

บทที่ 2 การตรวจเอกสาร

2.1 เทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณปรอท (mercury measurement)

การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนัก โดยเฉพาะปรอทในสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาที่ทั่วโลกตระหนักถึงและให้ความสำคัญเนื่องจากมีความเป็นพิษสูงในปริมาณต่ำ ปรอท (II) ไอออน เป็นรูปฟอร์มของปรอทที่มีความเสถียร และสามารถละลายน้ำได้ดีในบริเวณผิวน้ำ จึงทำให้เกิดการกระจายตัวในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย และก่อให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพกับมนุษย์ เช่น สมอ ระบบประสาท ไต และระบบต่อมไร้ท่อต่างๆ [10,19]

ปรอท (Mercury) จึงเป็นปัจจัยที่ใช้กำหนดคุณภาพของแหล่งน้ำทางธรรมชาติ เช่น แม่น้ำ คลอง ชายฝั่งทะเลของประเทศไทย แหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทยจะมีปริมาณปรอทโดยเฉลี่ยประมาณ 0.47 ไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$) หรือ ส่วนในพันล้านส่วน (ppb) แต่จะมีปริมาณเพิ่มสูงมากขึ้นบริเวณปากน้ำ โดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำแม่กลอง แม่น้ำบางปะกง แม่น้ำท่าจีน และแม่น้ำเพชรบุรี ซึ่งบริเวณสองฝั่งของแม่น้ำเหล่านี้จะมีโรงงานอุตสาหกรรมตั้งอยู่เป็นจำนวนมาก ตามค่ามาตรฐานจากคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 พ.ศ. 2537 ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่องกำหนดคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินโดยคุณภาพน้ำผิวดินอนุโลมให้มีการปนเปื้อนของปรอทสูงสุดไม่เกิน 2 ไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$) หรือ ส่วนในพันล้านส่วน (ppb) [11] นอกจากนี้แหล่งน้ำจากธรรมชาติที่มาจาก 2 ส่วน คือแหล่งน้ำผิวดิน และแหล่งน้ำใต้ดินซึ่งเป็นแหล่งน้ำดิบที่นำมาผลิตน้ำประปา และนำมาใช้เป็นน้ำดื่มในท้ายที่สุด โดยที่การตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการบริโภค นอกจากต้องตรวจลักษณะทางกายภาพ เคมี สารพิษและแบคทีเรียแล้ว ปรอทได้ถูกกำหนดเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องมีการตรวจวัดเพื่อมาตรฐานของคุณภาพน้ำเพื่อการบริโภค โดยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 พ.ศ. 2534 เรื่องน้ำบริโภคในน้ำปิดสนิทได้กำหนดค่ามาตรฐานของปรอทในน้ำประปาและน้ำดื่มที่ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$) หรือ ส่วนในพันล้านส่วน (ppb) [12] ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณปรอท (II) ไอออนในสิ่งแวดล้อมที่ละลายอยู่ในน้ำโดยใช้เทคนิคการตรวจวัดที่มีความไว และความจำเพาะที่ดี

2.1.1 แบบใช้เครื่องมือขั้นสูง

การวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (II) ทั้งหมด วิธีมาตรฐานที่ใช้คือ โคลด์เวเพอร์อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรเมทรี (cold vapor atomic absorption spectrometry) พลาสมาอะตอมมิกอิมิสชัน (plasma atomic emission) หรือฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรเมทรี (fluorescence spectrometry) [20-22] ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความไวในการตรวจวัดและมีความจำเพาะที่สูง อย่างไรก็ตามด้วยค่าใช้จ่ายที่สูงเนื่องจากต้องใช้เครื่องมือขั้นสูง ต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ต้องอาศัยความเชี่ยวชาญและทักษะในการวิเคราะห์และต้องอาศัยห้องปฏิบัติการในการทำทดลอง ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (II) ด้วยวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ราคาถูกโดยให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง และแม่นยำ จึงเป็นเป้าหมายในการพัฒนาหาวิธีการใหม่

2.1.2 แบบไม่ใช้เครื่องมือขั้นสูง

จากข้อจำกัดบางประการในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยอาศัยการใช้เครื่องมือขั้นสูงดังที่กล่าวใน 2.2.1 อีกทั้งได้มีการกำหนดมาตรฐานของคุณภาพน้ำผิวดินและคุณภาพน้ำเพื่อการบริโภค ซึ่งค่ามาตรฐานของปรอทในแหล่งน้ำทั้งสองชนิดอยู่ที่ 2 และ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$) หรือ ส่วนในพันล้านส่วน (ppb) ตามลำดับ [11,12] จึงทำให้มีผู้วิจัยสนใจที่จะพัฒนาการวิเคราะห์ปรอทให้มีการเตรียมตัวอย่างให้มีความยุ่งยากซับซ้อนที่น้อยลง ใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่น้อยลง ลดค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมีปริมาณมาก ลดการใช้เครื่องมือขั้นสูงในการวิเคราะห์ ไม่จำเป็นต้องอาศัยความเชี่ยวชาญและทักษะของผู้วิเคราะห์ ขั้นตอนในการวิเคราะห์ไม่ซับซ้อน มีความรวดเร็ว สามารถวิเคราะห์ภาคสนามและเป็นเทคนิควิเคราะห์ที่รู้ผลเร็ว ไม่ต้องเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการพัฒนาเทคนิควิเคราะห์ปรอทให้ตรงตามจุดประสงค์ดังกล่าวจึงเป็นที่สนใจอย่างมากในปัจจุบัน และมีประโยชน์อย่างมากในการวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างแหล่งน้ำต่างๆ อาทิเช่น แหล่งน้ำที่อยู่ใกล้กับโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการใช้ปรอทในขบวนการผลิต แหล่งน้ำที่ถูกนำมาผลิตเป็นน้ำประปาเพื่อใช้อุปโภคและบริโภค เป็นต้น เมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานที่ถูกกำหนดไว้

