รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การศึกษาการจำแนกชนิดของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อม

(The Study of Arsenic Speciation in Environment)

หัวหน้าโครงงานวิจัย

ดร. อภิญญา นวคุณ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2557 รหัสโครงการ 2557A10802131

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาสำหรับสถานที่และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยนี้ และขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านพิษวิทยาและอนามัยสิ่งแวดล้อม สำหรับเครื่อง purge and trap ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ด้วย

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารประกอบสารหนูได้แก่สารหนูอนินทรีย์และสารประกอบสารหนูที่มีหมู่เมทิล (โมโนเมทิลอาร์ซินิก และ ไดเมทิลอาร์ซินิก) ทำการวิเคราะห์โดยการเปลี่ยนรูปสารประกอบสารหนูให้เป็นอนุพันธ์ไฮไดรด์ที่เป็นไอได้ง่าย แยกด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี ในขั้นตอนการเตรียมสารใช้เทคนิคเพริจ์แอนด์แทรปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์คือการเปลี่ยนอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนู และสภาวะของเพริจ์แอนด์แทรปที่ใช้ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความเสถียรของสารประกอบสารหนูด้วย

Abstract

In this research project, the optimum condition for speciation of arsenic compounds was studied. The inorganic arsenic and methylated arsenic compounds (monomethylarsenic, MMA and dimethylarsenic, DMA) were studied. Arsenic compounds were derivatized to volatile hydride form and separated by gag chromatography mass spectrometric technique. In addition, the purge and trap technique was used in order to increase the efficiency of analysis. The optimum conditions for derivatization and purge and trap extraction were carried out. Moreover, the stability of arsenic compounds was evaluated.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	2
ทฤษฎี สมมุติฐานและกรอบแนวคิดของโครงงานวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
วิธีดำเนินการวิจัย	4
ผลและอภิปรายผลการวิจัย	
การศึกษาการแยกสารประกอบสารหนูด้วย GC-MS	5
การศึกษาการเปลี่ยนอนุพันธ์สารประกอบสารหนูด้วย $NaBH_4$	6
การศึกษาการสกัดสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap	8
การศึกษาความเสถียรของสารละลายสารประกอบสารหนู	11
การศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์	12
สรุปผลการวิจัย	12
การเผยแพร่ผลงานวิจัย	13
เอกสารอ้างอิง	13
ภาคผนวก 1 เอกสารการเผยแพร่ผลงานวิจัย	15

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารประกอบสารหนู 5
ตารางที่ 2 แสดงค่าความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบสารหนูที่ได้พัฒนา 12
ตารางที่ 3 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบสารหนู 12

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 โครมาโทแกรมการแยกสารหนู 3 ชนิด ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม 6

รูปที่ 2 ผลของชนิดของกรดที่ใช้ในการเปลี่ยนอนุพันธ์ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู 6

รูปที่ 3 ผลของ pH ของสารละลายที่ใช้ในการเปลี่ยนอนุพันธ์ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู 7

รูปที่ 4 ผลของความเข้มข้น $NaBH_4$ที่ใช้ในการเปลี่ยนอนุพันธ์ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู 7

รูปที่ 5 ผลของ purge time ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู 8

รูปที่ 6 ผลของ desorp flow rate ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู 8

รูปที่ 7 ผลของ desorp time ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู 9

รูปที่ 8 ผลของ desorp temperature ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู 9

รูปที่ 9 ผลของ transfer line temperature ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู 10

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

รูปที่ 11การศึกษาความเสถียรของ stock arsenic solution 11

รูปที่ 12 การศึกษาความเสถียรของ working arsenic solution 11

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (list of Abbreviations)

GC-MS	Gas chromatography mass spectrometry
PT	Purge and Trap
As (III)	Inorganic arsenic (III)
MMA	Monomethylarsonic acid
DMA	Dimethylarsinic acid

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สารประกอบสารหนู (Arsenic compounds) เป็นสารพิษที่พบในสิ่งแวดล้อมซึ่งมาจากธรรมชาติและจากมนุษย์ ความเป็นพิษของสารหนูมีผลกระทบต่อประชากรทั่วไป เนื่องจากสามารถแพร่กระจายได้กว้าง สารหนูทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ระบบประสาทบกพร่อง โรคเบาหวาน รวมถึงโรคมะเร็งในหลายส่วนของร่างกาย มนุษย์ได้รับสารประกอบสารหนูที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมจากอาหาร น้ำดื่มและการหายใจ หรือจากการสัมผัสดินหรือน้ำ โดยสาเหตุหลักมาจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารประกอบสารหนู ความเป็นพิษและการได้รับสารหนูของมนุษย์ทำให้สารหนูจัดเป็นสารพิษอันดับหนึ่ง จาก Agency for toxic substances and disease registry, Centers for Disease control and prevention, สหรัฐอเมริกา สารประกอบสารหนูได้นำมาใช้งานได้หลากหลายทั้งทางอุตสาหกรรม เช่นอุตสาหกรรมผลิตแก้วและเซมิคอนดักเตอร์และการผลิตหลอดไฟแอลอีดี อุตสาหกรรมผลิตอัลลอยด์สำหรับแบตเตอรี่รถยนต์ นิยมใช้สารประกอบสารหนูเป็นสารป้องกันรักษาเนื้อไม้เช่นเสาเข็มหรือในอุตสาหกรรมท่าเรือ ทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารหนูส่งทะเลได้ ด้านการเกษตรใช้เป็นสารปราบศัตรูพืช สารปราบวัชพืช สารเร่งโตในสุกร สารเติมแต่งในอาหารสัตว์ปีก โดยในอดีตได้มีการใช้สารหนูอนินทรีย์เป็นยากำจัดศัตรูพืช แต่ปัจจุบันนิยมใช้สารหนูอินทรีย์ได้แก่ methylarsenate แทน นอกจากนี้ในอดีตยังมีการใช้สารประกอบสารหนูจำพวก organo-arsenicals เป็นอาวุธเคมี ในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 และสงครามโลกครั้งที่ 2 อย่างไรก็ตามการปนเปื้อนของสารประกอบที่เป็นพิษดังกล่าวยังคงตกค้างและสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมจนถึงปัจจุบัน

สารประกอบสารหนูจะสะสมในดิน สามารถปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมได้ทางอากาศ น้ำ หรือฝุ่นละออง สารหนูที่อยู่ในแร่ธรรมชาติจะปนอยู่กับแร่ทองแดงและแร่ตะกั่วสามารถปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมจากการทำเหมืองแร่และถลุงแร่ สารหนูจะออกจากแหล่งอุตสาหกรรมจากฝุ่นละอองขนาดเล็กและตกตะกอนเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ปนเปื้อนในดินซึ่งสามารถถูกชะล้างได้ด้วยน้ำฝน สารประกอบสารหนูในอนุภาคขนาดเล็กสามารถอยู่ในอากาศในนานและแพร่กระจายได้กว้าง สารประกอบสารหนูไม่ถูกทำลายในสิ่งแวดล้อม สารประกอบสารหนูสามารถเปลี่ยนรูปได้ในธรรมชาติโดยการทำปฏิกิริยากับออกซิเจนหรือโมเลกุลชนิดอื่นๆในอากาศ น้ำ หรือดิน หรือจากแบคทีเรียในดินหรือตะกอนดิน สารประกอบสารหนูหลายชนิดสามารถละลายได้ดีในน้ำ มีการพบการปนเปื้อนของสารประกอบสารหนูในแหล่งน้ำต่างๆ เช่น ทะเลสาบ แม่น้ำ หรือน้ำบาดาล นอกจากนี้พบว่าการปนเปื้อนของสารประกอบสารหนูขั้นสุดท้ายจะสะสมอยู่ในตะกอนดินใต้ทะเลสาบ แม่น้ำหรือทะเล ซึ่งมีสาหร่าย ปลาหรือหอยบางชนิดได้รับและสะสมสารประกอบสารหนูระหว่างการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังพบว่าสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติ เช่นสาหร่าย แบคทีเรีย หรือพืชบางชนิดในวัฏจักรสิ่งแวดล้อมสามารถสะสมและเปลี่ยนรูปสารประกอบสารหนูได้

สารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมมีหลายชนิด สารประกอบสารหนูในธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นสารหนูอนินทรีย์ (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) ไม่สามารถให้ข้อมูลที่เพียงพอสำหรับการศึกษาความเป็นพิษของสารประกอบสารหนู เนื่องจากความเป็นพิษขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบสารหนู (chemical species) ข้อมูลที่ถูกต้องเกี่ยวกับชนิดของสารประกอบสารหนูจึงมีความสำคัญในการศึกษาความเป็นพิษ การเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อม

การสะสมในสิ่งมีชีวิตขึ้นกับชนิดของสารประกอบสารหนูรวมถึงการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารหนูในวัฏจักรสิ่งแวดล้อม

ดังนั้นในการที่จะได้รับข้อมูลอย่างครบถ้วนและถูกต้องของความเป็นพิษและการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อม การวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง ในงานวิจัยนี้จึงพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ที่มีสภาพไวสูงและเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) และเชื่อมต่อกับเครื่องตรวจวัด mass spectrometer detector ซึ่งเป็นเครื่องตรวจวัดที่มีสภาพไวและสามารถพิสูจน์ยืนยันชนิดของสารได้ นอกจากนี้ยังใช้เทคนิค purge and trap สำหรับการเตรียมและเพิ่มความเข้มข้นเพื่อพัฒนาให้มีขีดจำกัดการตรวจวัดในระดับต่ำ (µg/L) ของสารประกอบสารหนูแต่ละชนิดในสิ่งแวดล้อมได้ เพื่อที่นำวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ ไปใช้ในการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมเพื่อเป็นข้อมูลที่ถูกต้องครบถ้วน สามารถนำไปใช้ในการบ่งบอกถึงชนิดและความเป็นพิษที่แท้จริงของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมได้ นอกจากนี้สามารถบอกถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนู ตลอดจนทำนายวัฏจักรของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อม**ได้**

