การพัฒนาระบบโฟลอินเจคชันที่มีความเร็วในการวิเคราะห์สูงสำหรับตรวจวัดความเค็มและฟอสเฟตในน้ำจืดและน้ำกร่อย

Development of High-Throughput Flow-Injection System for Analysis of Salinity and Phosphate in Fresh Water and Brackish Water

กมลทิพย์ เสรีนนท์ชัย*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

สุมนมาลย์ จันทร์เอี่ยม

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์พระราชวังสนามจันทร์

อำเภอเมือง นครปฐม 73000

ปิยวรรณ พันสี และดวงใจ นาคะปรีชา

ภาควิชาเคมี และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล แขวงพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400

Kamonthip Sereenonchai*

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Sumonmarn Chan-Eam

Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University, Sanam Chandra Palace Centre,

Muang, Nakhon Pathom 73000

Piyawan Phansi and Duangjai Nacapricha

Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry,

Faculty of Science, Mahidol University, Phayathai, Ratchathewi, Bangkok 10400

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยอาศัยระบบวิเคราะห์แบบไหลชนิดโฟลอินเจคชัน สำหรับการตรวจวัดความเค็มและฟอสเฟตในน้ำจืดและน้ำกร่อยอย่างรวดเร็วเพื่อควบคุมคุณภาพแหล่งน้ำ การวิเคราะห์เริ่มจากการตรวจวัดความเค็มเป็นตัวบ่งชี้แรกโดยอาศัยปรากฏการณ์ซิลเลอเรนหรือการเกิดเลนส์จากการหักเหของแสง

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** ksereenonchai@hotmail.com

ระหว่างรอยต่อของน้ำตัวอย่างที่มีค่าดัชนีหักเหต่างจากกระแสตัวพาน้ำบริสุทธิ์ ทำให้ปรากฏสัญญาณค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่องคัลเลอริมิเตอร์ที่แปรตรงกับปริมาณความเค็มในน้ำตัวอย่าง จากนั้นท่อนตัวอย่างเดิมจะถูกผสมกับกระแสรีเอเจนท์เกิดเป็นสารเชิงซ้อนฟอสเฟตสีน้ำเงินด้วยวิธีโมลิบดีนัมบลู และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนนี้ ณ สองความยาวคลื่น (690 และ 1000 นาโนเมตร) ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบไดโอดแอเรย์ โดยการนำสัญญาณค่าการดูดกลืนแสงที่ 1000 นาโนเมตร (เกิดจากชิลเลอเรนที่มาจากความแตกต่างของค่าดัชนีหักเหของความเค็มในตัวอย่างกับสารรีเอเจนท์) ไปหักลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 690 นาโนเมตร (สารเชิงซ้อนฟอสเฟตสีน้ำเงิน) ระบบที่นำเสนอนี้ ได้นำไปใช้ตรวจวัดปริมาณความเค็มและฟอสเฟตได้พร้อมกัน โดยวัดจากตัวอย่างที่เก็บตามเส้นทางคลองธรรมชาติ จังหวัดสมุทรสาครและแม่น้ำเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร ในประเทศไทย จากการเทียบปริมาณวิเคราะห์กับวิธีมาตรฐาน และพบว่าให้ผลสอดคล้องกันทางสถิติแบบ pair *t*-test ทำให้เห็นว่าระบบที่พัฒนาขึ้นมีความน่าเชื่อถือ มีความไวในการวิเคราะห์สูง มีความเที่ยงดี (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 1.3 %) และวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว (วิเคราะห์ได้ 2 ตัวบ่งชี้ต่อหนึ่งตัวอย่างภายในเวลา 4 นาที)

คำสำคัญ: ชิลเลอเรน; ความเค็ม; ฟอสเฟต; โฟลอินเจคชัน; น้ำกร่อย

Abstract

This work describes method development based on flow injection (FI) system for fast analysis of salinity and phosphate for quality control in fresh water and brackish water samples. Measurement of salinity content was firstly monitored by using the Schlieren or lens effect which is a phenomenon of light deflection at the refractive gradient of liquid interface between salted sample and pure water. This could result in salinity signal detected by a colorimeter. After exiting the colorimeter, the same sample zone was merged with reagent streams for analysis of molybdenum blue complex of phosphate at dual wavelengths detection (690 and 1000 nm) by using a diode array spectrophotometer. The phosphate signal was carried out by subtracting absorbance values between 690 nm (for phosphomolybdenum blue complex signal) and 1000 nm (for Schileren signal due to sample containing salt and reagents). The proposed FI system was satisfactorily applied to the synchronous determination of salinity and phosphate in fresh water and brackish water which were collected along a canal in Samutsakhon province and Chaophraya river in Bangkok, Thailand. Results obtained from the developed system were agreed well with standard methods by using pair *t*-test. The proposed method showed reliability, high sensitivity, good precision (less than 1.3 % RSD) and fast analysis (2 indices/one sample for 4 min only).

Keywords: schlieren; salinity; phosphate; flow injection; brackish

1. บทนำ

มลภาวะทางน้ำจัดเป็นปัญหาสำคัญที่ทั่วโลกตระหนักถึง [1] เนื่องจากน้ำเป็นองค์ประกอบที่มีมากที่สุดในโลก จึงเป็นทั้งแหล่งอาหารและเป็นที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตมากมาย รวมถึงเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติที่เป็นเศรษฐกิจสำคัญของประเทศอีกด้วย ปัญหามลพิษทางน้ำที่เกิดขึ้นนั้นมีสาเหตุทั้งจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การปล่อยของเสียจากอุตสาหกรรม เกษตรกรรม น้ำทิ้งตามบ้านเรือนลงสู่แหล่งน้ำ และสาเหตุจากธรรมชาติ เช่น การเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลหนุนหรือเกิดอุทกภัย เป็นต้น ทำให้ปัญหามลพิษทางน้ำนับวันยิ่งทวีความรุนแรงมากขึ้นเรื่อย ๆ และเป็นหนึ่งในปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญยิ่งของประเทศไทย ตัวชี้วัดคุณภาพน้ำมีด้วยกันมากมายหลายตัวบ่งชี้ ดังเช่นความเค็มและฟอสเฟตก็เป็นหนึ่งในตัวบ่งชี้คุณภาพน้ำที่สำคัญและได้ถูกระบุไว้ตามประกาศมาตรฐานคุณภาพน้ำของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ [2,3]