ในปัจจุบันการตรวจวัดทางสี (colorimetric method) เป็นวิธีการหนึ่งที่มีความสนใจเป็นอย่างมาก ใช้ตรวจวัดปฏิกิริยาที่มีการเปลี่ยนแปลงทางสี มีการนำไปใช้ในการวิเคราะห์ที่ทำการเป็นประจำ (routine analysis) นอกจากนี้มีการพัฒนาที่สร้างเป็นเครื่องส่งสัญญาณที่มีการตอบสนองไวต่อสี (colorimetric sensor) เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อน จึงเป็นวิธีการที่ใช้เป็นทางเลือกและอาจเข้ามาแทนที่วิธีการวิเคราะห์ที่ใช้เครื่องมือขั้นสูงในอนาคตได้

2.1.2.1 การใช้อนุภาคโลหะนาโนในการตรวจวัดทางสี metal nanoparticles (NPs)-based colorimetric sensors

ปัจจุบันการใช้อนุภาคโลหะนาโน (Metal nanoparticles) ในการตรวจวัดทางสีได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถนำไปใช้งานได้หลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) และอนุภาคเงินนาโน (AgNPs) ดังแสดงในตารางที่ 2.1 และเนื่องจากสามารถสังเคราะห์ได้ง่ายและราคาไม่สูง อีกทั้งยังมีค่าสัมประสิทธิ์การสูญเสียดังกล่าว (molar extinction coefficient) ซึ่งเป็นสมบัติของเซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (Surface Plasmon Resonance; SPR) ที่มีค่าสูงคือ $10^8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [14] และ $10^{10} \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [15] ตามลำดับ แต่ AgNPs มีราคาที่ถูกกว่า AuNPs [16,17] และยังมีค่า molar extinction coefficient ซึ่งมากกว่า AuNPs เป็น 100 เท่ามีผลทำให้เพิ่มความชัดเจนในการสังเกตสีและการเพิ่มความไว [18] ดังนั้น AgNPs จึงนิยมนำมาใช้เป็นตัวตรวจวัดทางสี

ตารางที่ 2.1 แสดงสีของสารละลายคอลลอยด์ของอนุภาคเงินและอนุภาคทองคำขนาดนาโนเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือเกิดการ aggregation [23]

Nanostructure	Shape	SPR wavelength range (nm)	Color of colloidal solution
<i>Silver nanostructures</i>			
AgNP	Spherical	380-450	Yellow
AgNP aggregated	Spherical	600-700	Bluish gray
AgNT	Triangular	600-800	Bluish green
AgND	Disk	500-650	Light violet
<i>Gold nanostructures</i>			
AuNP	Spherical	500-550	Red
AuNP aggregated	Spherical	550-650	Blue
AuNR	Rod	600-650	Greenish blue
AuNR aggregated	Rod	900	Colorless
AuND	Disk	530	Red

การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วยเทคนิคการตรวจวัดทางสีโดยใช้อนุภาคนาโน จะอาศัยอันตรกิริยาระหว่างผิวหน้าของอนุภาคนาโนที่ถูกปรับปรุงกับสารที่ต้องการวิเคราะห์โดยเกิดการเหนี่ยวนำให้รวมตัวกับอนุภาคนาโนแบบไม่มีการครอสลิงค์ (non-crosslinking aggregation) และแบบครอสลิงค์ภายในอนุภาค (interparticles crosslinking aggregation) [24] ทำให้เกิดการตอบสนองทางสีที่เป็นเอกลักษณ์ แม้ว่าวิธีการดังกล่าวจะใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะ แต่ต้องมีการใช้สารเคมีในการสังเคราะห์ที่มีราคาสูง และมีวิธีการซับซ้อนในปรับปรุงผิวหน้าของอนุภาคนาโนให้มีส่วนของโมเลกุลที่มีความจำเพาะกับโลหะที่จะวิเคราะห์ซึ่งในงานวิจัยนี้สนใจปรอท ซึ่งได้เคยมีการรายงานไว้ถึงการปรับปรุงผิวหน้าของอนุภาคนาโนด้วยโมเลกุลที่มีความจำเพาะกับปรอท (II) เช่น thymine [25], L-cysteine [26] oligonucleotide [27] rhodamine B [28] aptamer [29] thiolcompounds [30] และ mercaptopropionic [31] นอกจากนี้การปรับปรุงผิวหน้าของอนุภาคนาโนดังที่กล่าวมาอาจมีผลทำให้ตำแหน่งความยาวคลื่นและความเข้มของพลาสมอนเรโซแนนซ์เปลี่ยนแปลงไปได้

มีงานวิจัยที่รายงานว่ามีการใช้ AgNPs ที่ไม่มีการปรับปรุงพื้นผิว เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดทางสีของปรอท (II) [32-34] โดยคุณ Farhadi และคณะได้เสนอการตรวจวัดทางสีของปรอท (II) ที่มีความจำเพาะสูงกับ AgNPs ที่มีการปรับปรุงพื้นผิว โดยใช้สารสกัดจากรากพืชเป็นสารคงตัว AgNPs ซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม แต่ต้องใช้เวลาในการสังเคราะห์ประมาณ 3 ชั่วโมงและสารสกัดต้องสดใหม่ โดยให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.44 ppm ต่อมาในปีค.ศ. 2012 คุณ Wang และคณะ ได้รายงานการใช้ AgNPs โดยใช้ซิเตรตเป็นสารเพิ่มเสถียรภาพในการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิห้องสำหรับตรวจวัดทางสีของปรอท (II) โดยใช้เวลา 48 ชั่วโมงในการสังเคราะห์ พบว่าหากไม่มีการเติม H_2O_2 ช่วยสามารถตรวจวัดหาปริมาณปรอท (II) ได้ที่ 2 ppm จากนั้นในปีค.ศ. 2013 คุณ Gao และคณะ ได้รายงานวิธีการตรวจวัดทางสี

