

การวิเคราะห์โลหะหนักในน้ำเสียโดยใช้เครื่อง AAS

โดยนางสาวชนัญชิตา สายชุมดี

นักวิทยาศาสตร์ 5 สำนักวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมโรงงาน

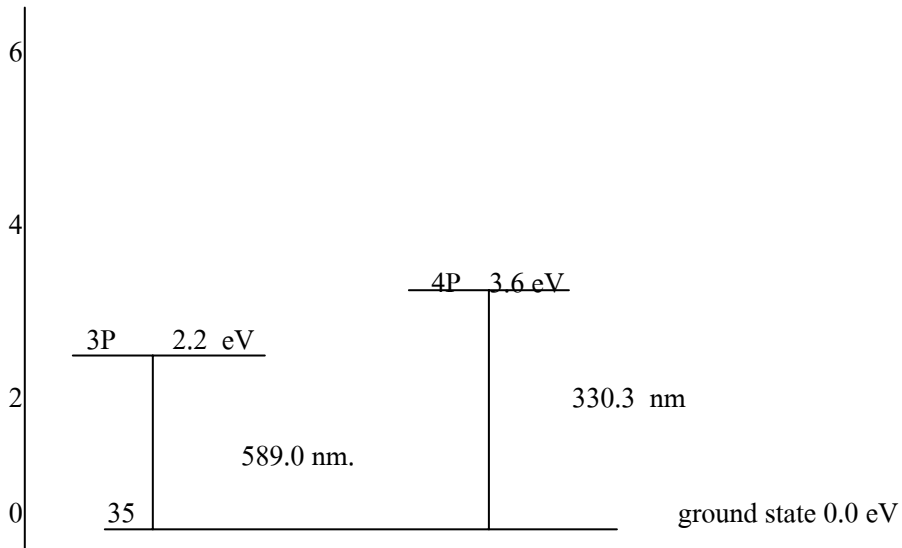
1. บทนำ

การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในน้ำเสียโดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ (Atomic Absorption Spectrometer) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ธาตุอย่างหนึ่ง ซึ่งสามารถทำได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์ ที่ได้รับความนิยมมากวิธีหนึ่ง เพราะเป็นเทคนิคที่สะดวก รวดเร็ว มีความเที่ยง ความแม่นยำ มีสภาพไวสูง และเป็นเทคนิคที่เฉพาะดีมาก สามารถวิเคราะห์หาปริมาณธาตุโลหะหนักที่มีจำนวนน้อยๆ ในน้ำเสียได้ และไม่ต้องผ่านกรรมวิธีหลายขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างน้ำก่อนการวิเคราะห์ ประกอบกับค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ไม่สูงมากนัก ดังนั้นห้องปฏิบัติการวิเคราะห์โดยทั่วไปมักนิยมใช้เทคนิคนี้กันมาก ความสามารถของเทคนิคนี้สูงมาก เพราะสามารถใช้วิเคราะห์ธาตุต่าง ๆ ได้ถึง 67 ธาตุ ทำให้การใช้งานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

2. หลักการ

นำน้ำตัวอย่างที่เตรียมในรูปของสารละลายมาดูด (Aspirate) เข้าไปในเปลวไฟ Air-Acetylene ของเครื่อง Atomic Absorption Spectrometer พลังงานความร้อนจากเปลวไฟจะทำให้สารละลายตัวอย่างเกิดกระบวนการแตกตัว (dissociation) หรือเปลี่ยนให้เป็นไอ (Vaporization) หรืออาจแตกตัวเป็นอะตอม (Atomization) อยู่ที่สถานะพื้น อะตอมที่สถานะพื้นจะเปลี่ยนสถานะไปสู่สถานะกระตุ้นโดยการดูดกลืนแสงที่ผ่านมาจากแหล่งกำเนิดภายนอก (Hollow Cathode Lamp) ที่ความยาวคลื่นที่เฉพาะเจาะจง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของธาตุ ธาตุแต่ละชนิดจะมีระดับของพลังงานแตกต่างกัน จึงมีการดูดกลืนพลังงานแตกต่างกัน ซึ่งธาตุแต่ละตัวจะดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงความยาวคลื่นต่างกัน เช่น อะตอมของโซเดียมจะดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 589 nm เพราะแสงที่ความยาวคลื่นนี้เป็นแสงที่มีพลังงานพอดีที่จะทำให้อิเล็กตรอนของโซเดียมอะตอมเกิดการเปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปสู่สถานะกระตุ้นดังแสดงในรูปที่ 1 จะเห็นได้ว่าที่ความยาวคลื่นเหล่านี้จัดเป็น spectroscopic line ของอะตอมมิกสเปกตรัม ที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวของธาตุแต่ละชนิด

สำหรับการวัดตัวอย่างการดูดกลืนแสงจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของธาตุที่มีอยู่ในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งความเข้มข้นของธาตุในสารละลายตัวอย่าง จะหาได้โดยการวัดเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน



รูปที่ 1 แสดงระดับของพลังงานของอะตอมโซเดียม (${}_{11}\text{Na}^{23}$) ($1S^2, 2S^2, 2p^6, 3S^1$)

จากกระบวนการที่สารประกอบแตกตัวเป็นอะตอมแล้วกลายเป็นไอ หรือเกิดการกระตุ้น หรือแม้แต่เกิดแตกตัวเป็นไอออนด้วยพลังงานความร้อน เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะของ Thermal equilibrium จำนวนอะตอมที่อยู่ในสถานะกระตุ้น (N_j) ที่เกิดขึ้นจะเป็นปฏิภาคกับจำนวนอะตอมที่อยู่ในสถานะพื้นต่อหน่วยปริมาตร (N_0) ดังนั้น (N_j) ก็เป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย Boltzmann ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของ (N_j) กับ (N_0) ดังแสดงในสมการ

$$(N_j)/(N_0) = (g_j/g_0) e^{-\Delta E/KT}$$

(N_j) และ (N_0) = จำนวนอะตอมธาตุที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นและสถานะพื้น

g_j และ g_0 = statistical weight ของสถานะกระตุ้นและสถานะพื้น ซึ่งบอกถึงจำนวนสถานะอิเล็กทรอนิกส์ที่มีพลังงานเท่ากันของแต่ละระดับควอนตัม

$\Delta E = hv$ = $E_j - E_0$ = ระดับพลังงานที่ต่างกันระหว่างสถานะกระตุ้นกับสถานะพื้น

K = Boltzmann constant = 1.38×10^{-16} erg/deg.