ความเค็มหมายถึงปริมาณเกลือแร่ต่าง ๆ ที่ละลายอยู่ในน้ำ คิดเป็นหน่วยน้ำหนักเป็นกรัมของสารดังกล่าวต่อกิโลกรัมของน้ำ หรือส่วนในพันส่วน (ppt) [4,5] ในน้ำจืดจะมีระดับความเค็มในช่วง 0.0-0.21 ppt น้ำกร่อย 0.21-30 ppt และน้ำเค็ม 30-35 ppt [6] ซึ่งระดับความเค็มที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อการใช้ประโยชน์ของน้ำต่างกันไปอีกด้วย เช่น การพิจารณานำน้ำมาใช้อุปโภคและบริโภค การทำประมง และการอนุรักษ์สัตว์น้ำ รวมถึงความสำคัญในการเฝ้าติดตามและอนุรักษ์แหล่งน้ำจืดจากการรุกล้ำของน้ำเค็ม หรือระวังผลกระทบจากการเกิดน้ำจืดเบียดน้ำทะเล ดังเช่นการเร่งระบายน้ำลงทะเลจากมหาอุทกภัยปี พ.ศ. 2554 ของประเทศไทยจนเกิดปัญหาความเค็มลดลงฉับพลัน ส่งผลกระทบต่อการประมงไทยจนเป็นข่าวดังไปทั่วประเทศ วิธีวิเคราะห์ความเค็มในน้ำที่นิยม คือการวัดค่าการนำไฟฟ้า [4,5,7] และการวัดค่าดัชนีหักเหของแสง เช่น การใช้เซนเซอร์ชนิดไฟเบอร์แบรกก์เกรตติง (fibre Bragg grating) [8] เซนเซอร์ชนิดเซอร์เฟซพลาสมอน (surface plasmon sensor) [9] เครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์ [10-13] ซึ่งทั้งหมดนี้เป็นการวัดแบบแบทช์ (batch) ทั้งสิ้น

ฟอสเฟตหรือฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชและแพลงค์ตอนพืช รูปแบบฟอสฟอรัสที่พืชสามารถใช้ประโยชน์และเป็นรูปแบบเด่นในแหล่งน้ำคือฟอสเฟตละลาย ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}, PO_4^{3-}) โดยทั่วไปปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำธรรมชาติควรมีค่าน้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร (mgP/L) หากมีมากเกินไปจะทำให้เกิดปัญหาพืชน้ำเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนแหล่งน้ำเน่าเสีย มีงานวิจัยมากมายที่เสนอเทคนิคการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในน้ำประเภทต่าง ๆ ไว้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบวิเคราะห์แบบอาศัยการไหล (flow-based technique) ร่วมกับวิธีการตรวจวัดแบบต่าง ๆ ดังมีผู้รวบรวมบทความวิจัยดังกล่าวไว้ในปี ค.ศ. 1997 และปี ค.ศ. 2005 [14,15] จากการสืบค้นทางวรรณกรรมพบว่าวิธีที่มีผู้นิยมใช้มากที่สุดคือการตรวจวัดการดูดกลืนแสงจากปฏิกิริยาโมลิบดีนัมบลู (molybdenum blue) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่มีมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1962 [16]

เพื่อเป็นการป้องกันและแก้ไขปัญหาได้อย่างทันท่วงที ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบวิเคราะห์แบบอาศัยการไหลหรือโฟลอินเจคชันสำหรับวิเคราะห์ความเค็มและฟอสเฟตได้พร้อมกัน โดยความเค็มจะตรวจวัดด้วยหลักการชิลเลอเรนหรือการหักเหของแสงบริเวณรอยต่อของสารตัวอย่างที่มีความเค็มกับกระแสตัวพาน้ำซึ่งมีค่าดัชนีหักเหแตกต่างกัน [17-20] ทำให้เกิดสัญญาณการดูดกลืนแสงที่แปรตรงกับปริมาณความเค็มและตรวจวัดด้วยเครื่องคัลเลอริมิเตอร์ ณ ความ

ยาวคลื่น 890 nm ได้ ส่วนการวิเคราะห์ฟอสเฟตอาศัยการทำให้เกิดสารเชิงซ้อนสีน้ำเงินด้วยวิธีโมลิบดีนัมบลู [14-16] และตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดไดโอดแอเรย์ที่ 690 และ 1000 nm ซึ่งตัวบ่งชี้คุณภาพน้ำทั้งสองนี้มีความสำคัญที่ต้องติดตามตรวจวัดอยู่เสมอ ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ทำให้การวิเคราะห์มีความสะดวก รวดเร็ว สามารถรองรับการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมากได้ เหมาะอย่างยิ่งที่จะนำไปใช้ในงานวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ต้องทำเป็นประจำ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 สารเคมีและเครื่องแก้ว

สารเคมีที่ใช้ในการวิจัยเป็นเกรดสำหรับวิเคราะห์ (analytical grade) และใช้น้ำปราศจากไอออนตลอดการศึกษา เครื่องแก้วทั้งหมดถูกล้างด้วยน้ำยาล้างปราศจากฟอสเฟต (TEEPOL, Sherwood, ประเทศไทย) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของฟอสเฟตที่มาจากน้ำยาล้างเครื่องแก้ว

2.1.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ความเค็ม

สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl, Merck, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน) ความเข้มข้น 60 ppt ถูกใช้เป็นตัวแทนของความเค็มในน้ำ โดยเตรียมจากการละลายโซเดียมคลอไรด์ 60 g ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้สารละลายหนักสุทธิ 1000 g การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและการสร้างกราฟมาตรฐานทำได้โดยเจือจางสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 60 ppt ด้วยปริมาตรน้ำกลั่นที่เหมาะสม

2.1.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ฟอสเฟต [21-23]

สารละลายฟอสเฟตเข้มข้นเริ่มต้น 100 mgP/L เตรียมจากการละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4, Merck, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน) หนัก 0.4392 g ในน้ำและปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรจนได้สารละลายสุทธิ 1 L สารละลายฟอสเฟตเริ่มต้น 100 mgP/L จะถูกเจือจางด้วยน้ำปริมาตรที่เหมาะสมสำหรับเตรียมสารละลายฟอสเฟตเจือจางในการหาสภาวะที่เหมาะสมและการสร้างกราฟมาตรฐานต่อไป

สำหรับสารละลายรีเอเจนท์ในการวิเคราะห์ฟอสเฟตด้วยการทำให้เกิดสารเชิงซ้อนสีน้ำเงินหรือวิธีโมลิบดีนัมบลูนั้นประกอบด้วยสารละลาย R1 สำหรับสร้างสารเชิงซ้อนโมลิบโดฟอสฟอริกเอซิดผสมกับกรดอินทรีย์ที่ช่วยป้องกันการรบกวนจากซิลิเกตและอาร์ซีเนต เตรียมโดยผสมแอมโมเนียมโมลิบเดท ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}\bullet 4H_2O$, QReC, นิวซีแลนด์) หนัก 12 g และกรดทาร์ทาริก ($(CHOCHCOOH)_2$, Fluka, สมาพันธรัฐสวิส) หนัก 2.4 g ในสารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้น 0.6 M จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายผสมนี้ด้วยกรดซัลฟุริก 0.6 โมลาร์จนถึงขีดบอกปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 L