ของปรอท (II) โดยใช้ AgNPs ที่สังเคราะห์โดยอาศัยสารชีวภาพที่อยู่โยเกิร์ตเป็นตัวรีดิวซ์และสารรักษาเสถียรภาพ โดยใช้เวลานานประมาณ 13 ชั่วโมงในการสกัดสารชีวภาพที่อยู่ในโยเกิร์ตออกมา และใช้เวลาในการสังเคราะห์ AgNPs 7 ชั่วโมง โดยรวมทุกขั้นตอนใช้เวลาประมาณ 20 ชั่วโมง โดยงานวิจัยนี้ให้ LOD ในการตรวจวัดทางสีของปรอทเท่ากับ 0.002 ppm จากงานวิจัยที่ได้รายงานมาข้างต้นพบว่าสามารถพัฒนาการสังเคราะห์ AgNPs ที่ไม่ถูกปรับปรุงพื้นผิวง่าย รวดเร็วขึ้น และมีเสถียรภาพที่ดีเพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณปรอท (II) ได้อย่างจำเพาะเจาะจง

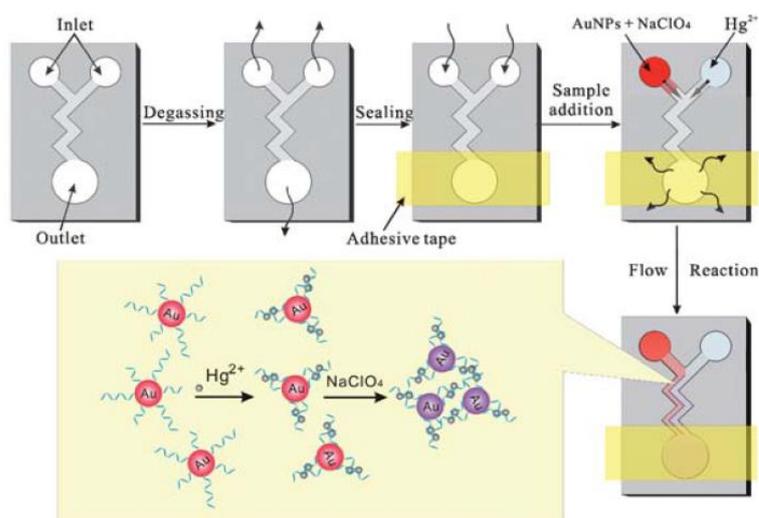
ดังนั้นจุดประสงค์ของงานวิจัยส่วนแรกคือพัฒนาการตรวจวัดทางสีของปรอท (II) ให้ออนแบบง่าย และรวดเร็วโดยอาศัยการติดตามการลดลงของอนุภาคเงินนาโน (AgNPs) ที่ไม่ถูกปรับปรุงพื้นผิวที่สังเคราะห์ง่ายและมีความเสถียรสูง นอกจากนี้ยังสนใจการใช้คอปเปอร์ (II) ในการเพิ่มความไวของการตรวจวัดโดยใช้เทคนิค อัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-Vis spectroscopy)

เนื่องจากงานวิจัยในส่วนแรกต้องใช้สารเคมีและตัวอย่างในปริมาณมาก (mL) ซึ่งทำให้มีของเสียที่เกิดจากการตรวจวัดทำให้ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และยังต้องมีเครื่องมือที่ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ ทำให้สนใจพัฒนาการตรวจวัดที่ใช้ปริมาณสารเคมีและตัวอย่างที่ลดลง (μL) ง่าย สะดวก รวดเร็ว โดยใช้กลไกของปฏิกิริยาเติมให้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดที่อยู่บนกระดาษ

2.1.2.2 ระบบของไหลจุลภาคที่ประดิษฐ์มาจากกระดาษ (microfluidic paper-based analytical device, μPAD)