T = อุณหภูมิในหน่วยขององศาสมบูรณ์

ดังนั้น จะเห็นว่า (N_j)/(N_0) จะมีค่ามากเมื่อ T สูงขึ้น และ ΔE น้อย

และ (N_j)/(N_0) จะมีค่าน้อยเมื่อ T ต่ำ และ ΔE มาก

ความสัมพันธ์ (N_j)/(N_0) ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่1 ความสัมพันธ์ของ $(N_j) / (N_0)$ ที่อุณหภูมิ 2000 K และ 3000 K

ธาตุ	Resonance line (nm)	g_j / g_0	ΔE (ev)	$(N_j) / (N_0)$	
				2000 K	3000 K
Na	589.0	2	2.10	9.86×10^{-6}	5.88×10^{-4}
Ca	422.7	3	2.93	1.21×10^{-7}	3.69×10^{-5}
Cu	324.8	2	3.82	4.82×10^{-10}	6.65×10^{-7}
Mg	285.2	3	4.35	3.35×10^{-11}	1.50×10^{-7}
Zn	213.9	3	5.80	7.45×10^{-15}	5.50×10^{-10}

3. ความสัมพันธ์ของแอมพลิจูดกับความสัมพันธ์ของสารตัวอย่าง

สรุปได้ว่า Total absorption ขึ้นอยู่กับจำนวนอะตอมที่สภาวะพื้น โดยไม่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและพลังงาน ΔE แต่จะเห็นได้ว่าจำนวนอะตอมทั้งหมด = $N_0 + N_j$

แต่ N_j มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับ N_0

$\therefore N_0 \propto$ จำนวนอะตอมทั้งหมด

\propto ปริมาณของธาตุที่ต้องการหาในสารละลาย

\propto ความเข้มข้นของสารละลาย

$\therefore \text{Log } P_0 / P_j \propto N_0$ หรือ absorbance \propto ความเข้มข้นของสารละลาย

เมื่อเขียนกราฟระหว่าง $\text{Log } P_0 / P_j$ หรือแอมพลิจูดกับ N_0 หรือความเข้มข้นของสารละลาย จะได้เส้นตรงแต่ในหลายๆ กรณีจะได้กราฟเป็นเส้นโค้ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก stray light, line broadening (Doppler broadening เกี่ยวกับการเคลื่อนที่ของอะตอมในเปลวไฟ และ Lorentz broadening เกี่ยวกับการชนกันระหว่างโมเลกุลหรืออะตอม) ความไม่สม่ำเสมอ หรือคงที่ของอุณหภูมิ และ โครงสร้างของเปลวไฟ เป็นต้น

4. เทคนิคต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี AAS

เทคนิคต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ธาตุนั้นสามารถทำได้หลายวิธี คือ

4.1 ใช้ Flame Atomization Technique เทคนิคนี้ใช้กระบวนการทำให้สารตัวอย่างแตกตัวเป็นอะตอมด้วยเปลวไฟ (flame) ที่เหมาะสม

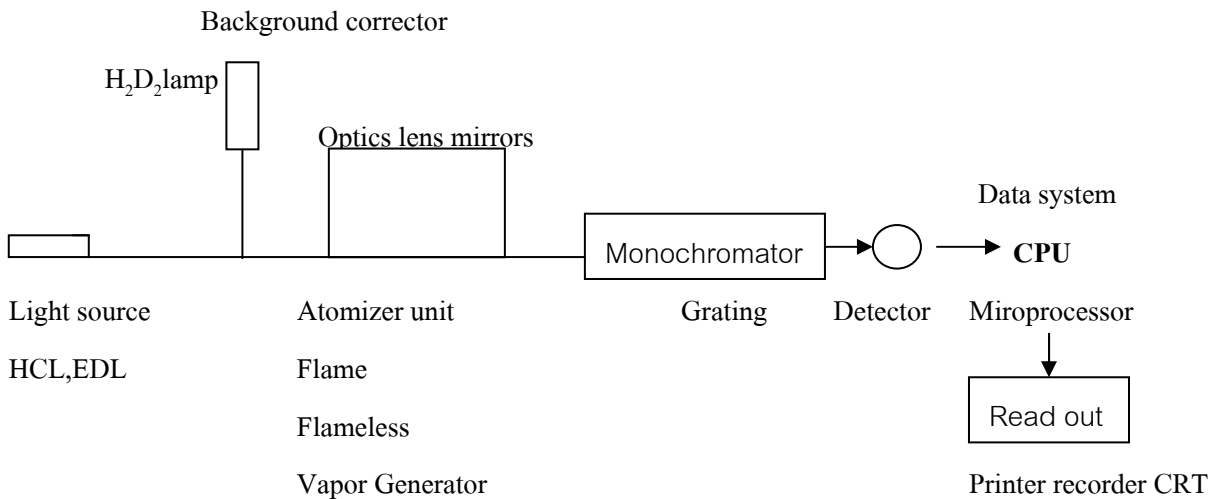
4.2 ใช้ Flameless Technique หรือ Non-flame Atomization Technique เทคนิคนี้ใช้กระบวนการทำให้สารตัวอย่างสลายตัวเป็นอะตอมได้ด้วยความร้อนจากกระแสไฟฟ้า (electrothermal atomizer หรือ graphite furnace) โดยสามารถโปรแกรมให้อุณหภูมิของการเผามีค่าต่างๆ กัน และใช้เวลาต่าง ๆ กันได้

