



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การตรวจวัดการหายไปของตะกั่วด้วยแอปตาเมอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

Determination of lead disappearance by aptamer using screen-printed electrode

ชื่อนิสิต นางสาวนันทน์ รัตนกุลชัยวัฒน์

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจวัดการหายไปของตะกั่วด้วยแอสตาเมอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

Determination of lead disappearance by aptamer using screen-printed
electrode

โดย

นางสาววณัสนันท์ รัตนกุลชัยวัฒน์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

โครงการ การตรวจวัดการหายไปของตะกั่วด้วยแอปตาเมอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

โดย นางสาวนันทน์ รัตนกุลชัยวัฒน์

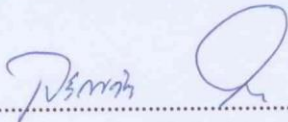
ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

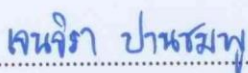
คณะกรรมการสอบโครงการ

 ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนวัช อาชวาคม)

 อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจริญขวัญ ไกรยา)

 กรรมการ

(อาจารย์ ดร.เจนจิรา ปานชมพู)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ การตรวจวัดการหายไปของตะกั่วด้วยแอปตาเมอร์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกριν

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวนันทน์ รัตนกุลชัยวัฒน์ เลขประจำตัว 5733154523

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญขวัญ ไกรยา

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

ศึกษาการหายไปของสัญญาณตะกั่วโดยใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกริน ร่วมกับเทคนิคสแควร์เวฟแอนโอดิก สตรีปิงโวลแทมเมทรี ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดสัญญาณของตะกั่ว จากผล การศึกษาพบว่า เมื่อใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรินตัดแปรด้วยบิสมัท จะให้สัญญาณของตะกั่วดีที่สุด เมื่อตรวจวัดใน สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตด ที่พีเอช 5.6 จากนั้นทดสอบการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรินพบว่า มี วิธีการล้างขั้วไฟฟ้าที่สามารถนำขั้วไฟฟ้ากลับมาใช้งานซ้ำได้อย่างน้อย 30 ครั้งต่อการใช้งานใน 1 วันโดย ไม่ทำให้ค่าสัญญาณไฟฟ้าลดลง เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวไปตรวจวัดตะกั่วพบว่า มีความสัมพันธ์เป็น เส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.5–15 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) เท่ากับ 0.9954 ขีดจำกัด ของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 92 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดของการหาปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 306 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาการหายไปของสัญญาณตะกั่วในสภาวะที่มีแอปตาเมอร์ ยืนยัน ว่า แอปตาเมอร์มีผลต่อความสูง และกระแสบริเวณฐานพีกของตะกั่วซึ่งทำให้ค่าสัญญาณของตะกั่วลดลง

คำสำคัญ: ตะกั่ว, แอปตาเมอร์, โวลแทมเมทรี

Title Determination of lead disappearance by aptamer using screen-printed electrode

Student names Wanasanan Rattanakulchaiwat ID 5733154523

Advisor Assistant Professor Dr. Charoenkwan Kraiya

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic year 2017

Abstract

Disappearance of lead signal was studied using screen-printed electrode along with square-wave anodic stripping voltammetric technique. The study was begun by finding suitable conditions for the lead-signal determination. Results reviewed that using a bismuth-doped carbon screen-printed electrode, the lead signal was nicely determined in potassium acetate solution at pH 5.6. A possibility of the electrode recycling was also tested. The results demonstrated that with a good cleaning method, the electrode was able to handle at least 30 scans per day without an unacceptable drop in signal. By using this method, good linearity was found in a range of 0.5–15 ppm Pb^{2+} with R^2 0.9954 where LOD and LOQ were 92 and 306 $\mu\text{g/L}$, respectively. The method was then employed in studies of lead-signal disappearance in solutions containing aptamer. Results confirmed that aptamer had effects on both the height and the baseline of the lead signal which caused the lost of the lead signal.

Keywords: Lead, Aptamer, Voltammetry

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ ด้วยความช่วยเหลือและสนับสนุนจากบุคคลหลายๆ ท่านดังต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจริญขวัญ ไกรยา ซึ่งเป็นที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาช่วยให้ความรู้ คำแนะนำ อุปกรณ์ และเครื่องมืออำนวยความสะดวกต่างๆ ตลอดจนชี้แนะแนวทางการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนวัช อาชวาคม ประธานกรรมการสอบ และอาจารย์ ดร.เจนจิรา ปานชมพู กรรมการสอบ ที่สละเวลาในการซักถามปัญหา และชี้แนวทางในการพัฒนางานวิจัยนี้ รวมถึงคณาจารย์ทุกๆ ท่านในภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้อบรม สั่งสอน ทั้งความรู้ตามหลักวิชาการรวมถึงทักษะปฏิบัติการต่างๆ ซึ่งผู้วิจัยสามารถนำมาใช้ได้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เกียรติทวี ชูวงศ์โกมล ภาควิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การอนุเคราะห์สารตัวอย่างที่ใช้ในการทำงานวิจัยนี้ทำให้งานวิจัยสำเร็จได้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณพี่ๆ ทุกคนที่อยู่ในหน่วยปฏิบัติการเคมีไฟฟ้าที่ให้ความรู้ คำปรึกษา และช่วยแนะนำแนวทางการแก้ไขปัญหามากมาย ทั้งยังเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็น

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณกำลังใจและความช่วยเหลือจากคุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ในภาควิชาเคมี ตลอดการทำวิจัยนี้ และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนช่วยทุกๆ ท่านที่ไม่ได้กล่าวถึงมา ณ ที่นี้ด้วย



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญรูปภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ	6
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
1.5 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	6
บทที่ 2 การทดลอง	13
2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์	13
2.2 รายการสารเคมี	13
2.3 การเตรียมสารละลาย	14
2.4 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สัญญาณตะกั่ว	15
2.4.1 เปรียบเทียบผลของชนิดขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	16
2.4.2 ทดสอบการใช้จ่ายของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	16
2.4.2.1 วิธีการล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	16
2.4.2.2 เปรียบเทียบการใช้จ่ายของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแบบใช้ภายในวันเดียวกันและแบบใช้ข้ามวัน	17
2.4.2.3 ทดสอบวัดสัญญาณของตะกั่ว ณ ความเข้มข้นต่าง ๆ	17
2.4.3 ทดสอบผลของชนิดและค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีต่อสัญญาณของตะกั่ว	18

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.3.1 ทดสอบชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์	18
2.4.3.2 ค่าพีเอช (pH) ที่เหมาะสม	18
2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์	18
2.5.3 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)	19
2.6 ศึกษาการหายไปของตะกั่วในสถานะที่มีแอมพาเมอร์	20
2.6.1 วัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ในสถานะที่มีแอมพาเมอร์ปริมาณต่างๆ	20
2.6.2 วัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ในสถานะที่มีแอมพาเมอร์คงที่	20
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	21
3.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สัญญาณตะกั่ว	24
3.1.1 ผลการเปรียบเทียบขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	24
3.1.2 ผลการทดสอบการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	24
3.1.2.1 วิธีการล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	24
3.1.2.2 ผลการเปรียบเทียบการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแบบใช้ภายในวันเดียวกันและแบบใช้ข้ามวัน	29
3.1.2.3 ผลการทดสอบวัดสัญญาณตะกั่ว ณ ความเข้มข้นต่างๆ	30
3.1.3 ผลการทดสอบของชนิดและค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีต่อสัญญาณตะกั่ว	32
3.1.3.1 ผลของชนิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์	32
3.1.3.2 ผลของค่าพีเอช (pH) ที่เหมาะสม	33
3.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์	35
3.2.1 การสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) และการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ตะกั่ว	35
3.2.2 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)	37
3.2.3 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)	37
3.3 ศึกษาการหายไปของตะกั่วในสถานะที่มีแอมพาเมอร์	37
3.3.1 ผลการวัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ในสถานะที่มีแอมพาเมอร์ปริมาณต่างๆ	37

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.2 ผลการวัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ในสถานะที่มีแอมป์ตาเมอร์คิงที่	39
บทที่ 4 สรุปลผลการทดลอง	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	44
ประวัติผู้วิจัย	48



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงระดับปกติและระดับที่เป็นพิษของตะกั่วในเลือดและปัสสาวะ	2
1.2 แสดงเทคนิค ภาวะการทดลอง และผลการทดลองของงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้นต่าง ๆ จากปริมาตรของสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ใช้	17
2.2 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้นต่าง ๆ จากปริมาตรของสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ใช้สำหรับสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน	19
3.1 แสดงค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่ว (μA) ของขั้วไฟฟ้าแบบใช้งานข้ามวันและภายในวันเดียวกัน จำนวน 30 ครั้ง	30
3.2 ภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว	35
5.1 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กับวิธีการล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.1 ถึง 3.5)	44
5.2 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับจำนวนการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแบบใช้ภายในวันเดียวกันและแบบใช้ข้ามวัน (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.6)	44
5.3 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น 10 – 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.7a)	45
5.4 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.5 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.7b)	45
5.5 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.9)	46
5.6 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับพีเอชของสารละลาย อิเล็กโทรไลต์ (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.10)	46
5.7 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น 1 – 15 มิลลิกรัมต่อลิตร(ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.11a)	46
5.8 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น1 – 5 มิลลิกรัมต่อลิตร(ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.11b)	47

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
5.9	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่ว ความเข้มข้นเริ่มต้น 1.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะที่มีแอมตาเมอร์เข้มข้น 0.87 และ 4.35 ไมโครโมลาร์ (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.12)	47
5.10	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่ว ความเข้มข้นเริ่มต้น 1.30, 2.00 และ 2.59 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายที่มีแอมตาเมอร์ความเข้มข้น 4.35 ไมโครโมลาร์ (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.13)	47



สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1.1	แสดงภาพจำลองของแอปตาเมอร์	7
1.2	ส่วนประกอบของเซลล์เคมีไฟฟ้า	8
1.3	องค์ประกอบของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนคาร์บอนตัดแปรด้วยบิสมัท (ซ้าย) และขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนทอง (ขวา)	9
1.4	รูปแบบสัญญาณกระตุ้นแบบสแควร์เวฟ	10
1.5	รูปแบบสัญญาณกระตุ้นแบบแอนดิกสตริบปิงและโวลแทมโมแกรมที่ได้จากเทคนิคแอนดิกสตริบปิง	11
2.1	(a) แสดงการเชื่อมต่อขั้วไฟฟ้าทองพิมพ์สกรีนกับเครื่องโพเทนชิออสแตตด้วยสายเชื่อมต่อ และ (b) แสดงการเชื่อมต่อขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัทกับเครื่องโพเทนชิออสแตตด้วยกล่องเชื่อมต่อ (connector box)	16
3.1	โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 บน (a) ขั้วไฟฟ้าทองพิมพ์สกรีน และ (b) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัท โดยใช้ศักย์ไฟฟ้าแต่ละขั้น 5 มิลลิโวลต์ แอมพลิจูด 75 มิลลิโวลต์ ความถี่ 50 เฮิรตซ์ ค่าศักย์ไฟฟ้าสะสม -1.4 โวลต์ และเวลาตกสะสม 60 วินาที	23
3.2	โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยวิธีจุ่มน้ำกลั่นนำเข้าเครื่องสั้นความถี่สูง เป็นเวลา 45 วินาที วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1	25
3.3	โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยวิธี (a) ล้างน้ำกลั่นไม่มีการตรึงค่าศักย์ไฟฟ้า (b) ขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที และ (c) ขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1	26
3.4	โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยวิธีล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (a) ขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที และ (b) ขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1	27

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

	หน้า	
3.6	<p>โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการวัดครั้งที่ 1, 2, 10, 20 และ 30 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมีท์ (a) ขั้วที่ใช้มาแล้ววันก่อน และ (b) ขั้วอันใหม่ วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1</p>	29
3.7	<p>กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสูงของสัญญาณและความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้นต่าง ๆ บันทึกสัญญาณที่วัดจาก (a) ความเข้มข้นสูงไปต่ำ และ (b) ความเข้มข้นต่ำไปสูง</p>	31
3.8	<p>โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1</p>	32
3.9	<p>โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตดที่พีเอชต่าง ๆ วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1</p>	34
3.10	<p>กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของตะกั่วเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่วัดได้กับค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตด</p>	34
3.11	<p>กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้นต่าง ๆ บันทึกสัญญาณที่วัดจาก (a) ความเข้มข้นสูงไปต่ำ และ (b) ความเข้มข้นต่ำไปสูง</p>	36
3.12	<p>โวลแทมโมแกรมของตะกั่ว ความเข้มข้นเริ่มต้น 1.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะที่มีแอมป์ตาเมอร์เข้มข้น 0.87 และ 4.35 ไมโครโมลาร์ วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1</p>	38
3.13	<p>โวลแทมโมแกรมของตะกั่วความเข้มข้นเริ่มต้น 1.30 (เส้นน้ำเงิน), 2.00 (เส้นสีแดง) และ 2.59 (เส้นสีเขียว) มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายที่มีแอมป์ตาเมอร์ความเข้มข้น 4.35 ไมโครโมลาร์</p>	39

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

ตะกั่ว (Pb) เป็นโลหะที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณ เมื่อ 3,500 ปีก่อนคริสต์ศักราช มนุษย์สมัยก่อนเริ่มนำโลหะตะกั่วมาใช้สำหรับผลิตเป็นภาชนะ และท่อน้ำ ซึ่งยังคงหลักฐานจนถึงปัจจุบัน นับจากนั้นเป็นต้นมา จึงได้มีการใช้ประโยชน์จากโลหะตะกั่วอย่างแพร่หลายจนจัดเป็นโลหะที่มีการใช้มากที่สุดเป็นอันดับห้ารองจากเหล็ก อะลูมิเนียม ทองแดง และสังกะสี

เนื่องจากการพัฒนาทางอุตสาหกรรมและเทคโนโลยีที่รวดเร็ว ทำให้เกิดการปนเปื้อนและสะสมของสารตะกั่วได้ง่าย เช่น สีที่มีตะกั่ว อาจถูกผสมในสีของเล่นสำหรับเด็ก สีวาดภาพ สีที่ใช้พิมพ์ในวารสารหรือหนังสือพิมพ์ ซึ่งมนุษย์ต้องใช้หรือสัมผัสอยู่เสมอในชีวิตประจำวัน ทำให้ตะกั่วเป็นธาตุที่สามารถปนเปื้อนได้ ทั้งในสิ่งแวดล้อมและในสิ่งมีชีวิต¹ สำหรับประเทศไทยมีรายงานอุบัติการณ์ของโรคพิษตะกั่วครั้งแรก เมื่อปี พ.ศ. 2495 และมีรายงานผู้ป่วยโรคพิษตะกั่วมาโดยตลอดและมีแนวโน้มเพิ่มจำนวนขึ้น ซึ่งตะกั่วสามารถเข้าสู่ร่างกายได้จากการดูดซึมจากทางเดินอาหาร - ทางการหายใจ และการสัมผัสทางผิวหนัง แต่พบว่า ส่วนใหญ่ตะกั่วจะเข้าสู่ร่างกายทางการบริโภคอาหารและน้ำดื่มที่มีการปนเปื้อนของตะกั่ว แล้วดูดซึมจากทางเดินอาหารมากกว่าวิธีอื่น²

อาการพิษของตะกั่ว เช่น อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องอย่างรุนแรง โลหิตจาง ความจำถดถอย ไม่มีสมาธิ ซึม ซัก และเสียชีวิตได้ เนื่องจากตะกั่วมีความเป็นพิษสูงส่งผลให้เป็นอันตรายต่อร่างกายมนุษย์ จึงมีการกำหนดระดับปกติที่สามารถมีได้ในร่างกาย ระดับเริ่มเป็นพิษทั้งที่ยังไม่แสดงอาการ และแสดงอาการเป็นพิษ³

โดยองค์การอนามัยโลกกำหนดให้มีตะกั่วในน้ำดื่มได้ไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร⁴ ค่ามาตรฐานตะกั่วในปริมาณน้ำที่จากโรงงานอุตสาหกรรมกำหนดให้มีได้ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม พ.ศ. 2560⁵ และศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา กระทรวงสาธารณสุขแสดงระดับปกติ และระดับที่เป็นพิษของตะกั่วในเลือดและปัสสาวะดังตารางที่ 1.1⁶

ตารางที่ 1.1 แสดงระดับปกติและระดับที่เป็นพิษของตะกั่วในเลือดและปัสสาวะ

ระดับตะกั่ว	ระดับปกติ	ระดับเริ่มเป็นพิษ	ระดับแสดงอาการพิษ
ระดับตะกั่วในเลือด (หน่วย ไมโครกรัมต่อลิตร)	10 – 20	40	70
ระดับตะกั่วในปัสสาวะ (หน่วย ไมโครกรัมต่อลิตร)	10 – 70	100	200 - 400

จะเห็นว่าปริมาณตะกั่วในสิ่งแวดล้อมและในร่างกายถูกจำกัดไว้ในปริมาณต่ำมาก ในการตรวจสอบหาปริมาณตะกั่วเพื่อให้ทราบระดับของการปนเปื้อน จึงต้องอาศัยเทคนิคที่มีความไวในการตรวจวัดสูง (high sensitivity) และมีขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ต่ำ (low detection limit) เพื่อการตรวจหาปริมาณตะกั่วที่ถูกต้อง และแม่นยำ

ในปัจจุบันมีการคิดค้นเทคนิคในการวิเคราะห์วัดปริมาณตะกั่วขึ้นมาหลายวิธี เช่น วิธีเฟลมอะตอมมิค-แอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (Flame atomic absorption spectrophotometry)⁷ วิธีอินดักทีฟคัปเปิล-พลาสมาแมสสเปกโตรสโคปี (Inductively coupled plasma mass spectrometry)⁸ วิธีอิเล็กโตรเทอร์มอลอะตอมมิคแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (Electrothermal atomic absorption spectrophotometric)⁹ อย่างไรก็ตามเทคนิคดังกล่าวยังมีข้อจำกัดบางประการ คือ ใช้งบประมาณสูง ใช้เวลานานในการตรวจวิเคราะห์ และมีความยุ่งยากในการเตรียมสารตัวอย่าง ในขณะที่เทคนิคสแควร์เวฟโวลแทมเมตรี (Square wave voltammetry) เป็นวิธีที่สามารถตรวจวัดตะกั่วได้ง่ายและรวดเร็ว แม้จะมีปริมาณสารที่น้อยมาก โดยใช้งบประมาณในการวิเคราะห์ที่ต่ำและมีความสามารถในการตรวจวัดที่สูง¹⁰ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจนำเทคนิคนี้มาศึกษาเพื่อตรวจวัดปริมาณตะกั่ว