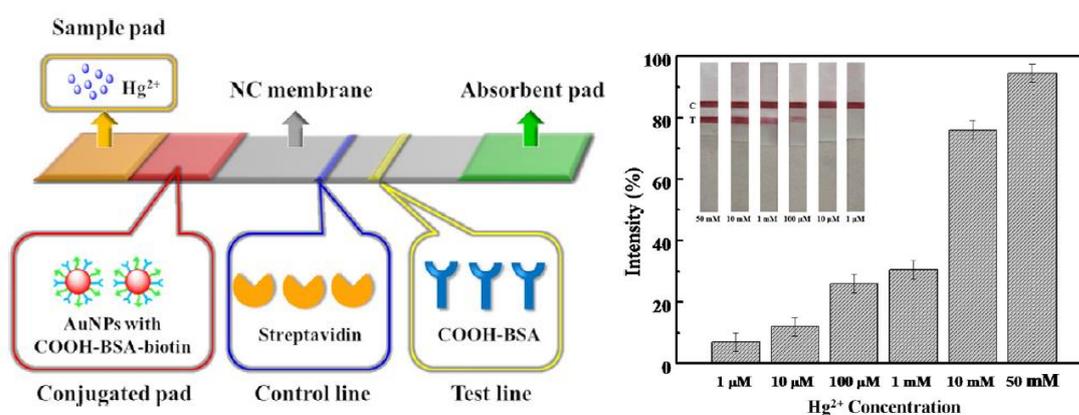
ในการวิเคราะห์ไอออนของปรอทโดยใช้การตรวจวัดทางสี (colorimetric assay) ไม่ได้ถูกใช้เฉพาะแต่ในหลอดทดลอง (test tubes) แต่มีการสร้างอุปกรณ์ในการวิเคราะห์ไอออนของปรอทโดยใช้การตรวจวัดทางสี (colorimetric assay) โดยในปี 2546 (ค.ศ. 2003) ได้มีการพัฒนาเป็นชุดทดสอบปรอทภาคสนามในแหล่งน้ำ โดยทีมวิจัยของ ศาสตราจารย์ยวดี เชี่ยววัฒนา [35] จากภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ทำการพัฒนาชุดทดสอบปรอทภาคสนามในแหล่งน้ำ และมีวางจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ในปัจจุบัน ซึ่งอาศัยหลักการ Distillation and cupro-tetraiodo-mercuriate complex formation โดยมีรายละเอียดของผลิตภัณฑ์นี้ มีช่วงที่ใช้ทดสอบได้ 5-500 ไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$) หรือ ส่วนในพันล้านส่วน (ppb) ใช้ปริมาตรสารน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร (mL) และใช้เวลาในการทดสอบ 20 นาที โดยชุดทดสอบที่ถูกพัฒนาขึ้นมาสามารถลดขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างให้มีความยุ่งยากซับซ้อนที่น้อยลง ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยลง ลดค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมีปริมาณมาก ลดการใช้เครื่องมือขั้นสูงในการวิเคราะห์ ไม่จำเป็นต้องอาศัยความเชี่ยวชาญและทักษะของผู้วิเคราะห์ ขั้นตอนในการวิเคราะห์ไม่ซับซ้อน มีความรวดเร็วสามารถวิเคราะห์ภาคสนามและรู้ผลเร็ว ไม่ต้องเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ในปี ค.ศ. 2006 Paciornik และคณะ [36] ได้รายงานการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในเนื้อปลาโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างไอปรอทกับคอปรัส ไอโอไดด์ (CuI) ทำให้เกิดสีเหลือง-ส้ม โดยเทคนิคนี้จะทำการเคลือบผิวของกระดาษที่ใช้เป็นบริเวณตรวจวัดด้วยอิมัลชันของ CuI ด้วยการสกรีนกระดาษที่ใช้เป็นบริเวณตรวจวัดจะเชื่อมต่อกับแหล่งให้กำเนิดไอปรอท สีที่เปลี่ยนไปของบริเวณตรวจวัดจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของปรอท โดยใช้เครื่องสแกนเนอร์ร่วมกับโปรแกรม Digital Micrograph ในการตรวจวัดทางสีโดยติดตามค่า Hue ในระบบค่าสี HSB พบว่าให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดประมาณ 7 ppb ของน้ำหนักเปียก จากนั้นในปี ค.ศ. 2007 Diez-Gil และคณะ [37] ได้

เสนอวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทที่มีความจำเพาะสูงบนวัสดุรองรับเซลล์ลูโลสด้วยตาเปล่า โดยทำปฏิกิริยากับ บิส(เฟอโรซีนิล) เอซีน (bis(ferrocenyl) azine) ในสารละลายผสม อะซิโตไนโตรล-น้ำ (acetonitrile-water) ทำให้ได้สีแตกต่างกันตามความเข้มข้นของปรอท(II) โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดประมาณ 10 ppm ซึ่งสูงเกินค่ากำหนดของน้ำดื่มที่มีปรอท(II) ปนเปื้อน (2 ppb) ต่อมา ในปี ค.ศ. 2008 คุณ Gregory Tew และคณะ [38] ได้สร้างอุปกรณ์ตรวจวัดทางสีโดยใช้กระดาษกรองที่ทำจากฝ้าย (cotton filter paper) มาเคลือบด้วยโพลิเมอร์ที่มีสารเทอร์ไพริดีน (terpyridine) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่สามารถเชื่อมเกาะกับโลหะได้ดี โดยสังเกตสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษ ถ้าในตัวอย่างน้ำตัวอย่างมีปริมาณสารปรอทมากกว่าหรือเท่ากับ 2000 ไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$) หรือ ส่วนในพันล้านส่วน (ppb) สีบนกระดาษจะถูกเปลี่ยนเป็นสีชมพูทันที แต่ถ้ามีพบสารปรอทในช่วง 2 ไมโครกรัมต่อลิตร ($\mu\text{g/L}$) หรือ ส่วนในพันล้านส่วน (ppb) จะใช้เวลานาน 30 นาที กระดาษจึงจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู จากการศึกษาโลหะรบกวนที่อยู่ในน้ำตัวอย่าง ได้แก่ทองแดง สังกะสี นิกเกิล และตะกั่ว พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ ถึงแม้ว่าอุปกรณ์จากกระดาษที่ถูกสร้างขึ้นจะมีข้อได้เปรียบกว่าชุดทดสอบปรอทภาคสนามอื่น แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่นานเมื่อตัวอย่างมีปริมาณสารปรอทต่ำ ต่อมา มีการนำระบบของไหลจุลภาค (microfluidics) มาใช้ร่วมด้วยเพื่อเป็นการลดปริมาณการใช้สารตัวอย่าง ทำให้การวิเคราะห์รวดเร็วขึ้น และประยุกต์ใช้กับภาคสนามได้ โดยในปี ค.ศ. 2008 คุณ Shijiang H. และคณะ [39] ได้ใช้ AuNPs สำหรับการตรวจวัดหาปรอทภาคสนามที่อยู่ในสิ่งแวดล้อม โดยใช้การดูสีที่เกิดขึ้นโดยตาเปล่าอย่างรวดเร็วบนระบบของไหลจุลภาค (microfluidics) ที่ทำจาก โพลิเมอร์ชนิด PDMS โดยจะปรับปรุงพื้นผิวของ AuNPs โดยการใช้ oligo-T ซึ่งเป็น DNA ชนิดหนึ่งที่มีความจำเพาะต่อปรอท ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ถ้ามีปรอทอยู่จะทำให้ AuNPs ที่ถูกปรับปรุงพื้นผิวด้วย oligo-T เกิดเป็น T-Hg^{2+} -T บนพื้นผิวของที่ถูกปรับปรุงของ AuNPs เมื่อเติม NaClO_4 ลงไปจะทำให้เกิดการรวมตัวของ AuNPs ซึ่งจะทำให้สีเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้น พบว่าโลหะตัวอื่นเช่น Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} และ Zn^{2+} ไม่รบกวนต่อการวิเคราะห์ แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องขั้นตอนการเตรียมพื้นผิวของ AuNPs และ AgNPs ด้วยสารที่มีความจำเพาะ (recognition molecules) กับโลหะไอออนที่สนใจ