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. พัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบสารหนู 4 ชนิดได้แก่ As(III), As(V), monomethylarsonic acid (MMA) และ dimethylarsinic acid (DMA) ด้วยเทคนิค gas chromatography-mass spectrometry โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารประกอบสารหนู
2. พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นสารประกอบสารหนู โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพสกัดสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap
3. พัฒนาวิธีการเก็บและการรักษาสารประกอบสารหนูในตัวอย่าง 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 โดยชนิดของสารประกอบสารหนูจะเป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงการยึดเหนี่ยวอยู่ในอนุภาคหรือแร่ธาตุที่สามารถดูดซึมและสะสมได้ในพืชหรือสัตว์ ดังนั้นในการศึกษาปริมาณของสารหนูที่อยู่ในรูปของสารหนูทั้งหมดไม่สามารถให้ข้อมูลที่เพียงพอสำหรับการศึกษาความเป็นพิษของสารประกอบสารหนู เนื่องจากความเป็นพิษขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบสารหนู ข้อมูลที่ถูกต้องเกี่ยวกับชนิดของสารประกอบสารหนูจึงมีความสำคัญในการศึกษาความเป็นพิษ การเคลื่อนย้ายในสิ่งแวดล้อมและการสะสมในสิ่งมีชีวิตขึ้นกับชนิดของสารประกอบสารหนู รวมถึงการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารหนูในวัฏจักรสิ่งแวดล้อม

ความตระหนักถึงการปนเปื้อนของสารประกอบสารหนูที่เพิ่มขึ้นในสิ่งแวดล้อม การได้รับและสะสมของสารประกอบสารหนูและความเป็นพิษของสารประกอบสารหนู ทำให้จำเป็นต้องพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ที่มีสภาพไวสูงและเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูซึ่งมีอยู่ในระดับต่ำ (µg/L) ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ระหว่างกระบวนการเก็บตัวอย่าง (sampling) การเก็บรักษาตัวอย่าง (storage) การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation and treatment) การสกัดตัวอย่าง (extraction) ตลอดจนการวิเคราะห์ (analysis) สารประกอบสารหนูสามารถเปลี่ยนรูปหรือเปลี่ยนแปลงเลขออกซิเดชันได้ เช่นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมในสิ่งมีชีวิต หรือการสูญหายจากการถูกดูดซับหรือการระเหยกลายเป็นไอของสารประกอบสารหนู ซึ่งเป็นสาเหตุให้ข้อมูลที่ได้ไม่ถูกต้อง

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) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการจำแนกชนิดของสารประกอบหนูในสิ่งแวดล้อมเนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีสภาพไวสูง แต่เทคนิคดังกล่าวต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพงมาก อีกทั้งค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เทคนิค Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) ซึ่งใช้เครื่องมือที่มีสภาพไว มีราคาถูก ใช้เวลาในการวิเคราะห์รวดเร็ว โดยพัฒนาการวิเคราะห์ด้วยการเปลี่ยนอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนูเป็นสารประกอบที่ระเหยเป็นไอได้ง่าย และใช้เทคนิค purge and trap สำหรับการสกัดและการเพิ่มความเข้มข้นในการวิเคราะห์สารประกอบสารหนูที่มีความเข้มข้นในระดับต่ำ (µg/L) ในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ในงานวิจัยจะพัฒนาวิธีการเก็บตัวอย่าง การเตรียมตัวอย่างและขั้นตอนการสกัดตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์ที่ให้เกิดการสูญเสียของสารประกอบสารหนูน้อยที่สุด เพื่อข้อมูลที่มีความเที่ยงและความแม่นสูง สามารถนำไปวิเคราะห์สารประกอบสารหนูในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมได้จริง โดยข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมสามารถบอกถึงความเป็นพิษของสารประกอบสารหนู บอกระดับการปนเปื้อนในตัวอย่าง

สิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆ สามารถบอกถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนู ตลอดจนทำนายวัฏจักรของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการวิเคราะห์และจำแนกชนิดของสารประกอบสารหนูที่เป็นวิธีมาตรฐานในการ วิเคราะห์ในตัวอย่างน้ำ ดิน และตัวอย่างของแข็งชนิดต่างๆ
2. ผลการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูสามารถตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติทางเคมีวิเคราะห์และสิ่งแวดล้อมได้เช่น Analytica Chemica Acta หรือ Talanta หรือ Environmental Science and Technology
3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบสารหนูสามารถนำไปประเมินถึงระดับการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและแหล่งอาหารได้ ทำให้สามารถเฝ้าระวังและวางแผนการป้องกันการปนเปื้อนของสารประกอบสารหนูที่มีผลต่อประชาชนได้อย่างถูกต้อง
4. ผลการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมสามารถทำนายการเปลี่ยนรูปของสารประกอบสารหนู ภายใต้สภาวะต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ ทำให้ช่วยควบคุมความเป็นพิษของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. พัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบสารหนู 4 ชนิดได้แก่ As(III), As(V), monomethylarsonic acid (MMA) และ dimethylarsinic acid (DMA) ด้วยเทคนิค gas chromatography-mass spectrometry
2. พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นสารประกอบสารหนู โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพสกัดสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap โดยทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัดได้แก่ การเปลี่ยนอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนู ชนิดของตัวดูดซับ (Trap) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด ปริมาตรและน้ำหนักของสารตัวอย่างที่ใช้ อุณหภูมิของตัวดูดซับระหว่างการดูดซับ อุณหภูมิของการ desorp สารออกจากตัวดูดซับ การเติมเกลือบางชนิดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด
3. พัฒนาวิธีการเก็บและการรักษาสารประกอบสารหนูในตัวอย่าง ตลอดจนศึกษาปัจจัยที่มีต่อความเสถียรของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่าง ระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่าง สภาพความเป็นกรดเบสในการเก็บรักษาตัวอย่าง การเติมสารเคมีช่วยรักษาสภาพตัวอย่าง
4. ศึกษา method validation ของวิธีการวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานได้แก่ ขีดจำกัดการตรวจวัด ขีดจำกัดการหาปริมาณ สภาพไวในการตรวจวัด ความเที่ยงและความแม่นของวิธีการวิเคราะห์
5. หาปริมาณสารประกอบสารหนู 4 ชนิดในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม หาปริมาณสารประกอบสารหนูในตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างจากบริเวณชายหาดบางแสน อ่างศิลาและท่าเรือแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี โดยเก็บตัวอย่างน้ำทะเล ตะกอนดิน หอยแมลงภู่ สาหร่ายในบริเวณเดียวกันหรือใกล้กัน ได้แก่ น้ำทะเล ตะกอนดิน หอยแมลงภู่ และสาหร่าย
   ในการเก็บตัวอย่างจะทำการเก็บตัวอย่างทุกชนิดภายในวันเดียวกัน บันทึกข้อมูลความเป็นกรดเบส อุณหภูมิ ความเค็มของน้ำทะเล ฯลฯ ทุกครั้งที่มีการเก็บตัวอย่าง

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

<u>หมายเหตุ</u>โครงการวิจัยนี้เป็นโครงการต่อเนื่อง 3 ปี รายงานวิจัยนี้เป็นรายงานโครงการวิจัยในปีที่ 1 ของโครงการทั้งหมด

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

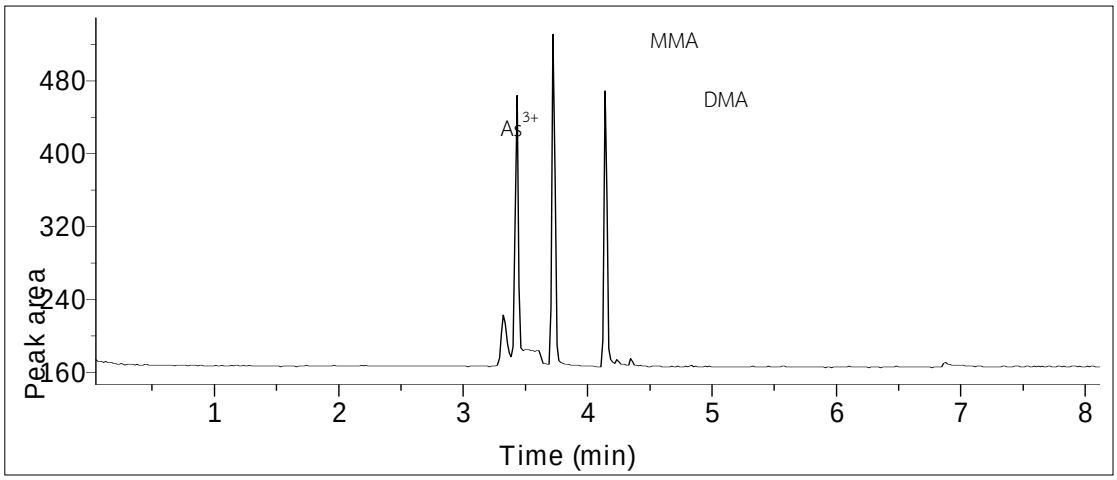
การศึกษาการแยกสารประกอบสารหนูด้วย GC-MS

การศึกษาวิธีการวิเคราะห์สารประกอบสารหนู 4 ชนิดได้แก่ 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 $NaBH_4$ แล้วจะอยู่ในรูปเดียวกันคือ AsH_3 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) เพิ่มเป็น 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