แอปตาเมอร์ (Aptamer) เป็นสายนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์ที่มีสมบัติในการจับกับโมเลกุลของสารได้อย่างจำเพาะ เนื่องจากแอปตาเมอร์จะอาศัยการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในโครงสร้างสามมิติเพื่อจับกับโมเลกุลเป้าหมาย ซึ่งแอปตาเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อตะกั่ว จึงถูกนำมาใช้เป็นหนึ่งในวิธีการตรวจวัดตะกั่ว¹¹ ในปัจจุบันงานวิจัยส่วนใหญ่ทำการศึกษาการจับตะกั่วของแอปตาเมอร์ผ่านสัญญาณของสารประกอบชนิดอื่น เช่น ไทโอนีน (Thionine)¹² ไรโบฟลาวิน (Riboflavin)¹³ และยังไม่มียานวิจัยที่ศึกษาโดยการวัดสัญญาณของตะกั่วโดยตรง ซึ่งนับเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาโดยตรง ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจจะศึกษาความสามารถในการจับตะกั่วของแอปตาเมอร์ผ่านการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณตะกั่ว โดยใช้วิธีสแควร์เวฟโวลแทมเมตรี (Square wave voltammetry) และชีวไฟฟ้าชนิดพิมพ์สกรีน โดยจะศึกษาผลของค่าตัวแปรต่าง ๆ ที่มีต่อการตรวจวัดสัญญาณ

ตะกั่ว ทดสอบการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าใช้งาน และช่วงความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดตะกั่วได้ และผลของ แอปตาเมอร์ที่มีต่อสัญญาณของตะกั่ว

1.2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 2007 Zhu และคณะ¹⁴ ได้ทำการพัฒนาการตรวจวัดตะกั่ว และแคดเมียมพร้อมกัน โดยใช้ ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเคลือบฟิล์มบิสมัทและพอลิไอนินิล ด้วยเทคนิคแอนโอดิกสตรipping โวลแทมเมทรี (ASV) จากผลการทดลอง พบว่า สแกนจากค่าศักย์ไฟฟ้า -1.2 ถึง 0.2 โวลต์ ใช้ศักย์ไฟฟ้าสะสม -1.20 โวลต์ และ เวลาตกสะสมเท่ากับ 240 วินาที สารละลายอิเล็กโทรไลต์เป็น บัฟเฟอร์อะซิเตต (พีเอช = 5.3) ให้ค่าสัญญาณ กระแสไฟฟ้าสูงสุด และทำการล้างขั้วไฟฟ้าเป็นเวลา 30 วินาที ที่ค่าศักย์ไฟฟ้า 0.30 โวลต์ ค่าความเข้มข้น ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดตะกั่วและแคดเมียมได้คือ 1.03 และ 1.48 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถนำไป ประยุกต์ใช้กับน้ำประปาตัวอย่างได้

ในปี ค.ศ. 2008 Ho และคณะ¹⁵ ได้ประดิษฐ์ขั้วไฟฟ้าท่อนาโนคาร์บอนดัดแปรด้วยบิสมัทสำหรับ ตรวจวัดตะกั่ว แคดเมียม และซิงค์ในปริมาณต่ำ ด้วยเทคนิคแอนโอดิกสตรipping โวลแทมเมทรี (ASV) โดยหา ภาวะการทดลองที่เหมาะสมซึ่งพิจารณาจากค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าสูงสุด พบว่า บิสมัทความเข้มข้นเท่ากับ $1,000$ มิลลิกรัมต่อลิตรที่เคลือบลงบนขั้วไฟฟ้าท่อนาโนคาร์บอน มีลักษณะคล้ายแผ่นฟิล์ม โดยใช้ค่าศักย์ไฟฟ้า สะสมที่ -1.4 โวลต์ เวลาตกสะสมเท่ากับ 300 วินาที ศักย์ไฟฟ้าแต่ละขั้นเท่ากับ 5 มิลลิโวลต์ แอมพลิจูด เท่ากับ 50 มิลลิโวลต์ และความถี่เท่ากับ 50 เฮิรตซ์ สแกนจากค่าศักย์ไฟฟ้า -1.4 ถึง 0.3 โวลต์ อัตราเร็วในการคน $1,000$ อาร์พีเอ็ม เวลาเข้าสู่สมดุล 10 วินาที ในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตต (พีเอช = 4.5) เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พบว่า ความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นของการตรวจวัดโลหะหนักอยู่ในช่วง $2 - 100$ ไมโครกรัมต่อ ลิตร โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดตะกั่ว แคดเมียม และซิงค์ เป็น 1.3 , 0.7 และ 12.0 มิลลิกรัมต่อ ลิตร ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์โลหะหนักที่มีปริมาณต่ำในสิ่งแวดล้อมได้จริง

ในปี ค.ศ. 2012 Lezi และคณะ¹⁶ ได้คิดค้นขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยสารประกอบ บิสมัท ในการตรวจวัดปริมาณแคดเมียมและตะกั่ว ด้วยเทคนิคแอนโอดิกสตรipping โวลแทมเมทรี (ASV) โดยมีค่า ความเข้มข้นต่ำสุดของตะกั่วและแคดเมียมที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร 1.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยศึกษาผลของชนิดของสารประกอบบิสมัท ผลของความเข้มข้นสารประกอบบิสมัท ผลของชนิด สารละลายอิเล็กโทรไลต์ (supporting electrolyte) และเวลาตกสะสม ผลการทดลองพบว่า สัญญาณ กระแสไฟฟ้ามีค่าสูงสุดเมื่อใช้บิสมัทซีเตรตที่ความเข้มข้นเท่ากับ 6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ในสารละลาย บัฟเฟอร์อะซิเตต (พีเอช = 4.5) เข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยสแกนจากค่าศักย์ไฟฟ้า -1.2 ถึง -0.35 โวลต์ ใช้เวลา ตกสะสมเป็น 120 วินาที ค่าศักย์ไฟฟ้าสะสมเป็น -1.4 โวลต์ อัตราเร็วในการคน $1,000$ อาร์พีเอ็ม และใช้เวลา

เข้าสู่สมดุลง 10 วินาที ความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดตะกั่วและแคดเมียมมีค่าเท่ากับ 0.9 และ 1.1 ไมโครกรัมต่อลิตร และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดตะกั่ว และแคดเมียมในน้ำตัวอย่างได้อีกด้วย

ในปี ค.ศ. 2013 Chen และคณะ¹⁷ ได้คิดค้นขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนมีรูพรุนดัดแปรด้วยบิสมัทในการตรวจวัดโลหะหนักในปริมาณต่ำ ด้วยเทคนิคสแควร์เวฟแอนโอดิกสตริปปีงโวลแทมเมตรี (SWASV) ในการประดิษฐ์ขั้วไฟฟ้าได้ทำการหาค่าเคลือบคาร์บอนบนผิวขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนแกรไฟต์ จากนั้นเคลือบสารละลายมาตรฐานบิสมัท 100 มิลลิกรัมต่อลิตรให้มีลักษณะคล้ายแผ่นฟิล์มอีกชั้น โดยไอออนบิสมัทจะไปจับกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ในชั้นสะสมที่ผิวขั้วไฟฟ้าใช้งาน ภาวะการทดลองที่เหมาะสม คือ ค่าศักย์ไฟฟ้าสะสมเป็น -1.2 โวลต์ เวลาตกสะสมเป็น 300 วินาที ความถี่เป็น 15 เฮิรตซ์ แอมพลิจูดเป็น 25 มิลลิโวลต์ ศักย์ไฟฟ้าแต่ละขั้นคือ 5 มิลลิโวลต์ โดยสแกนจากค่าศักย์ไฟฟ้า -1.2 ถึง -0.2 โวลต์ ในสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตด (พีเอช = 4.5) เข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยตรวจวัดตะกั่ว และแคดเมียม เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนแกรไฟต์ที่ไม่ได้เคลือบบิสมัท และขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน พบว่า ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนมีรูพรุนเคลือบบิสมัทที่ประดิษฐ์ขึ้นให้ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าสูงสุด ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดตะกั่ว และแคดเมียมได้เท่ากับ 0.03 และ 0.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนที่ประดิษฐ์ขึ้นมีกระบวนการทำง่าย ราคาไม่แพง นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับน้ำตัวอย่างจากแหล่งน้ำได้

ในปี ค.ศ. 2016 Taghdisi และคณะ¹² ได้ทำการออกแบบตัวตรวจวัดทางชีวภาพในการหาปริมาณตะกั่วที่มีความจำเพาะ และมีความไวสูงในน้ำตัวอย่างและเลือดตัวอย่างร่วมกับเทคนิคเคมีไฟฟ้า โดยตัวตรวจวัดอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างสารชีวภาพ (biological component) ในที่นี้คือ แอปตาเมอร์ และตัวแปลงสัญญาณ (transducer) ซึ่งคือ สัญญาณไฟฟ้าที่วัดได้จากขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยอนุภาคของระดับนาโน ไทโอไนน์ และดีเอ็นเอสายเดี่ยวที่สามารถจับกับแอปตาเมอร์ที่เป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวเป็นสายเกลียวด้วยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์แอนโอดิกสตริปปีงโวลแทมเมตรี (DPASV) โดยสแกนจากค่าศักย์ไฟฟ้า -0.5 ถึง 0.8 โวลต์ ใช้อัตราการสแกนเท่ากับ 50 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (พีเอช 7.4) จากการทดลองพบว่า ใช้ภาวะการทดลองที่เหมาะสม คือ ระยะเวลาในการบ่มของอนุภาคของระดับนาโนเท่ากับ 3 ชั่วโมง ความเข้มข้นของไทโอไนน์เท่ากับ 0.25 มิลลิโมลาร์ ระยะเวลาในการบ่มไทโอไนน์เท่ากับ 30 นาที ความเข้มข้นของดีเอ็นเอสายเดี่ยวเท่ากับ 2 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดตะกั่วได้มีค่าเท่ากับ 312 พิโคโมลาร์ นอกจากนี้เมื่อนำไปประยุกต์ใช้น้ำตัวอย่างและเลือดตัวอย่าง พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดตะกั่วได้ในน้ำตัวอย่างและเลือดตัวอย่างเท่ากับ 326 และ 537 พิโคโมลาร์ ตามลำดับ โดยสามารถสรุปเป็นตารางแสดงเทคนิค ภาวะการทดลอง และผลการทดลองของงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 แสดงเทคนิค ภาวะการทดลอง และผลการทดลองของงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปี ค.ศ.	ชื่อผู้วิจัย และคณะ	ตรวจวัด	เทคนิค และภาวะการทดลอง	ผลการทดลอง
2007	Zhu และคณะ	ตะกั่ว แคดเมียม	ASV $E_{begin} : -1.2 \text{ V}$ $E_{end} : 0.2 \text{ V}$ $E_{dep} : -1.2 \text{ V}$ $t_{dep} : 240 \text{ s}$ Electrolyte : Acetate buffer pH 5.3	- ความเข้มข้นต่ำสุดของตะกั่วและแคดเมียมที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 1.03 และ 1.48 มิลลิกรัมต่อลิตร - นำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดในน้ำตัวอย่างได้
2008	Ho และคณะ	ตะกั่ว แคดเมียม ซิงค์	ASV $E_{begin} : -1.4 \text{ V}$ $E_{end} : 0.3 \text{ V}$ $E_{dep} : -1.4 \text{ V}$ $t_{dep} : 300 \text{ s}$ $E_{step} : 5 \text{ mV}$ Amp : 50 mV Freq : 50 Hz $t_{equil} : 10 \text{ s}$ Electrolyte : Acetate buffer pH 4.5	- ความเข้มข้นต่ำสุดในการตรวจวัดตะกั่ว แคดเมียม และซิงค์ เป็น 1.3, 0.7 และ 12.0 มิลลิกรัมต่อลิตร - ความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นของการตรวจวัดโลหะหนักอยู่ในช่วง 2 -100 ไมโครกรัมต่อลิตร - นำไปประยุกต์ใช้ในสิ่งแวดล้อมได้จริง
2012	Lezi และคณะ	ตะกั่ว แคดเมียม	ASV $E_{begin} : -1.2 \text{ V}$ $E_{end} : -0.35 \text{ V}$ $E_{dep} : -1.4 \text{ V}$ $t_{dep} : 120 \text{ s}$ $t_{equil} : 10 \text{ s}$ Electrolyte : Acetate buffer pH 4.5	- ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัด ตะกั่ว และแคดเมียมได้เท่ากับ 0.9 และ 1.1 ไมโครกรัมต่อลิตร - นำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดในน้ำตัวอย่างได้
2013	Chen และคณะ	ตะกั่ว แคดเมียม	SWASV $E_{begin} : -1.2 \text{ V}$ $E_{end} : -0.2 \text{ V}$ $E_{dep} : -1.4 \text{ V}$ $t_{dep} : 300 \text{ s}$ $t_{equil} : 10 \text{ s}$ $E_{step} : 5 \text{ mV}$ Amp : 25 mV Freq : 15 Hz $t_{equil} : 10 \text{ s}$ Electrolyte : Acetate buffer pH 4.5	- ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัด ตะกั่วและแคดเมียมได้มีค่าเท่ากับ 0.03 และ 0.34 มิลลิกรัมต่อลิตร - นำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดในน้ำตัวอย่างได้
2016	Taghdisi และคณะ	ตะกั่ว	DPASV $E_{begin} : -0.5 \text{ V}$ $E_{end} : 0.8 \text{ V}$ rate: 50mV/s Electrolyte : PBS buffer pH 7.4	- ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัด ตะกั่วได้เท่ากับ 312 พิโคโมลาร์ - ความเข้มข้นต่ำสุดตรวจวัดตะกั่วใน ตัวอย่างน้ำและเลือดที่ได้มีค่าเท่ากับ 326 และ 537 พิโคโมลาร์

1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1.3.1 เพื่อศึกษาวิธีการตรวจวัดปริมาณตะกั่วด้วยขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน โดยใช้เทคนิคโวลแทมเมทรี (Voltammetry)

1.3.2 เพื่อศึกษาตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัดสัญญาณตะกั่ว รวมถึงผลสัญญาณตะกั่วในสถานะที่มีแอปตาเมอร์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1. ได้วิธีการตรวจวัดปริมาณตะกั่วด้วยขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน โดยใช้เทคนิคโวลแทมเมทรี

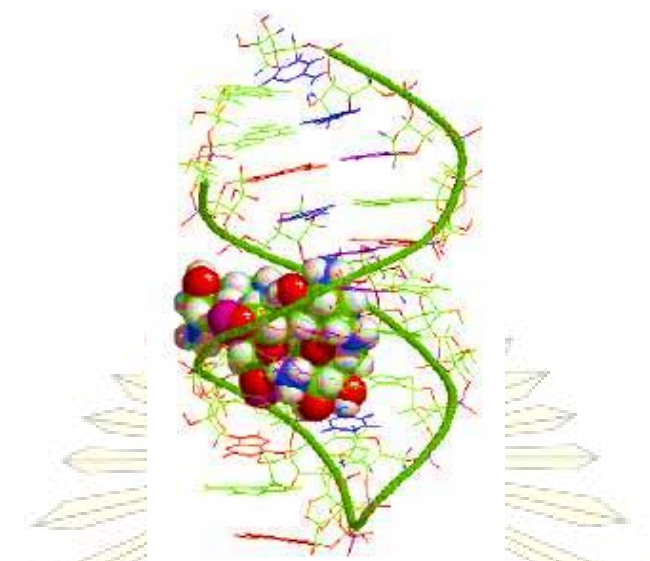
1.4.2. ได้ทราบถึงผลของตัวแปรต่าง ๆ ที่มีต่อการตรวจวัดสัญญาณตะกั่ว

1.5 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.5.1 แอปตาเมอร์

แอปตาเมอร์เป็นสายนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์จำพวกดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอที่มีคุณสมบัติที่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างในโครงสร้างสามมิติ ดังแสดงในรูปที่ 1.1 เพื่อจับกับโมเลกุลเป้าหมายได้อย่างจำเพาะ ถึงแม้ว่าโมเลกุลนั้นจะไม่ใช่สารที่จับอยู่กับดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอในธรรมชาติ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการผลิตแอปตาเมอร์ที่มีความจำเพาะกับโมเลกุลชนิดต่างๆ หลายชนิดตั้งแต่สารโมเลกุลเล็กไปจนถึงสารโมเลกุลใหญ่ เช่น ไอออนของโลหะ สี ยา คาร์โบไฮเดรต หรือโปรตีน โดยแอปตาเมอร์ที่ผลิตได้จะสามารถนำไปใช้ได้มีลักษณะเดียวกับโมโนโคลนอล แอนติบอดี (monoclonal antibody) เช่น ใช้ในการวินิจฉัย วินิจฉัยโรคและรักษาโรค โดยการผลิตแอปตาเมอร์สามารถทำได้โดยการคัดเลือกดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอที่มีคุณสมบัติในการจับกับโมเลกุลที่ต้องการที่ซึ่งมีลำดับเบสที่มีความแตกต่าง และซับซ้อนอย่างมากด้วยเทคนิค SELEX หรือ Systematic evolution of ligands by exponential enrichment จึงทำให้ที่มีคุณสมบัติตามที่ต้องการคล้ายกับโมโนโคลนอล แอนติบอดี แต่ขบวนการผลิตทุกขั้นตอนทำในหลอดทดลอง ทำให้ไม่ต้องใช้สัตว์ทดลองหรือใช้เวลาในการผลิตนานเหมือนการผลิตโมโนโคลนอล แอนติบอดี นอกจากนี้ขบวนการผลิตยังมีราคาถูกกว่าและผลิตได้ง่ายกว่า โดยในปัจจุบันแอปตาเมอร์ถูกนำมาใช้เป็นไบโอเซนเซอร์ในการตรวจวัดโลหะหนักต่าง ๆ เช่น ตะกั่วปรอท แคดเมียมเงิน สารหนู ร่วมกับเทคนิคเคมีไฟฟ้า เทคนิคอัลเลอริเมทรี หรือเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ ส่งผลให้แอปตาเมอร์ได้รับการพัฒนาตลอดจนนำไปใช้ในด้านต่างๆ อย่างแพร่หลายในช่วงเวลา

ไม่กี่ปีที่ผ่านมา¹⁷ แต่เนื่องด้วยแอปตาเมอร์เป็นดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอที่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างในโครงสร้างสามมิติได้ จึงต้องควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสม โดยมักจะอยู่ในช่วงค่าพีเอช 5.5 – 7.4¹⁸