4.3 ใช้ Hydride Generation Technique เนื่องจากมีธาตุบางชนิดจะเปลี่ยนให้เป็นอะตอมโดยตรงด้วยเทคนิค 4.1 และ 4.2 ไม่ได้จำเป็นต้องใช้วิธีทำให้แตกตัวในบรรยากาศที่ปราศจากออกซิเจนเพื่อป้องกันการรวมตัวกับออกซิเจนของธาตุเหล่านี้ ดังนั้น จึงต้องใช้วิธีทำให้ธาตุเหล่านี้กลายเป็นไอได้ง่ายๆ ที่

อุณหภูมิห้องด้วยการรีดิวซ์ให้เป็นไฮโดรด์ แล้วให้ไฮโดรด์นั้นผ่านเข้าไปในเปลวไฟไฮโดรเจน ความร้อนจากเปลวไฟไฮโดรเจนทำให้ธาตุกลายเป็นอะตอมเสรีได้ เทคนิคนี้ใช้ในการวิเคราะห์ธาตุ As, Se, Te, Ge, Bi, Sb

4.4 ใช้ Cold Vapor Generation Technique สำหรับเทคนิคนี้เหมาะที่จะใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ธาตุบางชนิดที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นไอได้ง่ายๆ ซึ่งได้แก่ การวิเคราะห์ปรอทที่มีปริมาณน้อยโดยเฉพาะ

เพื่อความเข้าใจถึงขั้นตอนของเทคนิคการวิเคราะห์ทาง AAS ตลอดทั้งหน้าที่ของส่วนต่างๆ ของเครื่อง AAS โดยจะอธิบายพอสังเขป ดังต่อไปนี้



รูปที่ 2 แสดงแผนภาพองค์ประกอบของเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer

5. องค์ประกอบที่สำคัญต่างๆ ของเครื่องอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

มี 5 ส่วนด้วยกัน คือ

1. แหล่งกำเนิดแสง (light source)
2. ส่วนที่ทำให้ธาตุกลายเป็นอะตอมเสรี (atomizer)
3. โมโนโครเมเตอร์ (monochromator)
4. ดีเทคเตอร์ (detector)
5. เครื่องประมวลผลและอ่านผล (data system and read-out units)

5.1 แหล่งกำเนิดแสง(light source) โดยทั่วไปแหล่งกำเนิดแสงใช้เป็น hollow cathode lamps(HCL) และ electrodeless discharge lames (EDL) ซึ่งมีใช้เฉพาะบางธาตุเท่านั้น ทั้งสองชนิดนี้มีคุณสมบัติและลักษณะเฉพาะแตกต่างกัน ดังนี้

5.1.1 ลักษณะของ HCL ประกอบด้วยขั้วแคโทด ซึ่งเป็นโลหะทำเป็นรูปทรงกระบอกกลวงหรือรูปถ้วยฉาบด้วยโลหะหรือเป็นผงโลหะที่ต้องการให้ถูกกระตุ้น เพื่อให้ได้สเปกตรัมที่มี resonance lines ส่วนขั้วแอโนด anode ทำด้วยโลหะนิเกิล หรือ ทังสแตน หรือ โซโคเนียมเป็นแท่งเล็กๆ ภายในหลอดแก้วบรรจุด้วยแก๊สนีออน หรืออาร์กอนที่ความดันประมาณ 4-10 torr. หรือ window อาจเป็นแก้วไพเร็กซ์หรือควอร์ตซ์ ถ้าสเปกตรัมอยู่ในช่วงยูวี window ต้องทำด้วยควอร์ตซ์หรือซิลิกา ถ้าสเปกตรัมอยู่ในช่วงวิสิเบิลก็อาจใช้แก้วไพเร็กซ์ หรือ ควอร์ตซ์ ในการใช้หลอด HCL window จะต้องสะอาด จะต้องใช้กระแสไฟฟ้า

อยู่ในช่วง 3-30 m A ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของธาตุ เมื่อใช้กระแสไฟฟ้ามากๆ จะทำให้อายุของหลอดสั้นเข้า แต่ได้แสงมีความเข้มสูงเป็นการเพิ่ม S/N ratio

5.1.2 Electrodeless Discharge Lamps เป็น light source ในการหาปริมาณของธาตุบางอย่าง ได้แก่ Bi, Cd, Hg, As, P, Pb, Sb, Se, Te, Tl และ Zn โดยเฉพาะอย่างยิ่งหลอดนี้ได้รับการแนะนำให้ใช้หาปริมาณของ As, Se และ Hg เพราะให้ sensitivity ดีกว่า นอกจากนี้ EDL ยังให้ความเข้มของแสงสูงกว่า ซึ่งทำให้เพิ่มขีดจำกัดของการตรวจหาได้ดีอีกด้วย

5.2 ส่วนที่ทำให้ธาตุกลายเป็นอะตอมเสรี (The Atomization Process หรือ Atomizer)

