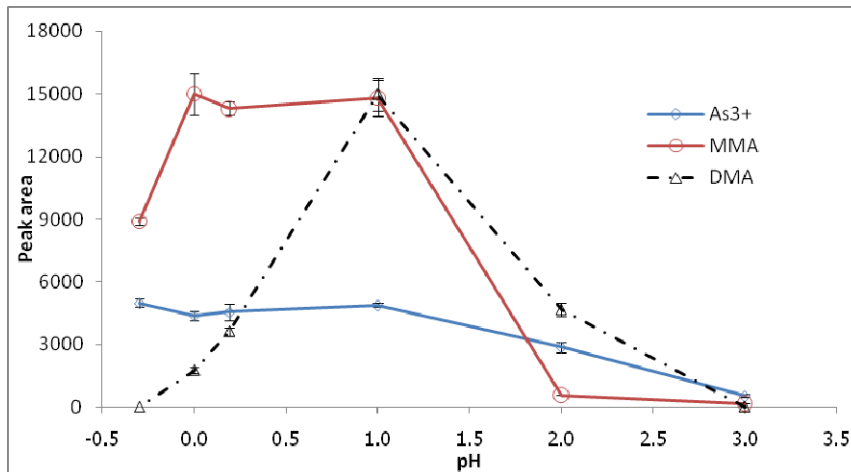
ได้ศึกษากรด 2 ชนิดที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนอนุพัณได้แก่ กรด HCl และ กรด HNO₃ พบว่า กรด HNO₃ ให้พื้นที่พีคที่มากกว่ากรด HCl เล็กน้อย และให้ by product peak ที่น้อยกว่า HCl จึงเลือกกรด HNO₃ สำหรับการศึกษาขั้นตอนต่อไป ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ผลของชนิดของกรดที่ใช้ในการเปลี่ยนอนุพัณต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

3. pH ของสารละลาย

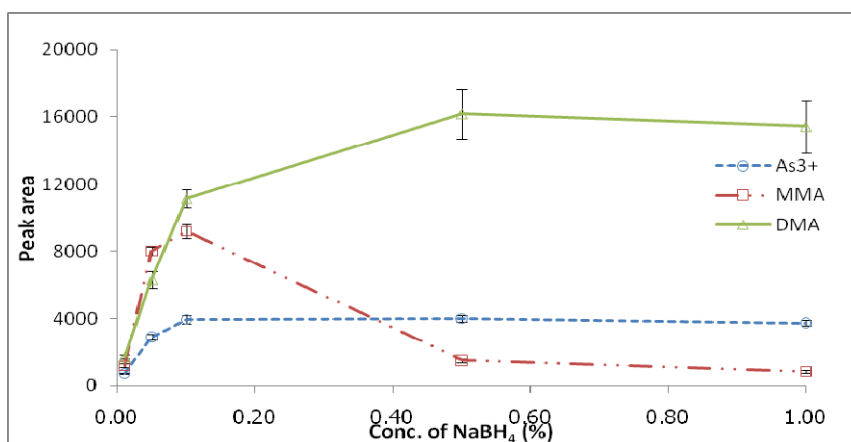
ได้ศึกษา pH ของสารละลายในช่วง -0.3 – 3.0 (ความเข้มข้นของกรด HNO_3 ในช่วง 0.001 M -2.0 M) พบว่าความเข้มข้นของกรด HNO_3 มีผลต่อการเกิดอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนู โดยสารประกอบสารหนูอนินทรีย์ (As(III)) เกิดอนุพันธ์ได้ใกล้เคียงกันในช่วงกรด pH -0.03- pH 1.0 หลังจากนั้นการเกิดอนุพันธ์จะลดลง สังเกตได้จากพื้นที่พีคที่ลดลง สำหรับ MMA เกิดอนุพันธ์ที่ดีในช่วง pH 0-pH 1.0 และ DMA เกิดอนุพันธ์ได้ดีที่สุดที่ pH 1.0 ดังนั้นความเข้มข้นของกรดที่เหมาะสมคือ 0.1M (pH 1.0) ผลของการศึกษาความเข้มข้นกรดแสดงดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 ผลของ pH ของสารละลายที่ใช้ในการเปลี่ยนอนุพันธ์ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