รูปที่ 2.1 แผนผังการวิเคราะห์ปรอท (Hg^{2+}) บนระบบของไหลจุลภาค (microfluidics) ที่ทำจาก PDMS โพลิเมอร์ [39]

นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 2012 คุณ Chao, C.H. และคณะ [40] ได้ใช้หลักการของ Immunochromatography (IC) test strip ซึ่งเป็นที่รู้จักและใช้กันอย่างแพร่หลาย มาใช้ในการหาไอออนของปรอท โดยจะใช้ AuNPs ที่ถูกปรับปรุงพื้นผิวด้วย carboxylic modified protein ซึ่งเป็นตัวกำเนิดสีในกรณีที่มีปรอทอยู่ในตัวอย่าง ที่แถบตรวจวัด (test line) จะเกิดสีแดงเนื่องจาก AuNPs ที่ถูกปรับปรุงพื้นผิวด้วย carboxylic modified protein ที่มีความจำเพาะกับปรอท จะเคลื่อนที่มาสะสมตรงบริเวณแถบตรวจวัด (test line) ที่มี streptavidin protein ที่มีความจำเพาะกับปรอทอยู่บน nitrocellulose membrane ในทางกลับกันเมื่อไม่มีปรอทอยู่จะไม่ปรากฏแถบสีขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.2 แต่พบว่าเทคนิคการวิเคราะห์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดในเรื่องของขั้นตอนการเตรียมพื้นผิวของ AuNPs ด้วยสารที่มีความจำเพาะ (recognition molecules) กับโลหะไอออนที่สนใจ องค์ประกอบของอุปกรณ์มีความซับซ้อน ต้องใช้สารที่มีความจำเพาะหลายตัว และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (detection limit) เท่ากับ $1 \mu\text{M}$



รูปที่ 2.2 แสดงหลักการการทำงานของ immunochromatography (IC) test strip ในการหาปริมาณปรอท (ซ้าย) แสดงช่วงการหาปรอทบน IC test strip (ขวา) [40]

ในปี ค.ศ. 2013 Liu และคณะ [41] ได้ทำการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดทางสีที่สามารถอ่านค่าได้ด้วยตาเปล่าสำหรับตรวจวัดหาปริมาณปรอท (II) ไอออนในตัวอย่างน้ำบนกระดาษ โดยใช้โรดามีน บี ไธโอแลคโตน (Rhodamine B thiolactone) ที่มีความจำเพาะกับปรอทตรึงไว้ที่บริเวณตรวจวัด (detection zone) เมื่อตัวอย่างที่มีปรอททำปฏิกิริยาที่บริเวณตรวจวัดจะเกิดการเปลี่ยนสีจากสีขาวเป็นสีม่วงจนถึงแดง โดยปรอท (II) ไอออนความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถอ่านค่าได้ด้วยตาเปล่าเท่ากับ 10 nM และสามารถอ่านค่าได้ต่ำถึง 1.2 nM เมื่อนำไปอ่านค่าด้วยโปรแกรมอ่านค่าสี โดยไม่มีผลของตัวรบกวน แต่มีความซับซ้อนในขั้นตอนการตรึง rhodamine B thiolactone ไว้บนกระดาษ รวมทั้งต้องใช้สารตัวอย่างในปริมาณมาก (200 mL)

ในปี ค.ศ. 2013 El Kaoutit และคณะ [42] ได้เสนออุปกรณ์การตรวจวัดทางสีในการหาปริมาณปรอท (II) ไอออนที่ทำงานจากพอลิเมอร์แบบเยื่อในตัวอย่างน้ำ โดยสามารถปรับการตอบสนองทางสีของพอลิเมอร์ให้สามารถอ่านค่าด้วยตาเปล่าถึงความเข้มข้นต่ำสุดที่กำหนดในน้ำดื่มโดย United States Environmental Protection Agency (EPA) เท่ากับ 2 ppb นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์หาปรอทโดยการ

ถ่ายภาพแล้วใช้โปรแกรมอ่านค่าสีเพื่อแปลค่าสีทำให้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณปรอทได้ต่ำถึง 1×10^{-4} ppb แต่มีความซับซ้อนในขั้นการเตรียมพอลิเมอร์สำหรับการตรวจวัด

จากการทบทวนการวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าการตรวจวัดทางสีของ Hg(II) โดยใช้ Paper device ยังมีข้อจำกัด ไม่ว่าจะเป็นการเตรียมสารตัวอย่างที่ซับซ้อน การไหลลดสารตัวอย่างลงบนพื้นผิว เซลลูโลสที่ยุงยาก รวมถึงปฏิกิริยาเคมีที่มีความซับซ้อน อีกทั้งขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด Hg(II) ที่ยังสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน

อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้สนใจที่จะใช้กระดาษเพื่อพัฒนาเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดขนาดเล็ก เนื่องจาก กระดาษมีข้อดีหลายอย่าง เช่น การที่ของเหลวสามารถเคลื่อนที่ผ่านได้โดยอาศัยแรงคะปิลลารี (capillary force) โดยที่ไม่ต้องอาศัยแรงภายนอก มีอัตราส่วนพื้นที่หน้าตัดต่อปริมาตรสูง และมีสีขาวซึ่งเหมาะแก่การพัฒนาการตรวจวัดทางสีได้ นอกจากนี้ยังมีราคาถูก สามารถกำจัดทิ้งได้ง่าย [43] ด้วยคุณสมบัติที่กล่าวมาของกระดาษจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในระบบของไหลจุลภาคได้ โดยถูกรายงานครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 2007 โดยคุณ Martinez และคณะ [44] ได้นำมาใช้เป็นระบบของไหลจุลภาคที่ประดิษฐ์มาจากกระดาษ โดยใช้เทคนิค Photolithography และเรียกว่า “microfluidic paper-based analytical device ; μ PAD” โดยอาศัยหลักการปรับปรุงพื้นผิวของกระดาษที่มีสมบัติ hydrophilic ให้เป็นเส้นทาง (channel) ด้วยสารที่เป็นพวก hydrophobic โดยจากนั้นก็มีการวิจัยเพื่อพัฒนา μ PAD ด้วยเทคนิคต่างๆ เพื่อให้เกิดเป็น channel จากหลากหลายเทคนิคดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงเทคนิคที่ใช้ในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดระบบของไหลจุลภาคที่ประดิษฐ์จากกระดาษ [45]

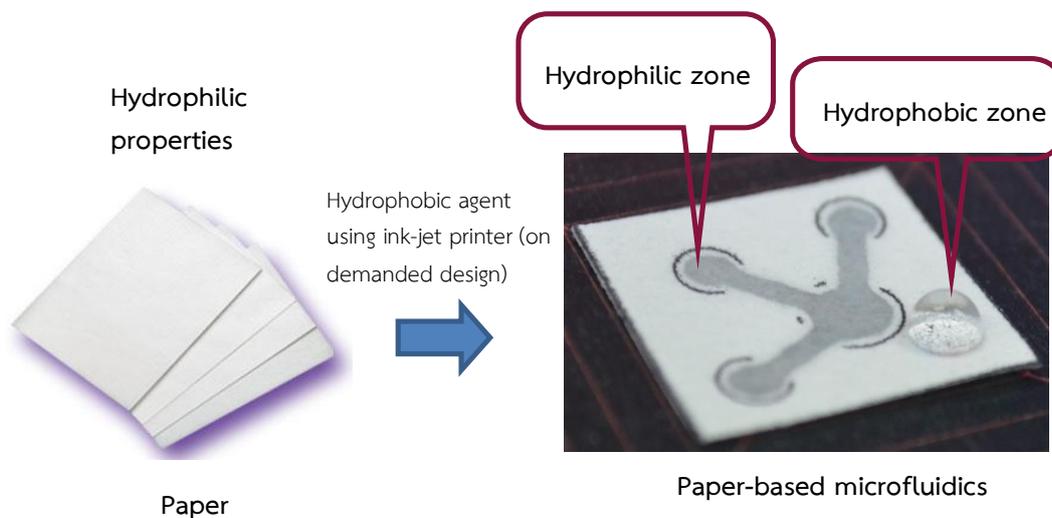
ชื่อเทคนิค	ความละเอียดของชิ้นงาน (Resolution)	ราคา	ความสามารถในการผลิตเป็นจำนวนมากในครั้งเดียว	ข้อดี	ข้อเสีย
Cutting -Manual -Computer-controlled cutting plotter -Laser cutter -Mechanical drill	ต่ำมาก ค่อนข้างสูง สูง ต่ำ	ต่ำมาก ต่ำ สูง ปานกลาง	ไม่ได้ ได้ ได้ ได้	ไม่มีการปนเปื้อนจากสารเคมีที่ใช้ในการสร้าง ใช้พื้นที่ไม่มากในการสร้างอุปกรณ์	ราคาต้นทุนต่ำ แต่ความละเอียดของชิ้นงานก็ต่ำด้วย
Printing -Wax printing -Screen printing -Flexographic printing	สูง ปานกลาง สูง	ต่ำ ต่ำมาก ปานกลาง	ได้ ได้ ได้	รวดเร็ว เป็นอัตโนมัติ ไม่มีการใช้แม่พิมพ์ แต่ต้องสร้างแบบจากคอมพิวเตอร์เท่านั้น เป็นไปได้ที่จะเกิดชั้นที่มีความหนา โดยไม่ต้องใช้ความร้อน ใช้หมึกน้อย	ไม่ค่อยได้รับความนิยม มีความจำกัดในเรื่องของรูปแบบชิ้นงาน ความหนืดหมึกน้อย และมีข้อจำกัดในเรื่องตัวทำละลาย