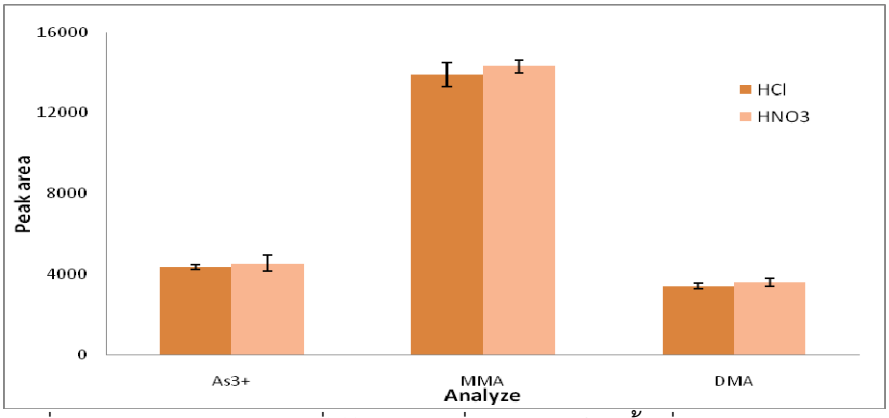
การศึกษาการเปลี่ยนอนุพันธ์สารประกอบกับสารหนูด้วย $NaBH_4$

1. ชนิดของสารรีเอเจนต์ที่ใช้เปลี่ยนอนุพันธ์สารประกอบสารหนู

ได้ศึกษาชนิดของสารรีเอเจนต์เพื่อเปลี่ยนอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนูเพื่อให้ได้อนุพันธ์ที่ระเหยเป็นไอง่ายและเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS โดยในงานวิจัยนี้ได้ชนิดของสารเพื่อเปลี่ยนอนุพันธ์คือ $NaBH_4$ เพื่อเปลี่ยนสารประกอบสารหนูที่ให้อยู่ในรูปสารประกอบไฮไดรด์ (hydride) ที่มีจุดเดือดต่ำลง สามารถวิเคราะห์ได้โดย purge and trap และ GC-MS โดยเมื่อเทียบกับสารรีเอเจนต์ที่ใช้เปลี่ยนอนุพันธ์ชนิดอื่น พบว่า $NaBH_4$ มีราคาถูก ไม่มีกลิ่นเหม็นเมื่อเทียบการสารชนิดอื่น และอนุพันธ์ที่ได้สามารถแยกโดย GC และใช้เวลาในการแยกน้อยกว่า 5 นาที

2. ชนิดของกรดในการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนอนุพันธ์

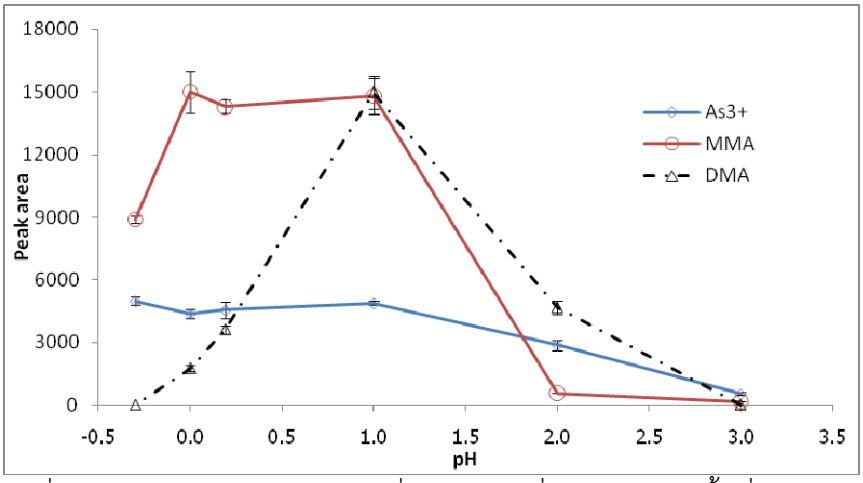
ได้ศึกษากรด 2 ชนิดที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนอนุพันธ์ได้แก่ กรด HCl และ กรด HNO_3 พบว่ากรด HNO_3 ให้พื้นที่พีคที่มากกว่ากรด HCl เล็กน้อย และให้ by product peak ที่น้อยกว่า HCl จึงเลือกกรด HNO_3 สำหรับการศึกษาขั้นต่อไป ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ผลของชนิดของกรดที่ใช้ในการเปลี่ยนอนุพันธ์ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

3. pH ของสารละลาย

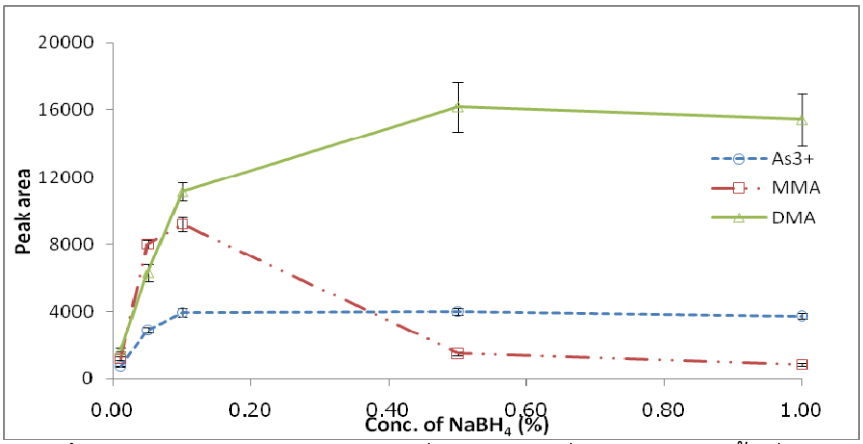
ได้ศึกษา pH ของสารละลายในช่วง -0.3 – 3.0 (ความเข้มข้นของกรด HNO_3 ในช่วง 0.001 M -2.0 M) พบว่าความเข้มข้นของกรด HNO_3 มีผลต่อการเกิดอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนู โดยสารประกอบสารหนูอนินทรีย์ (AS(III)) เกิดอนุพันธ์ได้ใกล้เคียงกันในช่วงกรด pH -0.03- pH 1.0 หลังจากนั้นการเกิดอนุพันธ์จะลดลง สังเกตได้จากพื้นที่พีคที่ลดลง 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



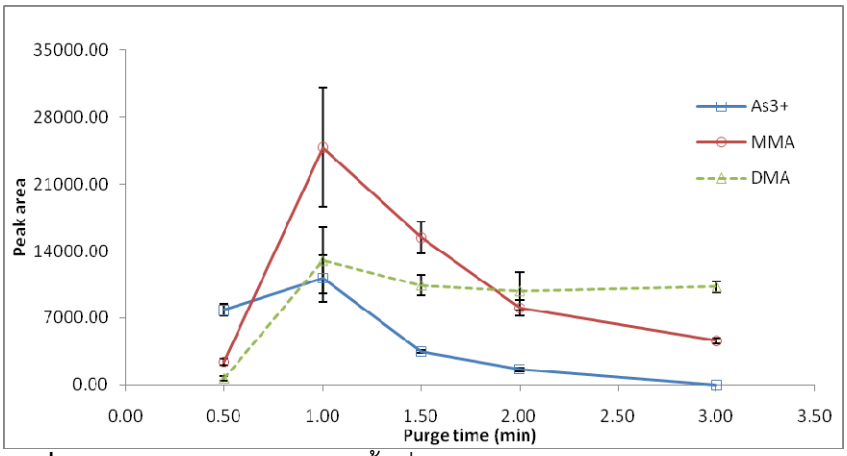
รูปที่ 4 ผลของความเข้มข้น $NaBH_4$ที่ใช้ในการเปลี่ยนอนุพันธ์ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

การศึกษาการสกัดสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap

โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพสกัดสารอนุพันธ์ของสารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค purge and trap โดยทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัดได้แก่

1. purge time

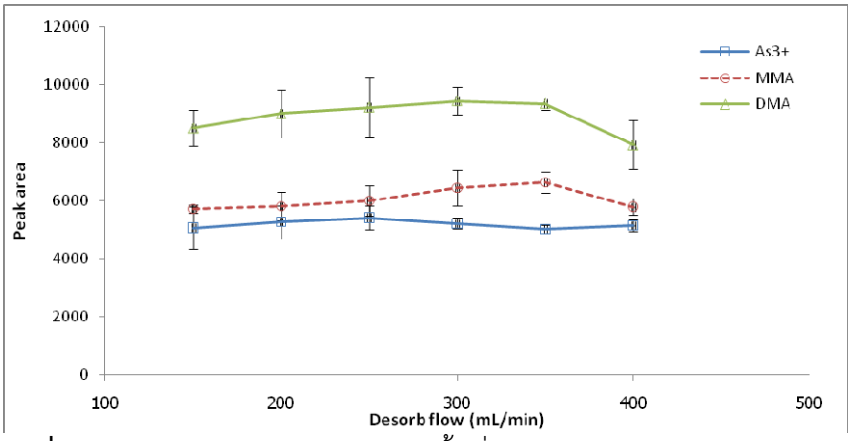
Purge time มีผลต่อการไล่อนุพันธ์สารประกอบสารหนูออกจากสารละลาย โดยได้ศึกษายีพเtime ในช่วง 0.50-3.00 นาที พบว่าพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 2 ชนิดเพิ่มขึ้นเมื่อ purge time เพิ่มขึ้นจาก 0.5 – 1.0 นาที และพื้นที่พีคลดลงเมื่อ purge time เพิ่มขึ้นเนื่องจากอนุพันธ์ไฮไดรด์ของสารประกอบสารหนูเป็นสารที่ระเหยเป็นไอง่ายมา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