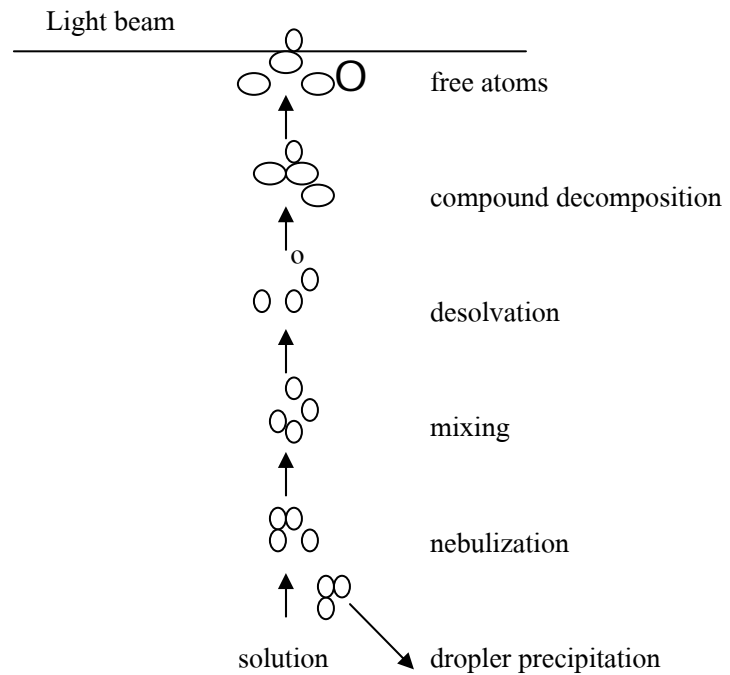
การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AAS นั้น จะประสบความสำเร็จมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับปริมาณของอะตอมเสรีของธาตุที่ทำให้เกิดขึ้น เพราะอะตอมเสรีเป็นตัวดูดกลืนแสงที่จะทำการวัดโดยเลือกใช้ความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมผ่านเข้าไป ดังนั้น ความสำคัญจึงอยู่ที่การทำให้ธาตุที่มีอยู่ในสารละลายตัวอย่างแตกตัวเป็นอะตอมเสรีที่สถานะพื้นได้มากๆ วิธีที่นิยมใช้กันคือ

กระบวนการทำให้ธาตุแตกตัวเป็นอะตอมเสรีด้วยเปลวไฟ (Flame Atomization)

กระบวนการนี้สารตัวอย่างจะต้องเป็นสารละลายที่เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีสารแขวนลอยอยู่ ตัวทำละลายจะเป็นน้ำหรือสารอินทรีย์ก็ได้กระบวนการ atomization มี 5 ขั้นตอน คือ

1. Nebulization เป็นกระบวนการที่เปลี่ยนของเหลวให้เป็นละอองเล็กๆ (mist) ด้วยเครื่องเรียกว่า nebulizer
2. Droplet precipitation เป็นกระบวนการที่ละอองเล็กๆ ของสารละลายรวมกันเป็นหยดสารละลายโต ไม่สามารถจะลอยอยู่ในอากาศได้ จึงตกลงมาแล้วออกไปทางท่อน้ำทิ้ง (drain)
3. Mixing เป็นกระบวนการที่ละอองเล็กๆ ของสารละลายเกิดผสมกับแก๊สเชื้อเพลิง (fuel) และออกซิเจนใน spray chamber ของ nebulizer
4. Desolvation เป็นกระบวนการที่ตัวทำละลายที่อยู่ในละอองเล็กนั้นถูกกำจัดไปทำให้เกิดเป็นอนุภาคเล็กๆ ของสารประกอบ กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นตอนล่างของเปลวไฟ
5. Compound decomposition เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในเปลวไฟ โดยที่พลังงานความร้อนจากเปลวไฟจะไปทำให้สารประกอบเกิดการแตกตัวเป็นออกไซด์ เป็นโมเลกุล และเป็นอะตอมเสรี บางครั้งอาจเกิดการกระตุ้นหรือเกิดการไอออไนเซชันต่อไปได้

กระบวนการทั้ง 5 นี้แสดงเป็นภาพประกอบ ดังรูปที่ 3



รูปที่3 แสดง Flame Atomization process

ขั้นตอนของการทำวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AAS

ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างนั้น ถ้าตัดสินใจที่จะใช้เทคนิค AAS ขั้นตอนต่างๆ ควรเตรียมความพร้อม ดังนี้

1. เตรียมสารตัวอย่างให้อยู่ในรูปสารละลายที่เหมาะสมและพร้อมที่จะใช้กับเครื่อง AAS
2. พิจารณาว่าจะทำการวิเคราะห์เพื่อหาอะไร และเลือกวิธีการที่เหมาะสม ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์
3. จัดเครื่องมือให้พร้อมที่จะทำงานได้ เช่น คอมพิวเตอร์ ไมโครโปรเซสเซอร์ควบคุม มี software ที่เก็บข้อมูลของธาตุแต่ละชนิดไว้แล้ว เป็นเสมือน cook book ให้ผู้วิเคราะห์สามารถเลือกให้ได้ ซึ่งมี
 - ก. เลือก HCL ของธาตุที่จะทำการวิเคราะห์ใส่เข้าไปในเครื่อง และเลือกกระแสไฟฟ้าที่ต้องใช้
 - ข. จัดเครื่องให้มีสภาพที่เหมาะสมกับเทคนิคที่ใช้ เช่น ใช้ Flame หรือ flameless atomization การปรับอัตราการไหลของออกซิเจนที่อากาศ และเชื้อเพลิง เป็นต้น
 - ค. จัดความกว้างของช่องแสงเข้าออกจากโมโนโครเมเตอร์ (slit width) ให้เหมาะสม
4. เลือกโปรแกรมการวัดผล การคำนวณ ตลอดจนการรายงานผลวิเคราะห์

6. การทำคุณภาพวิเคราะห์ด้วย AAS (Qualitative Analysis)