4 การศึกษาความเข้มข้นของ NaBH_4

ได้ศึกษาความเข้มข้นของ NaBH_4 ในช่วง 0.01 -1.00% พบว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจาก 0.01 - 0.10% การเกิดอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนู 3 ชนิดเพิ่มขึ้นจากพื้นที่พีคที่เพิ่มขึ้น และพบว่าการเกิดอนุพันธ์ของ MMA ลดลงเมื่อความเข้มข้นของ NaBH_4 มากกว่า 0.10% การเกิดอนุพันธ์ของ DMA เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ NaBH_4 เพิ่มขึ้น และการเกิดอนุพันธ์ของ As(III) คงที่เมื่อความเข้มข้นของ NaBH_4 ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ความเข้มข้นของ NaBH_4 ที่เหมาะสมคือ 0.10% ดังรูปที่ 4



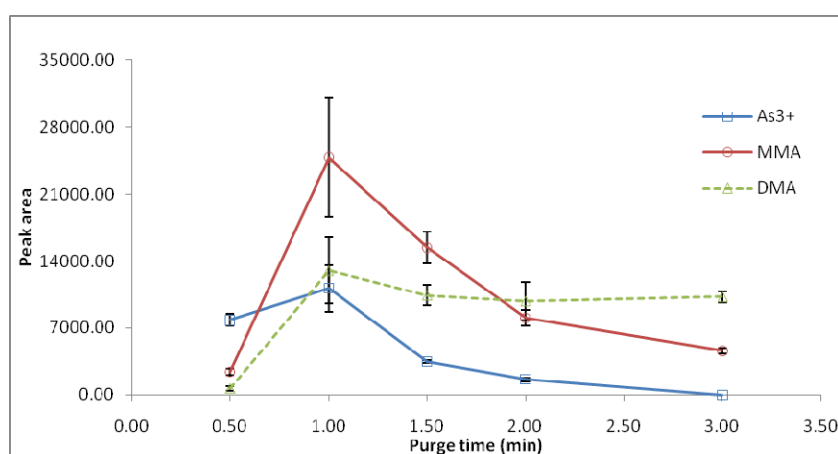
รูปที่ 4 ผลของความเข้มข้น NaBH_4 ที่ใช้ในการเปลี่ยนอนุพันธ์ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

การศึกษาการสกัดสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap

โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพสกัดสารอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap โดยทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัดได้แก่

1. purge time

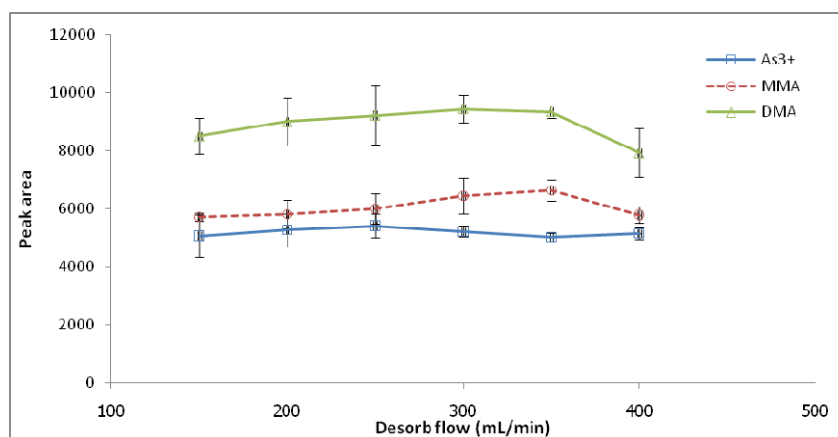
Purge time มีผลต่อการไล่ออนุพันธ์สารประกอบสารหนูออกจากสารละลาย โดยได้ศึกษา purge time ในช่วง 0.50-3.00 นาที พบว่าพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 2 ชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อ purge time เพิ่มขึ้นจาก 0.5 – 1.0 นาที และพื้นที่พีคลดลงเมื่อ purge time เพิ่มขึ้นเนื่องจากอนุพันธ์ไฮโดรด์ของสารประกอบสารหนูเป็นสารที่ระเหยเป็นไอน้ำง่ายมา ถ้าใช้เวลา purge time มากกว่าไปจะทำให้เกิดการสูญเสียสารได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ purge time ที่ 1.00 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสม ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 ผลของ purge time ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