สารละลายรีดิวซิ่งเอเจนท์ (R2) เพื่อทำให้เกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีน้ำเงิน เตรียมจากละลายสแตนนัสคลอไรด์ ($SnCl_2\bullet 2H_2O$, BDH, ประเทศอังกฤษ) หนัก 0.15 g และไฮดราซีเนียมซัลเฟต ($N_2H_6SO_4$, Merck, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน) หนัก 1 g ในสารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้น 0.5 M และปรับปริมาตรด้วยกรดในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 mL

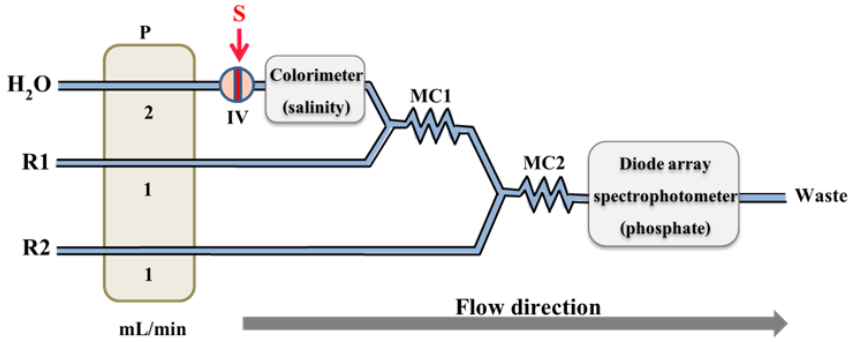
2.2 การเก็บรักษาและการเตรียมตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ได้เก็บตัวอย่างน้ำตามแนวลำคลองที่เชื่อมสู่ทะเลของจังหวัดสมุทรสาคร จำนวน 6 จุด และแม่น้ำเจ้าพระยาในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 2 จุด รวมทั้งสิ้น 12 ตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนในการศึกษาวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยใช้วิธีการเก็บตัวอย่างแบบสะดวก (convenient sampling) และเก็บแบบตัวอย่างแยก (grab sample) ตัวอย่างจะถูกกรองด้วยแผ่นเยื่อกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.45 μm และบรรจุลง

ในขวดพลาสติกชนิดโพลีเอธิลีนที่ผ่านการล้างด้วยน้ำยาปราศจากฟอสเฟตแล้ว ตัวอย่างแต่ละขวดจะถูกแช่ในถังน้ำแข็งตลอดการขนย้าย และเก็บรักษาต่อในตู้แช่อุณหภูมิ 4 °C (ไม่เกิน 48 ชั่วโมง) ตัวอย่างจะถูกนำออกจากตู้แช่เพื่อทิ้งไว้ให้มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องเมื่อจะทำการวิเคราะห์

2.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

รูปที่ 1 เป็นแผนภาพจำลองระบบโฟลอินเจคชันสำหรับการวิเคราะห์ความเค็มและฟอสเฟตได้พร้อมกัน ปั๊มลูกกลิ้ง (model IS7610, Ismatec, สมาพันธรัฐสวิส) ใช้ร่วมกับท่อปั๊มชนิด Tygon (เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.02 และ 0.95 mm) ทำหน้าที่ควบคุมอัตราการไหลของของเหลวในระบบ โดยมีอัตราการไหลของกระแสน้ำกลั่น 2 mL/min อัตราการไหลของสารละลาย R1 และ สารละลาย R2 เป็น 1 mL/min ซึ่งน้ำกลั่นและสารละลายจะไหลอยู่ภายในท่อเทฟลอนขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.75 mm) ที่เชื่อมต่อกันเป็นระบบที่พัฒนาขึ้นดังรูปที่ 1 และมีท่อช่วยผสมยาว 60 cm (MC1 และ MC2) ทำจากท่อเทฟลอนขนาดเดียวกันพันขดกันเป็นเกลียว เพื่อช่วยผสมท่อนสารตัวอย่างกับสารรีเอเจนท์ R1 และ R2 ให้ปฏิกิริยาโมลิบดีนัมบลูเกิดทั่วถึง ตัวอย่างหรือสารมาตรฐานจะถูกฉีดเข้าทางวาล์วชนิด 6 ช่อง (model V-450, Upchurch, ประเทศสหรัฐอเมริกา) การตรวจวัดความเค็มจะใช้เครื่องคัลเลอริมิเตอร์ที่สร้างขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีคิวเวทชนิดสารไหลผ่านเข้าออกได้วางอยู่ในเครื่อง (ทางผ่านของแสง 10 mm ปริมาตรภายใน 80 μL, Hellma, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน) และเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดไดโอดแอเรย์ (model 8453, Agilent, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน) ซึ่งมีคิวเวทชนิดสารไหลผ่านเข้าออก (ทางผ่านของแสง 50 mm, ปริมาตรภายใน 370 μL, Hellma, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน) สำหรับตรวจวัดสัญญาณที่เกิดจากฟอสเฟต



รูปที่ 1 ระบบโฟลอินเจคชันที่พัฒนาขึ้นสำหรับตรวจวัดความเค็มและฟอสเฟตได้พร้อมกัน ประกอบด้วยปั๊มลูกกลิ้ง (P) วาล์วชนิด 6 ช่อง (IV) เครื่องคัลเลอริมิเตอร์ เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดไดโอดแอเรย์ ท่อช่วยผสม (MC1 และ MC2) สารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน (S) และสารละลายรีเอเจนท์ (R1 และ R2)

2.4 วิธีการทดลอง

สารตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบด้วยการฉีดเข้าทางวาล์ว (IV ในรูปที่ 1) ในตำแหน่งโหลดตัวอย่าง ซึ่งมีท่อกำหนดปริมาตรขนาด 1000 μL เชื่อมต่ออยู่ (injection loop) เมื่อทำการหมุนวาล์วไปที่ตำแหน่งการฉีด ท่อนตัวอย่างจะไหลเข้าสู่คิวเวทชนิดสารไหลผ่านได้ในเครื่องคัลเลอริมิเตอร์ด้วยการพาของกระแสน้ำ (H_2O) ที่อัตราการไหลคงที่ 2 mL/min