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

ชื่อเทคนิค	ความละเอียดของชิ้นงาน (Resolution)	ราคา	ความสามารถในการผลิตเป็นจำนวนมากในครั้งเดียว	ข้อดี	ข้อเสีย
Printing (ต่อ) -Ink-jet printing	สูง	ต่ำถึงปานกลาง	ได้	ใช้การออกแบบด้วยคอมพิวเตอร์แล้วพิมพ์โดยใช้เครื่องพิมพ์ธรรมดาซึ่งมีราคาถูก หัวพิมพ์อื่นที่ไม่ได้ใช้สามารถใช้งานได้ในเวลาเดียวกัน และไม่ต้องใช้แม่แบบ สร้างชิ้นงานได้พร้อมกันเป็นจำนวนมาก	หัวพิมพ์ตันได้ง่าย
- Laser printing	สูง	ต่ำ	ได้	สร้างชิ้นงานได้พร้อมกันเป็นจำนวนมากโดยไม่ต้องปรับเปลี่ยนสถานะ	เฉพาะผิวหน้าของกระดาษเท่านั้นที่ถูกปรับเปลี่ยนและใช้ได้เฉพาะเครื่องพิมพ์เตอร์สี
-Transparency transfer printing	ปานกลาง	ต่ำ	ได้	รูปแบบที่พิมพ์ออกมาด้วย wax ลงบนวัสดุใสสามารถใช้กับวัสดุอื่นได้	ต้องจัดวางตำแหน่งด้วยตนเอง ทำให้มี resolution
Drawing	ต่ำมาก	ต่ำมาก	ไม่ได้	ราคาถูกมาก และสามารถหาซื้อได้ง่าย เช่น ballpoint pens ที่เติมสารพอลิเมอร์ หรือ wax pencils	ความกว้าง channel มาก
Dip-coating	ปานกลาง	ต่ำมาก	ไม่ได้	ราคาถูก และหาซื้อได้ทั่วไป	ต้องมีแม่แบบโดยอาจเป็นโลหะหรือพอลิเมอร์
Plotting	ต่ำ	ต่ำ	ได้	.ใช้ความหนืดของสารที่เป็น hydrophobic น้อยกว่าในเทคนิค printing และสามารถใช้ได้กับทุกพื้นผิว	ควบคุมการกระจายตัวของสารที่เป็น hydrophobic ได้ลำบาก
Photolithography	สูง	ปานกลาง	ได้	สามารถประยุกต์ใช้กับที่มีความพร้อมน้อยได้เนื่องจากใช้อุปกรณ์พื้นฐาน	ขั้นตอนการทำหลายขั้นตอน และไม่สามารถหักพับชิ้นงานได้

จากตารางที่ 2.2 จะเห็นได้ว่าเทคนิคการสร้าง μ PAD มีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเครื่องมือของเครื่องมือ สารเคมี งบประมาณและการนำไปใช้ โดยในงานวิจัยนี้สนใจที่จะพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดที่ใช้ระบบของไหลจุลภาคที่ประดิษฐ์มาจากกระดาษ (Paper-based microfluidics) ราคาถูกโดยใช้เทคนิคการพิมพ์แบบพ่น (ink-jet printing) ที่ถูกพัฒนามาจากกลุ่มวิจัยของ Wei Shen ประเทศออสเตรเลีย ในปี ค.ศ.2010 [46] ซึ่งจะทำให้เกิด hydrophilic-hydrophobic contrast หรือเกิดเป็นช่อง (channel)

ขนาดเล็กบนกระดาษ ซึ่งจะทำให้เกิดการไหลของสารที่สนใจบนกระดาษได้ ซึ่งเป็นที่รู้จักในนามของ paper-based microfluidic ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การสร้าง paper-based microfluidic โดยใช้เทคนิคการพิมพ์แบบพ่น (Ink-jet printing) [46]

จากตารางที่ 2.2 เทคนิคการพิมพ์แบบพ่น (ink-jet printing) เป็นเทคนิคการสร้างอุปกรณ์วิเคราะห์ที่ทำจากกระดาษที่มีราคาถูก ขนาดเล็ก มีประสิทธิภาพสูง และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เนื่องจากใช้สารที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic reagent) ที่มีราคาถูกมากและใช้ในปริมาณน้อยในการเคลือบลงบนกระดาษ ตามการออกแบบรูปแบบ (layout) แต่ละการใช้งานโดยอาศัยเครื่องพิมพ์แบบพ่น (ink jet printing) ราคาถูกที่ให้ประสิทธิภาพสูงสามารถดัดแปลงเพื่อใช้ในการพ่นสารที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic reagent) ลงบนกระดาษ ซึ่งเมื่อสารที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic reagent) นี้ถูกพ่นลงบนกระดาษก็จะเกิดเป็นช่อง (channel) ขนาดเล็กบนกระดาษที่มีความแม่นยำสูง (high resolution) มีความความทนทาน (durability) ความยืดหยุ่น (flexibility) สูง และยังสามารถทำได้ทีละหลายๆต่อครั้งได้อีกด้วย ซึ่งเทคนิคที่กล่าวมานี้มีข้อได้เปรียบหลายประการเมื่อเทียบกับเทคนิคการสร้าง paper-based microfluidics โดยเทคนิคอื่น

นอกจากนี้ระบบการตรวจวัดบน μ PAD มากกว่า 90% นิยมใช้การตรวจวัดทางสีเนื่องจากง่ายทั้งเชิงคุณภาพ และปริมาณวิเคราะห์ โดยในงานวิจัยนี้สนใจการวิเคราะห์เชิงปริมาณของปรอท (II) ในน้ำตัวอย่าง ซึ่งต้องอาศัยการวิเคราะห์ทางสี (Chromatic analysis) เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่าย ไม่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพงที่มีความซับซ้อนและต้องดำเนินการโดยผู้เชี่ยวชาญ โดยวิธีการตรวจวัดทางสีเป็นการติดตามสีที่เปลี่ยนไปของปฏิกิริยาที่ตรวจวัดซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) ในปี ค.ศ. 2003 Birch และคณะ [47] ได้เสนอการวิเคราะห์ทางสีจากรูปภาพโดยใช้เครื่องสแกนเนอร์ร่วมกับโปรแกรมประมวลผลภาพ (Image processing software) เพื่อติดตามค่าความเข้มสีของแสงที่เปลี่ยนไปตามความเข้มข้นของ analyte ด้วยระบบแสงสีแดงเขียวน้ำเงิน (RGB) ซึ่งสามารถคำนวณย้อนกลับเป็นค่าการดูดกลืนแสงได้ โดยจะให้ผลการทดลองสอดคล้องกับเทคนิค UV-Vis spectroscopy ซึ่งเป็นเทคนิคมาตรฐาน [48-50] โดยทั่วไปแสงสีในระบบ RGB จะใช้ในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ต่างๆ เช่น โทรศัพท์ สมาร์ทโฟน และ