รูปที่ 5 ผลของ purge time ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

2. desorp flow rate

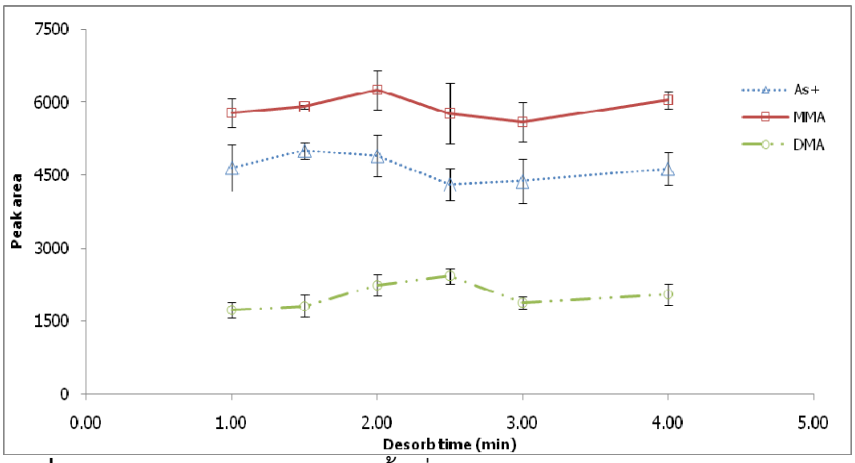
Desorp flow rate มีผลการอัตราการไล่สารออกจาก trap อย่างรวดเร็ว โดยได้ศึกษา desorp flow rate ในช่วง 150-400 ml/min พบว่า desorp flow rate ไม่มีผลต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ใช้ desorp flow rate ที่ 350 ml/min เป็นสภาวะที่เหมาะสม เนื่องจากให้ค่าความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ดีที่สุด ดังรูปที่ 5



รูปที่ 6 ผลของ desorp flow rate ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

3. desorp time

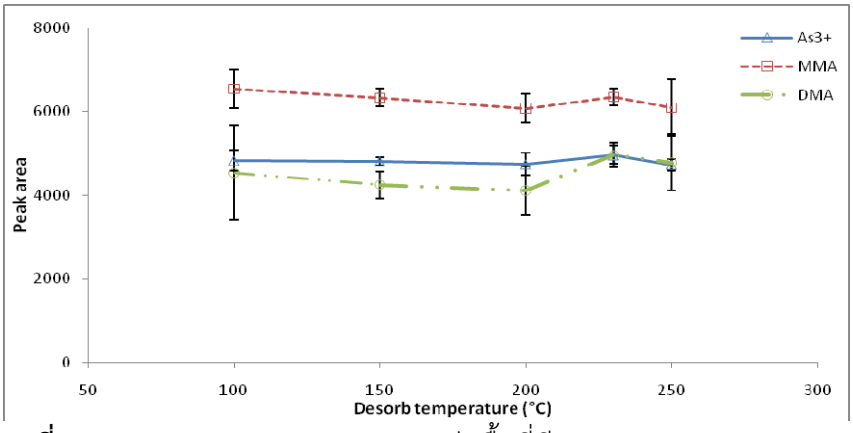
Desorp time มีผลต่อประสิทธิภาพในการไล่สารออกจาก trap โดยได้ศึกษา desorp time ในช่วง 1.00-4.00 min พบว่า desorp time ไม่มีผลต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงใช้ desorp time ที่ 2.00 min เป็นสภาวะที่เหมาะสมเนื่องจากให้ค่าความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ดีที่สุด ดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 ผลของ desorp time ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

4. desorp temperature

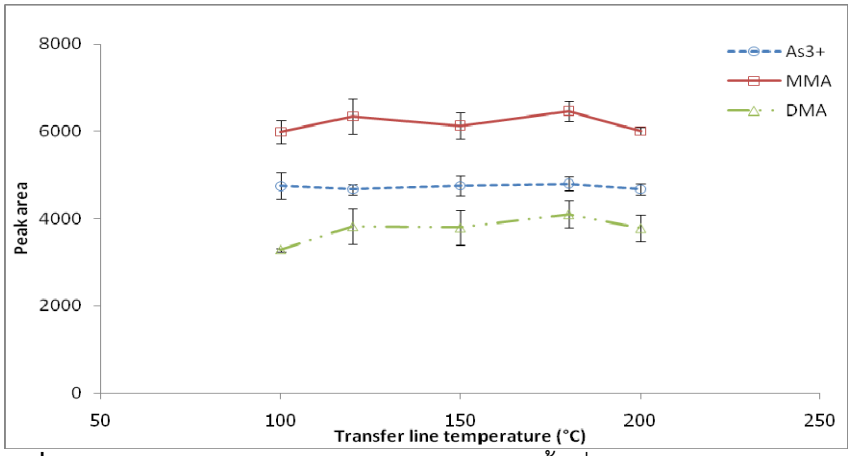
Desorp temperature มีผลต่อประสิทธิภาพและอัตราการไล่สารออกจาก trap โดยได้ศึกษา desorp temperature ในช่วง 100-250 °C พบว่า desorp temperature ไม่มีผลต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงใช้ desorp temperature ที่ 230 °C เป็นสภาวะที่เหมาะสมเนื่องจากให้ค่าความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ดีที่สุด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



รูปที่ 8 ผลของ desorp temperature ต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนู

5. transfer line temperature

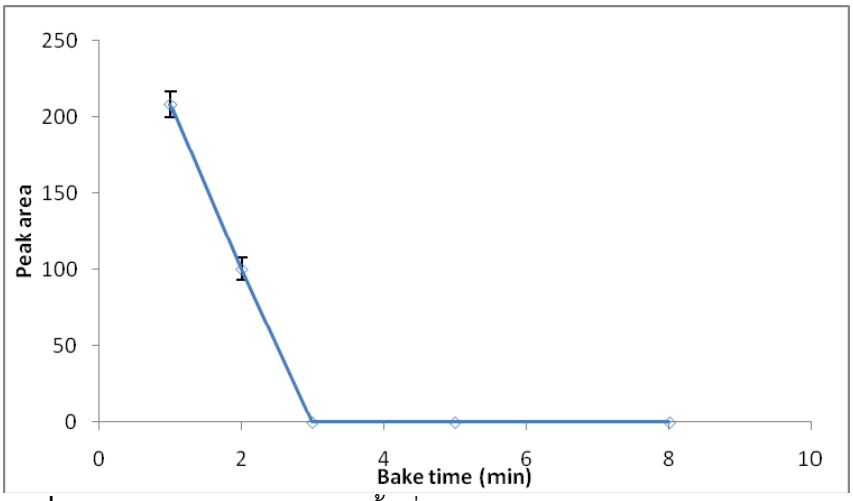
Transfer line temperature มีผลต่อการควบแน่นและการนำพาสารจาก purge and trap เข้าสู่เครื่อง GC-MS โดยได้ศึกษา transfer line temperature ในช่วง 100-200°C พบว่า transfer line temperature ระหว่าง 100 -180 °C ไม่มีผลต่อพื้นที่พีคของสารประกอบสารหนูทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อ transfer line temperature 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 ยังคงมีพื้นคงค้างอยู่ และหลังจาก bake time 3 นาที จะไม่พบพีคคงค้างของสารประกอบสารหนู ดังนั้นจึงเลือก bake time ที่ 3 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสม ดังรูปที่ 10



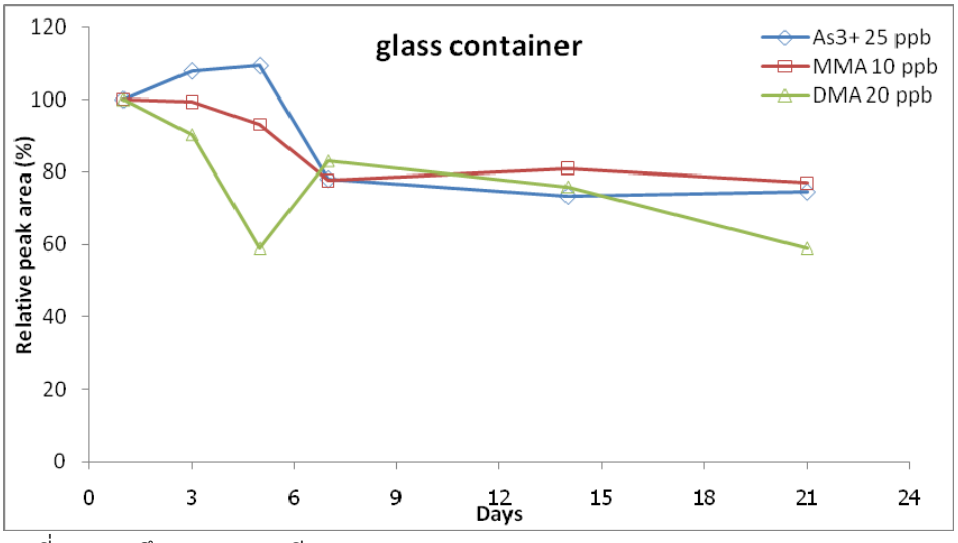
รูปที่ 10 ผลของ bake time ต่อพื้นที่พีคคงค้างของสารประกอบสารหนู (As(III)