ความแตกต่างของดัชนีหักเหระหว่างความเค็มในท่อนตัวอย่างกับกระแสน้ำจะทำให้เกิดสัญญาณค่าการดูดกลืนแสงที่แปรตรงกับความเค็มขึ้น และตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 890 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่ไม่มีผลการรบกวนจากสีของน้ำตัวอย่าง จากนั้นท่อนตัวอย่างจะไหลออกจากเครื่องคัลเลอริมิเตอร์และทำปฏิกิริยากับรีเอเจนท์ R1 และ R2 เกิดเป็นสารเชิงซ้อนฟอสเฟตสีน้ำเงินและตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 690 และ 1000 nm ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดไดโอดแอเรย์

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

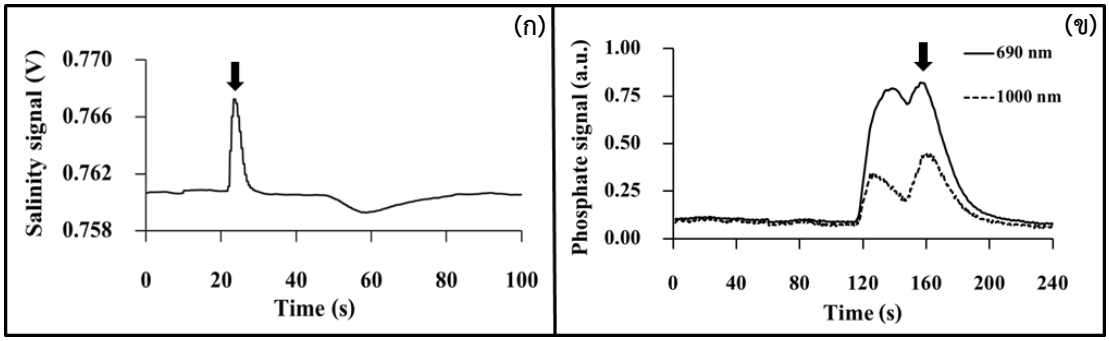
3.1 การเลือกความยาวคลื่นในการศึกษา

ปรากฏการณ์ชิลเลอเรนหรือการเกิดเลนส์พบได้บ่อยครั้งในการวิเคราะห์ด้วยระบบการไหลที่ใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงเป็นตัวตรวจวัด หากท่อนตัวอย่างมีค่าดัชนีหักเหต่างจากกระแสของสารตัวพาหรือสารละลายรีเอเจนท์ จะทำให้บริเวณรอยต่อระหว่างท่อนตัวอย่างและสารละลายทำตัวเสมือนเลนส์ที่สามารถหักเหแสงให้เบนเข้าหรือออกจากเครื่องตรวจวัดได้ ส่งผลให้เกิดสัญญาณการดูดกลืนแสงที่นอกเหนือจากสารที่ต้องการวิเคราะห์ขึ้น มีผู้เสนอแนวทางแก้ไขไว้หลายวิธี เช่น การเพิ่มประสิทธิภาพการผสมเพื่อลดรอยต่อระหว่างสารละลาย [24] การเพิ่มปริมาตรตัวอย่างเพื่อเพิ่มความยาวของท่อนตัวอย่าง [25-26] การปรับสภาวะสารละลายให้มีค่าดัชนีหักเหใกล้เคียงกัน [27-28] การวิเคราะห์แบบหักลบด้วยสองความยาวคลื่น [24, 29-31] และการใช้รีแฟรกทีฟโฟลเซลล์ [32-34] เป็นต้น ในทางตรงข้าม ได้มีงานวิจัยบางส่วนที่นำปรากฏการณ์ชิลเลอเรนนี้มาใช้ให้เกิดประโยชน์ เช่น การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่ม [20] การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล [17-19] เป็นต้น

งานวิจัยนี้ได้นำเสนอการใช้ประโยชน์จากการเกิดชิลเลอเรนสำหรับวิเคราะห์ความเค็ม และนำเสนอวิธีการแก้ปัญหาของชิลเลอเรนที่มีต่อการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตด้วย สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณความเค็มจะต้องเลือกช่วงความยาวคลื่นที่ไม่มีการรบกวนจากสีของตัวอย่างหรือสารละลาย เพื่อให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาจากการหักเหแสงบริเวณรอยต่อของท่อนตัวอย่างน้ำเกลือกับกระแสตัวพาน้ำเท่านั้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกความยาวคลื่น 890 nm ในการตรวจวัด สำหรับการวัดปริมาณฟอสเฟตด้วยวิธีโมลิบดีนัมบลู โดยใช้สารละลายสแตนนัสคลอไรด์เป็นรีดิวซิงเอเจนท์ จะพบว่าสารเชิงซ้อนฟอสเฟตสีน้ำเงินมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 690 nm [14-16] แต่อย่างไรก็ตาม ในกรณีตัวอย่างน้ำกร่อยจะได้รับผลกระทบจากปรากฏการณ์ชิลเลอเรน [27-28, 30, 33-34] ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มากกว่าความเป็นจริง ดังนั้นจึงแก้ไขโดยการวิเคราะห์แบบหักลบด้วยสองความยาวคลื่น โดยบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ 690 และ 1000 nm พร้อมกัน แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 1000 nm (เกิดจากผลของชิลเลอเรนเพียงอย่างเดียว) ไปหักลบออก จะทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนฟอสเฟตสีน้ำเงิน รูปที่ 2 แสดงตัวอย่างภาพสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดน้ำเกลือเข้มข้น 15 ppt (รูปที่ 2ก) และสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายฟอสเฟตเข้มข้น 0.5 mgP/L ที่เตรียมในน้ำเกลือเข้มข้น 15 ppt (รูปที่ 2ข)

3.2 ปริมาตรของตัวอย่าง

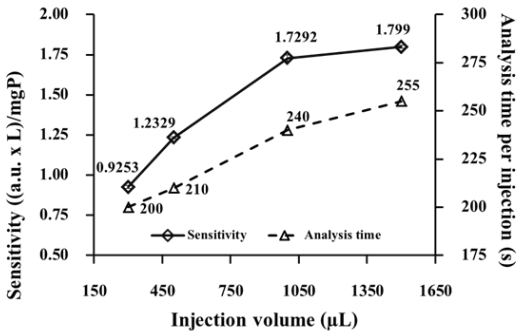
เนื่องด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นเป็นการตรวจวัดความเค็มและฟอสเฟตได้พร้อมกันจากการฉีดตัวอย่างเพียงครั้งเดียว ดังนั้นเพื่อให้ความไว (sensitivity) ในการวิเคราะห์ครอบคลุมปริมาณความเค็มและฟอสเฟตที่มีทั้งในน้ำจืดและน้ำกร่อย จึงทำการศึกษาปริมาตรตัวอย่างที่เหมาะสมในช่วง 300-1,500 μL