รูปที่ 1.1 แสดงภาพจำลองของแอปตาเมอร์

1.5.2 โวลแทมเมตรี

โวลแทมเมตรีเป็นชื่อรวมของกลุ่มวิธีการวิเคราะห์หนึ่งทางเคมีไฟฟ้าที่เกี่ยวข้องกับกระแสศักย์ไฟฟ้า และการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างสารเคมี โดยมีปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง คือ ปฏิกิริยารีดักชัน และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งค่าศักย์ไฟฟ้าขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่นำมาวิเคราะห์ โดยเซลล์ไฟฟ้าเคมีมีขั้วไฟฟ้าที่สำคัญสองขั้วคือ ขั้วแคโทดและขั้วแอโนด^{19,20} ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสที่เกิดขึ้นกับพลังงานศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่วงจรภายใต้สภาวะการทดลองที่เกิดโพลาริเซชันที่ขั้วไฟฟ้าทำงาน ซึ่งในวงจรประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าสามขั้วดังรูปที่ 1.2 คือ ขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) และขั้วไฟฟ้าร่วม (counter electrode) โดยทั้งสามขั้วมีหน้าที่แตกต่างกันดังนี้

1.5.3 ขั้วไฟฟ้าทำงาน

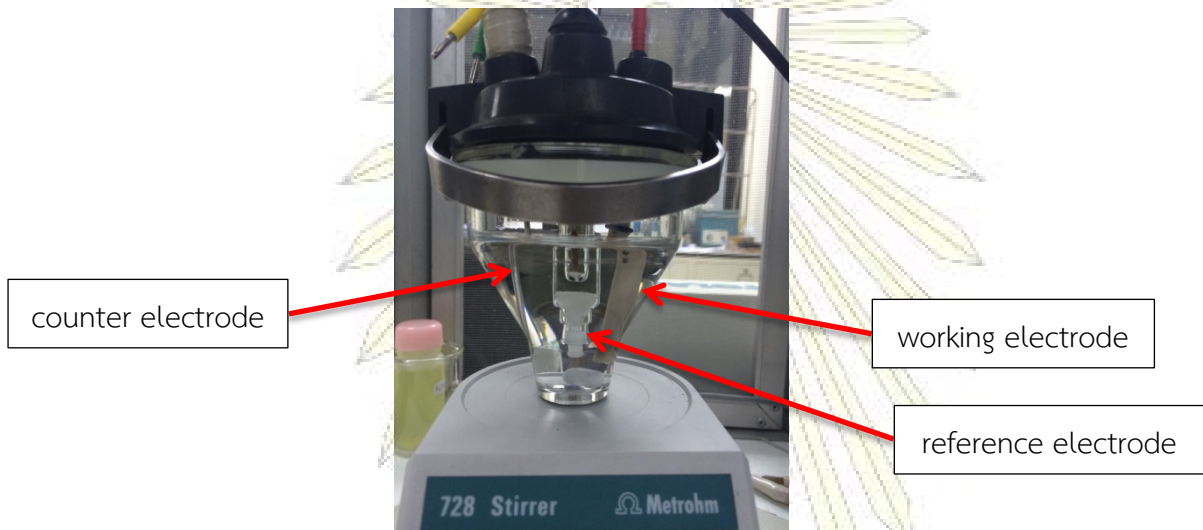
ขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) เป็นขั้วไฟฟ้าที่มีการตอบสนองต่อสารที่เราทำการวิเคราะห์ (analyte) ผ่านปฏิกิริยารีดักชัน หรือปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยขั้วไฟฟ้าสำหรับเทคนิคโวลแทมเมตรีจะมีขนาดพื้นที่ผิวน้อย เมื่อเทียบกับปริมาตรของสารละลาย (อัตราส่วนพื้นที่ผิวขั้วกับปริมาตรของสารละลายต่ำ) โดยทั่วไปขั้วไฟฟ้าทำงานมีหลายชนิด เช่น ขั้วไฟฟ้าปรอทหยด ขั้วไฟฟ้าคาร์บอน ขั้วไฟฟ้าทอง เป็นต้น

1.5.4 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง

ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) เป็นขั้วไฟฟ้าที่มีค่าศักย์ไฟฟ้าคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงตามสภาวะที่ใช้ในการทดลอง ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่นิยมใช้ เช่น ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ เนื่องจากสะดวกต่อการใช้งาน และการรักษา มีอายุการใช้งานนาน

1.5.5 ขั้วไฟฟาร่วม

ขั้วไฟฟาร่วม หรือขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) มีหน้าที่ช่วยเป็นทางผ่านของอิเล็กตรอน หรือกระแสไฟฟ้าจากขั้วไฟฟ้าทำงานโดยที่กระแสไฟฟ้าไม่ต้องผ่านขั้วไฟฟ้าอ้างอิง

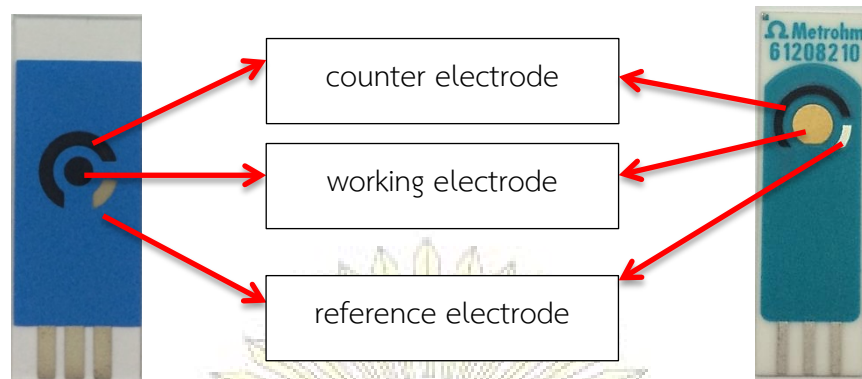


รูปที่ 1.2 ส่วนประกอบของเซลล์เคมีไฟฟ้า

1.5.6 ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเป็นขั้วไฟฟ้าที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สาร โดยมีลักษณะคล้ายกับขั้วไฟฟ้าที่ใช้ทั่วไป ซึ่งประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าสามขั้วดังรูปที่ 1.3 ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) ขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) โดยใช้เทคนิคการพิมพ์สกรีนลงบนวัสดุรองรับที่มีลักษณะเป็นแผ่นผิวเรียบ เช่น กระจก เซรามิกหรือแผ่นพอลิเมอร์เป็นต้น ซึ่งเทคนิคการพิมพ์สกรีนทำให้สามารถผลิตขั้วไฟฟ้าได้ปริมาณมากในครั้งเดียว โดยปัจจุบันได้มีการศึกษาการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าเพื่อให้มีคุณสมบัติอื่นได้เพื่อนำไปใช้ตรวจวัดสารต่าง ๆ ตามที่ต้องการ เช่น การผสมสารที่ใช้ในการปรับปรุงลงไปที่หมึกสกรีนโดยตรงหรือการใช้พอลิเมอร์ตรงสารที่ต้องการเคลือบไว้บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า เป็นต้น

ซึ่งโดยทั่วไปขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนจะถูกออกแบบมาให้มีขนาดเล็กและเพื่อให้ใช้แบบครั้งเดียวแล้วทิ้ง หรือใช้กับเครื่องมือแบบพกพาได้โดยการเสียบใช้งานได้ที่



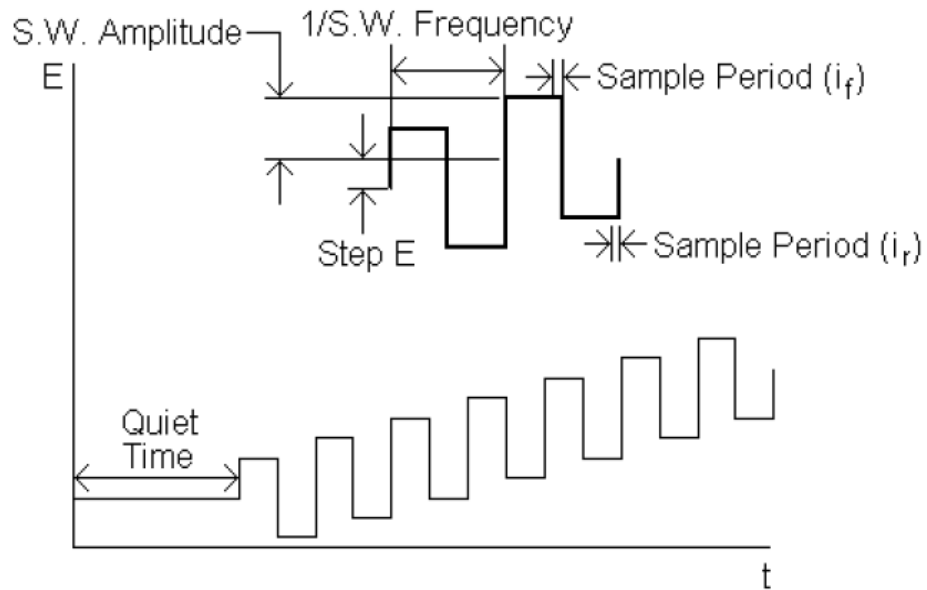
รูป 1.3 องค์ประกอบของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัท (ซ้าย) และขั้วไฟฟ้าทองพิมพ์สกรีน (ขวา)

1.5.7 รูปแบบสัญญาณกระตุ้นในเทคนิคโวลแทมเมตรี

สัญญาณกระตุ้นในเทคนิคโวลแทมเมตรี คือ การให้ศักย์ไฟฟ้าที่เปลี่ยนไปตามเวลากับระบบ ซึ่งเป็นการกระตุ้นทำให้สารที่เราทำการวิเคราะห์ (analyte) เกิดปฏิกิริยารีดักชันหรือออกซิเดชัน โดยแบ่งลักษณะของการให้ศักย์ไฟฟ้าได้ 2 ลักษณะ ได้แก่ ลิเนียร์สแกน (linear scan) และพัลส์ (pulse) โดยพัลส์โวลแทมเมตรีเป็นเทคนิควิเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารที่มีปริมาณต่ำ และมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชัน

1.5.7.1 พัลส์โวลแทมเมตรี (Pulse voltammetry)

1. สแควร์เวฟ (square wave) เป็นสัญญาณกระตุ้นที่ให้กับวงจรแบบพัลส์ช่วงสั้น ๆ ที่แตกต่างไปจากพัลส์แบบปกติ และดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ ซึ่งสามารถวิเคราะห์สารได้เร็วกว่า และมีความไวสูง ศักย์ไฟฟ้ารูปสแควร์เวฟนี้ ซ้อนอยู่บนศักย์ไฟฟ้าขั้นบันไดทำให้ผลลัพธ์ของพัลส์เป็นสแควร์เวฟที่เพิ่มขึ้นตามแต่ละขั้นของบันไดศักย์ไฟฟ้านั้น กระแสถูกวัดค่า 2 ครั้งต่อ 1 สแควร์เวฟ คือ ที่จุดสิ้นสุดของเวฟพัลส์ และที่จุดก่อนเกิดเวฟพัลส์ใหม่ ดังรูปที่ 1.4 โดยผลต่างของกระแสจะถูกบันทึกพร้อมกับศักย์ไฟฟ้า



รูปที่ 1.4 รูปแบบสัญญาณกระตุ้นแบบสแตร์เวฟ

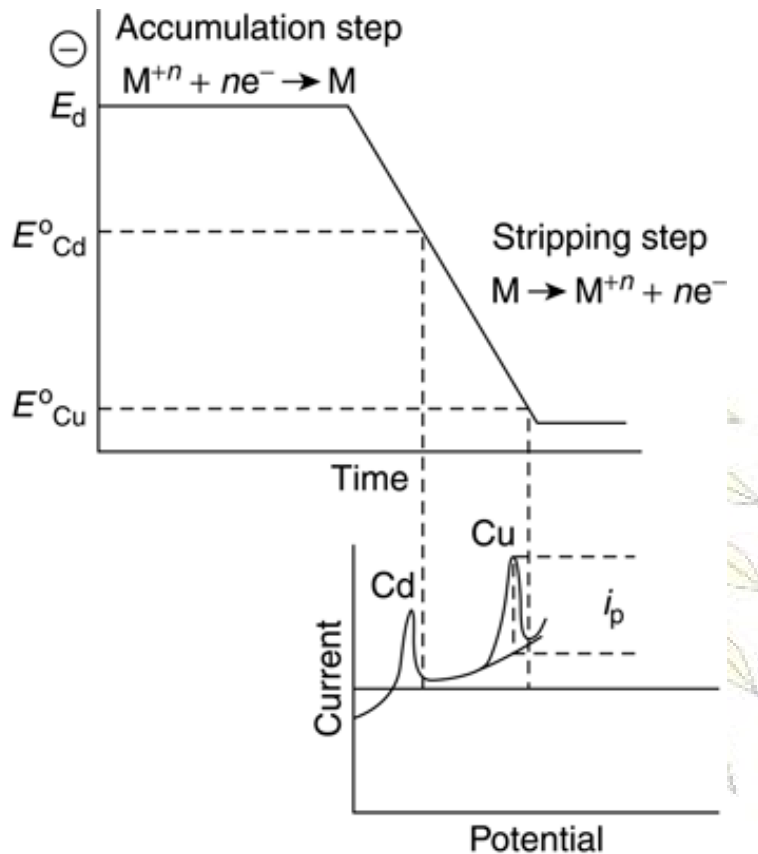
2. สตริปปิงโวลแทมเมตรี (stripping voltammetry)

สตริปปิงโวลแทมเมตรี เป็นเทคนิคที่มีความสามารถในการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าสูงมาก นั่นคือสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างโลหะปริมาณต่ำได้ดี เนื่องจากเทคนิคนี้จะเพิ่มขึ้นตอนที่ทำให้สารตัวอย่างมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (preconcentration) ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์โดยวิธีโวลแทมเมตรีต่อไป โดยขั้นตอนการวิเคราะห์ แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. ขั้นตกสะสม (Deposition step) เป็นขั้นที่ทำการตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ค่า ๆ หนึ่งนานพอสมควร (ค่าศักย์ไฟฟ้าสะสม) ในระยะนี้สารจะเคลื่อนที่เข้ามายังขั้วไฟฟ้า สารบางส่วนจะสะสมอยู่บนขั้ว ซึ่งในระยะนี้ จะมีการคนสารละลายด้วย และจะยังไม่มีการวัดค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้า
2. ขั้นเข้าสู่ภาวะสมดุล (Equilibrium step) เป็นขั้นที่จะปล่อยให้สารที่อยู่บนขั้วไฟฟ้า เข้าสู่สมดุล โดยจะหยุดการคนสารละลาย และยังคงไม่มีการวัดค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้า
3. ขั้นสตริปปิง (Stripping step) ในขั้นนี้จะมีการเปลี่ยนค่าศักย์ไฟฟ้าไปตามรูปแบบที่ต้องการ เช่น ลิเนียร์สแกน ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ เป็นต้น โดยสารที่ขั้วไฟฟ้าจะเกิดปฏิกิริยาแล้วกลับไปยังสารละลาย รูปแบบสัญญาณกระตุ้นแบบแอนอดิกสตริปปิงเป็นดังรูปที่ 1.5

ตัวอย่างเช่น หากเปลี่ยนค่าศักย์ไฟฟ้าไปทางบวก สารจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งจะเรียกรูปแบบนี้ว่า แอนอดิกสตริปปิงโวลแทมเมตรี แต่หากเปลี่ยนค่าศักย์ไฟฟ้าไปทางลบ สารจะเกิดปฏิกิริยารีดักชัน ซึ่งจะเรียกรูปแบบนี้ว่า แคโทดิกสตริปปิงโวลแทมเมตรี แล้วจะทำการวัดค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นเป็นฟังก์ชันเทียบกับ

ค่าศักย์ไฟฟ้า โดยกระแสจะถูกวัดต่อเนื่องตลอดเวลาในขั้นสตริบปีงโวลแทมโมแกรมที่ได้เป็นดังรูปที่ 1.5 โดยกราฟที่ได้จะคว่ำหรือหงาย จะขึ้นอยู่กับข้อกำหนดกระแสไฟฟ้าและชนิดของกระแสไฟฟ้า ซึ่งเทคนิคสตริบปีงโวลแทมเมทรีได้รับความนิยมถูกนำมาประยุกต์ใช้ทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์



รูปที่ 1.5 รูปแบบสัญญาณกระตุ้นแบบแอนโอดิกสตริบปีงและโวลแทมโมแกรมที่ได้จากเทคนิคแอนโอดิกสตริบปีงโวลแทมเมทรี

1.5.8 การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

1.5.8.1 การหาค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (limit of detection, LOD)

ขีดจำกัดในการตรวจวัด (limit of detection, LOD) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยขีดจำกัดในการตรวจวัด คัดจาก

$$\text{LOD} = 3\text{SD}/\text{Slope} \quad (\text{สมการที่ 1.1})^{21}$$

เมื่อ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) ของค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ในกราฟเทียบมาตรฐาน

Slope = ความชันของกราฟเทียบมาตรฐาน

1.5.8.2 การหาค่าขีดจำกัดในการหาปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

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

โดยขีดจำกัดในการหาปริมาณ คัดจาก

$$\text{LOQ} = 10\text{SD}/\text{Slope}$$

(สมการที่ 1.2)²¹

เมื่อ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) ของค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ในกราฟเทียบมาตรฐาน

Slope = ความชันของกราฟเทียบมาตรฐาน



บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 เครื่องโพเทนชิออสแตท: Autolab potentiostat 910 PSTAT Mini (Metrohm, Netherlands)

2.1.2 ขั้วไฟฟ้าทองพิมพ์สกรีน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร รุ่น 6.1208.210 (Metrohm, Netherlands)

2.1.3 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร รุ่น CI1703BI (Quasense, Thailand)

2.1.4 กล่องเชื่อมต่อสำหรับขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนกับเครื่องโพเทนชิออสแตท: SPE connector box (Quasense, Thailand)

2.1.5 พีเอชมิเตอร์ (Mettler Toledo)

2.1.6 ขวดกำหนดปริมาตร ขนาด 10.00, 50.00, 100.00 และ 250.00 มิลลิลิตร

2.1.7 ปีกเกอร์ ขนาด 10, 100 และ 500 มิลลิลิตร

2.1.8 ไมโครปิเปต (Eppendorf) ขนาด 10-100, 100-1000 และ 500-5000 ไมโครลิตร

2.1.9 ปิเปต (Eppendorf) ขนาด 1-10 มิลลิลิตร

2.1.10 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo)

เครื่องแก้วทุกชนิดผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน จากนั้นแช่ด้วย 1 เปอร์เซ็นต์กรดไนตริก และกลั้วด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำ Milli-Q ตามลำดับ ทิ้งไว้ให้แห้งก่อนนำมาใช้งาน

2.2 รายการสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ทั้งหมดเป็นเกรดสำหรับกราววิเคราะห์ (analytical grade) ซึ่งสารเคมีที่ใช้มีดังนี้

2.2.1 สารละลายตะกั่วมาตรฐาน, Pb (II) สำหรับ AAS เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (Kanto Chemical, Japan)

2.2.2 สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต เข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.6 (Sodium Acetate buffer, CARLO ERBA, France)