โดยทั่วไปแล้วเทคนิค AAS นั้นไม่เหมาะสมที่จะใช้สำหรับทำคุณภาพวิเคราะห์ เพราะเสียเวลาไม่สะดวก เนื่องจากต้องเปลี่ยน HCL และต้อง scan ความยาวคลื่น ประกอบกับค่าใช้จ่ายสูงจึงไม่นิยมใช้สำหรับตรวจหา อย่างไรก็ตาม เทคนิคนี้ก็สามารถใช้ได้ เช่น ต้องการตรวจสอบว่าสารละลายตัวอย่างมี Ni

เป็นองค์ประกอบหรือไม่ เราก็ใช้ HCL เป็น Ni และใช้ Flame (air/C₂H₂) เป็น atomizer ใช้ความยาวคลื่นของธาตุ Ni คือ 232 nm สำหรับตรวจวัด หลังจากนำสารละลายตัวอย่างพ่นเข้าไปในเปลวไฟแล้วดูว่าที่ความยาวคลื่น 232 nm มีการดูดกลืนแสงหรือไม่ ถ้ามีแสดงว่าสารตัวอย่างมีธาตุ Ni แต่ถ้าไม่มีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นนี้แสดงว่าสารตัวอย่างไม่มี Ni ดังนั้นถ้าต้องการตรวจหาธาตุใดก็สามารถทำได้ในทำนองเดียวกัน

7. การทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AAS (Quantitative Analysis)

สามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

7.1 Calibration Method ใช้ในกรณีที่สารตัวอย่างไม่ค่อยมีสิ่งรบกวนและสารตัวอย่างเจือจาง ทำการวิเคราะห์ได้โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนแล้ว เป็นวิธีที่นิยมใช้กันทั่วไป โดยปรับสัญญาณที่ได้จาก blank ให้เป็นศูนย์ แล้วจึงวัดค่าแอมพลิจูดของสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน (4-5 ความเข้มข้น) เมื่อใช้ flameless atomization technique อาจใช้วัด peak area หรือความสูงของพีก (peak height) แล้วนำผลมาเขียนกราฟเพื่อหาความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารละลาย จะได้ calibration curve ซึ่งอาจเป็นเส้นตรงหรือเส้นโค้งก็ได้ การเขียนกราฟอาจใช้เครื่องคอมพิวเตอร์หรือเครื่องคำนวณทำงานให้ ถ้าเป็นเส้นตรง least squares fit แต่ถ้าเป็นเส้นโค้ง อาจให้เครื่องลากเส้นโค้งให้ได้ calibration curve ใช้ได้เฉพาะการวิเคราะห์แต่ละครั้งเท่านั้น เพราะ parameter ต่างๆ ที่ใช้อาจเปลี่ยนแปลงได้

7.2 ใช้ Factor Method วิธีนี้ใช้ได้เมื่อ calibration curve เป็นเส้นตรง โดยนำสารละลายมา 2 ส่วนเท่าๆ กัน (X และ Y) และมีปริมาตร V_z นำส่วน X มาเติมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นเป็น C_s ลงไป ปริมาตร V_s สำหรับส่วน Y นำมาเติมสารละลาย (อาจเป็นน้ำหรือกรด) ลงไปในปริมาตร V_s แล้วนำสารละลายทั้ง 2 ส่วนไปวัดค่าแอมพลิจูดได้เป็น A_x และ A_y ตามลำดับ ถ้าให้ความเข้มข้นสารละลายเป็น C_u จะคำนวณหาความเข้มข้นได้จากสมการ

$$C_u = \frac{A_y V_s C_s}{(A_x - A_y) V_z}$$

วิธีนี้ต้องควบคุมสภาวะต่างๆ ดังนี้

1. Calibration curve จะต้องเป็นเส้นตรง
2. ค่าแอมพลิจูดที่วัดได้คือ ควรจะต้องเป็นประมาณ 2 เท่าของ A
3. V_s ควรน้อยกว่า V_z มากๆ เพื่อมิให้เกิดการเจือจางของสารละลายตัวอย่างมากเกินไป เนื่องจาก การเติมสารมาตรฐาน
4. ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน C_s ควรมากกว่าความเข้มข้นของสารตัวอย่าง C_u มากๆ

7.3 ใช้ Standard Addition Method เป็นวิธีที่ใช้ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับ matrix effects และ interferences เพราะว่า calibration curve ในการวิเคราะห์สารนั้น สัญญาณที่วัดได้ไม่ใช่เป็นแต่เพียงสารที่ทำการวิเคราะห์เท่านั้น แต่มันรวมถึงสัญญาณต่างๆ จากสารอื่นที่มีอยู่ในตัวอย่างด้วย ทำได้โดยแบ่งสารละลายตัวอย่างออกเป็น 4-5 ส่วน นำแต่ละส่วนมาเติมสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นเท่ากัน แล้วนำไปวัดค่าแอมพลิจูดแล้วนำมาเขียนกราฟกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป ด้วย least-square fit ความเข้มข้นของสารตัวอย่างหาได้จากการ extrapolating ไปตัดแกนความเข้มข้น

7.4 ใช้วิธีทำให้เจือจาง Dilution Method วิธีนี้ใช้กับสารตัวอย่างที่มี interferences โดยเฉพาะกรณีที่เกิด enhancement คือค่าแอมพลิจูดเบนซ์จะวัดได้มากกว่าปกติ เนื่องจากเกิดไอออไนเซชัน ทำได้โดยการเติมสารละลายที่ประกอบด้วยธาตุที่ไอออไนส์ง่าย ๆ ลงไปในสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน

7.5 ใช้วิธี Internal Standard Method วิธีนี้อาศัยหลักการเติมสารมาตรฐาน (reference element) ซึ่งเป็นคนละธาตุกับสารที่จะวิเคราะห์ลงไปในตัวอย่างไม่และ blank หลังจากวัดค่าแอมพลิจูดเบนซ์แล้วหาอัตราส่วนของแอมพลิจูดเบนซ์ระหว่างสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน (A/A) จากนั้นเขียนกราฟกับความเข้มข้นของธาตุที่จะทำการวิเคราะห์จะได้ calibration curve เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างสำหรับวิธีนี้จะใช้ได้ก็ต่อเมื่อ

1. สารตัวอย่างต้องไม่มีธาตุที่ใช้เป็นมาตรฐาน (reference element)
2. ทั้งสารตัวอย่างและสารมาตรฐานจะต้องมีลักษณะและคุณสมบัติทางเคมีเหมือนกัน

8. ผลกระทบของสิ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์ (Interference Effects)

ถึงแม้ว่าเป็นเทคนิคที่ค่อนข้างเฉพาะมาก ทั้งแหล่งกำเนิดและการดูดกลืนแสง แต่ก็มีโอกาสที่สเปกตรัมของธาตุอื่นที่ปนอยู่มารบกวนได้ทำให้ค่า absorbance วัดได้มากหรือน้อยกว่าปกติ สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลวิเคราะห์ผิดพลาดได้ ดังนั้นผู้วิเคราะห์ควรศึกษาก่อนว่า สารตัวอย่างเป็นอะไร จะละลายด้วยอะไร มีองค์ประกอบอะไรบ้าง และจะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอะไร สิ่งเหล่านี้จะช่วยทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดน้อยที่สุด สิ่งรบกวนสามารถจำแนกได้ ดังนี้

8.1 Physical effects เป็นผลเนื่องจากคุณสมบัติทางกายภาพของสารละลายที่จะวิเคราะห์ ซึ่งไปเกี่ยวข้องกับอัตราการไหลของสารละลายเข้าไปใน nebulizer ขนาดของหยดสารละลาย (drop size) ได้แก่ volatility ของตัวสารละลาย surface tension, viscosity ซึ่งสามารถแก้ไขได้คือทำให้สารละลายเจือจางลง หรือเติม organic solvents หรือเตรียมสารละลายให้มี matrix อย่างเดียวกับสารตัวอย่าง

8.2 Chemical effects ได้แก่ แอนไอออน เช่น ฟอสเฟต ซัลเฟต อะลูมิเนียม ซิลิเกต หรือ แอนไอออนที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบบางตัวทำให้ผลการหาปริมาณของพวก alkaline earth metals ได้น้อยกว่าปกติ เมื่อใช้ air-CH flame หรือ flame temperature ต่ำ เพราะมีการเกิดสารประกอบที่อยู่ตัวบางชนิด เรียกว่า refractory compound จึงทำให้การแตกตัวเป็นอะตอมของธาตุที่จะวิเคราะห์น้อยกว่าที่ควรจะเป็น

9. การเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AAS นั้นอาจทำได้หลายวิธี แต่ละเทคนิคมีข้อดีข้อเสียและการใช้งานแตกต่างกัน และอาจกล่าวได้ว่ากระบวนการทำให้สารเกิด atomization ไม่มีวิธีไหนเลยที่จัดว่าดีที่สุด ดังนั้นห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ต้องเลือกให้เหมาะสมกับความต้องการ โดยคำนึงถึงองค์ประกอบหลายๆ อย่าง เช่น ความรวดเร็วของการวิเคราะห์ ความยากง่าย ความเข้มข้น สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารที่จะวิเคราะห์ ตลอดจนทั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ที่สามารถอำนวยให้ แต่ละเทคนิคมีหลักการทั่วไป ดังนี้

9.1 Flame Techniques

เทคนิคนี้ใช้ flame ทำให้เกิด atomization โดยทั่วไปแล้วเป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง สารตัวอย่างควรจะต้อมีลักษณะ ดังต่อไปนี้

1. สารตัวอย่างต้องเป็นสารละลายหรือของเหลว
2. สารตัวอย่างควรมีสารที่เป็นของแข็งละลายอยู่ไม่เกิน 5% มิฉะนั้นจะมีผลต่อการเกิด atomization
3. สารตัวอย่างควรจะสลายตัวได้ดีด้วยความร้อน
4. ควรมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงที่เหมาะสม
5. สารละลายตัวอย่างจะต้องมีอย่างน้อย 1 ml.

เทคนิคนี้ผู้วิเคราะห์ไม่จำเป็นต้องมีความชำนาญมากนัก ค่าใช้จ่ายส่วนใหญ่อยู่ที่การเตรียมสารตัวอย่างให้เป็นสารละลาย มีความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง

9.2 Graphite Furnace

สารตัวอย่างที่จะใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์ควรมีลักษณะดังนี้

1. สารตัวอย่างอาจเป็นของแข็ง หรือของเหลว หรือของแข็งละลายในของเหลว ซึ่งถ้าละลายเป็นเนื้อเดียวกันก็ยิ่งดี
2. สารตัวอย่างต้องสลายตัวด้วยความร้อน และทำให้สารเจือปนกับสารที่จะวิเคราะห์แยกออกจากกันได้
3. ควรจะต้องมีช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม
4. สารตัวอย่างและสารมาตรฐานควรจะเปรียบเทียบกันได้
5. ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ต้องใช้อาจเป็น 0.5 μL .
6. วิธีนี้ให้ความแม่นยำ และ sensitivity ในการวิเคราะห์ดี แต่ผู้วิเคราะห์จำเป็นต้องมีประสบการณ์และความชำนาญพอสมควร อัตราค่าวิเคราะห์ขึ้นอยู่กับสารเคมีที่ต้องใช้ graphite tube และเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์