2. desorb flow rate

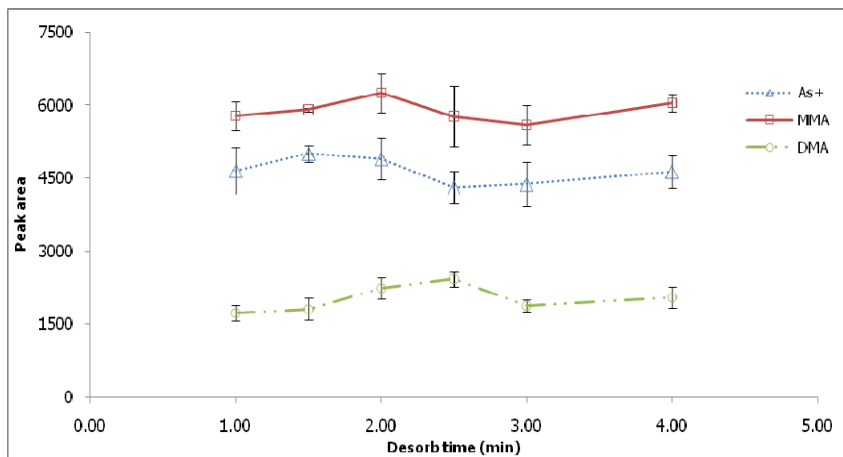
Desorb flow rate มีผลการอัตราการไล่สารออกจาก trap อย่างรวดเร็ว โดยได้ศึกษา desorb flow rate ในช่วง 150-400 mL/min พบว่า desorb flow rate ไม่มีผลต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ใช้ desorb flow rate ที่ 350 mL/min เป็นสภาวะที่เหมาะสม เนื่องจากให้ค่าความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ดีที่สุด ดังรูปที่ 5



รูปที่ 6 ผลของ desorb flow rate ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

3. desorp time

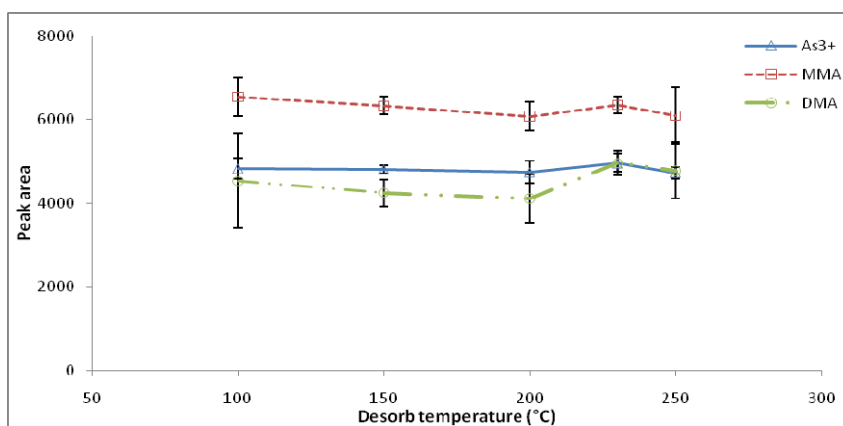
Desorp time มีผลต่อประสิทธิภาพในการไล่สารออกจาก trap โดยได้ศึกษา desorp time ในช่วง 1.00-4.00 min พบว่า desorp time ไม่มีผลต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงใช้ desorp time ที่ 2.00 min เป็นสถานะที่เหมาะสมเนื่องจากให้ค่าความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ดีที่สุด ดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 ผลของ desorp time ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