2.2.3 สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต เข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.6, 5.8, 6.0 และ 6.2 (Potassium Acetate buffer, CARLO ERBA, France)

- 2.2.4 สารละลายบัฟเฟอร์ซิเตรต เข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 6.1 (Citrate buffer, CARLO ERBA, France)
- 2.2.5 กรดไนตริกเข้มข้น (Concentrate nitric acid, Quality Reagent Chemical, New Zealand)
- 2.2.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, CARLO ERBA, France)
- 2.2.7 แอปตาเมอร์ เข้มข้น 5 และ 1 ไมโครโมลาร์
- 2.2.8 น้ำ Milli-Q ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) จาก Milli-Q Ultrapure Water Purification system (Millipore, USA)

2.3 การเตรียมสารละลาย

- 2.3.1 สารละลายมาตรฐานตะกั่ว เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร
 ปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 200.00 ไมโครลิตร ใส่ขวดกำหนดปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำ Milli-Q
- 2.3.2 สารละลายมาตรฐานตะกั่ว เข้มข้น 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร
 ปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 1.00 มิลลิลิตร ใส่ขวดกำหนดปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำ Milli-Q
- 2.3.3 สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 5.6
 เตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution)
 สารละลาย A : โซเดียมอะซิเตต เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ชั่งโซเดียมอะซิเตต 4.1017 กรัม ละลายในน้ำกลั่นหรือน้ำ Milli-Q ปรับปริมาตรเป็น 250.00 มิลลิลิตร)
 สารละลาย B : กรดอะซิติก เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (เติมกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 250.00 มิลลิลิตร)
 นำสารละลาย A ปริมาตร 45.2 มิลลิลิตร และสารละลาย B ปริมาตร 4.8 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำให้เป็น 100.00 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชก่อนนำไปใช้

- 2.3.4 สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6, 5.8, 6.0 และ 6.2
 เตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution)
 สารละลาย A : โพแทสเซียมอะซิเตต เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ชั่งโซเดียมอะซิเตต 4.9075 กรัม ละลายในน้ำกลั่นหรือน้ำ Milli-Q ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร)

สารละลาย B : กรดอะซิติก เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (เติมกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร เป็น 250.00 มิลลิลิตร)

นำสารละลาย A ปริมาตร 45.2 มิลลิลิตร และสารละลาย B ปริมาตร 4.8 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำให้เป็น 100 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชก่อนนำไปใช้

2.3.5 สารละลายบัฟเฟอร์ซีเตรต พีเอช 6.1

เตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution)

สารละลาย A : ไตรโซเดียมซีเตรต ($C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$) เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ซึ่งไตรโซเดียมซีเตรต 5.8820 กรัม ละลายในน้ำกลั่นหรือน้ำ Milli-Q ปรับปริมาตรเป็น 100.00 มิลลิลิตร)

สารละลาย B : กรดซิตริก เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ซึ่งกรดซิตริก 1.9212 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 100.00 มิลลิลิตร)

นำสารละลาย A ปริมาตร 42.8 มิลลิลิตร และสารละลาย B ปริมาตร 7.2 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำให้เป็น 100 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชก่อนนำไปใช้

2.3.6 สารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟส พีเอช 7.4

เตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution)

สารละลาย A : ไดโซเดียมฟอสเฟส (Na_2HPO_4) เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ซึ่งไดโซเดียมฟอสเฟส 2.8392 กรัม ละลายในน้ำกลั่นหรือน้ำ Milli-Q ปรับปริมาตรเป็น 100.00 มิลลิลิตร)

สารละลาย B : โซเดียมฟอสเฟส (NaH_2PO_4) เข้มข้น 0.2 โมลาร์ (ซึ่งโซเดียมฟอสเฟส 1.1992 กรัม ปรับ ปริมาตรเป็น 100.00 มิลลิลิตร)

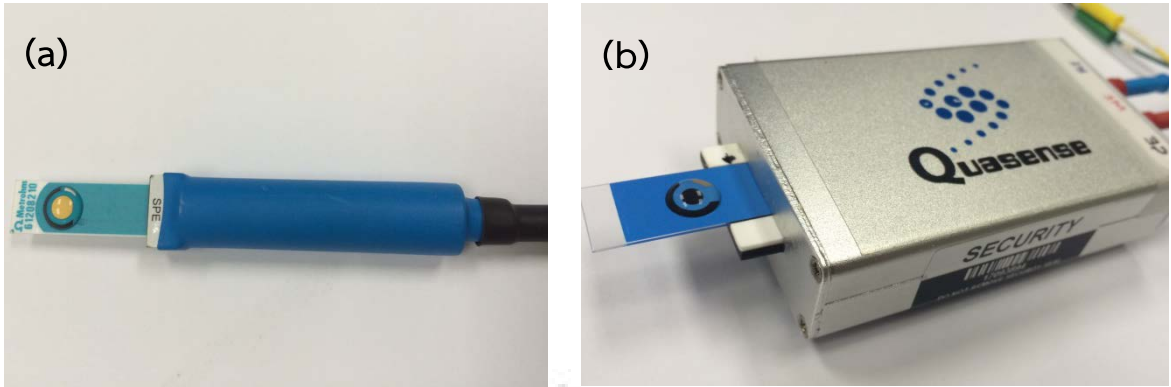
นำสารละลาย A ปริมาตร 42.8 มิลลิลิตร และสารละลาย B ปริมาตร 7.2 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำให้เป็น 100 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชก่อนนำไปใช้

2.4 การวัดด้วยเทคนิคสแควร์เวฟแอนโอดิกสตริปิงโวลแทมเมทรี (SWASV)

ในส่วนนี้เป็นการศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อสัญญาณตะกั่ว เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ ตะกั่ว ด้วยเทคนิคสแควร์เวฟแอนโอดิกสตริปิงโวลแทมเมทรี โดยการศึกษาประกอบด้วย การเปรียบเทียบผล ของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน ทดสอบการใช้ขั้วของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน มีขั้นตอนหลักดังนี้

ขั้นตอนหลัก

- 1) เชื่อมต่อขั้วไฟฟ้าทองพิมพ์สกรีนกับเครื่องโพเทนชิออสแตทด้วยสายเชื่อมต่อ และขั้วไฟฟ้าคาร์บอน พิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัทกับเครื่องโพเทนชิออสแตทด้วยกล่องเชื่อมต่อ (connector box) แสดง ดังรูปที่ 2.1a แสดงดังรูปที่ 2.1b



รูป 2.1 (a) แสดงการเชื่อมต่อขั้วไฟฟ้าของพิมพ์สกรีนกับเครื่องโพเทนชิออสแตทด้วยสายเชื่อมต่อและ (b) แสดงการเชื่อมต่อขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัทกับเครื่องโพเทนชิออสแตทด้วยกล่องเชื่อมต่อ (connector box)

- 2) ปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่วเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ โฟแทสเซียมอะซิเตตเข้มข้น พีเอช 5.6 มา 80.00 ไมโครลิตร หยดลงบนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งานของขั้วไฟฟ้าของพิมพ์สกรีนหรือขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัท
- 3) ทำการทดลองวิเคราะห์สารละลายตะกั่วด้วยเทคนิคสแควร์เวฟแอนโอดิกสตริปปีงโวลแทมเมตรีสำหรับขั้วไฟฟ้าของพิมพ์สกรีนสแกนค่าศักย์ไฟฟ้าจาก -1.6 ไปยัง 0.0 โวลต์ ส่วนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัทสแกนค่าศักย์ไฟฟ้าจาก -1.4 ไปยัง -0.5 โวลต์ โดยใช้ศักย์ไฟฟ้าแต่ละขั้น 5 มิลลิโวลต์ แอมพลิจูด 75 มิลลิโวลต์ ความถี่ 50 เฮิรตซ์ ศักย์ไฟฟ้าสะสม -1.4 โวลต์ และเวลาดกสะสม 60 วินาทีเช่นเดียวกัน บันทึกสัญญาณที่ได้ ล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำ Milli-Q 1-2 ครั้ง เป่าให้หน้าขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแห้งด้วยลูกยางดูดปิเปต
- 4) ทำการทดลองข้อ 2) - 3) ซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยใช้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนขั้วเดิม

2.4.1 เปรียบเทียบผลของชนิดขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

ทำการทดลองตามขั้นตอนหลัก โดยใช้ขั้วไฟฟ้าของพิมพ์สกรีน และขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัท ตามลำดับ

2.4.2 ทดสอบการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

2.4.2.1 วิธีการล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

ทำการทดลองตามขั้นตอนหลัก โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนตัดแปรด้วยบิสมัท ซึ่งในขั้นตอนที่

- 3) ทำการล้างผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งานพิมพ์สกรีนด้วยวิธีใดวิธีหนึ่ง ดังนี้ จากนั้นเป่าให้หน้าขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแห้งด้วยลูกยางดูดปิเปต แล้วทำข้อ 2) และ 3) ซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

- 3.1) ล้างด้วยการนำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแช่ในน้ำกลั่น จากนั้นนำเข้าเครื่องสั่นความถี่สูง (sonicate) เป็นเวลา 45 วินาที
- 3.2) ล้างด้วยน้ำกลั่น
- 3.3) ล้างด้วยน้ำกลั่น ในขณะที่ตรงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที
- 3.4) ล้างด้วยน้ำกลั่น ในขณะที่ตรงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที
- 3.5) ล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 ในขณะที่ตรงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที
- 3.6) ล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 ในขณะที่ตรงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที
- 3.7) ล้างด้วยการนำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแช่ใน 1 เปอร์เซ็นต์ กรดไนตริก เป็นเวลา 1 คืน

2.4.2.2 เปรียบเทียบการใช้ขั้วของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแบบใช้ภายในวันเดียวกันและแบบใช้ข้ามวัน

ทำการทดลองตามขั้นตอนหลัก โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัทชนิดที่ใช้แล้วข้ามวัน และเปลี่ยนมาใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัทอันใหม่ ซึ่งในขั้นตอนที่ 2) และ 3) ทำซ้ำอย่างน้อย 30 ครั้ง

2.4.2.3 ทดสอบวัดสัญญาณของตะกั่ว ณ ความเข้มข้นต่าง ๆ

ทำการทดลองตามขั้นตอนหลัก โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2.1 บันทึกสัญญาณที่ได้จากความเข้มข้นสูงไปต่ำ และความเข้มข้นจากต่ำไปสูง ตามลำดับ ทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้งต่อความเข้มข้นหนึ่ง ๆ

ตารางที่ 2.1 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้นต่าง ๆ จากปริมาตรของสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ใช้

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 20.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (มิลลิลิตร)
0.50	0.25
2.00	1.00
3.50	1.75
5.00	2.50

2.4.3 ทดสอบผลของชนิดและค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีต่อสัญญาณของตะกั่ว

2.4.3.1 ทดสอบชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์

ทำการทดลองตามขั้นตอนหลัก โดยในขั้นตอนที่ 2) เปลี่ยนจากละลายสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ต่าง ๆ ดังนี้ หยอดลงบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนอันใหม่ ทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้งต่อสารละลายอิเล็กโทรไลต์หนึ่ง ๆ

- 1) สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตตเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.6
- 2) สารละลายบัฟเฟอร์ซีเตรตเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 6.1
- 3) สารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.4

2.4.3.2 ค่าพีเอช (pH) ที่เหมาะสม

ทำการทดลองตามขั้นตอนหลัก โดยในขั้นตอนที่ 2) เปลี่ยนค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตตที่ละลายสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้แก่ พีเอช 5.8 6.0 และ 6.2 ตามลำดับ หยอดลงบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนอันใหม่ ทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้งต่อสารละลายอิเล็กโทรไลต์หนึ่ง ๆ

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

2.5.1 การสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) และการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ตะกั่ว

ทำการทดลองตามขั้นตอนหลัก โดยใช้สารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้นดังตารางที่ 2.2 บันทึกสัญญาณของตะกั่วที่ได้ ทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้งต่อความเข้มข้นหนึ่ง ๆ จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว ในภาวะที่เหมาะสม

ตารางที่ 2.2 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้นต่าง ๆ จากปริมาตรของสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ใช้สำหรับสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 20.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (มิลลิลิตร)
0.50	0.25
1.00	0.50
2.00	1.00
6.00	3.00
10.00	5.00
15.00	7.50

2.5.2 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

จากการสร้างกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว เพื่อศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง สามารถคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) ได้จากสูตร ดังสมการที่ 1.1

$$\text{LOD} = 3\text{SD}/\text{Slope} \quad (\text{สมการที่ 1.1})^{21}$$

เมื่อ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) ของค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ในกราฟเทียบมาตรฐาน

$$\text{Slope} = \text{ความชันของกราฟเทียบมาตรฐาน}$$

2.5.3 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

จากการสร้างกราฟมาตรฐานของความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว เพื่อศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง สามารถคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification, LOQ) ได้จากสูตร ดังสมการที่ 1.2

$$\text{LOQ} = 10\text{SD}/\text{Slope} \quad (\text{สมการที่ 1.2})^{21}$$

เมื่อ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) ของค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของความเข้มขั้นต่ำสุดที่วัดได้ในกราฟเทียบมาตรฐาน

Slope = ความชันของกราฟมาตรฐาน

2.6 ศึกษาการหายไปของตะกั่วในสถานะที่มีแอมป์ตาเมอร์

แอมป์ตาเมอร์ที่มีความจำเพาะกับตะกั่ว ถูกสังเคราะห์ขึ้นจาก ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.6.1 วัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ในสถานะที่มีแอมป์ตาเมอร์ปริมาณต่าง ๆ

- 1) เชื่อมต่อขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัทกับเครื่องโพเทนชิออสแตทด้วยกล่องเชื่อมต่อแสดงดังรูปที่ 2.1b ดังกล่าวข้างต้น
- 2) ปิเปตแอมป์ตาเมอร์เข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ 25 มิลลิลิตร แช่ในน้ำแข็ง
- 3) ปิเปต 0.30 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานตะกั่วเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 ลงในบีกเกอร์ที่มีแอมป์ตาเมอร์ที่แช่ในน้ำแข็ง เขย่าให้สารละลายเข้ากัน
- 4) ปิเปตสารละลายในบีกเกอร์ 80.00 ไมโครลิตร หยดลงบนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งานของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท
- 5) ทำตามการทดลองขั้นตอนหลัก ในขั้นตอนที่ 3) และ 4)
- 6) ทำข้อ 2) ถึง 5) ซ้ำ โดยใช้แอมป์ตาเมอร์เข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร หยดลงบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนอันเดิม

2.6.2 วัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ในสถานะที่มีแอมป์ตาเมอร์ปริมาณคงที่

- 1) เชื่อมต่อขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนกับเครื่องโวลแทมเมทรีด้วยกล่องเชื่อมต่อ
- 2) ปิเปตแอมป์ตาเมอร์เข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร แช่ในน้ำแข็ง
- 3) ปิเปต 0.50 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานตะกั่วเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียม อะซิเตต พีเอช 5.6 มา 0.30 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ที่มีแอมป์ตาเมอร์ที่แช่ในน้ำแข็ง เขย่าให้สารละลายเข้ากัน
- 4) ปิเปตสารละลายในบีกเกอร์ 80.00 ไมโครลิตร หยดลงบนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งานของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท

- 5) ทำตามการทดลองขั้นตอนหลัก ในขั้นตอนที่ 3) และ 4)
- 6) ทำข้อ 2) ถึง 5) ซ้ำ โดยปีเปต 1.00 และ 1.50 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานตะกั่วเข้มข้น 10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร หยดลงบนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนอันเดม



บทที่ 3

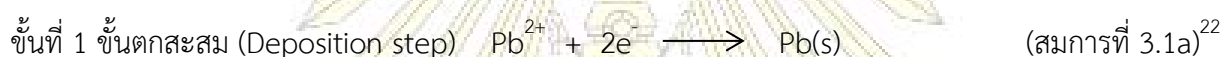
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาความสามารถในการจับตะกั่วของแอปตาเมอร์ผ่านการเปลี่ยนแปลงสัญญาณตะกั่ว ซึ่งนับเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาโดยตรง โดยใช้วิธีสแควร์เวฟแอนอดิกสตริบปีงโวลแทมเมตรี (square wave anodic stripping voltammetry) และชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีน โดยจะศึกษาผลของค่าตัวแปรต่างๆ ที่มีต่อการตรวจวัดสัญญาณตะกั่ว ทดสอบการใช้ซ้ำของชีวไฟฟ้าใช้งาน และช่วงความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดตะกั่วได้ ผลการทดลองมีดังนี้

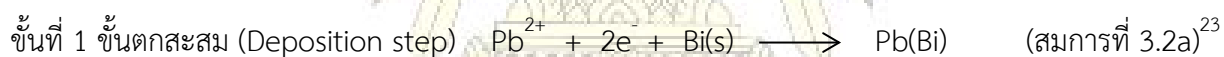
3.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สัญญาณตะกั่ว

3.1.1 ผลการเปรียบเทียบชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

ทำการเปรียบเทียบสัญญาณของตะกั่วเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่วัดด้วยชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนทอง และชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีนคาร์บอนดัดแปรด้วยบิสมัท ด้วยเทคนิคสแควร์เวฟแอนอดิกสตริบปีงโวลแทมเมตรี