9.3 Vapor Generation Techniques

สำหรับเทคนิคนี้จำเป็นต้องทำสารตัวอย่างให้มีลักษณะ ดังต่อไปนี้

1. สารตัวอย่างจำเป็นต้องย่อยให้อยู่ในสภาพที่เป็นกรดและมี oxidation state ที่เหมาะสม
2. ใช้วิเคราะห์ได้เฉพาะบางธาตุเท่านั้น
3. ควรจะต้องปราศจากสิ่งรบกวนทางเคมี
4. ช่วงความเข้มข้นจะต้องพอเหมาะ
5. เป็นเทคนิคที่ให้ sensitivity สูงสำหรับธาตุที่สามารถวิเคราะห์ได้
6. ค่าใช้จ่ายขึ้นอยู่กับสารเคมีและเวลาที่ใช้

7. การเตรียมตัวอย่างต้องใช้ความชำนาญ แต่การทำวิเคราะห์สามารถทำได้ง่าย
8. ความแม่นยำของการวิเคราะห์สูง 2 วิธีแรกไม่ได้

การเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ นั้น ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ควรพิจารณาเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมกับความต้องการและผลวิเคราะห์ที่ได้ถูกต้อง แม่นยำ ควรเตรียมความพร้อมดัง ตัวอย่างต่อไปนี้

ตัวอย่างการเตรียมการวิเคราะห์ด้วย Flame Atomization Technique

ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างน้ำเสียด้วยเทคนิค AAS นั้น มีขั้นตอนต่างๆ ต้องเตรียมความพร้อม ดังนี้

1. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ต้องมีเครื่อง Atomic Absorption Spectrometer
2. สารเคมี สำหรับกรณีนี้เลือกใช้วิธีย่อยตัวอย่างแบบ Nitric Acid Digestion ดังนั้น สารเคมีที่ต้องใช้มี ดังนี้

2.1 กรดไนตริก (HNO_3) ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 65%

2.2 น้ำ Deionized water (DI) คุณภาพชั้น 2 (Type II) หรือสูงกว่า

2.3 ก๊าซอะเซทิลีน (Acetylene gas) Pressure-reducing Valves ชนิด Instrument Grade

2.4 สารละลายโลหะมาตรฐานรับรอง (Verification Standard) เช่น SRM, RM

เป็นสารละลายชนิด AA Grade หรือเทียบเท่าที่สามารถสอบกลับไปยัง NIST

2.5 สารละลายโลหะมาตรฐาน 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสารละลายชนิด

AA Grade หรือเทียบเท่า สำหรับใช้ในการปรับเทียบ (calibration) เตรียมไว้

สร้างกราฟมาตรฐาน (Working Standard Solution)

เตรียมสารละลายที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น ขึ้นอยู่กับช่วงความเข้มข้นของแต่ละชนิดที่ต้องการวิเคราะห์ ตัวอย่าง เช่น การวิเคราะห์ทดสอบ Cu เตรียมความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.50, 1.00, 1.50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเตรียมจากสารละลายโลหะมาตรฐานความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายสำหรับตั้งศูนย์ของเครื่องใช้ 0.2 % กรดไนตริก

3. การเตรียมตัวอย่างน้ำเสียเพื่อใช้ในวิเคราะห์ทดสอบ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สามารถเลือกวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายตัวอย่างได้จาก วิธีมาตรฐาน โดยพิจารณาจากคุณสมบัติเฉพาะตัวของธาตุที่จะทำการวิเคราะห์ เช่น ตัวอย่างการวิเคราะห์ Cu ในน้ำเสียโดยการใช้ Flame Atomization Technique เลือกการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี Nitric Acid Digestion มีขั้นตอนการเตรียม ดังนี้

3.1 นำตัวอย่างน้ำออกมาจากห้องเย็นต้องตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิของตัวอย่างน้ำ

เท่ากับหรือใกล้เคียงอุณหภูมิห้อง

3.2 จากนั้นเปิดตัวอย่างน้ำ ที่เขย่าเข้ากันดีแล้ว 100 มิลลิลิตร ด้วยปิเปตแบบวัด

ปริมาตร (Volumetric Pipette) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร

3.3 ใส่วัสดุ Glass bead

3.4 เติมกรดไนตริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร โดยใช้ Dispenser แล้วแกว่งเบาๆ ให้เข้ากัน ปิดกระจกนาฬิกา แล้วนำไปวางบนเตาไฟฟ้า (Hot plate) ซึ่งตั้งเตาไฟฟ้าไว้ในตู้ดูดควัน ให้ความร้อนที่อุณหภูมิเหมาะสมโดยให้เดือดเบาๆ ค่อยๆ ระเหย จนกระทั่งการย่อยสมบูรณ์สังเกตจากสารละลายจะใสขึ้น จนปริมาตรเหลือประมาณ 10-20 มิลลิลิตร แล้วยกกลงปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3.5 Rinse ข้างๆ บีกเกอร์ และกระจกนาฬิกาด้วยน้ำ Deionized water 1 ครั้ง แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 หรือเทียบเท่าใส่ในขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) 100 มิลลิลิตร เมื่อสารละลายกรองหมดแล้ว Rinse กระดาษกรองด้วยน้ำ Deionization water อีกครั้ง แล้วปรับปริมาตร ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ Deionization water แล้วถ่ายใส่ขวดพลาสติกโพลีเอทิลีน นำไปเก็บในห้อง AAS รอการวิเคราะห์ต่อไป