รูปที่ 2 ภาพสัญญาณที่ได้จากเครื่องตรวจวัด ลูกศรแสดงพีคที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ (ก) สัญญาณของสารละลายน้ำเกลือมาตรฐานเข้มข้น 15 ppt และ (ข) สัญญาณของสารละลายฟอสเฟตมาตรฐานเข้มข้น 0.5 mgP/L ในน้ำเกลือเข้มข้น 15 ppt

การศึกษาปริมาตรของสารตัวอย่างด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานน้ำเกลือเข้มข้น 15-25 ppt พบว่าปริมาตรของตัวอย่างไม่มีผลต่อความไวของการวิเคราะห์ความเค็มด้วยหลักการชิลเลอเรน ซึ่งได้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยที่มีผู้เสนอการใช้หลักการชิลเลอเรนสำหรับตรวจวัดความหวาน [17-18] เพราะรอยต่อของน้ำเกลือกับน้ำกลั่นมีขนาดเท่ากัน (ถูกกำหนดจากความกว้างของท่อเทฟลอนที่ใช้) จึงทำให้การเกิดเลนส์เสมือนมีขนาดเท่ากันโดยความยาวหรือปริมาตรของท่อนตัวอย่างที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลใด ๆ

ปริมาณของฟอสเฟตในแหล่งน้ำมักมีค่าที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น บริเวณใกล้แหล่งชุมชนหรือใกล้แหล่งเกษตรกรรม ส่วนใหญ่จะมีปริมาณฟอสเฟตสูงกว่าบริเวณน้ำกร่อยใกล้ทะเล เป็นต้น สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเข้มข้น 0.05-1 mgP/L ใช้ในการศึกษาผลของปริมาตรที่มีต่อความไว (รูปที่ 3) พบว่าความไวเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงปริมาตร 300-1000 μL และความไวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังปริมาตร 1000 μL ดังนั้น ปริมาตรขนาด 1000 ไมโครลิตร จึงมีความเหมาะสม เพราะให้ความไวที่สูงและเวลาในการวิเคราะห์ที่ยอมรับได้ (240 วินาทีต่อตัวอย่าง หรือ 15 ตัวอย่างต่อชั่วโมง)

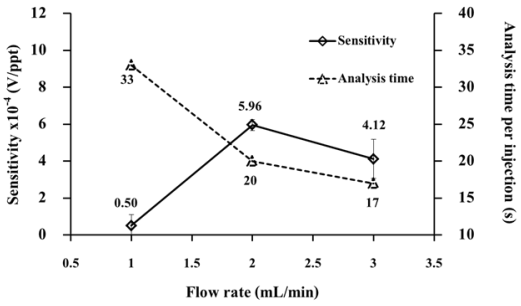


รูปที่ 3 ผลการเพิ่มปริมาตรตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตที่มีต่อความไวและเวลาในการวิเคราะห์

3.3 อัตราการไหลของกระแสตัวพา

อัตราการไหลของกระแสตัวพาในการพาท่อนตัวอย่างไปยังเครื่องตรวจวัดนั้น เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อสัญญานในระบบวิเคราะห์แบบโฟลอินเจคชันในงานวิจัยนี้ การวิเคราะห์ความเค็มเป็นแบบปราศจากการเกิดปฏิกิริยาเคมีด้วยอาศัยหลักการชิลเลอเรน ดังนั้นการที่จะได้ความไวสูงจะต้องรักษารอยต่อของท่อนตัวอย่างกับกระแสตัวพาน้ำให้ชัดเจน ส่วนหนึ่งทำได้โดยการต่อวาล์วฉีดตัวอย่างให้ใกล้กับเครื่องคัลเลอริมิเตอร์มากที่สุด รวมถึงการเลือกอัตราการไหลที่เหมาะสมด้วย รูปที่ 4 แสดงผลการศึกษาอัตราการไหล

ของกระแสน้ำตัวพาในช่วง 1-3 mL/min พบว่าอัตราการไหล 1 mL/min ช้าเกินไป ส่งผลให้ท่อนตัวอย่างเกิดการแพร่กระจาย ทำให้ความเร็วของการวิเคราะห์ต่ำลง ในทางตรงข้าม ที่อัตราการไหลเร็วเกินไปจะทำให้เกิดการไหลแบบไม่มีระเบียบ (turbulent flow) ขึ้น ส่งผลให้รอยต่อของท่อนตัวอย่างกับกระแสน้ำตัวพาถูกทำลายความไวจึงต่ำลงอีกครั้ง ดังนั้นอัตราการไหล 2 mL/min จึงเหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ความเร็วสูงที่สุดและใช้เวลาเพียง 20 วินาที ในการตรวจวัดความเค็มในตัวอย่างต่อการฉีด 1 ครั้ง



รูปที่ 4 ผลการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลต่อความไวและเวลาในการวิเคราะห์ความเค็ม

นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าความรวดเร็วของระบบวิเคราะห์ที่นำเสนอนี้ (รูปที่ 1) จะขึ้นอยู่กับความเร็วในการวิเคราะห์ความเค็มเป็นตัวกำหนด เนื่องจากเป็นตัวบ่งชี้แรกที่ทำการตรวจวัด ก่อนจะส่งท่อนตัวอย่างเข้าสู่การวิเคราะห์ฟอสเฟตในลำดับต่อไป ซึ่งอัตราการไหลของกระแสน้ำตัวพาที่ 2 mL/min นี้จึงเป็นตัวหลักในการกำหนดเวลาในการเกิดปฏิกิริยาโมลิบดีนัมบลูของฟอสเฟตด้วย หากกระแสที่พาท่อนตัวอย่างไปยังเครื่องตรวจวัดช้าเกินไป ย่อมทำให้ท่อนผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินเกิดการแพร่กระจายตัวและเจือจางมากขึ้น ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มีค่าต่ำ รวมถึงใช้เวลาในการวิเคราะห์นานขึ้นด้วย ในทางตรงข้าม หากกระแสที่พาท่อนตัวอย่างไปยังเครื่องตรวจวัดเร็วเกินไป อาจส่งผลให้การเกิดปฏิกิริยาระหว่างท่อนตัวอย่างกับรีเอเจนท์เป็นไปได้น้อยกว่าที่ควร ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ต่ำกว่าที่ควรจะเป็น ผู้วิจัยจึงไม่ได้ศึกษาอัตราการไหลของสารละลายรีเอเจนท์ R1 และ R2 เพิ่มเติม และกำหนดอัตราการไหลของ R1 และ R2 ไว้สารละลายละ 1 mL/min (อัตราการไหลรวมทุกสารละลายในการวิเคราะห์ฟอสเฟตในระบบรูปที่ 1 คือ 4 mL/min) โดยพบว่าให้ค่าการดูดกลืนแสงและความเร็วในการวิเคราะห์เป็นที่น่าพอใจทั้งตัวอย่างน้ำจืดและน้ำกร่อย