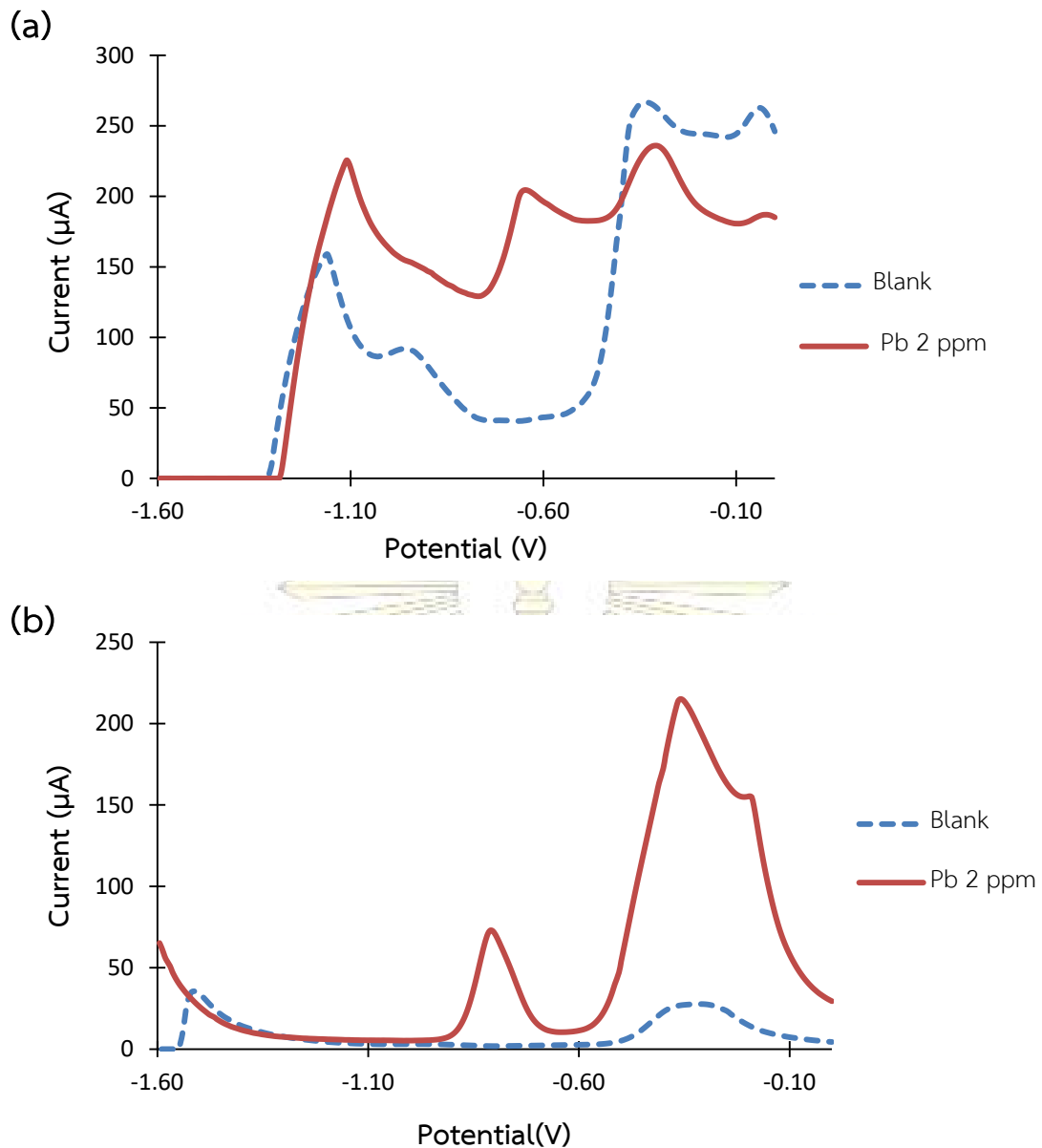
ที่ $E_{\text{dep}} = -1.4 \text{ V}$



ที่ $E_{\text{dep}} = -1.4 \text{ V}$



ปฏิกิริยาของตะกั่วที่เกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนของการให้ศักย์ไฟฟ้าบนชีวไฟฟ้าพิมพ์สกรีน และชีวไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัทแสดงดังสมการที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับดังนี้



รูปที่ 3.1 โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 บน (a) ขั้วไฟฟ้าทองพิมพ์สกรีน และ (b) ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท โดยใช้ศักย์ไฟฟ้าแต่ละขั้น 5 มิลลิโวลต์ แอมพลิจูด 75 มิลลิโวลต์ ความถี่ 50 เฮิรตซ์ ค่าศักย์ไฟฟ้าสะสม -1.4 โวลต์ และเวลาตกสะสม 60 วินาที

จากการทดลองพบว่า ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนทอง (รูปที่ 3.1a) ปรากฏสัญญาณไฟฟ้าขึ้นหลายตำแหน่ง โดยไม่ใช่สัญญาณไฟฟ้าจากออกซิเจน เนื่องจากออกซิเจนเกิดปฏิกิริยารีดักชัน 2 ขั้นตอน แต่จากการทดลองสแกนค่าศักย์ไฟฟ้าไปทางบวก เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงคาดว่าน่าจะมีสัญญาณรบกวนจากสารอื่น ๆ ที่อยู่ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ จากรูปที่ 3.1a จะเห็นว่า มีสัญญาณไฟฟ้าปรากฏทั้งในสารละลาย

แบบลงกัและสารละลายมาตรฐานของตะกั่ว 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตด พีเอช 5.6 โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณไฟฟ้าของพื้นหลัง (baseline) พบว่าที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า -0.6 โวลต์ เป็นสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ที่มีลักษณะสมมาตร แต่เอียงตามฐานโวลแทมโมแกรมที่สูงขึ้น ส่วนผลของขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท (รูปที่ 3.1b) พบว่า สัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วปรากฏที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า -0.8 โวลต์ สัญญาณมีลักษณะสมมาตร พื้นหลังเรียบ และมีความลาดเอียงน้อย นอกจากนี้ยังให้ค่าสัญญาณไฟฟ้าที่สูงกว่าขั้วไฟฟ้าทองพิมพ์สกรีน และไม่ปรากฏสัญญาณรบกวนของออกซิเจน ส่วนศักย์ไฟฟ้าที่ตำแหน่ง -0.4 โวลต์ เป็นสัญญาณไฟฟ้าของบิสมัทที่ใช้ดัดแปรลงบนผิวขั้วไฟฟ้าใช้งาน²⁴

เมื่อพิจารณาโวลแทมโมแกรมของทั้ง 2 ขั้วไฟฟ้านี้ พบว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัทให้สัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วดีกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัทสำหรับการทดลองในขั้นต่อไป

3.1.2 ผลการทดสอบการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

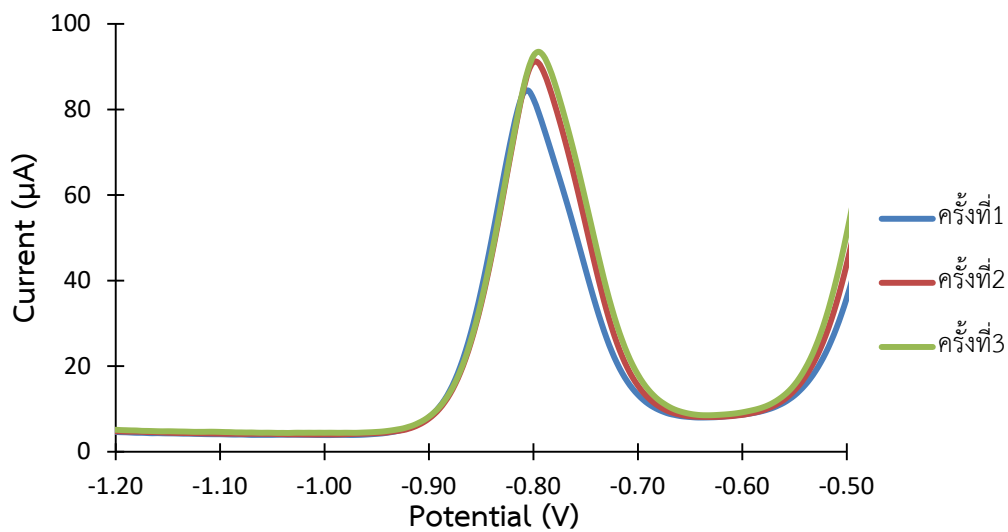
เนื่องจากขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนถูกผลิตขึ้นมาเพื่อให้สะดวกต่อการใช้งาน และในทางการค้า บริษัทผู้ขายขั้วไฟฟ้าชนิดนี้นิยมแจ้กับผู้ใช้งาน ใ้ใช้งานเพียงครั้งเดียว (Single use) กล่าวคือ ทำการสแกนค่าศักย์ไฟฟ้าได้เพียง 1 ครั้งต่อแผ่น แล้วให้เปลี่ยนไปใช้แผ่นใหม่ ซึ่งนับเป็นการสิ้นเปลืองและทำให้ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูงขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจทดสอบการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน ด้วยวิธีต่าง ๆ โดยตรวจวัดสัญญาณของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจวัดด้วยเทคนิคสแควร์เวฟแอนโอดิกสตริบปีงโวลแทมเมทรี บนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัทเป็นดังแสดง

3.1.2.1 วิธีการล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน

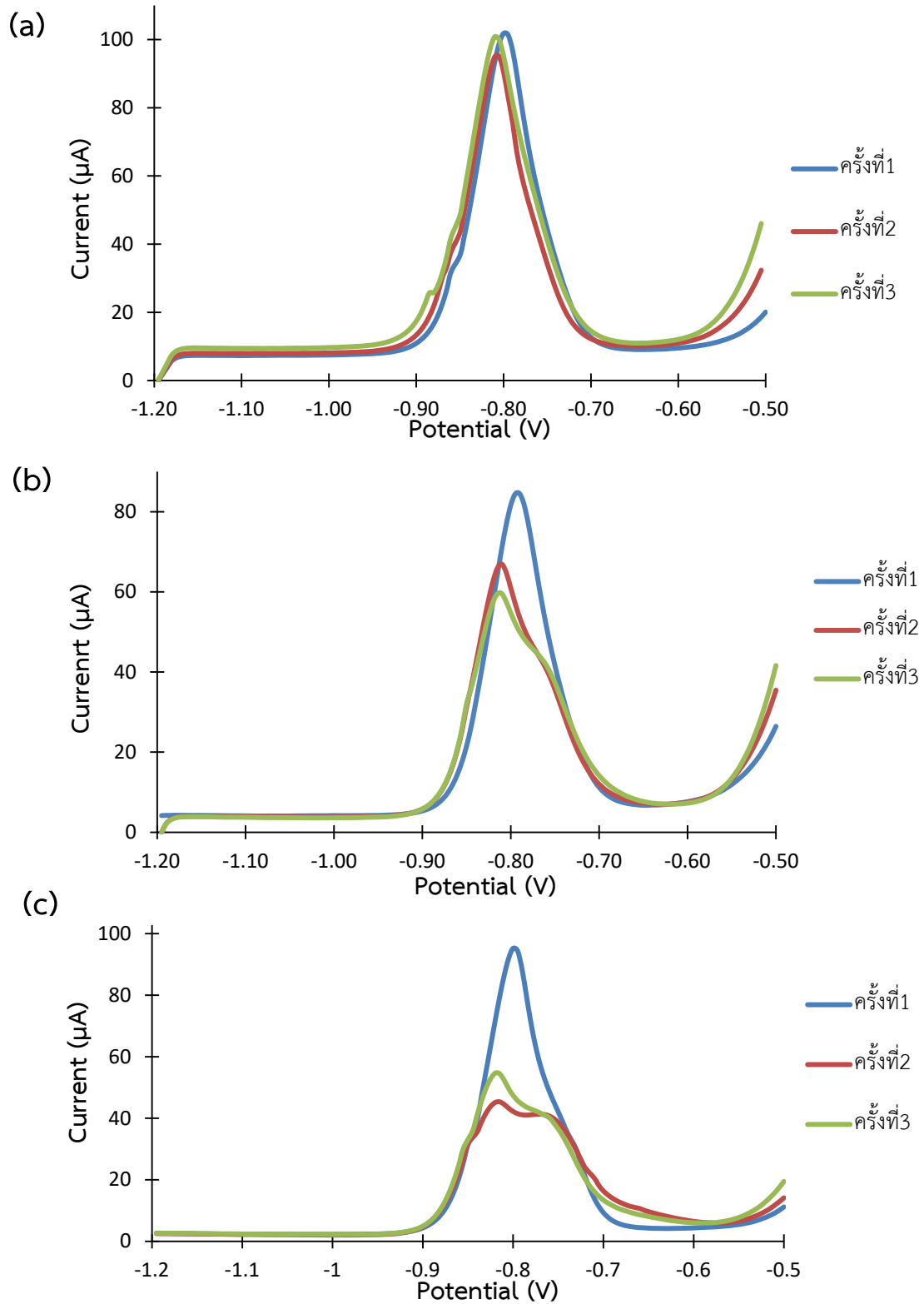
ทดสอบการวัดซ้ำของสัญญาณตะกั่วเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการล้างผิวขั้วไฟฟ้า ก่อนการวัดซ้ำครั้งที่ 2 และ 3 ด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

- 1) ล้างโดยการนำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนจุ่มน้ำกลั่นนำเข้าเครื่องสั่นความถี่สูง (Sonicate) เป็นเวลา 45 วินาที ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.2
- 2) ล้างด้วยน้ำกลั่น ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.3a
- 3) ล้างด้วยน้ำกลั่น ในขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.3b
- 4) ล้างด้วยน้ำกลั่น ในขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.3c

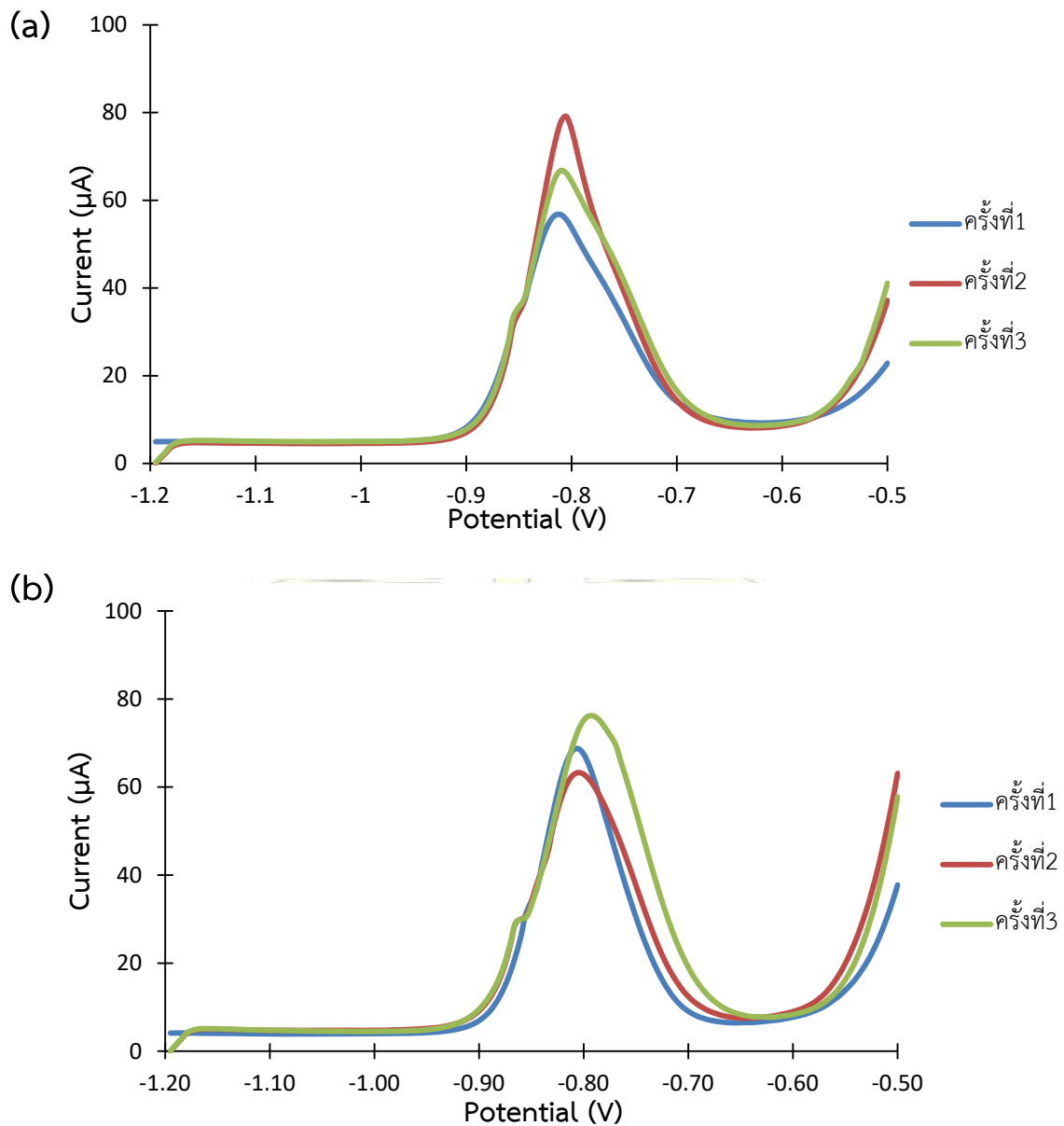
- 5) ล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตตเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.6 ในขณะที่
ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่
3.4a
- 6) ล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตตเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.6 ในขณะที่
ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่
3.4b
- 7) ล้างโดยการนำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแคใน 1 เปอร์เซ็นต์ กรดไนตริก เป็นเวลา 1 คืน ได้ผล
การทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.5



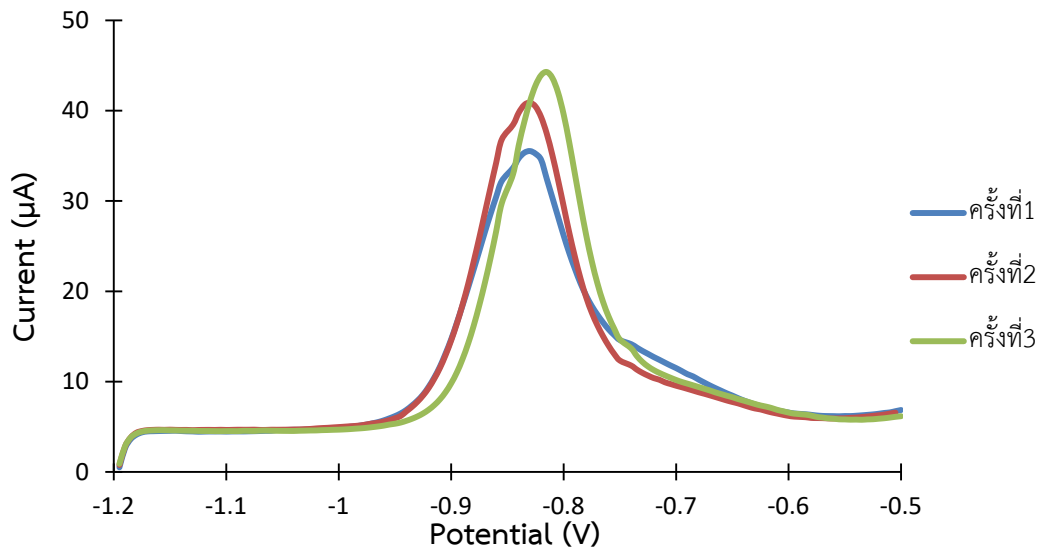
รูปที่ 3.2 โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยวิธีจุ่มน้ำกลั่นนำเข้าเครื่องสั่นความถี่สูง เป็นเวลา 45 วินาที วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.3 โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยวิธี (a) ล้างน้ำกลั่นไม่มีการตรึงค่าศักย์ไฟฟ้า (b) ขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที และ (c) ขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.4 โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยวิธีล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (a) ขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที และ (b) ขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.5 โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนด้วยการนำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแช่ใน 1 เปอร์เซ็นต์ กรดไนตริก เป็นเวลา 1 คืน วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1