การศึกษาความเสถียรของสารละลายสารประกอบสารหนู

1. ความเสถียรของสารละลาย standard solution

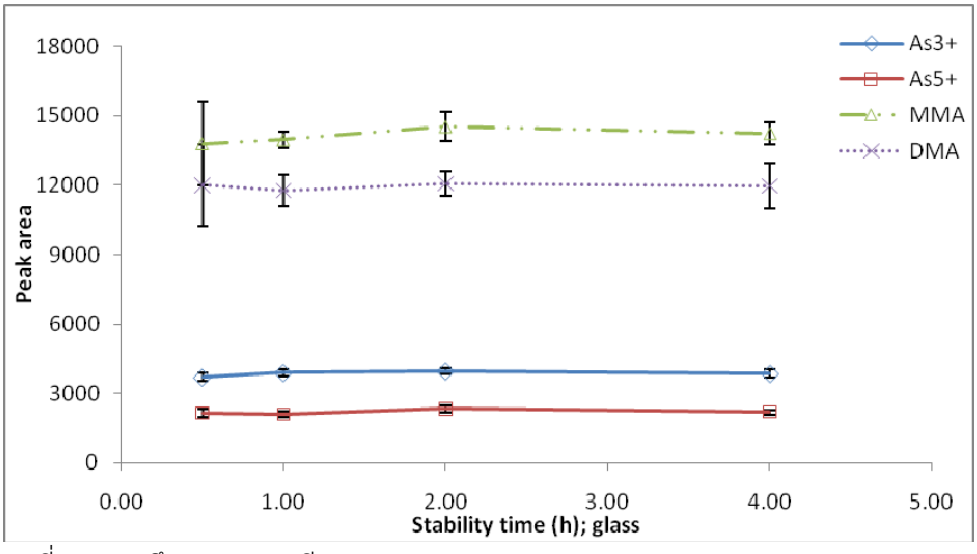
ได้ศึกษาความเสถียรของสารประกอบสารหนูโดยศึกษาความเสถียรของ stock standard solution และ working solution ผลการทดลองพบว่า

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



รูปที่ 11การศึกษาความเสถียรของ 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 $NaBH_4$ 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) เพิ่มเป็น 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 ℃
transfer line temperature	180 ℃
bake time	3 นาที

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความเสถียรของการเก็บรักษาสารละลายสารประกอบสารหนูและได้ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด ขีดจำกัดการหาปริมาณ ความเที่ยงในการวิเคราะห์ของสารประกอบสารหนูด้วย

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

ส่วนหนึ่งงานวิจัยนี้ได้รับการเผยแพร่ในวารสารวิทยาศาสตร์บูรพา

มณีนุช พละสุข, วรรณรัตน์ 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.

เอกสารการเผยแพร่งานวิจัยอยู่ในภาคผนวค

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 metral 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 envieonmental 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.

ภาคผนวค
เอกสารเผยแพร่งานวิจัย

สภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณไดเมทธิลอาร์ซีเนตและโมโนเมทธิลอาร์ซีเนต โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี

The Optimum Conditions for Determination of Dimethylarsenate and Monomethylarsonate using Purge and Trap Gas Chromatography-Mass Spectrometry Techniques

มณีนุช พละสุข[1], วรรณรัตน์ สุทธิประภา[1], และ อภิญญา นวคุณ[1]*

Maneenuch Phalasuk[1], Wannarat Suttiprapa[1] and Apinya Navakhun[1]*

[1] *ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ไดเมทธิลอาร์ซีเนตและโมโนเมทธิลอาร์โซเนตในน้ำโดยใช้เทคนิคเพอร์จแอนด์แทรป แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี การศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือเวลาในการเพอร์จ 2 นาที อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียมสำหรับการไล่สาร 200 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิท่อถ่ายเทความร้อน 120 องศาเซลเซียส อุณหภูมิในการไล่สาร 250 องศาเซลเซียสและเวลาในการไล่สาร 3 นาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้พบว่าขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณมีค่า 0.05-0.02 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 0.17-0.05 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ความเที่ยงอยู่ในช่วง 2.34-19.12% (n=10)

คำสำคัญ : ไดเมทธิลอาร์ซีเนต / โมโนเมทธิลอาร์โซเนต / เพอร์จแอนด์แทรป / แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี

Abstract

The optimum conditions for dimethylarsenate and monomethylarsonate determination in water were studied using purge and trap gas chromatography-mass spectrometry technique. The results show that the optimum conditions were purge time of 2 minutes, the Helium gas desorb flow rate of 200 ml/min, the transfer line temperature of 120 ˚C, the desorb temperature of 250˚C, and the desorb time of 3 minutes. Within these optimum conditions, the limit of detection and the limit of quantification were 0.05-0.02 μgL^{-1} and 0.17-0.05 μgL^{-1}, respectively. The precision was in the range of 2.34-19.12% (n=10).

Keywords: dimethylarsenate / monomethylarsonate / purge and trap / gas chromatography-mass spectrometry

*Corresponding author. E-mail : apinyan@buu.ac.th

1. บทนำ

ปัจจุบันสารหนูในสิ่งแวดล้อมจะอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ (As^{3+} และ As^{5+}) และสารอินทรีย์ (Monomethylarsonate (MMA) และ Dimethylarsenate (DMA)) (Baig et al., 2009) สารหนูก่อให้เกิดมะเร็งผิวหนัง ปอดและกระเพาะปัสสาวะ (Yoshida, Yamauchi, & Sun, 2004) ผลกระทบเหล่านี้เกิดจากการบริโภคของสารหนูที่ปนเปื้อนในน้ำดื่ม (Kazi et al., 2009) องค์การอนามัยโลกและองค์กรคุ้มครองสิ่งแวดล้อมสหรัฐอเมริกาได้กำหนดปริมาณสารหนูที่ปนเปื้อนในน้ำดื่มไม่เกิน 10 ไมโครกรัมต่อลิตร (WHO, 1996) อย่างไรก็ตามไม่มีมาตรฐานค่า DMA และ MMA ในน้ำดื่ม แต่ก็มีรายงานการศึกษาสารหนูอินทรีย์ในน้ำดื่มซึ่งพบ DMA มีค่าอยู่ในช่วง 0.97 – 1.44 ไมโครกรัมต่อลิตร แต่ไม่พบ MMA (Milstein, 2002) เนื่องจากสารหนูอนินทรีย์สามารถเปลี่ยนเป็นสารหนูอินทรีย์ได้และความเป็นพิษจะขึ้นกับชนิดของสารหนู (Rahman, Hasegawa, & Lim, 2012) การรายงานค่าสารหนูแต่ละชนิด (arsenic speciation) จึงมีความสำคัญในการบอกความเป็นพิษที่แท้จริงของสารหนู ปัจจุบันนิยมใช้เทคนิคไฮไดรด์เจเนอเรชันอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตเมทรี (Tuzen et al., 2010, Uluozlu et al., 2010) แต่จะวิเคราะห์ในรูปสารหนูรวม (total arsenic) เท่านั้น เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวที่ต่อกับอินดักทิฟลีคัปเปิลพลาสมาแมสสเปกโตรเมทรี (LC-ICP-MS) (Nam et al., 2010, Ronkar et al., 2007) สามารถวิเคราะห์ชนิดของสารหนูได้แต่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง สำหรับการวิเคราะห์สารประกอบสารหนูด้วยเทคนิค GC จำเป็นต้องเปลี่ยนอนุพันธ์สารหนูให้เป็นสารที่ระเหยง่ายและทำการสกัดก่อนวิเคราะห์ โดยรีเอเจนต์ที่นิยมใช้ได้แก่กลุ่ม thiol เช่น 2,3-dimercap-1-propanol (Namera et al., 2012 และ Takeuchi et al., 2012) หรือ 1,3-propanedithiol (Killelea, & Aldstadt, 2001) ซึ่งรีเอเจนต์กลุ่ม thiol ไม่เสถียรและมีกลิ่นรุนแรง นอกจากนี้มีการใช้ Thioglycol methylate (TGM) (Claussen, 1997 และMester & Pawliszyn, 2000) ซึ่งอนุพันธ์ที่ได้จากรีเอเจนต์ในกลุ่ม thiol และ TGM ดังกล่าวมีจุดเดือดค่อนข้างสูงและต้องทำการแยกผลิตภัณฑ์โดยการสกัดด้วยต้องทำละลายอินทรีย์เช่น cyclohexane หรือสกัดและเพิ่มความเข้มข้นด้วยเทคนิค solid phase microextraction และใช้เวลาในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC ที่นาน จึงมีการเปลี่ยนสารประกอบสารหนูให้เป็นอนุพันธ์ที่ระเหยง่าย (volatile arsine) ด้วย tetrahydroborate (Odanaka et al., 1983 และ Pantsar-Kallio & Korpela, 2000) และใช้การจับด้วย cryogenic trapping (-80°C) ซึ่งให้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำกว่าการใช้อนุพันธ์ที่มีขนาดใหญ่ อย่างไรก็ตาม arsine เป็นสารพิษที่ระเหยง่ายมากทำให้เกิดการสูญเสียระหว่างกระบวนการวิเคราะห์ได้ ในกระบวนการสกัดจับมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและผู้วิเคราะห์ต้องมีความชำนาญสูง ในงานวิจัยนี้จึงได้ใช้เทคนิค purge and trap ที่ต่อโดยตรงกับ GC ซึ่งเหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารที่มีจุดเดือดต่ำ ช่วยลดการสูญเสียของสารระหว่างการวิเคราะห์และสามารถเพิ่มความเข้มข้นสารก่อนการวิเคราะห์ได้ ในการพัฒนาวิธีการหาปริมาณ DMA และ MMA โดยเตรียมอนุพันธ์ด้วย tetrahydroborate สกัดและเพิ่มความเข้มข้นด้วย Purge and Trap และวิเคราะห์ด้วย GC-MS ซึ่งสามารถวิเคราะห์ชนิดของสารหนูอินทรีย์ได้ในระดับไมโครกรัมต่อลิตร