3.3 การศึกษาผลของตัวรบกวน

3.3.1 การศึกษาตัวรบกวนที่มีต่อการวัดความเค็ม

การวัดสัญญาณความเค็มอันเกิดจากปรากฏการณ์ชิลเลอเรนนั้น จัดเป็นการตรวจวัดที่ไม่เฉพาะเจาะจง (universal detection) เพื่อเป็นการยืนยันว่าไม่มีการรบกวนจากฟอสเฟตที่มีในตัวอย่างเดียวกัน จึงได้เตรียมสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์และฟอสเฟตขึ้น โดยเลือกเตรียมความเข้มข้นของเกลือในช่วง 3-15 ppt และความเข้มข้นของฟอสเฟต 1 mgP/L เป็นตัวแทนในการศึกษา ด้วยการเปรียบเทียบสัญญาณกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 3-15 ppt จากผลการศึกษาพบว่าปริมาณฟอสเฟตที่มีทั่วไปในแหล่งน้ำไม่รบกวนสัญญาณการวัดความเค็มด้วยวิธีชิลเลอเรน โดยพิจารณาจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ได้จากสารละลายผสม y = [(4.65 ± 0.20)x10-4]x + (5.94 ± 1.93)x10-4, r2 = 0.993 ให้ผลไม่แตกต่างจากสมการเส้นตรงจากสารละลายเกลืออย่างเดียว คือ y = [(4.67 ± 0.28)x10-4]x + (6.00 ± 2.60)x10-4, r2 = 0.980

3.3.2 การศึกษาตัวรบกวนที่มีต่อการวัดฟอสเฟต

ซิลิเกตและอาร์ซีเนตเป็นตัวรบกวนสำคัญในการวิเคราะห์ฟอสเฟต เนื่องจากเป็นไอออนที่สามารถทำปฏิกิริยากับโมลิบดีนัมบลูได้เช่นเดียวกับฟอสเฟต ดังนั้นการเติมกรดทาทาร์ริคในสารละลาย R1 จะช่วยลดผลการรบกวนจากไอออนดังกล่าวได้ จากการศึกษาพบว่าวิธีที่ได้นำเสนอนี้สามารถทนการรบกวนจากซิลิเกตและอาร์ซีเนตได้ถึง 100 mgSi/L และ 0.040 mgAs/L ซึ่งทนได้มากกว่าปริมาณซิลิเกตและอาร์ซีเนตที่มีทั่วไปในน้ำถึง 36 เท่า [35] และ 8 เท่า [36] ตามลำดับ

3.4 การรายงานคุณลักษณะของระบบวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น (analytical feature)

จากสภาวะการศึกษาที่เหมาะสม ทำให้ได้คุณลักษณะของระบบวิเคราะห์ที่สามารถตรวจวัดปริมาณความเค็มและปริมาณฟอสเฟตในน้ำจืดและน้ำกร่อยได้ผลการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมจากวิธีที่พัฒนาขึ้น

คุณลักษณะ	ค่าที่ได้จากการวัดความเค็ม	ค่าที่ได้จากการวัดฟอสเฟต
ช่วงความเข้มข้นใช้งาน	3-15 ppt และ 15-25 ppt	0.05-1 mgP/L
สมการเส้นตรงและสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรง (r^2)	3-15 ppt : $y_S = (0.4075 \pm 0.0120)10^{-3}x_S + (0.5882 \pm 0.1140)10^{-3}$, $r^2 = 0.998$ 15-25 ppt : $y_S = (0.2300 \pm 0.0173)10^{-3}x_S + (3.3000 \pm 0.3536)10^{-3}$, $r^2 = 0.994$	$y_P = (0.8886 \pm 0.0216)x_P + (0.0226 \pm 0.0121)$, $r^2 = 0.998$
ความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (3S/N)	2 ppt	0.016 mgP/L
ความเร็วในการวิเคราะห์ (ตัวอย่างต่อชั่วโมง) - การวิเคราะห์แยก (individual analysis)	60	15
- การวิเคราะห์ได้พร้อมกัน (simultaneous analysis)	15	
ความเที่ยง (% RSD, n = 10)	2.17	1.32

3.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation) และการวิเคราะห์ปริมาณในตัวอย่าง

วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ได้ทดสอบกับตัวอย่างน้ำที่เก็บจากแม่น้ำเจ้าพระยาในเขตกรุงเทพมหานคร และเส้นทางคลองธรรมชาติในจังหวัดสมุทรสาคร กระทั่งใกล้บริเวณออกสู่ทะเล รวมทั้งสิ้น 12 ตัวอย่าง โดยเทียบผลปริมาณวิเคราะห์ความเค็มจากวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวัดด้วยเครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบัน และเทียบผลปริมาณวิเคราะห์ฟอสเฟตจากวิธีที่พัฒนากับวิธีมาตรฐานโมลิบดีนัมบลูแบบแบทช์ ผลการหาปริมาณและตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีได้แสดงไว้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลปริมาณของความเค็มและฟอสเฟตในตัวอย่างน้ำจืดและน้ำกร่อยที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นเทียบกับการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่างที่	ความเค็ม (ppt)		ฟอสเฟต (mgP/L)	
	วิธีที่พัฒนาขึ้น	เครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์[a]	วิธีที่พัฒนาขึ้น	วิธีโมลิบดีนัมบลูแบบแบทช์
1	n.d.	0.0 ± 0.0	0.133 ± 0.002	0.131 ± 0.001
2	n.d.	0.0 ± 0.0	0.244 ± 0.004	0.225 ± 0.001
3	4.5 ± 0.3	4.2 ± 0.6	0.349 ± 0.005	0.329 ± 0.023
4	4.9 ± 0.3	5.6 ± 0.6	0.590 ± 0.018	0.578 ± 0.020
5	3.4 ± 0.2	3.4 ± 0.6	0.722 ± 0.027	0.668 ± 0.020
6	21.0 ± 0.5	21.1 ± 0.6	0.205 ± 0.006	0.218 ± 0.009
7	3.1 ± 0.1	3.1 ± 0.6	0.280 ± 0.001	0.261 ± 0.030
8	10.7 ± 0.1	10.8 ± 0.6	0.351 ± 0.017	0.338 ± 0.037
9	17.5 ± 0.5	17.1 ± 0.0	0.343 ± 0.014	0.317 ± 0.021
10	16.3 ± 0.3	16.0 ± 0.0	0.380 ± 0.020	0.421 ± 0.042
11	16.7 ± 0.3	16.3 ± 0.6	0.225 ± 0.009	0.244 ± 0.012
12	22.0 ± 0.5	21.5 ± 0.0	0.398 ± 0.004	0.399 ± 0.012