4. desorp temperature

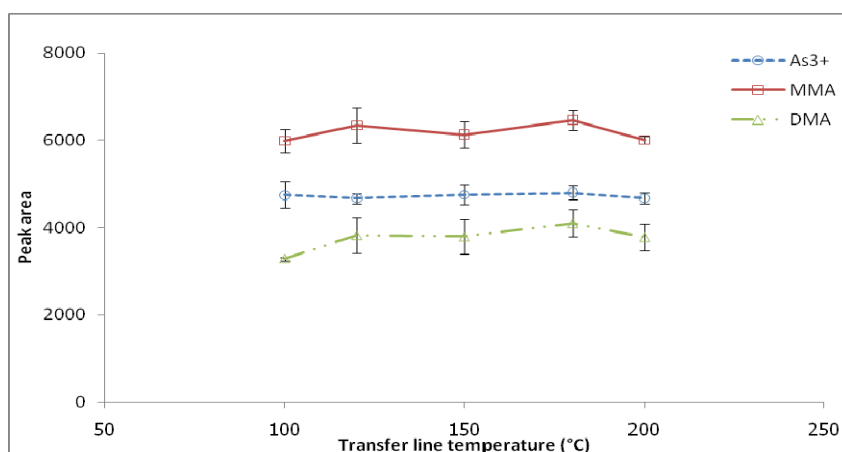
Desorp temperature มีผลต่อประสิทธิภาพและอัตราการไล่สารออกจาก trap โดยได้ศึกษา desorp temperature ในช่วง 100-250 °C พบว่า desorp temperature ไม่มีผลต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงใช้ desorp temperature ที่ 230 °C เป็นสถานะที่เหมาะสมเนื่องจากให้ค่าความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ดีที่สุด ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 ผลของ desorp temperature ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

5. transfer line temperature

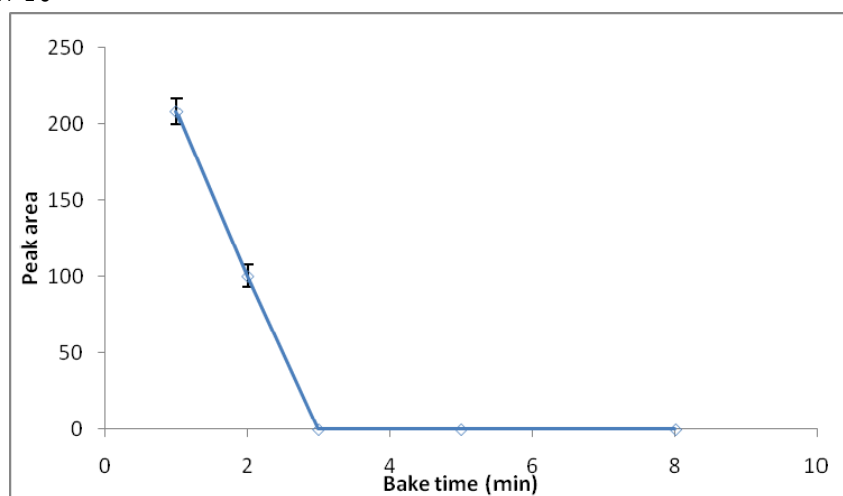
Transfer line temperature มีผลต่อการควบแน่นและการนำพาสารจาก purge and trap เข้าสู่เครื่อง GC-MS โดยได้ศึกษา transfer line temperature ในช่วง 100-200°C พบว่า transfer line temperature ระหว่าง 100 -180 °C ไม่มีผลต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อ transfer line temperature เพิ่มขึ้นเป็น 200°C จะทำให้พื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูลดลง ดังนั้นจึงใช้ transfer line temperature ที่ 180 °C เป็นสภาวะที่เหมาะสม ดังรูปที่ 9



รูปที่ 9 ผลของ transfer line temperature ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

6. bake time

Bake time มีผลต่อการปนเปื้อนและคงค้างของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในระบบ (carry over) ซึ่งถ้ามีการปนเปื้อนของสารจะทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษา bake time ในช่วง 1-8 min เพื่อศึกษาการเกิด carry over ระหว่างตัวอย่าง โดยศึกษาพื้นที่พีคที่คงค้างอยู่หลังจากฉีดสารละลายตัวอย่างแล้ว ผลการศึกษาพบว่า bake time ที่ 1-2 นาที ยังคงมีพื้นที่คงค้างอยู่ และหลังจาก bake time 3 นาที จะไม่พบพีคคงค้างของสารประกอบสารหนู ดังนั้นจึงเลือก bake time ที่ 3 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสม ดังรูปที่ 10