2. วิธีการ

2.1 อุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้

ทำการวิเคราะห์โดยการเตรียมอนุพันธ์สารหนูด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (รุ่น 5890 Series II Plus, Hewlett Packard, USA) เครื่องตรวจวัดชนิดแมสสเปกโทรมิเตอร์ (รุ่น 5972 Series, Hewlett Packard, USA) เครื่อง Purge and Trap Statrum PTC (Teledyne Tekmar, USA) แคปิลลารีคอลัมน์ชนิด HP-5MS ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ยาว 60 เมตร เคลือบด้วยฟิล์มหนา 1 ไมโครเมตร (Agilent, USA) สารเคมีที่ใช้ได้แก่ โมโนเมทธิลอาร์โซเนต (MMA) (Supelco Analytical, USA) กรดคาโคไดลิคหรือไดเมทธิลอาร์ซีเนต (DMA) (TCI, Japan) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (APS Ajax Finechem, Australia) กรดไฮโดรคลอริก (Carlo Erba, German) โซเดียมเตตระไฮโดรบอเรต ($NaBH_4$) (TCI, Japan)

2.2 วิธีการทดลอง

สารหนูที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ DMA และ MMA ทำการวิเคราะห์โดยการเตรียมอนุพันธ์สารหนูด้วย $NaBH_4$ และทำการสกัดด้วยเครื่อง purge and trap โดยฉีดสารผสมระหว่าง DMA ความเข้มข้น 3.00 ไมโครกรัมต่อลิตรและ MMA ความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อลิตร ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.64 โมลต่อลิตรปริมาตร 10 มิลลิลิตร และฉีดสารละลาย $NaBH_4$ 0.6% w/v ที่ละลายใน NaOH 0.1%

เพื่อรักษาความเสถียรของ $NaBH_4$ โดยฉีดสารละลาย $NaBH_4$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ $NaBH_4$ 0.05% w/v ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเกิดไฮไดรด์ของสารหนู (Pantsar-Kallio & Korpela, 2000 และ Lehmann, Fostier, Arruda, 2013) ศึกษาสภาวะของ purge and trap ที่ให้พื้นที่พีคมากที่สุด โดยสภาวะที่ศึกษาได้แก่ เวลาในการเพอร์จ (Purge time) อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียมสำหรับการไล่สาร (Desorb flow rate) อุณหภูมิท่อถ่ายเทความร้อน (Transfer line temperature) อุณหภูมิในการไล่สาร (Desorb temperature) และเวลาในการไล่สาร (Desorb time) เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์โดยการศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด ขีดจำกัดการหาปริมาณและความเที่ยง โดยสภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้ในการแยกสารละลายผสมระหว่าง DMA และ MMA คือ อุณหภูมิการฉีดสาร 200 องศาเซลเซียส แก๊สตัวพาใช้แก๊สฮีเลียมที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิดีเทคเตอร์ 250 องศาเซลเซียส โปรแกรมอุณหภูมิใช้การตั้งอุณหภูมิแบบขั้นบันไดโดยตั้งอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 20 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 100 องศาเซลเซียสและเพิ่มอุณหภูมิเป็น 200 องศาเซลเซียสด้วยอัตรา 50 องศาเซลเซียสต่อนาทีและคงที่เป็นเวลา 2 นาที ในส่วนของแมสสเปกโตรมิเตอร์ใช้โหมด SIM ในการวิเคราะห์ซึ่ง m/z ที่เลือกของ DMA คือ 75, 90, 106 และ MMA คือ 76, 90, 92

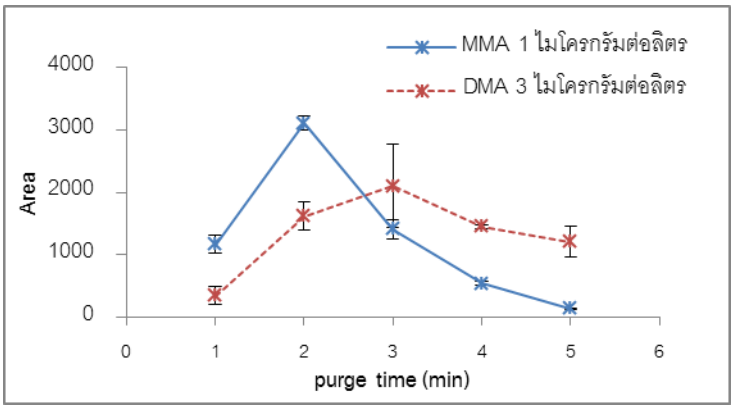
ตัวอย่างน้ำผิวดินเก็บจากคลองสาธารณะบริเวณเทศบาลเมืองมาบตาพุด จังหวัดระยอง โดยเก็บน้ำตัวอย่างในขวดโพลิเอทิลีนแช่ในน้ำแข็งระหว่างเดินทางและเก็บในตู้แช่ (-20 องศาเซลเซียส) ก่อนการวิเคราะห์ ในการวิเคราะห์จะนำตัวอย่างน้ำมาตั้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง กรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลอง

3. ผลและอภิปราย

ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู ได้แก่ DMA และ MMA โดยการเตรียมอนุพันธ์ไฮไดรด์วิเคราะห์ด้วย purge and trap ต่อเข้ากับ gas chromatography-mass spectrometry โดยพิจารณาจากพื้นที่พีคที่สูงที่สุดซึ่งสภาวะที่ศึกษามีดังนี้

3.1 Purge time

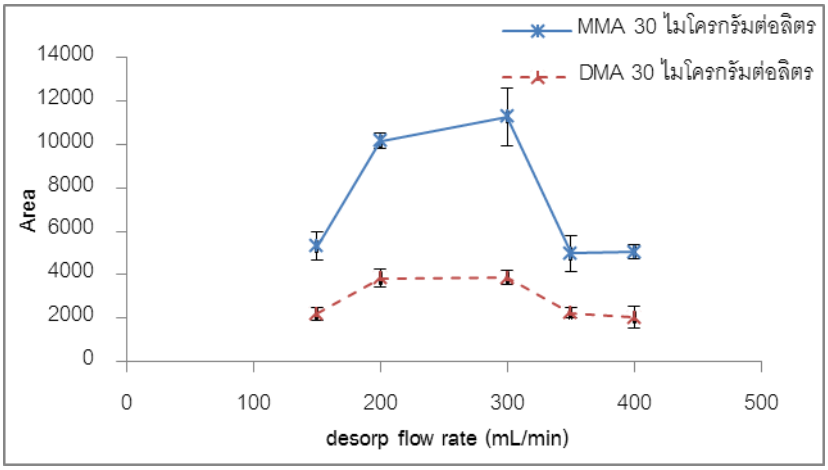
จากการศึกษา purge time ที่ 1- 5 นาที ของสารผสมของ DMA และ MMA ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.64 โมลต่อลิตรปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.6% $NaBH_4$ใน 0.1% NaOH 1 มิลลิลิตร จากรูปที่ 1 พบว่า เมื่อ purge time มากทำให้พื้นที่พีคมีค่าลดลง เนื่องจากไฮไดรด์ที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันเองกลายเป็นแก๊สไฮโดรเจนทำให้ไฮไดรด์ที่ใช้ในการทำอนุพันธ์กับสารหนูลดลงพื้นที่พีคที่ได้จึงลดลงเมื่อเวลามากขึ้น (Anawar, 2012) ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมคือ purge time ที่ 2 นาทีเพราะค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าต่ำและพื้นที่พีคมีค่ามาก



รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง purge time กับ พื้นที่พีค, desorb flow rate 200 mL/min, transfer line temperature 150 ˚C, desorb temperature 250 ˚C, desorb time 2 นาที

3.2 Desorb flow rate

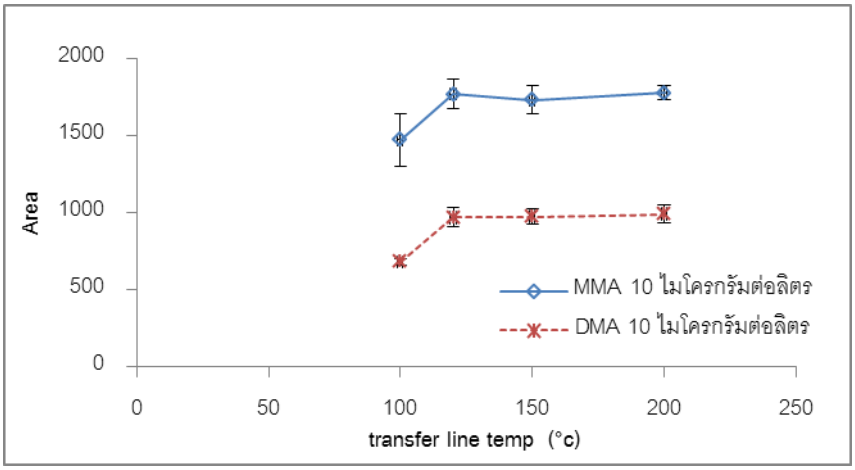
จากการศึกษา desorb flow rate ที่ 150-400 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าที่ desorb flow rate ที่ 200 และ 300 มิลลิลิตรต่อนาที มีค่าพื้นที่พีคสูงใกล้เคียงกัน ซึ่งใน desorb flow rate อื่น ๆ มีค่าพื้นที่พีคที่น้อยดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมคือ desorb flow rate ที่ 200 มิลลิลิตรต่อนาที เพราะให้ค่าพื้นที่พีคที่สูง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำและไม่สิ้นเปลืองแก๊สเมื่อเทียบกับที่ 300 มิลลิลิตรต่อนาทีดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง desorb flow rate กับ พื้นที่พีค, purge time 2 นาที, transfer line temperature 150 ˚C, desorb temperature 250 ˚C, desorb time 2 นาที

3.3 Transfer line temperature

จากการศึกษา transfer line temperature ที่ 100-200 องศาเซลเซียสพบว่า transfer line temperature ที่ 120,150, 200 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มของกราฟคงที่และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำ ดังนั้นสภาวะ transfer line temperature ที่เหมาะสมคือ 120 องศาเซลเซียส เพราะเป็นอุณหภูมิที่เพียงพอสำหรับการทำให้สารกลายเป็นไอได้ทั้งหมดจึงไม่จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิที่สูงกว่านี้ดังรูปที่ 3