[a]ค่าความแม่นยำของเครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์ที่มีจำหน่าย (ยี่ห้อ ATAGO ประเทศญี่ปุ่น) คือ ± 2.0 ppt

n.d. หมายถึง ไม่สามารถตรวจวัดได้

จากปริมาณวิเคราะห์ในตารางที่ 2 พบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างเป็น 2 กลุ่ม จากค่าความเค็มที่วัดได้ คือ ตัวอย่างน้ำจืดจากน้ำแม่น้ำเจ้าพระยา (ตัวอย่างที่ 1 และ 2) และตัวอย่างน้ำกร่อยจากคลองในจังหวัดสมุทรสาคร (ตัวอย่างที่ 3-12) โดยตัวอย่างที่ 6-11 นั้นเป็นบริเวณที่ชาวบ้านนิยมทำประมงเลี้ยงหอยแครง เนื่องจากมีค่าความเค็มส่วนใหญ่ในช่วง 15-20 ppt ซึ่งเหมาะสม [2] ส่วนบริเวณที่วิเคราะห์ตัวอย่างที่ 3-5 เป็นช่วงที่มีความเค็มไม่มากนัก พบว่าชาวบ้านบริเวณนี้นิยมเลี้ยงปลานิลหรือกุ้งขาว ซึ่งเป็นสัตว์น้ำที่ไม่ต้องการความเค็มมาก [2] ส่วนตัวอย่างที่ 12 จะเป็นตัวอย่างที่วิเคราะห์ความเค็มได้สูงที่สุดในกลุ่มตัวอย่างที่เก็บมาและเป็นตัวอย่างที่เก็บบริเวณใกล้ทะเลที่สุดด้วย สำหรับปริมาณฟอสเฟตที่ตรวจวัดได้จากตัวอย่างทั้งหมดนั้น มีปริมาณฟอสเฟตในน้ำเกินค่ามาตรฐาน 0.1 mgP/L [37] ทั้งสิ้น

นอกจากนี้ เพื่อเป็นการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น ตัวอย่างแต่ละตัวได้ถูกวิเคราะห์เทียบกับวิธีที่เป็นที่ยอมรับ โดยเทียบผลวิเคราะห์ปริมาณความเค็มกับเครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์ และเทียบผลวิเคราะห์ฟอสเฟตกับวิธีมาตรฐานโมลิบดีนัมบลูแบบแบทช์ จากการประเมินทางสถิติแบบ paired t-test พบว่าค่าที่ได้จากวิธีพัฒนาขึ้นให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (t_{stat} 0.72 < t_{crit} 2.08)

4. สรุป

งานวิจัยนี้สามารถพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณความเค็มและฟอสเฟตในตัวอย่างน้ำได้พร้อมกันภายในเวลาเพียง 4 นาทีต่อ 1 ตัวอย่าง หรือหากต้องการวิเคราะห์ความเค็มหรือฟอสเฟตเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งก็สามารถทำได้โดยไม่ต้องปรับระบบวิเคราะห์ใหม่แต่อย่างใด ทำให้ได้ระบบวิเคราะห์สำหรับใช้ประเมินคุณภาพแหล่งน้ำที่มีความอเนกประสงค์ สะดวก รวดเร็ว วิเคราะห์ตัวอย่างได้จำนวนมาก และมีความแม่นยำที่ไม่แตกต่างกับวิธีดั้งเดิมที่นิยมใช้ตรวจวัด ทำให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะจะนำไปใช้ในงานควบคุมคุณภาพน้ำที่ทำเป็นประจำ นอกจากนี้วิธีที่พัฒนาขึ้นยังมุ่งเน้นการลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยประยุกต์ข้อเสียของปรากฏการณ์ชิลเลอเรนมาใช้ประโยชน์สำหรับการวิเคราะห์ความเค็มแบบปราศจากสารเคมีอีกด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยแผ่นดิน จากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2555 และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สำหรับกมลทิพย์ เสรีนนท์ชัย) นอกจากนี้ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย มหิดล และทุนโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (สำหรับปิยวรรณ พันสี) ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับการทำวิจัยบางส่วน และขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

[1] Liu, Y., Cai, Y.P., Huang, G.H. and Dong C., 2012, Interval-parameter chance-constrained fuzzy multi-objective programming for water pollution control with sustainable wetland management, Procedia Environ. Sci. 13: 2316-2335.

[2] กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, พ.ร.บ. กฎหมายและมาตรฐานที่เกี่ยวกับการควบคุมมลพิษ, แหล่งที่มา : http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water02.html#s5, 9 สิงหาคม 2556.

[3] กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, พ.ร.บ. กฎหมายและมาตรฐานที่เกี่ยวกับการควบคุมมลพิษ, แหล่งที่มา : http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water.html, 9 สิงหาคม 2556.

[4] Grosso, P., Menn, L.M., de Bougrenet de la Tocnaye, J.L., Wu, Z.Y. and Malarde, D., 2010, Practical versus absolute salinity measurements: New advances in high performance seawater salinity sensors, Deep Sea Res., Part I 57: 151-156.

[5] Malarde, D., Zong, Y.W., Grosso, P., de Bougrenet de la Tocnaye, J.L. and Menn, L.M., 2009, High-resolution and compact refractometer for salinity measurements, Meas. Sci. Technol. 20: 1-8.

[6] การวิเคราะห์น้ำ สถาบันวิจัยและเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง, แหล่งที่มา : http://www.nicaonline.com/download/analysis3.pdf, 9 สิงหาคม 2556.

[7] Park, K. and Burt, W.V., 1965, Electrolytic conductance of sea water and the salinometer (part 1), J. Oceanogr. Soc. Jpn. 21: 69-80.

[8] Espejo, R.J. and Dyer, S.D., 2007, Practical spatial resolution limits of high-resolution fibre bragg grating sensors using layer peeling, Meas. Sci. Technol. 18: 1661-1666.

[9] Matsubara, K., Kawata, S. and Minami, S., 1990, Multilayer system for a high precision surface plasmon resonance sensor, Opt. Lett. 15: 75-77.