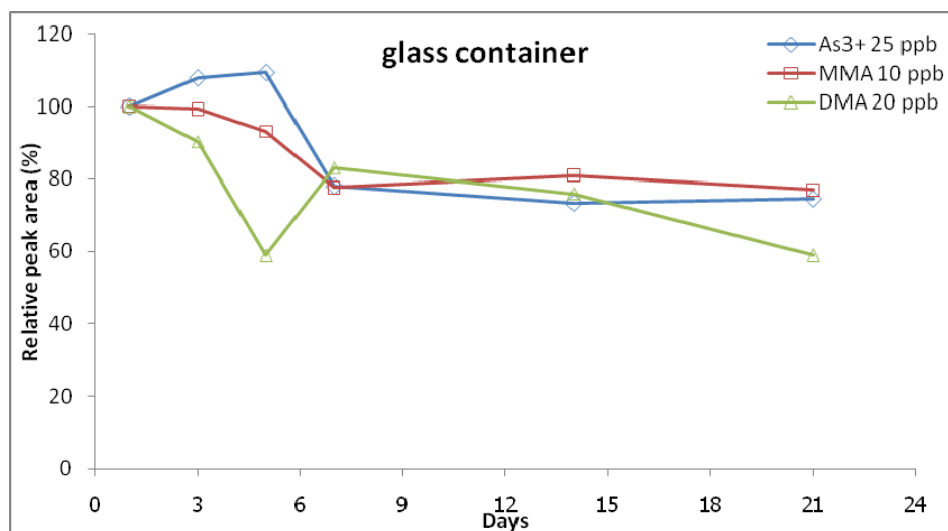
รูปที่ 10 ผลของ bake time ต่อพื้นที่พีคคงค้างของสารประกอบสารหนู (As(III))

การศึกษาความเสถียรของสารละลายสารประกอบสารหนู

1. ความเสถียรของสารละลาย standard solution

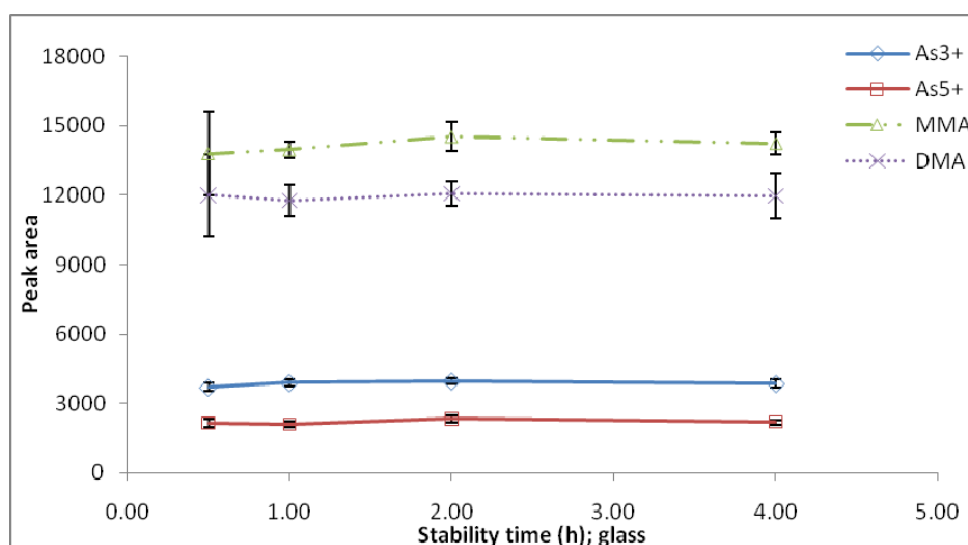
ได้ศึกษาความเสถียรของสารประกอบสารหนูโดยศึกษาความเสถียรของ stock standard solution และ working solution ผลการทดลองพบว่า