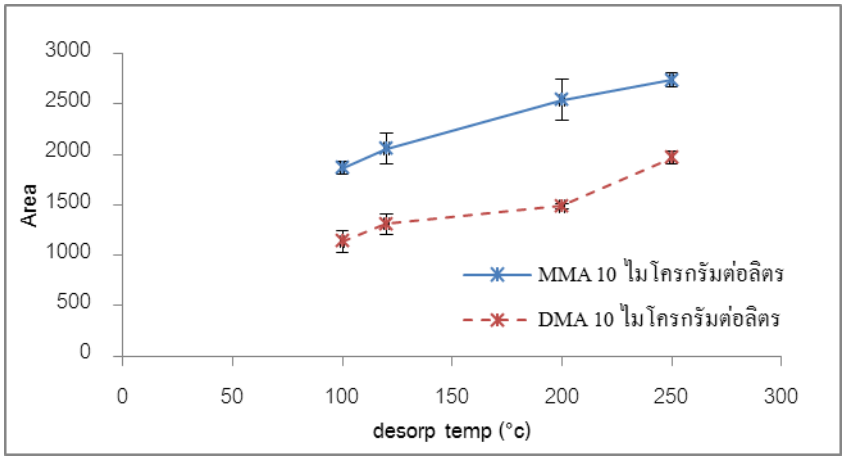


รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง transfer line temperature กับ พื้นที่ใต้พีค, purge time 2 นาที, desorb flow rate 200 mL/min, desorb temperature 250 ˚C, desorb time 2 นาที

3.4 Desorb temperature

จากการศึกษา desorb temperature ที่ 100-250 องศาเซลเซียส พบว่า desorb temperature ที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์เพราะให้ค่าพื้นที่พีคสูงที่สุดดังรูปที่ 4 ทั้งนี้เนื่องมาจากที่อุณหภูมิสูงจะทำให้อนุพันธ์ของ DMA และ MMA

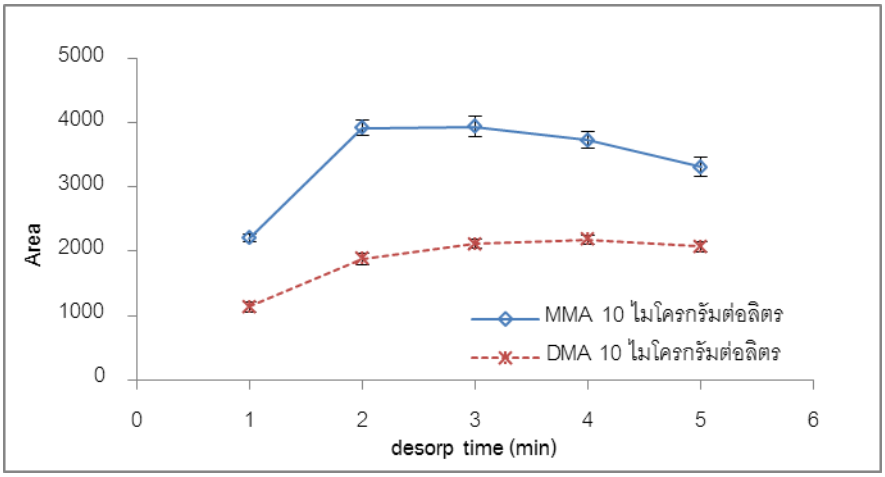
ถูกปลดปล่อยออกจาก trap ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำเพราะที่อุณหภูมิสูงการทำลายแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสารที่วิเคราะห์กับอนุภาคภายใน trap ทำได้ดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำ จากรูปจะเห็นว่ายิ่งอุณหภูมิมากขึ้นพื้นที่ใต้พีคก็มากตามไปด้วยเช่นกันแต่ไม่ได้ทำการศึกษาต่อเพราะว่าที่อุณหภูมิสูงมากกว่า 250 องศาเซลเซียสเกินขีดจำกัดการทำงานของเครื่องมือ



รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง desorb temperature กับ พื้นที่พีค, purge time 2 นาที, desorb flow rate 200 mL/min, transfer line temperature 120 ˚C, desorb time 2 นาที

3.5 Desorb time

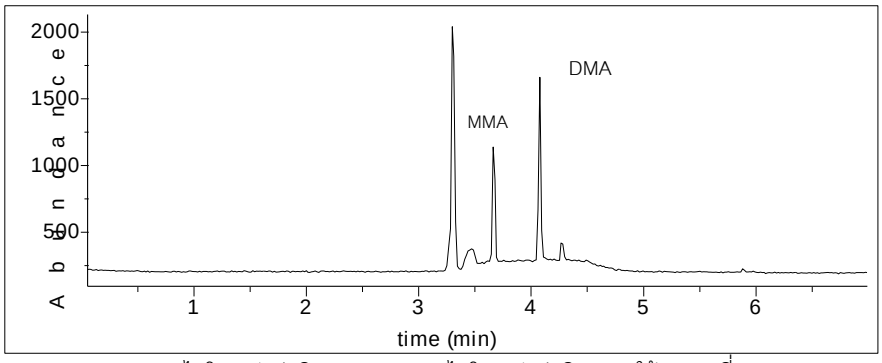
จากการศึกษา desorb time ที่ 1-5 นาที พบว่า desorb time ที่ 2, 3 และ 4 นาที ไม่มีความแตกต่างกันเนื่องมาจากสารตัวอย่างถูกแก๊สเฉื่อยพาออกมาจาก trap จนหมดแล้วทำให้พื้นที่พีคในการวิเคราะห์ใกล้เคียงกัน ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสม คือ desorb time ที่ 3 นาที เพราะมีค่าพื้นที่พีคมากกว่าค่าอื่นเล็กน้อย และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ต่ำดังรูปที่ 5



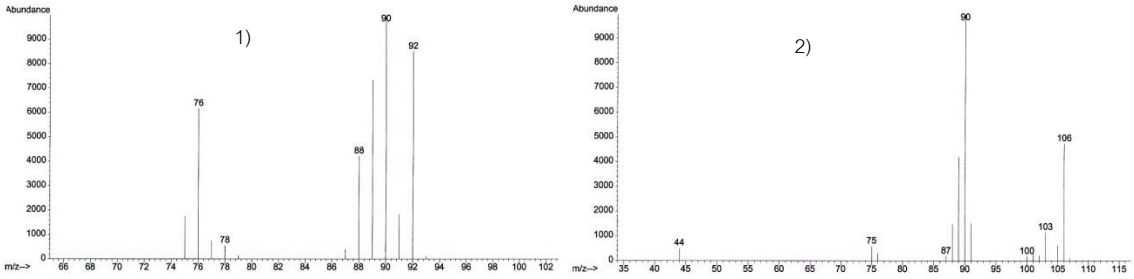
รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง desorb time กับ พื้นที่ใต้พีค, purge time 2 นาที, desorb flow rate 200 mL/min, transfer line temperature 120 ˚C, desorb temperature 250 ˚C

ตัวอย่างโครมาโทแกรมภายใต้สภาวะที่เหมาะสมแสดงดังรูปที่ 6 และแมสสเปกตรัม ดังรูปที่ 7 โดยวิธีนี้สามารถแยก DMA และ MMA ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลาน้อยกว่า 5 นาที เนื่องจากวิธีนี้ใช้การเตรียมอนุพันธ์ไฮไดรด์ซึ่งมีจุดเดือดต่ำกว่าอนุพันธ์ชนิดอื่น ทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าวิธีอื่น (Namera et al., 2012, Killelea, & Aldstadt, 2001และ Mester & Pawliszyn, 2000) และจาก

แมสสเปกตรัมที่ได้จากพีกของ MMA และ DMA (ดังรูปที่ 7) พบว่าเป็น monomethyl arsine (CH_3AsH_2) และ dimethyl arsine ($(CH_3)_2AsH$) ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับรายงานแมสสเปกตรัมจาก Kösters et al. (2003) และ Pergantis et al. (1997) ซึ่งจากแมสสเปกตรัมสามารถเลือก mass สำหรับวิเคราะห์ด้วย SIM สำหรับการวิเคราะห์ MMA คือ76 (HAs^+), 90(CH_3As^+), 92 (molecular mass ของ CH_3AsH_2) และสำหรับการวิเคราะห์ DMA คือ 75(As^+), 90(CH_3As^+), 106(molecular mass ของ $(CH_3)_2AsH$)



รูปที่ 6 โครมาโทแกรมการแยก MMA 1 ไมโครกรัมต่อลิตรและ DMA 3 ไมโครกรัมต่อลิตรภายใต้สภาวะที่เหมาะสม



รูปที่ 7 แมสสเปกตรัมของ 1) momomethyl arsine และ 2) dimethyl arsine

สำหรับปฏิกิริยาการเตรียมอนุพันธ์ไฮไดรด์ของสาร DMA และ MMA ด้วย $NaBH_4$ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด MMA และ DMA จะถูกเปลี่ยนให้เป็น monomethyl arsine (CH_3AsH_2) และ dimethyl arsine ($(CH_3)_2AsH$) ซึ่งเป็นสารที่ระเหยง่าย ปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 8

$$CH_3AsO(OH)_{2(aq)} + 2BH_{4\,(aq)}^- + 2H_{(aq)}^+ \rightleftharpoons CH_3AsH_{2(aq)} + 2BH_{3\,(aq)}^- + 2H_2O_{(g)}$$

$$(CH_3)_2AsO(OH)_{(aq)} + BH_{4\,(aq)}^- + H_{(aq)}^+ \rightleftharpoons (CH_3)_2AsH_{2(aq)} + BH_{3\,(aq)}^- + H_2O_{(g)}$$