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 ทำการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยให้มีค่า Correlation of determination ≥ 0.995 เริ่มจาก Blank standard ก่อนและเรียงตามลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปมาก อ่านค่า Blank standard ให้ได้ 0.000 หรือใกล้เคียงจากนั้นทดสอบความเข้มข้นจนครบทุกความเข้มข้น กราฟมาตรฐานที่ได้จะเป็นเส้นตรง ($R^2 \geq 0.995$)

4.2 ทำการทดสอบสารละลายโลหะมาตรฐานที่ทราบค่าแน่นอน โดยใช้ความเข้มข้นตรงกลางของสารละลายโลหะมาตรฐานที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน หลังจากที่ทำกราฟมาตรฐานทุกครั้ง (Continuing Calibration Standard, CCS)

4.3 ทำการทดสอบสารละลายโลหะมาตรฐานที่เตรียมจากแหล่งที่มาที่ต่างจากสารละลายโลหะมาตรฐานที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยใช้ความเข้มข้นตรงกลางสารละลายโลหะมาตรฐานรับรอง (Calibration Verification Standard, CVS)

4.4 ทำการทดสอบสารละลายโลหะมาตรฐานที่ทราบค่าแน่นอน ช่วงความเข้มข้นตรงกลางของสารละลายโลหะมาตรฐานที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยที่ต้องผ่านกระบวนการย่อยให้เหมือนกับตัวอย่าง (Laboratory Control Standard, LCS)

4.5 ทำการทดสอบ Blank

4.6 ทำการทดสอบสารละลายตัวอย่างและตัวอย่างที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพ และบันทึกค่า Absorbance และค่า Concentration

4.7 ทำ Dilution สารละลายตัวอย่างที่ทดสอบได้ค่า Absorbance เกิน Range ของกราฟมาตรฐาน ตามความเหมาะสม เช่น 2, 5, 10, 20, 50 เท่า

4.8 เมื่อเสร็จขั้นตอนการทดสอบแล้วทำความสะอาดเครื่อง และปิดเครื่อง

5. การคำนวณ

5.1 กรณีไม่มีการเจือจางตัวอย่าง

$$\text{สูตร } C (\text{โลหะ}) = M_t - M_b$$

เมื่อ C (โลหะ) = ความเข้มข้นของโลหะ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

M_t = ความเข้มข้นของโลหะหนักจาก test portion (มิลลิกรัมต่อลิตร)

M_b = ความเข้มข้นของโลหะหนักจาก Blank sample (มิลลิกรัมต่อลิตร)

5.2 กรณีมีการเจือจางตัวอย่าง (Post dilution)

$$\text{สูตร } C (\text{โลหะ}) = [M_t \times (B/V)] - M_b$$

เมื่อ C (โลหะ) = ความเข้มข้นของโลหะ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

M_t = ความเข้มข้นของโลหะจาก test portion (มิลลิกรัมต่อลิตร)

M_b = ความเข้มข้นของโลหะจาก Blank (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ปริมาตรสุดท้ายของตัวอย่าง (Final volume, มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรของสารละลาย (Original Sample, มิลลิลิตร)

6. การควบคุมคุณภาพการทดสอบ

6.1 Method blank เพื่อเป็นการตรวจสอบความปนเปื้อนที่อาจจะเกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการทดสอบตั้งแต่การเตรียมตัวอย่างจนถึงสิ้นสุดการทดสอบ

6.2 Duplicate sample เป็นการควบคุมความแม่นยำ (precision) ของการทดสอบ ถ้าผลที่ได้แตกต่างกันจะบอกถึงความแปรปรวนของวิธีวิเคราะห์ สูตรการคำนวณดังนี้

$$\% \text{RPD} = \frac{(\text{sample result} - \text{duplicate result}) \times 100}{(\text{sample result} + \text{duplicate result}) / 2}$$

6.3 การทำ Laboratory-fortified Matrix (LFM) เป็นการควบคุมความถูกต้อง (Accuracy) ของการทดสอบ

สูตรการคำนวณดังนี้

$$\% \text{recovery} = \frac{(\text{LFM sample result} - \text{sample result}) \times 100}{(\text{Known LFM added concentration})}$$

6.4 ทำการตรวจสอบ Sensitivity ของเครื่องมือ 1 ครั้ง/เดือน

โดยนำสารละลายสำหรับตั้งศูนย์ของเครื่องมาบันทึกค่า Absorbance 5 ครั้ง และนำสารละลายโลหะมาตรฐานความเข้มข้นที่ให้ค่า Absorbance ประมาณ 0.200 หรือความเข้มข้นตรงกลางที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานมาบันทึกค่า

Absorbance 5 ครั้ง ค่าที่ยอมรับได้จะต้องอยู่ในช่วง $\pm 20\%$ ของค่าจริง

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{Conc. Of Std.} \times 0.0044}{\text{Measured}}$$

Measured

(Measured Abs.=Average Abs. of Std.–Average Abs. of Zero Concentration)

6.5 การสร้างกราฟมาตรฐาน โดยให้มีค่า Correlation of determination ≥ 0.995

6.6 การตรวจสอบคุณภาพ Continuing Calibration Standard (CCS)

6.7 ใช้ QC Check Standard (Calibration Verification Standard, CVS)

6.8 การตรวจสอบ (Laboratory Control Standard ,LCS)

10. อ้างอิง

10.1 APHA, AWWA and WEF “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”

20th Edition, Edited by Lenore S. Clesceri, Arnold E. Greenberg, Andrew D. Eaton, 1998.

10.2 เอกสารอบรมหลักสูตรการวิเคราะห์ วิจัย โลหะในน้ำด้วยเทคนิค AAS ของ รศ.แมน อมรสิทธิ์

10.3 Maria Csuros “Environmental Sampling and Analysis for Technicians” Edition, Lewis

Publishers, CRC Press Inc, U.S.A. 1994, P107-108, and Chapter 8, P140-146