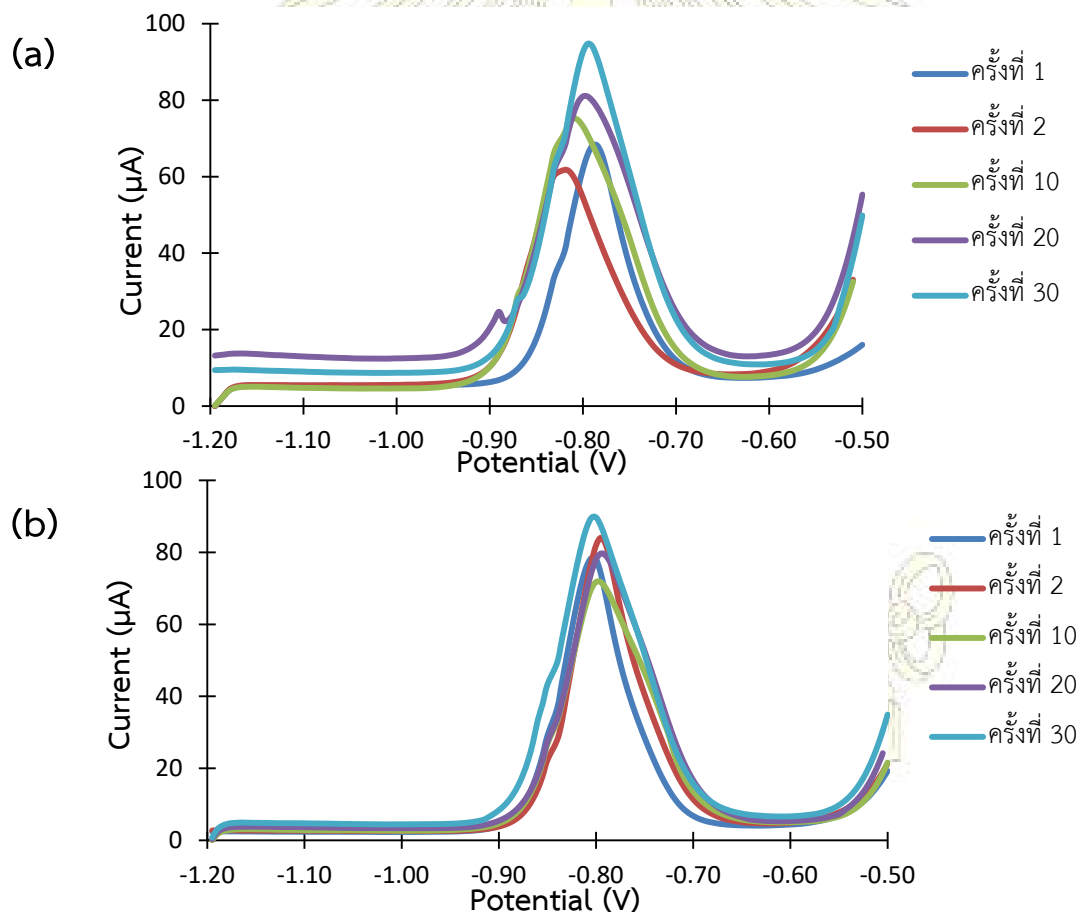
เมื่อพิจารณาผลการทดลองข้างต้นพบว่า เราสามารถจัดวิธีการล้างขั้วไฟฟ้าออกเป็น 2 กลุ่มหลักๆ คือ กลุ่มที่ทำการล้างขั้วไฟฟ้าด้วยการตรึงค่าศักย์ไฟฟ้า (วิธีที่ 3–6) และกลุ่มที่ทำการล้างขั้วไฟฟ้าโดยไม่มีการตรึงค่าศักย์ไฟฟ้า (วิธีที่ 1, 2 และ 7) โดยวิธีการล้างทำความสะอาดขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนคาร์บอนดัดแปรด้วยบิสมัท ด้วยการตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าในด้านที่เป็นบวกเมื่อเทียบกับพิกสัญญาณของตะกั่ว (รูปที่ 3.3b–3.4b) เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของตะกั่วที่อาจตกค้างอยู่บนผิวของขั้วไฟฟ้า (ดังสมการที่ 3.2b) ไม่ส่งผลต่อการวัดซ้ำของสัญญาณตะกั่ว โดยผลการทดลองในรูปที่ 3.3b และ 3.3c แสดงถึงแนวโน้มการลดลงของสัญญาณตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการวัดซ้ำในครั้งที่ 2 และ 3 ทั้งนี้การลดลงของสัญญาณเกิดมากขึ้น เมื่อเปลี่ยนค่าศักย์ไฟฟ้าที่ตรึงจาก -0.6 โวลต์ (รูปที่ 3.3b) ไปเป็น 0.3 โวลต์ (รูปที่ 3.3c) ซึ่งน่าจะเกิดมาจากการหลุดออกของบิสมัทบนผิวของขั้วไฟฟ้าใช้งานในขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ในทางบวก²⁵ ทั้งนี้ผลกระทบของการหลุดออกของบิสมัทปรากฏน้อยลงเมื่อเปลี่ยนตัวทำละลายจากน้ำกลั่นมาเป็นสารละลายบัพเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตด (รูปที่ 3.4)

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงวิธีการล้างขั้วไฟฟ้าแบบที่ไม่มีการตรึงค่าศักย์ไฟฟ้า อันได้แก่ วิธีที่ 1, 2 และ 7 (รูปที่ 3.2, 3.3a และ 3.5) พบว่า สัญญาณของตะกั่วที่วัดได้ในการสแกนครั้งที่ 1, 2 และ 3 (รูปที่ 3.2, 3.3a และ 3.3b) มีค่าใกล้เคียงกันมากขึ้น โดยวิธีการล้างขั้วไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่นให้ค่าสัญญาณไฟฟ้าที่มีการทับซ้อนกันมากที่สุด และได้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการล้างขั้วไฟฟ้าด้วยเครื่องสั่นความถี่สูง (sonicator) โดยการนำเข้าเครื่องสั่นความถี่สูง อาจทำให้มีผลกับการหลุดออกของบิสมัทออกจากผิวขั้วไฟฟ้าใช้งานได้ และการแช่ทำความสะอาดขั้วด้วย กรดไนตริก 1 เปอร์เซ็นต์ อาจทำลายผิวหน้าขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนจึงส่งผลต่อการวัดสัญญาณตะกั่วได้ลดลง ดังนั้นเมื่อต้องการใช้ขั้วซ้ำในการวัดสัญญาณของตะกั่ว

ผู้ทดลองจึงเลือกใช้วิธีการล้างผิวของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนคาร์บอนดัดแปรด้วยบิสมัทด้วยน้ำกลั่นก่อนทำการวัดครั้งต่อไป

3.1.2.2 เปรียบเทียบการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแบบใช้ภายในวันเดียวกันและแบบใช้ข้ามวัน

เนื่องจากการล้างทำความสะอาดผิวของขั้วไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่นโดยไม่มีการตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าในระหว่างการล้าง ทำให้สามารถนำขั้วไฟฟ้าที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ได้ การทดลองนี้จึงจะทำการเปรียบเทียบการนำขั้วไฟฟ้าที่ใช้แล้วกลับมาใช้ซ้ำแบบภายในวันเดียวกัน และแบบข้ามวัน โดยศึกษาผ่านสัญญาณของสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจสอบด้วยเทคนิคสแควร์เวฟโวลติกสตริบิงโวลแทมเมตรีบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท ที่ทำการตรวจวัดสัญญาณซ้ำ ๆ กัน 30 ครั้ง โดยทำการล้างทำความสะอาดผิวของขั้วไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่นก่อนทุก ๆ ครั้งที่จะทำการสแกนในครั้งต่อไป ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการวัดครั้งที่ 1, 2, 10, 20 และ 30 โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท (a) ขั้วที่ใช้มาแล้ววันก่อน และ (b) ขั้วอันใหม่ วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1

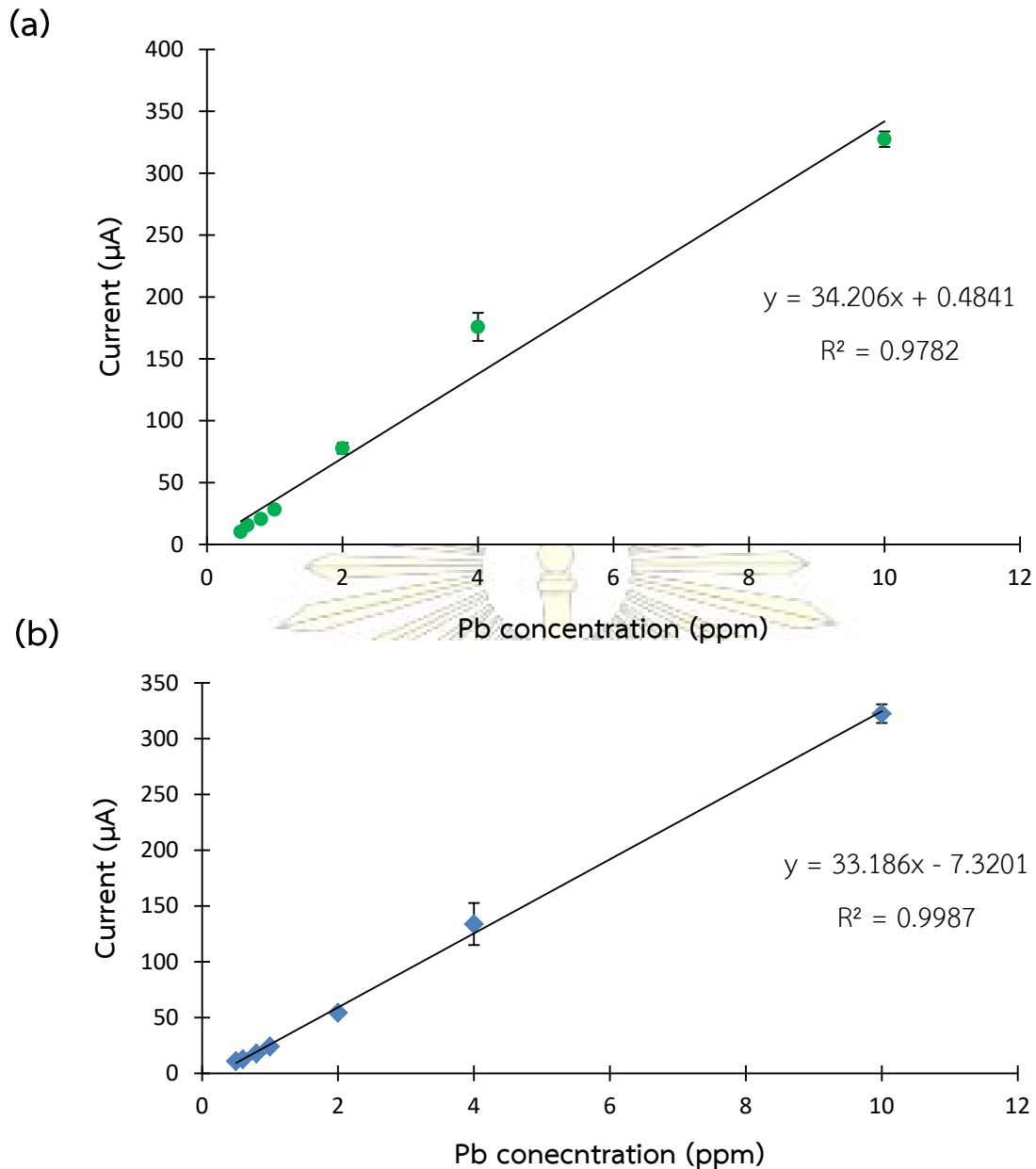
จากผลการทดลองพบว่า สัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วที่ตรวจวัดได้จากขั้วไฟฟ้าที่ใช้มาแล้วเมื่อวันก่อนมีค่าความเที่ยงน้อย ทั้งในแง่ความสูงและตำแหน่งของสัญญาณ (รูปที่ 3.6a) ซึ่งอาจเกิดจากผิวหน้าขั้วไฟฟ้าใช้งานไม่สะอาด อันเนื่องมาจากการใช้งานแล้วเก็บไว้ข้ามวัน ก่อนนำกลับมาใช้ใหม่ ในขณะที่ขั้วไฟฟ้าอันใหม่ให้ค่าสัญญาณไฟฟ้าที่มีความเที่ยงมากกว่า โดยเฉพาะในแง่ของตำแหน่งสัญญาณ (รูปที่ 3.6b) จากผลการทดลองนี้แสดงตารางที่ 3.1 จะเห็นว่า ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนคาร์บอนดัดแปรบิสมัทอันใหม่สามารถนำกลับมาใช้งานซ้ำ ๆ ได้ไม่ต่ำกว่า 20 ครั้งต่อการใช้งานใน 1 วัน และไม่ควรรนำขั้วไฟฟ้านี้กลับมาใช้ซ้ำในวัดถัดไป เมื่อพิจารณาจากค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย และความเที่ยง

ตารางที่ 3.1 แสดงค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่ว (μA) ของขั้วไฟฟ้าแบบใช้งานข้ามวันและภายในวันเดียวกัน จำนวน 30 ครั้ง

ครั้งที่	ขั้วไฟฟ้าแบบใช้ข้ามวัน	ขั้วไฟฟ้าแบบใช้ภายในวันเดียวกัน
	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
1-10	60.32 ± 5.66	70.90 ± 4.85
1-15	61.61 ± 5.16	70.99 ± 4.03
1-20	58.52 ± 10.07	75.71 ± 4.07
16-20	49.25 ± 15.66	75.71 ± 0.86
21-25	67.88 ± 6.57	81.67 ± 4.58
26-30	76.91 ± 7.98	86.50 ± 1.62

3.1.2.3 ผลการทดสอบวัดสัญญาณตะกั่ว ณ ความเข้มข้นต่าง ๆ

ทำการทดลองวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.5 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนคาร์บอนดัดแปรด้วยบิสมัทอันเดียว โดยเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่เริ่มวัดจากค่าจากความเข้มข้นสูงไปต่ำ และความเข้มข้นต่ำไปสูง ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสูงของสัญญาณและความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้นต่าง ๆ บันทึกสัญญาณที่วัดจาก (a) ความเข้มข้นสูงไปต่ำ และ (b) ความเข้มข้นต่ำไปสูง

จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของตะกั่วในช่วงความเข้มข้น 0.5 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง โดยมีค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) อยู่ที่ 0.9782 และ 0.9987 และมีค่าความไวในการตรวจวัดตะกั่วอยู่ที่ 34.206 $\mu\text{A/ppm}$ และ 33.186 $\mu\text{A/ppm}$ เมื่อทำการตรวจวัดตะกั่วจากค่าความเข้มข้นสูงไปต่ำ และต่ำไปสูง ตามลำดับ โดยจะเห็นได้ว่า การวิเคราะห์ตะกั่วที่ความเข้มข้นจากต่ำไปสูงมีค่าความเป็นเส้นตรงมากกว่า ดังนั้นจึงเลือกวิเคราะห์ตะกั่วจาก

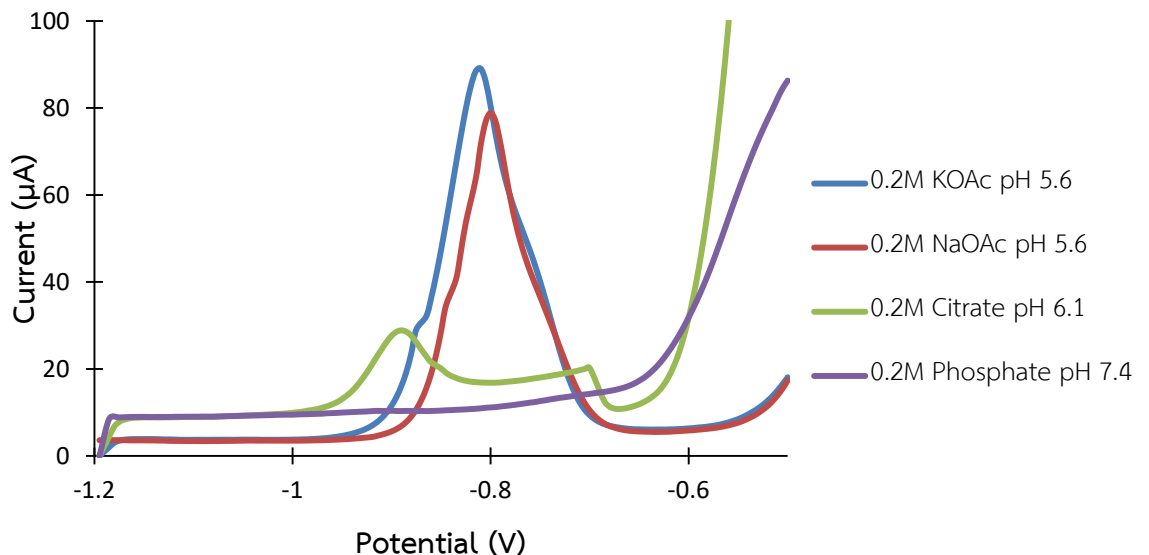
ความเข้มข้นต่ำไปสูงเพื่อนำไปใช้สร้างกราฟเทียบมาตรฐาน (calibration curve) และศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ตะกั่วต่อไป

3.1.3 ทดสอบผลของชนิดและค่าพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีต่อสัญญาณตะกั่ว

3.1.3.1 ผลของชนิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์

จากการศึกษาและรวบรวมข้อมูลของงานวิจัยต่าง ๆ ที่ผ่านมา เกี่ยวกับการทำงานของแอปตาเมอร์พบว่าแอปตาเมอร์จะมีโครงสร้างที่เปลี่ยนไปตามค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลาย โดยแอปตาเมอร์ชนิดที่มีความจำเพาะกับไอออนตะกั่วจะทำงานได้ดีในช่วงค่าพีเอช 5.5 – 7.4¹⁸ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ออกแบบระบบสารละลายอิเล็กโทรไลต์เพื่อใช้ทดสอบการวัดสัญญาณของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเลือกชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ให้ครอบคลุมช่วงค่าพีเอชดังกล่าวข้างต้น ดังนี้

1. สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตตเข้มข้น พีเอช 5.6
2. สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตตเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.6
3. สารละลายบัฟเฟอร์ซิเตรตเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 6.1
4. สารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.4



รูปที่ 3.8 โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1

การพิจารณาผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.8 สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 พิจารณาผลของชนิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ครอบคลุมช่วงค่าพีเอช 5.6 – 7.4 โดยเปรียบเทียบข้อมูลของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (เส้นกราฟสีแดง) สารละลายบัฟเฟอร์ซิเตรต พีเอช 6.1 (เส้นกราฟสีเขียว) และสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต พีเอช 7.4 (เส้นกราฟสีม่วง) พบว่า ค่าสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วที่ตรวจวัดได้ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (เส้นกราฟสีแดง) มีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ ค่าสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วที่ตรวจวัดในสารละลายบัฟเฟอร์ซิเตรต พีเอช 6.1 (เส้นกราฟสีเขียว) โดยพบว่า ตำแหน่งสัญญาณของตะกั่วเปลี่ยนจากค่าศักย์ไฟฟ้าประมาณ -0.8 โวลต์ มาเป็น -0.9 โวลต์ เมื่อค่าพีเอชของสารละลายเปลี่ยนจาก 5.6 มาเป็น 6.1 ในขณะที่ไม่ปรากฏพบสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วเมื่อทำการตรวจวัดในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (เส้นกราฟสีม่วง)