[10] Minato, H., Kakui, Y., Nishimoto, A. and Nanjo, M., 1989, Remote refractive index difference meter for salinity sensor, Trans. Instrum. Meas. 38: 608-612.

[11] Mahrt, K.H. and Waldemann, C., 1988, Field proven high speed micro optical density profiler sampling 1000 times per second with 10-6 precision, Proc. Oceans. 88: 497-504.

[12] Sunadolnik, A., 2007, An optical fibre interferometric refractometer, Meas. Sci. Technol. 18: 1205-1208.

[13] Le Menn, M. and Lotrian, J., 2001, Refraction index measurement by a laser-cube-capillary technique, Appl. Phys. 34: 1256-1265.

[14] Munoz, A., Torres, F.M., Estela, J.M. and Cerda, V., 1997, Evaluation of spectro-photometric methods for determination of orthophosphate by sequential injecttion analysis, Anal. Chim. Acta. 350: 21-29.

[15] Estela, J.M. and Cerda, V., 2005, Flow analysis techniques for phosphorus : An overview, Talanta. 66: 307-331.

[16] Murphy, J. and Riley, J.P., 1962, A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, Anal. Chim. Acta. 27: 31-36.

[17] Teerasong, S., Chan-Eam, S., Sereenonchai, K., Amornthammarong, N., Ratanawimarnwong, N. and Nacapricha, D., 2010, A reagent-free SIA module for monitoring of sugar, color and dissolved CO2 contents in the manufacture of soft drinks, Anal. Chim. Acta. 668: 47-53.

[18] Mantim, T., Saetear, P., Teerasong, S., Chan-Eam, S., Sereenonchai, K., Amornthammarong, N., Ratanawimarnwong, N., Wilairat, P., Meesiri, W., Uraisin, K. and Nacapricha, D., 2012, Reagent-free analytical flow methods for the soft drink industry: Efforts for environmenttally friendly chemical analysis, Pur. Appl. Chem. 84: 2015-2025.

[19] Saetear, P., Khamtau, K., Ratanawimarnwong, N., Sereenonchai, K. and Nacapricha, D., 2013, Sequential injection system for simultaneous determination of sucrose and phosphate in cola drinks using paired emitter-detector, Talanta 115: 364-366.

[20] Bezerra dos Santos, S.R., Mário Ugulino de Araujo, C. and Barbosa, R.A., 2002, An automated FIA system to determine alcoholic grade in beverages based on Schlieren effect measurements using an

LED-photocolorimeter, Analyst 127: 324-327.

[21] Drummond, L. and Maher, W., 1995, Determination of phosphorous in aqueous solution via formation of the phosphoantimonylmolybdenum blue complex: re-examination of optimum conditions for the analysis of phosphate, Anal. Chim. Acta. 302: 69-74.

[22] Sereenonchai, K., 2010, Development of Versatile Membraneless Vaporization Units for Direct Analysis of Solid and Liquid Samples Flow System, Ph.D. Thesis, Mahidol University, Bangkok, 164 p.

[23] Krasae, P., 2007, A Robust Hybrid Flow Analysis Technique for Phosphate Determination in Aquatic Sample and Construction of a Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detector, M.Sc. Thesis, Mahidol University, Bangkok, 103 p.

[24] Floch, J., Blain, S., Birot, D. and Treguer, P., 1998, *In situ* determination of silicic acid in sea water based on FIA and colorimetric dual-wavelength measurements, Anal. Chim. Acta. 377: 157-166.

[25] Yamane, T. and Saito, M., 1992, Simple approach for elimination of blank peak effects in flow-injection analysis of samples containing trace analyte and an excess of another solute, Talanta 39: 215-219.

[26] Rocha, F.R.P. and Nobrega, J.A., 1997, Overcoming the Schliere effect in flow injection spectrophotometry by introducetion of large sample volumes. Determination of chloride in the electrolyte of lead-acid batteries, J. Braz. Chem. Soc. 8: 625-629.

[27] Auflitsch, S., Peat, D.M.W., McKelvie, I.D. and Worsfold, J., 1997, Determination of dissolved reactive phosphorus in estuarine waters using a reversed flow injection manifold, Analyst 122: 1477-1480.

[28] McKelvie, I.D., Peat, D.M.W., Peter Matthews, G. and Worsfold, J., 1997, Elimination of the Schlieren effect in the determination of reactive phosphorus in estuarine waters by flow-injection analysis, Anal. Chim. Acta. 351: 265-271.

[29] Zagatto, E.A.G., Arruda, M.A.Z., Jacintho, A.O. and Mattos, I.L., 1990, Compensation of the Schlieren effect in flow-injection analysis by using dual-wave length spectrophotometry, Anal. Chim. Acta. 234: 153-160.

[30] Daniel, A., Birot, D., Lehaitre, M. and Poncin, J., 1995, Characterization and reduction of interferences in flow-injection analysis for the in situ determination of nitrate and nitrite in sea water, Anal. Chim. Acta. 308: 413-424.

[31] Liu, H. and Dasgupta, P.K., 1994, Dual-wavelength photometry with light

emitting diodes. Compensation of efractive index and turbidity effects in flow-injection analysis, Anal. Chim. Acta. 289: 347-353.

[32] Jambunathan, S., Dasgupta, P.K., Wolcott, D.K., Marshall, G.D. and Olson, D.C., 1999, Optical fiber coupled light emitting diode based absorbance detector with a reflective flow cell, Talanta. 50: 481-490.

[33] Ellis, P.S., Lyddy-Meaney, A.J., Worsfold, P.J. and McKelvie, I.D., 2003, Multi-reflection photometric flow cell for use in flow injection analysis of estuarine waters, Anal. Chim. Acta. 499: 81-89.

[34] Mesquita, R.B.R., Teresa S.O.B. Ferreira, M., Toth, I.V., Bordalo, A.A., McKelvie, I.D. and Rangel, A.O.S.S., 2011, Development of a flow method for the determination of phosphate in estuarine and freshwaters-comparison of flow cells in spectrophotometric sequential injection analysis, Anal. Chim. Acta. 701: 15-22.

[35] Zhang, J.Z., Fischer, C.J. and Ortner, P., 1999, Optimization of performance and minimization of silicate interference in continuous flow phosphate analysis, Talanta 49: 293-304.

[36] Shuvaeva, O.V., Koshcheeva, O.S. and Beisel, N.F., 2002, Arsenic speciation in water by high-performance liquid chromatography with electrothermal atomic absorption detection, J. Anal. Chem. 57: 1037-1041.

[37] Thabano, J.R.E., Jens, C.T. and Sawala, G.M., 2004, Determination of orthophosphates using a macro segmented flow analyzer (MSFA) based on colorimetric detection, Talanta 64: 60-68.