รูปที่ 8 ปฏิกิริยาการเตรียมอนุพันธ์ไฮไดรด์ของ MMA และ DMA (Pantsar-Kallio & Korpela, 2000)

3.6 ขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการหาปริมาณ

จากสภาวะที่เหมาะสมเมื่อหาขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณของ DMA และ MMA โดยพิจารณาจากความเข้มข้นที่ให้อัตราส่วนระหว่างสัญญาณของสารมาตรฐานและสัญญาณรบกวน (S/N) เท่ากับ 3 และ 10 ตามลำดับ สำหรับขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณแสดงผลที่ได้ดังตารางที่ 1 โดยค่าขีดจำกัดการตรวจวัดของวิธีการนี้มีค่าต่ำกว่าการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค solid phase microextraction ที่ให้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดของ DMA และ MMA เท่ากับ 0.12 และ 0.29 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Mester & Pawliszyn, 2000) เนื่องจากวิธีที่ได้เสนอนี้ใช้เทคนิค purge and trap ในการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพดีกว่าเทคนิค SPME

ตารางที่ 1 แสดงค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดและขีดจำกัดของการหาปริมาณ

สารละลายมาตรฐาน	ขีดจำกัดของการตรวจวัด (ไมโครกรัมต่อลิตร)	ขีดจำกัดของการหาปริมาณ (ไมโครกรัมต่อลิตร)
DMA	0.05	0.17
MMA	0.02	0.05

3.7 ความเที่ยงของการวิเคราะห์

จากการศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์ของสารมาตรฐานผสมของ DMA และ MMA 2 ชุดโดยชุดแรก DMA ความเข้มข้น 0.50 ไมโครกรัมต่อลิตร และ MMA ความเข้มข้น 0.30 ไมโครกรัมต่อลิตร ชุดที่สอง DMA และ MMA ความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ครั้ง แสดงผลดังตารางที่ 2 พบว่าค่า %RSD ของ DMA และ MMA มีค่า 6.96-19.12 และ2.34-8.74 % ตามลำดับ ซึ่งค่า%RSD ที่ได้อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ตามมาตรฐาน AOAC (AOAC international,1993) ที่ระบุค่า %RSD ไม่เกิน 30% ที่ระดับความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อลิตร แสดงว่าความเที่ยงของวิธีการนี้ยอมรับได้

ตารางที่ 2 แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์สารมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐาน	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อลิตร)	ความเที่ยงของการวิเคราะห์ (%RSD) (n=10)
DMA	0.50	19.12
DMA	1.00	6.96
MMA	0.30	8.74
MMA	1.00	2.34

3.8 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

เมื่อนำวิธีการนี้ไปประยุกต์ในการหาปริมาณ DMA และ MMA ในตัวอย่างน้ำผิวดินที่เก็บมาบริเวณเทศบาลเมืองมาบตาพุด จ.ระยอง สามารถทราบความเข้มข้นของ DMA และ MMA ได้ความสัมพันธ์ดังตารางที่ 3 ซึ่งสมการที่ใช้ในการหาปริมาณของ DMA คือ $y = 1.7912x - 0.0061$ (R^2 0.9906) และ MMA คือ $y = 1.0979x + 0.0042$ (R^2 0.9945) สำหรับถ้าในตัวอย่างมีสารหนูอนินทรีย์ เช่น As(III) และ As(VI) ปนเปื้อนอยู่ด้วยจะไม่รบกวนการวิเคราะห์หาปริมาณ DMA และ MMA เนื่องจากสารหนูอนินทรีย์เมื่อเกิดไฮไดรด์แล้วจะอยู่ในรูปของ AsH_3 และถูกแยกออกจาก DMA และ MMA อย่างสมบูรณ์ด้วย GC (Pantsar-Kallio & Korpela, 2000)

ตารางที่ 3 แสดงความเข้มข้นของสารหนูอินทรีย์ในน้ำตัวอย่าง (n=3)

ชนิดสารที่พบ	ความเข้มข้นของสารที่พบ(ไมโครกรัมต่อลิตร)
DMA ในน้ำตัวอย่าง	1.12±0.10
MMA ในน้ำตัวอย่าง	2.20±0.09

4. บทสรุป

ได้เสนอวิธีการวิเคราะห์ Dimethylarsenate และ Monomethylarsonate ในน้ำ โดยการเตรียมอนุพันธ์ไฮไดรด์สกัดและเพิ่มความเข้มข้นด้วยเทคนิค purge and trap แยกและวิเคราะห์ปริมาณด้วย gas chromatography-mass spectrometry สามารถแยกสาร 2 ชนิดได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 5 นาที จากสภาวะที่เหมาะสมได้ ขีดจำกัดการตรวจวัดขีดจำกัดการหาปริมาณมีค่า 0.05-0.02 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 0.17-0.05 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ ความเที่ยงอยู่ในช่วง 2.34-19.12% โดยวิธีการที่นำเสนอนี้เป็นวิธีที่รวดเร็วและมีสภาพไวในการตรวจวัดที่ดี เหมาะในการนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอินทรีย์ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้เงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ 2557 และขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สถานที่ในการทำงานวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

Anawar, H. M. (2012). Arsenic speciation in environmental samples by hydride generation and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta, 88,* 30-42.

AOAC international. (1993). AOAC® *peer-verified method program: manual on policies and procedures.* United States of America.

Baig, J. A., Kazi, T. G., Shah, A. Q., Arain, M. B., Afridi, H. I., Kandhro, G. A., Khan, S. (2009). Optimization of cloud point extraction and solid phase extraction methods for speciation of arsenic in natural water using multivariate technique. *Analytica Chimica Acta, 651*, 57–63.

Claussen, F. A. (1997) Arsenic apeciation of aqueous environmental samples by derivatization with thioglycolic acid methylester and capillary gas-liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatographic Science*, 35(12), 568-572.

Kazi, T. G., Arain, M. B., Baig, J. A., Jamali, M. K., Afridi, H. I., Jalbani, N., Sarfraz, R. A., Niaz, A. (2009). The correlation of arsenic levels in drinking water with the biological samples of skin disorders. *Science of the Total Environment, 407 (3),* 1019–1026

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

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

Lehmann, E. L., Fostier, A. H., and Arruda, M. A. Z. (2013). Hydride generation using a metallic atomizer after microwave-assisted extraction for inorganic arsenic speciation in biological samples. *Talanta*, 104, 187-192.

Mester, Z., and Pawliszyn, J. (2000). Speciation of dimethylarsinic acid and monomethylarsonic acid by solid-phase microextraction-gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 873, 129-135.

Milstein, L. S., Essader, A., Pellizzari, E. D., Fernando, R. A. and Akinbo, O. (2002). Selection of suitable mobile phase for the speciation of four arsenic compounds in drinking water samples using ion-exchange chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Environment International, 28,* 277-283.

Nam, S. H., Oh, H. J., Min, H. S. and Lee, J. H. (2010). A study on the extraction and quantitation of total arsenic and arsenic species in seafood by HPLC-ICP-MS. *Microchemical Journal,* 95, 20-24.

Namera, A., Takeuchi, A., Saito, T., Miyazaki, S., Oikawa, H., Saruwatari, T., and Nagao, M. (2012). Sequential extraction of inorganic arsenic compounds and methyl arsenate in human urine using mixed-mode monolithic silica spin column coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Separation Science,* 35(18), 2506-2513.

Odanaka, Y., Tsuchiya, N., Matano, O., and Goto, S. (1983). Determination of inorganic arsenic and methylarsenic compounds by gas chromatography and multiple ion detection mass spectrometry after hydride generation-heptane cold trap. *Analytical Chemistry,* 55(6), 929-932.

Pantsar-Kallio, M., and Korpela, A. (2000). Analysis of gaseous arsenic species and stability studies of arsine and trimethylarsine by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 410(1-2), 65-70.

Pergantis, S. A., Winnik, W., Heithmar, E. M., and Cullen W. R. (1997). Investigation of arsine-generating reactions using deuterium-labeled reagents and mass spectrometry. *Talanta*, 44, 1941-1947.

Rahman, M. A., Hasegawa, H. and Lim, R. P. (2012). Bioaccumulation, biotransformation and trophic transfer of arsenic in the aquatic food chain. *Environmental Research, 116,* 118-135.

Ronkart, S. N., Laurent, V., Carbonnelle. P., Mabon, N., Copin, A. and Barthélemy, J. P. (2007). Speciation of five arsenic species (arsenite, arsenate, MMAA(V), DMAA(V) and AsBet) in different kind of water by HPLC-ICP-MS. *Chemosphere, 66,* 738-745.

Takeuchi, A., Namera, A., Kawasu, Y., Imanaka, T., Sakui, N., Ota, H., Endo, Y., Sumino, K., and Endo, G. (2012). Development of an analytical method for the determination of arsenic in urine by gas chromatography-mass spectrometry for biological monitoring of exposure to inorganic arsenic. *Journal of Occupational Health*, 54 (6), 434-440.

Tuzen, M., Saygi, K. O., Karaman, I. and Soylak, M. (2010). Selective speciation and determination of inorganic arsenic in water, food and biological samples. *Food and Chemical Toxicology, 48,* 41-46.

Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Mendil, D. and Soylak, M. (2010). Determinaton of As(III) and As(V) species in some natural water and food samples by solid-phase extraction on *Streptococcus pyogenes* immobilized on Sepabeads SP 70 and hydride generation atomic absorption spectrometry. *Food and Chemical Toxicology, 48,* 1393-1398.

WHO. (1996). Arsenic Compounds Environmental Health Criteria 224 2nd ed. World Health Organisation, Geneva.

Yoshida, T., Yamauchi, H. and Sun, G. F. (2004). Chronic health effects in people exposed to arsenic via the drinking water: dose response relationships in review. *Toxicology and Applied Pharmacology, 198*, 243–252.