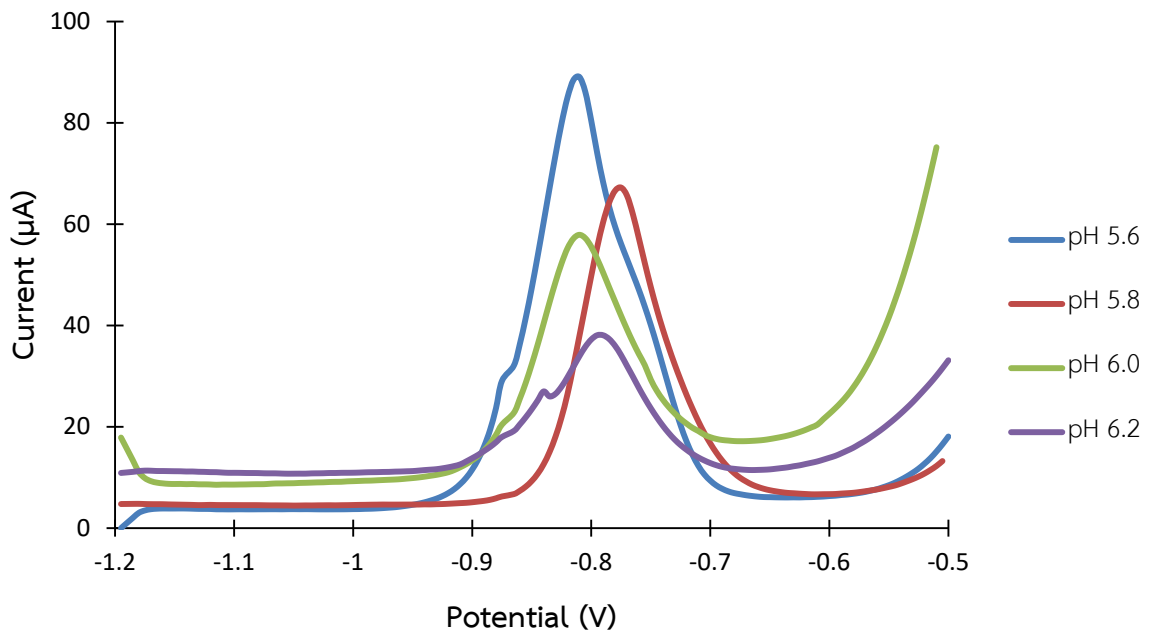
ทั้งนี้ลักษณะและตำแหน่งของสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วที่ได้จากการเปรียบเทียบผลการทดลองนี้อาจเป็นผลอันเนื่องมาจากค่าพีเอชของสารละลาย และชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกใช้ หรืออย่างใดอย่างหนึ่ง ซึ่งยังไม่อาจจะสรุปได้ในขั้นนี้ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากค่าสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วที่ตรวจวัดได้ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (เส้นกราฟสีแดง) มีค่าสูงที่สุดในกลุ่ม ผู้ทดลองจึงได้นำค่าพีเอชนี้มาทำการทดสอบผลของชนิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่อในส่วนที่ 2

ส่วนที่ 2 เป็นการพิจารณาผลของชนิดสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ต่างกัน ณ ค่าพีเอชเดียวกัน โดยเปรียบเทียบข้อมูลของสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (เส้นกราฟสีน้ำเงิน) กับข้อมูลของสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (เส้นกราฟสีแดง) พบว่า ลักษณะและตำแหน่งของสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ตรวจวัดได้จากสารละลายอิเล็กโทรไลต์ทั้ง 2 ชนิด มีความใกล้เคียงกัน โดยค่าสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วที่ตรวจวัดได้ในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (เส้นกราฟสีน้ำเงิน) มีค่ากระแสสัญญาณที่สูงกว่าค่าสัญญาณที่ตรวจวัดได้ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 5.6 (เส้นกราฟสีแดง) เพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตต หรือสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 5.6 ในการทดลองตรวจวัดตะกั่วแทนกันได้

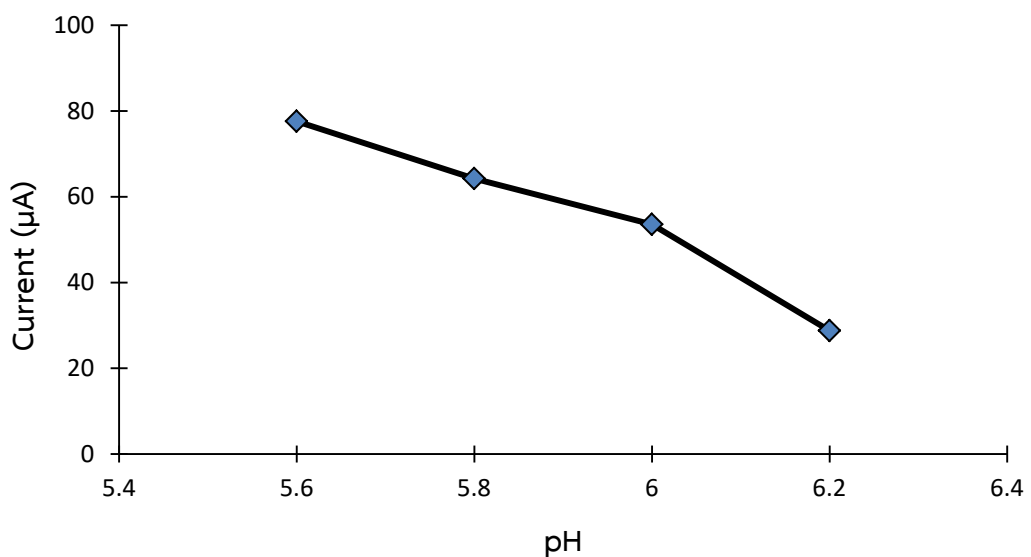
ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงตำแหน่งและความสูงของสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วที่พบในผลทดลองส่วนที่ 1 จึงน่าจะเป็นผลมาจากการเปลี่ยนค่าพีเอชของสารละลายมากกว่าการเปลี่ยนชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ และเพื่อเป็นการทดสอบสมมุติฐานนี้ ผู้ทดลองจึงได้ทำการทดสอบผลของค่าพีเอชของสารละลายต่อในหัวข้อถัดไป

3.1.3.2 ผลของค่าพีเอช (pH) ที่เหมาะสม

ทำการทดลองวิเคราะห์สัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตตที่ค่าพีเอชต่างๆ ด้วยเทคนิคสแควร์เวฟแอนโอดิกสตริบิงโวลแทมเมตรี ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.9 โวลแทมโมแกรมของสัญญาณตะกั่ว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตดที่พีเอชต่าง ๆ วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของตะกั่วเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่วัดได้กับค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตด

จากรูปที่ 3.9 และ 3.10 เมื่อทำการทดลองวัดค่ากระแสสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ชนิดเดียวกัน ที่ค่าพีเอชของสารละลายต่างกัน พบว่า ค่ากระแสสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วมีค่าน้อยลงอย่างเห็นได้ชัด เมื่อค่าพีเอชของสารละลายเพิ่มขึ้น โดยในการทดลองนี้ สามารถวัดค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรได้สูงที่สุด ที่พีเอช 5.6 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ

María-Hormigos²⁶ และ Lezi²⁷ แสดงให้เห็นว่าค่าพีเอชในช่วงกรดมีความเหมาะสมต่อการวัดสัญญาณของตะกั่ว แต่ด้วยข้อจำกัดของแอปตาเมอร์ที่ใช้ในการศึกษานี้ ทำให้ไม่สามารถวัดกระแสสัญญาณของตะกั่วในสารละลายที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 5.6 ได้ ดังนั้น จึงเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตดที่พีเอช 5.6 สำหรับการทดลองในขั้นต่อไป

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

จากการทดลองศึกษาผลของตัวแปรต่างๆ เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ตะกั่วด้วยเทคนิคสแควร์เวฟแอนโอดิกสตริบปีงโวลแทมเมตรี บนขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน พบว่า ภาวะที่เหมาะสมเป็นดังแสดงในตารางที่ 3.2

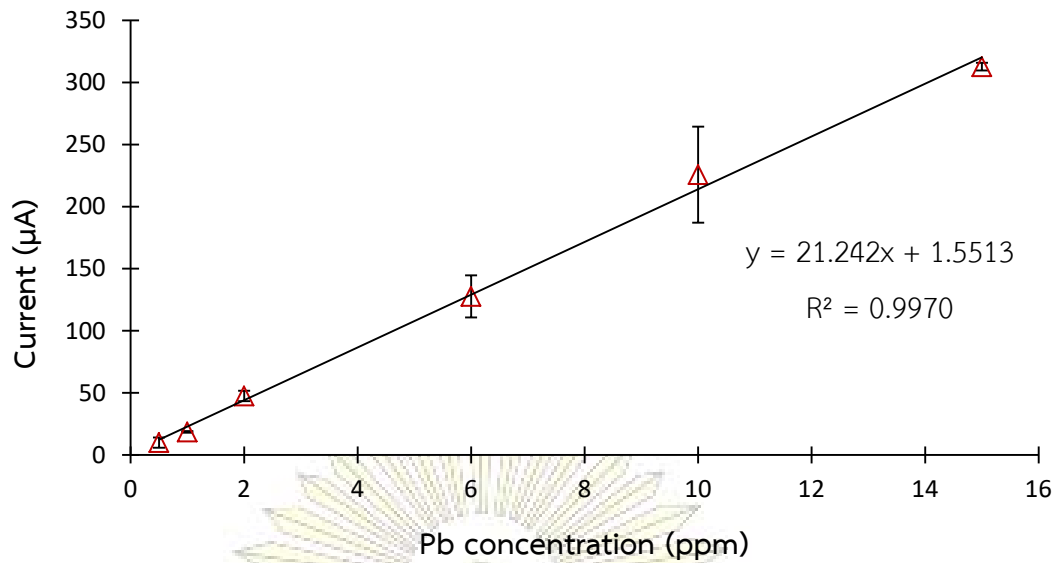
ตารางที่ 3.2 ภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว

ตัวแปรที่ศึกษา	ภาวะที่เหมาะสม
ชนิดของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมัท
วิธีล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	น้ำกลั่น
จำนวนการใช้ซ้ำของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	อย่างน้อย 30 ครั้งต่อวัน
ชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์	สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมอะซิเตด
ค่าพีเอชสารละลายอิเล็กโทรไลต์	5.6

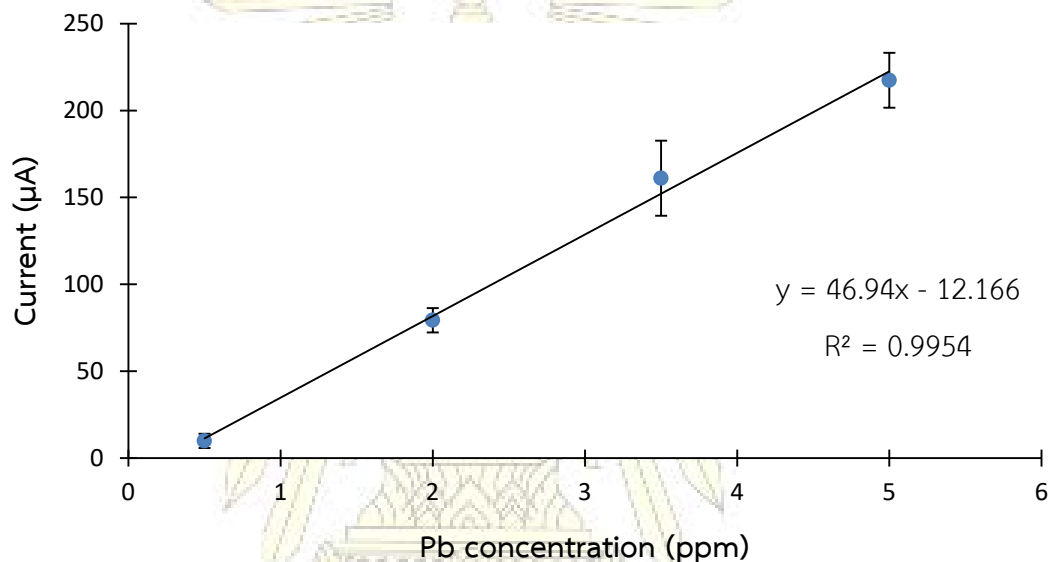
3.2.1 การสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) และการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ตะกั่ว

นำภาวะที่เหมาะสมดังแสดงในตารางที่ 3.1 มาใช้ในการวิเคราะห์ตะกั่วความเข้มข้นต่าง ๆ ได้ผลการทดลองดังกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของตะกั่วรูปที่ 3.11

(a)



(b)



รูปที่ 3.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้นต่าง ๆ บันทึกสัญญาณที่วัดจาก (a) ความเข้มข้นสูงไปต่ำ และ (b) ความเข้มข้นต่ำไปสูง

จากผลการทดลอง พบว่า ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของตะกั่วมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้น 0.5 – 15 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 3.11a) โดยมีค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) เท่ากับ 0.9970 และค่าความไวในการตรวจวัดตะกั่วที่ 21.24 $\mu\text{A}/\text{ppm}$ และรูปที่ 3.11b แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.5 – 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) เท่ากับ 0.9954 และค่าความไวในการตรวจวัดตะกั่วที่ 46.94 $\mu\text{A}/\text{ppm}$

3.2.2 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด มีค่าเท่ากับ 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ต่อ 1 หน่วยค่าความไวของการตรวจวัด (sensitivity) โดยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ในกราฟเทียบมาตรฐานนี้มีค่าเป็น 0.6508 μA และความชันของกราฟมาตรฐาน (slope) เท่ากับ 21.24 $\mu\text{A/ppm}$ จากสมการที่ 1.1 จะได้

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= 3(0.6508)/(21.24) \\ &= 0.0919 \text{ ppm หรือ } 91.91 \text{ ppb} \end{aligned}$$

3.2.3 การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

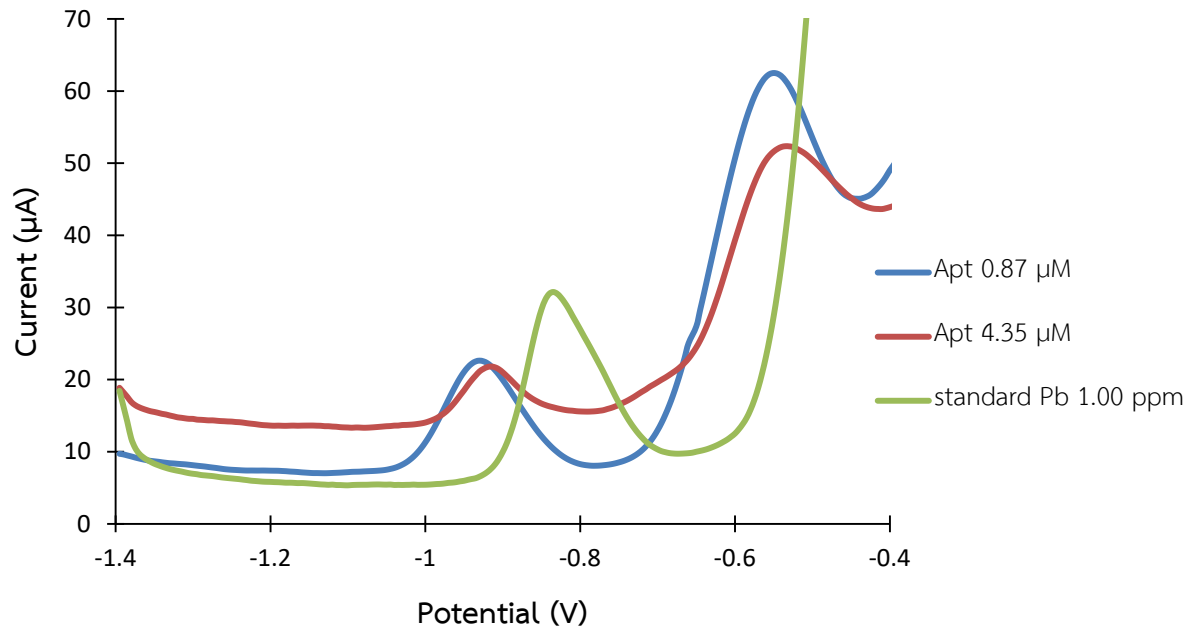
ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ มีค่าเท่ากับ 10 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ต่อ 1 หน่วยค่าความไวของการตรวจวัด (sensitivity) (สมการที่ 1.2) โดยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ในกราฟเทียบมาตรฐาน มีค่าเป็น 0.505212 μA และความชันของกราฟมาตรฐาน (slope) เท่ากับ 21.232 $\mu\text{A/ppm}$ จากสมการที่ 1.2 จะได้

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= 10(0.6508)/(21.24) \\ &= 0.3063 \text{ ppm หรือ } 306.4 \text{ ppb} \end{aligned}$$

3.3 ศึกษาการหายไปของตะกั่วในสภาวะที่มีแอมป์ตาเมอร์

3.3.1 วัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ในสภาวะที่มีแอมป์ตาเมอร์ปริมาณต่าง ๆ

ศึกษาผลของแอมป์ตาเมอร์ที่มีต่อสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว โดยการตรวจวัดปริมาณตะกั่วความเข้มข้นเริ่มต้น 1.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะที่มีแอมป์ตาเมอร์เข้มข้น 0.87 และ 4.35 ไมโครโมลาร์ ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.12