- Stock solution มีความเสถียรเมื่อเก็บไว้ในภาชนะแก้วมากกว่าภาชนะพลาสติก โดยมีความเสถียรอย่างมากใน 1 สัปดาห์แรกและจะเริ่มลดลงและคงที่จนถึงระยะเวลา 3 สัปดาห์ (ซึ่งเป็นเวลานานที่สุดที่ได้ศึกษา) สำหรับ (III) และ MMA สำหรับ DMA จะลดลงตั้งแต่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ขึ้นไป ดังรูปที่ 11



รูปที่ 11 การศึกษาความเสถียรของ stock arsenic solution

สำหรับ working solution ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมงหลังจากนำ stock solution มาเจือจาง พบว่าสารประกอบสารหนูทุกชนิดมีความเสถียรที่ดีภายใต้ระยะเวลาที่ได้ศึกษาดังรูปที่ 11 นอกจากนั้นยังไม่พบความแตกต่างของภาชนะแก้วและภาชนะพลาสติกที่ใช้บรรจุสารละลายในการศึกษาครั้งนี้



รูปที่ 12 การศึกษาความเสถียรของ working arsenic solution

การศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์

ได้ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection; LOD) ขีดจำกัดการหาปริมาณ (limit of quantification; LOQ) และความเที่ยงของการวิเคราะห์ ได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่าความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบสารหนูที่ได้พัฒนา

การศึกษา	As ³⁺	MMA	DMA
LOD (µg/L)	0.01	0.008	0.006
LOQ (µg/L)	0.05	0.018	0.012
%RSD peak area	6.40	4.83	6.24
%RSD (retention time)	0.03	0.01	0.31

สรุปผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ในปีการวิจัยที่ 1 (ปีงบประมาณ 2557) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารประกอบสารหนู ด้วยเทคนิค GC-MS ผ่านการทำอนุพันธ์ไฮไดรด์ด้วย NaBH₄ และสกัดอนุพันธ์สารประกอบสารหนูออกจากสารละลายด้วยเทคนิค purge and trap โดยสภาวะของการวิเคราะห์ที่เหมาะสมแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบสารหนู

ปัจจัย	สภาวะที่เหมาะสม
GC-MS	
คอลัมน์	DB5-MS (60m x0.32 mm i.d., 1 micron film thickness)
แก๊สพา	He (อัตราการไหล 1.5 mL/min)
Temperature program:	50°C (0.5 min) เพิ่มขึ้น 100°C (20 °C/min) และเพิ่มเป็น 200 °C (50 °C/min) คงที่ 3 min
Mass detector	SIM mode m/z 75, 77, and 78 สำหรับ As(III) m/z 76, 90, and 92 สำหรับ MMA m/z 75, 90, and 106 สำหรับ DMA
การเตรียมอนุพันธ์ไฮไดรด์ด้วย NaBH ₄	
ชนิดกรด	HNO ₃
pH ของสารละลาย	1.0 HNO ₃ (0.1M)
ความเข้มข้น NaBH ₄	0.10%
Purge and trap	
purge time	1.00 นาที
desorp flow rate	350 mL/min
desorp time	2.00 min
desorp temperature	230 °C
transfer line temperature	180 °C
bake time	3 นาที

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความเสถียรของการเก็บรักษาสารละลายสารประกอบสารหนูและได้ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด ขีดจำกัดการหาปริมาณ ความเที่ยงในการวิเคราะห์ของสารประกอบสารหนูด้วย

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

ส่วนหนึ่งงานวิจัยนี้ได้รับการเผยแพร่ในวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา

มณีนุช พละสุข, วรณรัตน์ สุทธิประภา, และ อภิญญา นวคุณ (2557) The Optimum Conditions for Determination of Dimethylarsenate and Monomethylarsonate using Purge and Trap Gas Chromatography-Mass Spectrometry Techniques. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 6. 289-297.

เอกสารการเผยแพร่งานวิจัยอยู่ในภาคผนวก

เอกสารอ้างอิง

Britta P-F., Corinne L., Jorg M., Broder J. M., Darrel K. N., Mark W. S., Speciation of volatile arsenic at geothermal features in Yellowstone national park. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70 (2006), 2480-2491.