กล้องดิจิทัล เป็นต้น ซึ่งแสงสีในระบบ RGB นี้ยังใช้อธิบายการมองเห็นของมนุษย์อีกด้วย [9] จึงทำให้การวิเคราะห์ทางสีในระบบ RGB ได้ถูกนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้ร่วมกับ μ PAD ดังนั้น เพื่อลดความซับซ้อนและเพิ่มความสามารถในการตรวจวัดทางสีโดยใช้อนุภาคนาโนร่วมกับ μ PAD จึงเป็นอีกทางเลือกในการตรวจวัดทางสีของ Hg(II) ในเชิงปริมาณวิเคราะห์ โดยมีงานวิจัยที่รายงานการใช้ μ PAD ร่วมกับการวิเคราะห์ทางสี (chromatic analysis) ในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอท (II) โดยอาศัยอันตรกิริยาระหว่างโลหะนาโนและปรอท มีอยู่ดังต่อไปนี้

ในปี ค.ศ. 2012 กลุ่มงานวิจัยของ รศ.ดร. อรวรรณ ไชยลภากุล และคณะ [18] ได้สร้างปฏิบัติการบนกระดาษกับศาสตร์ของอนุภาคนาโนในการพัฒนาอุปกรณ์แบบใหม่สำหรับการวิเคราะห์ปรอท (II) แบบง่ายและรวดเร็ว จากผลการทดลองพบว่า อุปกรณ์ขนาดเล็กที่ประดิษฐ์มาจากกระดาษสามารถตรวจวัดปรอท (II) โดยใช้ปริมาตรของตัวอย่างเพียง 2 μ L โดยสีของ AgNPs ที่บริเวณทดสอบจะถูกเปลี่ยนทันทีเมื่อมีปรอท (II) อยู่ ซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า นอกจากนี้การใช้คอปเปอร์ (II) ยังช่วยเพิ่มสัญญาณการวิเคราะห์ปรอทอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งการใช้กล้องถ่ายภาพดิจิทัลและซอฟต์แวร์ที่เกี่ยวข้องสามารถในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 5-75 ppm ของปรอท (II) และให้ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดที่ 0.12 ppm การใช้รูปแบบการเพิ่มความเข้มข้นโดยอาศัยการเพิ่มปริมาตรของสารตัวอย่าง 2 μ L ซ้ำลงไปบริเวณทดสอบ ซึ่งส่งผลให้ค่าการตรวจวัดต่ำสุดลดลงไปเป็น 2 ppb ของ ปรอท (II) แต่ต้องใช้เวลาหยดสารตัวอย่าง 70 ซ้ำ ซึ่งใช้เวลาประมาณ 5 ชั่วโมง

ในปี ค.ศ. 2014 Chen และคณะ [51] ได้ใช้สารละลายของ DNA สายเดี่ยว (single-strand DNA) ที่จับกับอนุภาคทองคำนาโน (AuNPs) เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณปรอท โดยใช้เวลาในการเกิดสีของปฏิกิริยาประมาณ 30 นาที โดยการนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50 μ L หยดลงบริเวณตรวจวัดรูปวงกลมของ μ PAD สร้างด้วยเทคนิคการปริ้นท์แวกซ์ (wax printing technique) โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร แล้วถ่ายภาพด้วยกล้องของสมาร์ทโฟน แล้วส่งข้อมูลภาพเพื่อวิเคราะห์ค่าสีด้วย cloud computing พบว่าให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดประมาณ 10 ppb

ดังนั้นในงานวิจัยส่วนที่สองนี้ผู้ทำวิจัยมีความสนใจที่จะพัฒนาการตรวจวัดทางสีของปรอท (II) ไอออนแบบง่ายและรวดเร็วโดยอาศัยการติดตามการลดลงของอนุภาคเงินนาโน (AgNPs) รูปทรงกลม ที่ไม่ถูกปรับปรุงพื้นผิวที่สังเคราะห์ง่าย มีความเสถียรสูง และมีความเข้มข้นสูง เพื่อพัฒนาให้สามารถนำมาใช้วิเคราะห์สารปรอทในแหล่งน้ำบนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ใช้ระบบของไหลจุลภาคที่ประดิษฐ์มาจากกระดาษแบบสองชั้น (double layer microfluidics paper-based analytical device, double layer μ PAD) ราคาถูกที่ถูกสร้างขึ้น โดยเทคนิคการพิมพ์ (printing technique) โดยการใช้การถ่ายภาพในกล้องควบคุมแสง และอาศัยการอ่านค่าความเข้มสีเทาในช่องโทนสีน้ำเงินที่เปลี่ยนแปลงด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อวิเคราะห์หาปรอทในเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่ใช้สารปริมาณน้อยมาก (ระดับไมโครลิตร, μ L) ไม่มีการเตรียมตัวอย่าง ใช้เวลาวิเคราะห์ที่มีความรวดเร็วและไม่ซับซ้อน อีกทั้งไม่ต้องการทักษะและความชำนาญของผู้ทำการวิเคราะห์ และสามารถนำไปใช้วิเคราะห์ภาคสนามและรู้ผลการวิเคราะห์ได้ทันที นอกจากนี้ ซึ่งคาดหวังว่าสามารถตอบสนองกับความต้องการในการวิเคราะห์ปรอทในแหล่งน้ำตามปริมาณมาตรฐานที่ถูกกำหนดขึ้นได้