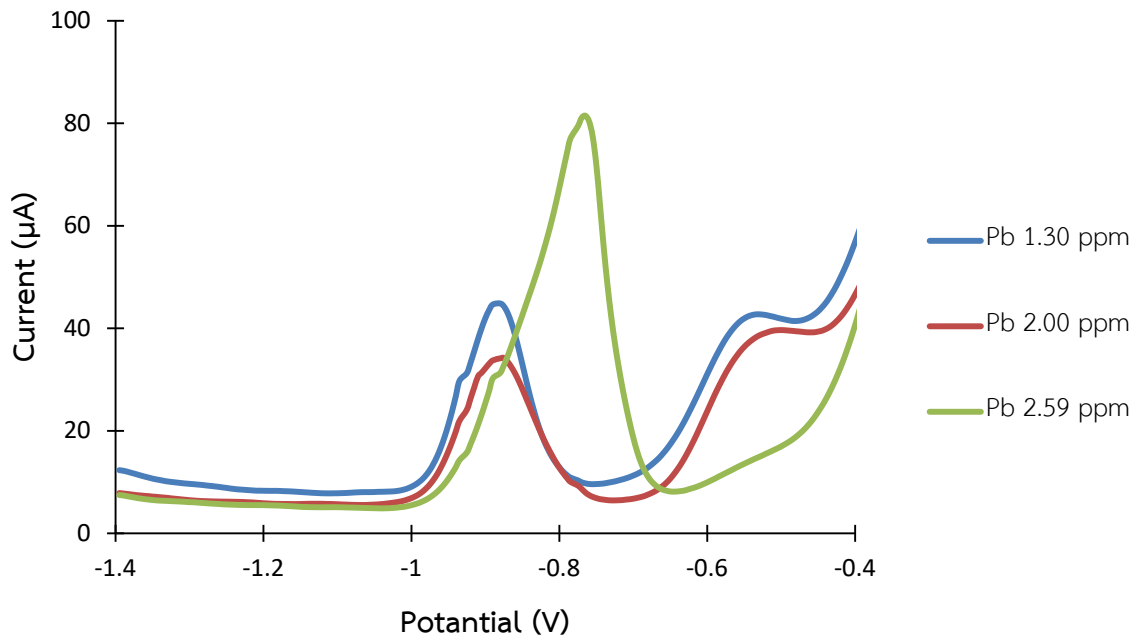
รูปที่ 3.12 โวลแทมโมแกรมของตะกั่ว ความเข้มข้นเริ่มต้น 1.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะที่มีแอสตาเมอ์เข้มข้น 0.87 และ 4.35 ไมโครโมลาร์ วัดสัญญาณภายใต้ภาวะการทดลองเดียวกับรูปที่ 3.1

จากผลการทดลอง (รูปที่ 3.12) พบว่า ค่ากระแสสัญญาณของตะกั่วเปลี่ยนไปเมื่อมีแอสตาเมอ์ผสมอยู่ในสารละลาย กล่าวคือ ตำแหน่งของสัญญาณตะกั่วเลื่อนไปอยู่ที่ค่าศักย์ไฟฟ้าที่เป็นลบมากขึ้น และความสูงของสัญญาณตะกั่วลดลงเมื่อมีปริมาณของแอสตาเมอ์ในสารละลายมากขึ้น นั่นคือ ในสารละลายที่มีแอสตาเมอ์ 0.87 ไมโครโมลาร์ พบสัญญาณของตะกั่วเพียง 0.57 มิลลิกรัมต่อลิตร และในสารละลายที่มีแอสตาเมอ์ 4.35 ไมโครโมลาร์ พบสัญญาณของตะกั่วเหลือเพียง 0.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้การลดลงของสัญญาณไฟฟ้าตะกั่วอาจเกิดเนื่องมาจาก 1) การรวมตัวกันระหว่างตะกั่วและแอสตาเมอ์ เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับสัญญาณใหม่ที่ปรากฏในบริเวณค่าศักย์ไฟฟ้า -0.5 โวลต์ หรือ 2) การลดลงของสัญญาณตะกั่ว อาจเกิดเนื่องมาจากค่ากระแสสัญญาณบริเวณฐานพีกของตะกั่วที่ยกขึ้น เมื่อปริมาณของแอสตาเมอ์ในสารละลายสูงขึ้น (เปรียบเทียบข้อมูลเส้นสีน้ำเงินและสีแดง) เป็นผลทำให้พีกสัญญาณของตะกั่วมีค่าลดลง ซึ่งการที่สัญญาณบริเวณฐานพีกของตะกั่วเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณของแอสตาเมอ์นั้น แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการนำไฟฟ้าของสารละลายที่เปลี่ยนไป ซึ่งอาจเกิดเนื่องมาจากแอสตาเมอ์เองหรือจากผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วและแอสตาเมอ์

ดังนั้น เพื่อเป็นการลดผลของความสามารถในการนำไฟฟ้าที่เปลี่ยนไปของสารละลาย ผู้ทดลองจึงได้ปรับแบบการทดลองใหม่ซึ่งจะนำเสนอในหัวข้อถัดไป

3.3.2 ผลการวัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ในสถานะที่มีแอมป์ตาเมอร์ปริมาณคงที่

ทำการตรวจวัดสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ กัน ในสารละลายที่มีปริมาณแอมป์ตาเมอร์เท่ากัน คือ 4.35 ไมโครโมลาร์ ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.13



รูปที่ 3.13 โวลแทมโมแกรมของตะกั่วความเข้มข้นเริ่มต้น 1.30 (เส้นน้ำเงิน), 2.00 (เส้นสีแดง) และ 2.59 (เส้นสีเขียว) มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายที่มีแอมป์ตาเมอร์ความเข้มข้น 4.35 ไมโครโมลาร์

รูปที่ 3.13 แสดงสัญญาณของตะกั่วความเข้มข้นเริ่มต้น 1.30 (เส้นน้ำเงิน), 2.00 (เส้นสีแดง) และ 2.59 (เส้นสีเขียว) มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายที่มีแอมป์ตาเมอร์ปริมาณเท่ากันที่ความเข้มข้น 4.35 ไมโครโมลาร์ โดยคาดว่าค่าการนำไฟฟ้าในทุกอัตราส่วนผสมของสารละลายมีค่าใกล้เคียงกัน ผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า ค่ากระแสสัญญาณบริเวณฐานของพีคตะกั่วทั้งหมดมีค่าใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ตำแหน่งและความสูงของสัญญาณไฟฟ้าตะกั่วที่เหลืออยู่ในสารละลาย ไม่มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกับปริมาณตะกั่วเริ่มต้น โดยพบว่าสารละลายที่มีปริมาณตะกั่วเริ่มต้น 1.30 (เส้นน้ำเงิน), 2.00 (เส้นสีแดง) และ 2.59 (เส้นสีเขียว) มิลลิกรัมต่อลิตร พบสัญญาณของตะกั่วเหลืออยู่ในสารละลายเท่ากับ 1.02, 0.84 และ 1.84 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยไม่อาจสรุปได้ว่าการเพิ่มปริมาณตะกั่วลงไปในสารละลายที่มีแอมป์ตาเมอร์อยู่คงที่ 4.35 ไมโครโมลาร์นั้นจะทำให้พบสัญญาณของไอออนตะกั่วที่เหลืออยู่ในสารละลายเพิ่มมากขึ้นเสมอไป แต่อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองข้างต้นให้ข้อมูลที่ตรงกันว่า สัญญาณไฟฟ้าของตะกั่วจะลดลงเมื่อมีแอมป์ตาเมอร์อยู่ในสารละลาย โดยอัตราส่วนในการจับตะกั่วของแอมป์ตาเมอร์ยังไม่เป็นที่ปรากฏชัดเจนพอที่จะทำให้รู้หรือคาดการณ์การลดลงของปริมาณสัญญาณไฟฟ้าตะกั่วได้อย่างแม่นยำ

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณตะกั่วในสถานะที่มีและไม่มีแอมป์ตาเมอร์ ผ่านการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว ซึ่งนับเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาโดยตรง โดยใช้เทคนิคสแควร์เวฟแอนอดิกสตรipping โวลแทมเมทรี (square wave anodic stripping voltammetry) ร่วมกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมีท พบว่าภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ตะกั่ว พบว่าขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีนดัดแปรด้วยบิสมีท มีประสิทธิภาพในการใช้ซ้ำได้อย่างน้อย 20 ครั้งต่อวัน เมื่อทำการล้างขั้วไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่นในระหว่างการสแกนในแต่ละครั้งขณะใช้ขั้วไฟฟ้า และเมื่อนำไปทดลองวิเคราะห์สัญญาณไฟฟ้าของตะกั่ว พบว่าได้สัญญาณไฟฟ้าที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของตะกั่วที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าประมาณ -0.8 โวลต์ ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกับความเข้มข้นของตะกั่วเป็นเส้นตรงในช่วง $0.5-15$ มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) เท่ากับ 0.9970 และความชันเป็น $21.24 \mu\text{A/ppm}$ ขีดจำกัดของการตรวจวัด เท่ากับ 92 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดของการหาปริมาณ เท่ากับ 306 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยเมื่อมีแอมป์ตาเมอร์อยู่ในระบบค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าของตะกั่วจะลดลงเสมอ



เอกสารอ้างอิง

1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พิษจากโลหะตะกั่ว.
http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic/a_tx_1_001c.asp?info_id=41
(accessed 27 January 2018).
2. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ โรคพิษตะกั่ว.
<http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=22&chap=6&page=t22-6-infodetail02.html> (accessed 28 January 2018).
3. ศูนย์พิษวิทยารามาธิบดี ภาวะเป็นพิษจากสารตะกั่ว.
<http://med.mahidol.ac.th/poisoncenter/th/pois-cov/Lead> (accessed 28 January 2018).
4. WHO, *Guidelines for drinking-water quality*. Fourth ed.; WHO: 2011; Vol. 1.
5. กรมโรงงานอุตสาหกรรม มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากโรงงาน.
<http://www.diw.go.th/hawk/content.php?mode=laws&tabid=1&secid=3> (accessed 28 January 2018).
6. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พิษจากโลหะตะกั่ว.
http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic/a_tx_1_001c.asp?info_id=41
(accessed 27 January 2018).
7. Ghaedi, M.; Ahmadi, F.; Shokrollahi, A., Simultaneous preconcentration and determination of copper, nickel, cobalt and lead ions content by flame atomic absorption spectrometry. *J. of Hazard. Mater.* **2007**, *142* (1-2), 272-278.
8. White, M. A., A comparison of inductively coupled plasma mass spectrometry with electrothermal atomic absorption spectrophotometry for the determination of trace elements in blood and urine from non occupationally exposed populations. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* **1999**, *13* (1-2), 93-101.
9. Viyannalage, L. T.; Bliznakov, S.; Dimitrov, N., Electrochemical Method for Quantitative Determination of Trace Amounts of Lead. *Anal. Chem.* **2008**, *80* (6), 2042-2049.

10. Grabarczyk, M.; Rapid determination of lead in environmental water by anodic stripping voltammetry. *Anal. Lett.* **2016**, *49* (7), 1004-1014.
11. Srisawat, C. Aptamer.
http://www.si.mahidol.ac.th/department/Biochemistry/home/content/Chatchawan_thai.htm
(accessed 28 January 2018).
12. Taghdisi, S. M.; Denesh, N. M.; Lavaee, P.; Ramezani, M.; Abnous, K., An electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles, thionine and hairpin structure of complementary strand of aptamer for ultrasensitive detection of lead. *Sens. Actuators, B Chem.* **2016**, *234*, 462-469.
13. Roushani, M.; Shahdost-fard, F., A novel ultrasensitive aptasensor based on silver nanoparticles measured via enhanced voltammetric response of electrochemical reduction of riboflavin as redox probe for cocaine detection. *Sens Actuators B Chem* **2015**, *207*, 764-771.
14. Zhu, W. W.; Li, B. N.; Luo, Q. H.; Anodic Stripping Voltammetry Determination of Pb(II) and Cd(II) at a Bismuth/Poly(aniline) Film Electrode. *Anal. Lett.* **2007**, *39*(11), 2273-2284.
15. Kwang, G. H.; Han, W. K.; Park, J. S.; Kang, S. G.; Determination of trace metals by anodic stripping voltammetry using a bismuth-modified carbon nanotube electrode. *Talanta* **2008**, *76*, 301-308.
16. Lezi, M.; Economou, A.; Dimovasilis, D. A.; Pantelis, T. N., Disposable screen-printed sensors modified with bismuth precursor compounds for the rapid voltammetric screening of trace Pb (II) and Cd (II). *Anal. Chimica. Acta* **2012**, *728*, 1-8.
17. Chen, C.; Xiangheng, N.; Yan, C.; Hongli, Z.; Minbo, L., Bismuth-based porous screen-printed carbon electrode with enhanced sensitivity for trace heavy metal detection by stripping voltammetry. *Sens. Actuators, B Chem.* **2012**, *178*, 339-342.
18. Porchetta, A.; Idili, A.; Vallée-Bélisle, A.; Ricci, F., General strategy to introduce pH-induced allostery in DNA-based receptors to achieve controlled release of ligands. *Nano Lett.* **2015**, *15*(7), 4467-4471.
19. เพ็ญศรี ทองนพเนื้อ, *เคมีวิเคราะห์เชิงไฟฟ้า*; จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพมหานคร, 2552; 4

20. Bioanalytical Systems, I. Pulse Voltammetric Techniques.

http://www.basinc.com/mans/EC_epsilon/Techniques/Pulse/pulse.html (accessed 31 January 2018).

21. The European Agency for the Evaluation of Medical Products. ICH Topic Q2B Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Methodology GPMP/ICH/281/95. 1996.

22. March, G.; Nguyen, T. D.; Piro, B.; Modified Electrodes Used for Electrochemical Detection of Metal Ions in Environmental Analysis. *Biosensors* **2015**, *5*(2), 241-275.

23. Brendel, P. J.; Luther, G. W. III., Development of a gold amalgam voltammetric microelectrode for the determination of dissolved Fe, Mn, O₂, and S(-II) in porewaters of marine and freshwater sediments. *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*(3), 751-761.

24. Hwang, G.; Han, W.; Hong, S.; Park, J.; Kang, S.; Determination of trace amounts of lead and cadmium using a bismuth/glassy carbon composite electrode. *Talanta* **2008**, *77*(4), 1432-1436.

25. Serrano, N.; Alberich, A.; Díaz-Cruz, J. M.; Ariño, C.; Esteban, M., Coating methods, modifiers and applications of bismuth screen-printed electrodes. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2013**, *46*, 15-29.

26. María-Hormigos, R.; Gissera, M. J.; Procopio, J. R.; Sevilla, M. T., Disposable screen-printed electrode modified with bismuth-PSS composites as high sensitive sensor for cadmium and lead determination. *J. Electroanal. Chem.* **2016**, *767*, 114-122.

27. Lezi, N.; Economou, A.; Dimovasilis, P. A.; Trikalitis, P. N.; Prodromidis, M. I., Disposable screen-printed sensors modified with bismuth precursor compounds for the rapid voltammetric screening of trace Pb(II) and Cd(II). *Anal. Chim. Acta* **2012**, *728*, 1-8.

ภาคผนวก

ข้อมูลแสดงค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วในภาวะที่เหมาะสม

ตารางที่ 5.1 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กับวิธีการล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.1 ถึง 3.5)

วิธีการล้างขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีน	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
วิธีนำเข้าเครื่องสั่นความถี่สูง เป็นเวลา 45 วินาที	83.05 ± 4.38
ล้างด้วยน้ำกลั่น	89.66 ± 3.72
น้ำกลั่น ในขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที	61.34 ± 26.83
น้ำกลั่น ในขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที	63.56 ± 10.86
สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 ในขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ 0.3 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที	62.74 ± 6.67
สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6 ในขณะที่ตรึงค่าศักย์ไฟฟ้าไว้ที่ -0.6 โวลต์ เป็นเวลา 30 วินาที	60.61 ± 11.47
การนำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนเซไน 1 เปอร์เซนต์ กรดไนตริก เป็นเวลา 1 คืน	34.77 ± 4.42

ตารางที่ 5.2 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับจำนวนการใช้ขั้วของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนแบบใช้ภายในวันเดียวกันและแบบใช้ข้ามวัน (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.6)

ครั้งที่	ขั้วไฟฟ้าแบบใช้ข้ามวัน	ขั้วไฟฟ้าแบบใช้ภายในวันเดียวกัน
	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
1-10	60.32 ± 5.66	70.90 ± 4.85
1-15	61.61 ± 5.16	70.99 ± 4.03
1-20	58.52 ± 10.07	75.71 ± 4.07
16-20	49.25 ± 15.66	75.71 ± 0.86
21-25	67.88 ± 6.57	81.67 ± 4.58
26-30	76.91 ± 7.98	86.50 ± 1.62

ตารางที่ 5.3 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น 10 – 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.7a)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (ppm)	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
10	327.42 ± 6.30
4	175.80 ± 11.34
2	77.72 ± 4.35
4	28.19 ± 0.58
0.8	20.60 ± 1.62
0.6	15.53 ± 0.53
0.5	10.23 ± 0.77

ตารางที่ 5.4 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.5 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.7b)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (ppm)	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
0.5	10.92 ± 2.67
0.6	12.68 ± 0.45
0.8	17.84 ± 1.21
1	24.09 ± 0.02
2	54.30 ± 1.25
4	133.80 ± 18.90
10	322.34 ± 8.35

ตารางที่ 5.5 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.9)

ชนิดของสารละลายอิเล็กโทรไลต์	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6	77.59 ± 10.42
สารละลายโซเดียมอะซิเตต พีเอช 5.6	65.35 ± 8.81
สารละลายบัฟเฟอร์ซิเตรต พีเอช 6.1	14.65 ± 2.41
สารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต พีเอช 7.4	ไม่พบฟีก

ตารางที่ 5.6 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่วความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับพีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.10)

พีเอชของสารละลายอิเล็กโทรไลต์	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.6	77.59 ± 10.42
สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 5.8	64.21 ± 2.82
สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 6.0	50.58 ± 15.77
สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตต พีเอช 6.2	29.96 ± 3.48

ตารางที่ 5.7 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น 1 – 15 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.11a)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
0.5	9.93 ± 4.12
1	18.63 ± 0.50
2	46.56 ± 3.372
6	138.68 ± 22.47
10	232.12 ± 29.53
15	312.42 ± 2.27

ตารางที่ 5.8 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยกับความเข้มข้นของตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.5 – 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.11b)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
0.5	9.93 ± 4.12
2	79.32 ± 7.02
3.5	161.04 ± 21.62
5	217.39 ± 15.79

ตารางที่ 5.9 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่ว ความเข้มข้นเริ่มต้น 1.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะที่มี แอปตาเมอร์เข้มข้น 0.87 และ 4.35 ไมโครโมลาร์ (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.12)

ความเข้มข้นของแอปตาเมอร์ (μM)	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
0.87	7.69 ± 0.25
4.35	10.92 ± 5.31

ตารางที่ 5.10 ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของตะกั่ว ความเข้มข้นเริ่มต้น 1.30, 2.00 และ 2.59 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายที่มีแอปตาเมอร์ความเข้มข้น 4.35 ไมโครโมลาร์ (ข้อมูลประกอบรูปที่ 3.13)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าสัญญาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)
1.30	10.92 ± 5.31
2.00	30.91 ± 4.11
2.59	97.87 ± 33.50

ประวัติผู้วิจัย

นางสาววันสนันท์ รัตนกุลชัยวัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 22 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2539 จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมปลายจาก โรงเรียนบดินทรเดชา (สิงห์ สิงหเสนี) จังหวัด กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2556 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 44 ซอย รามอินทรา 117 แยก 8 ถนนรามอินทรา แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10510 อีเมลล์ earth_eth@hotmail.com