Campillo N., Penalver R., Lopez-Garcia V. P., Hernandez-Cordoba M., Speciation of arsenic using capillary gas chromatography with atomic emission detection. *Talanta* 77 (2008) 793-799.

Daniel R. K., and Joseph H. A. III, Solid phase microextraction method for gas chromatography with mass spectrometric and pulsed flame photometric detection: studies of organoarsenical speciation. *Journal of Chromatography A* 918 (2001), 169-175.

Daniel R. K., and Joseph H. A. III, Identification of dimethylchloroarsine near a former herbicide factory by headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere* 48 (2002), 1003-1008.

Imran A., Hassan Y., and Aboul E., Speciation of arsenic and chromium metal ions by reversed phase high performance liquid chromatography. *Chemosphere* 48 (2002), 275-278.

Gong Z., Lu X., Ma M., Watt C., and Le X. C. Arsenic speciation analysis. *Talanta* 58 (2002) 77-96.

Kazi F. A., Zuliang C., Lester S., David D., and Ravi N., Speciation of arsenic in ground water samples: A comparative study of CE-UV, HG-AAS and LC-ICP-MS. *Talanta* 68 (2005), 406-415.

Kosters J., Diaz-Bone R. A., Planer-Friedrich B., Rothweiler B., Hirner A. V., Identification of organic arsenic, tin, antimony and tellurium compounds in environmental samples by GC-MS. *Journal of Molecular structure* 661-662 (2003), 347-356.

Krupp E. M., Johnson C., Rechsteiner C., Moir M., Leong D., and Feldmann J. Investigation into the determination of trimethylarsine in natural gas and its partitioning into gas and condensate phases using (cryotrapping)/gas chromatography coupled to inductively

coupled plasma mass spectrometry and liquid/solid sorption techniques. *Spectrochimica Acta Part B* 62 (2007), 970-977.

Leermakers M., Baeyens W., De Gieter M., Smedts B., Meert C., De Bisschop H. C., Morabito R., Quevauviller P. Toxic arsenic compounds in environmental samples: speciation and validation. *Trends in Analytical chemistry* 25 (2006), 1-10.

Lihareva N. Arsenic solubility, mobility and speciation in the deposits from a copper production waste storage. *Microchemical Journal* 81 (2005), 177-183.

Mustafa T., Demirphan C. Durali M. and Mustafa S. Arsenic speciation in natural water samples by coprecipitation-hydride generation atomic absorption spectrometry combination. *Talanta* 78 (2009), 52-56.

Ozgur D. U., Mustafa T., Durali M. and Mustafa S., Determination of As(III) and As(V) species in some natural water and food samples by solid-phase extraction on *Streptococcus pyogenes* immobilized on sepabeads SP70 and hydride generation atomic absorption spectrometry. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010), 1393-1398.

Roland A. D.-R., Maren R., Simone A., Bianca K., Bernd M., Klaus K., Renatus W., Alfred V. H., Investigation of biomethylation of arsenic and tellurium during composting. *Journal of Hazardous Materials* 189(2011), 653-659.

Ruixue C. Benjamin W. S., James D. W., Mike S. T., Gina K., and Lena Q. M. Arsenic speciation in Chinese brake fern by ion-pair high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* 504 (2004), 199-207.

Sebastien N. R., Vincent L., Philippe C., Nicolas M., Alfred C., and Jean-Paul B., Speciation of five arsenic species (arsenite, arsenate, MMAA^V, DMAA^V, and AsBet) in different kind of water by HPLC-ICP-MS. *Chemosphere* 66 (2007), 738-745.

Shona M., Joana S., Roberto M. and Philipe Q., The speciation of arsenic in biological tissues and the certification of reference materials for quality control. *Trends in Analytical Chemistry* 22 (2003), 191-209.

Zdenka S., Johannes T. E., and Anthony R. B., A dual arsenic speciation system combining liquid chromatographic and purge and trap-gas chromatographic separation with atomic fluorescence spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta* 358 (1998), 51-60.

Zoltan M. and Janusz P., Speciation of dimethylarsinic acid and monomethylarsonic acid by solid-phase microextraction-gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 873 (2000), 129-135.

ภาคผนวก
เอกสารเผยแพร่งานวิจัย