

ชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอดेटในตัวอย่างเกลือ  
และน้ำ

MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR  
DETERMINATION OF IODATE IN SALT AND WATER



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR  
DETERMINATION OF IODATE IN SALT AND WATER  
SAMPLES



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

ชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างเกลือและน้ำ

Microfluidic Paper-Based Analytical Device for Determination of Iodate in Salt and Water Sample

ชื่อนักศึกษา

นางสาว วริศรา ปัญญาสุวรรณกุล รหัสนักศึกษา 58050541  
นางสาว เสาวภาคย์ เรืองเทพ รหัสนักศึกษา 58050566

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

เคมี

คณะ

วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

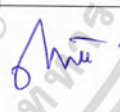


ปีการศึกษา

2561

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ณัฐวดี เชิงชั้น ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ กรรมการ	
ผศ.ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงแหล่งเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอเดตในตัวอย่างเกลือและน้ำ		
ชื่อนักศึกษา	นางสาววิศรา	ปัญญาวรกุล	รหัสนักศึกษา 58050541
	นางสาวเสาวภาคย์	เรืองเทพ	รหัสนักศึกษา 58050566
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2561		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผศ.ดร. เสาวภาคย์ อีราทรง		

### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาอุปกรณ์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ ( $\mu$ PADs) มาใช้ในการหาปริมาณไอโอเดต โดยใช้เทคนิคการประทับตรา (Stamping) เนื่องจากเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ทำได้ง่าย โดยในการหาปริมาณไอโอเดตอาศัยการเกิดปฏิกิริยา reduction ของไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีน เพื่อทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นไนไตรท์ จากนั้นให้ไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับ Griess reagent เพื่อทำให้เกิดเป็นสาร azo compound ที่ปรากฏสีชมพูม่วง สารละลายทั้งหมดจะถูกหยดลงบน  $\mu$ PADs ตามลำดับ และทำการถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายรูปแล้วนำไปตรวจวัดความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดต โดยการวิเคราะห์พบว่าความเข้มสีจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นไอโอเดตให้ช่วงความเป็นเส้นตรง 50 – 400 ppm มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) 18.9 และ 63.1 ppm ตามลำดับ มีความเที่ยงความแม่นยำสูง สามารถนำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างเกลือบริโภคและสารฉีดยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเมื่อนำวิธีชุดทดสอบบนกระดาษนี้เปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์ทางสถิติ (t-test) กับวิธีมาตรฐานในการหาไอโอเดตพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ: ชุดทดสอบบนกระดาษ, Griess reagent, เกลือบริโภค, สารฉีดยา, ไอโอเดต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Title</b>	Microfluidic Paper-Based Analytical Devices for Determination of Iodate in Salt and Water Samples		
<b>Student</b>	Miss. Warissara Phanyawutworakul	No. 58050541	
	Miss. Saovapark Ruangthep	No. 58050566	
<b>Degree</b>	Bachelor of Science		
<b>Department</b>	Chemistry		
<b>Faculty</b>	Science		
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang		
<b>Academic Year</b>	2018		
<b>Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Saowapak Teerasong		

### Abstract

In this work, a microfluidic paper-based analytical device ( $\mu$ PADs) was developed for determination of iodate. The  $\mu$ PADs was easily fabricated by ink stamping technique. Detection principle is based on reduction of iodate with hydroxylamine to generated nitrite. The resulting nitrite reacts with Griess reagent giving azo compound. The involving solutions were consecutively dropped on to  $\mu$ PADs prior to camera detection. Color intensity of pinked product was analyzed by ImageJ program. The results revealed that color intensity is proportional to the concentration of iodate. Calibration was linear in ranged from 50 to 400 ppm. Limit of detection (LOD) and limit of qualitative (LOQ) were 18.9 and 63.1 ppm, respectively. The  $\mu$ PADs have good accuracy and precision of iodate analysis. The developed  $\mu$ PADs was applied to determine iodate in salt and irrigation water. Result obtained by the  $\mu$ PADs have no significant difference with a standard iodometric titration. In this study, it appears that not significantly different statistically with the standard method.

**Keyword:**  $\mu$ PADs, iodate, Griess reagent, table salt, irrigation

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีนั้น ด้วยการได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภาคย์ จีราทรอง อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และคำปรึกษาในทุกๆ ขั้นตอนของการทำวิทยานิพนธ์นี้อย่างใกล้ชิด ส่งผลให้โครงการพิเศษเล่มนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ซึ่งผู้เขียนต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ที่ได้คำแนะนำเกี่ยวกับชุดทดสอบบนกระดาษ รวมถึงแนวทางในการจัดทำรูปเล่มโครงการพิเศษให้มีความเหมาะสม มีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณพี่ชมพูนุช ดวงดีวงศ์ และเพื่อนร่วมหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยช่วยเหลือซึ่งกันและกันเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณบิดา มารดา ครอบครัว และเพื่อนๆ ที่คอยช่วยเหลือ สนับสนุนและให้กำลังใจ ผู้เขียนด้วยดีเสมอมา

วริศรา ปัญญาสุวรรณกุล  
เสาวภาคย์ เรืองเทพ

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	4
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ไอโอดีน.....	6
2.1.1 ไอโอดีนในธรรมชาติ.....	7
2.1.2 ไอโอดีนในอาหารเสริมไอโอดีน.....	7
2.1.3 ไอโอดีนในพืช.....	8
2.1.4 สถานะการขาดไอโอดีน.....	8
2.2 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ ( $\mu$ PADs).....	10
2.2.1 การสร้าง $\mu$ PADs.....	11
2.2.2 เทคนิคการตรวจวัดที่ประยุกต์กับ $\mu$ PADs.....	14
2.2.3 การประยุกต์ใช้ $\mu$ PADs ในงานทางเคมีวิเคราะห์.....	15
2.3 การใช้งานโปรแกรม ImageJ และประมวลผลแบบ Histogram.....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19
2.4.1 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดต.....	19
2.4.1.1 การไทเทรต.....	19
2.4.1.2 เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography).....	20
2.4.1.3 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry).....	21
2.4.1.4 เทคนิคการไหล (Flow based techniques).....	21
2.4.1.5 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical techniques).....	23
2.4.1.6 เทคนิคการใช้ $\mu$ PADs.....	23
2.5 งานวิจัยนี้.....	24
<b>บทที่ 3</b> วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	26
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	26
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	28
3.3 การเตรียมตัวอย่าง.....	29
3.4 การสร้าง $\mu$ PADs.....	29
3.5 การตั้งค่าง้องถ่ายรูปและการถ่ายภาพ $\mu$ PADs.....	30
3.6 การดำเนินการทดลอง.....	32
3.6.1 ศึกษาการหยุดปริมาณสารที่เหมาะสม.....	32
3.6.2 ศึกษาผลของกระดาศกรองในการสร้าง $\mu$ PADs.....	33
3.6.3 ศึกษาการวิเคราะห์ค่าสี RGB.....	33
3.6.4 ศึกษาความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่ใช้ทำปฏิกิริยา.....	34
3.6.5 ศึกษาชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent.....	34
3.6.6 ศึกษาความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent.....	35
3.6.7 ศึกษาความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent.....	35
3.6.8 ศึกษาความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent.....	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.9	ศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีน.....	37
3.6.10	ศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับ Griess reagent.....	37
3.7	การประเมินคุณลักษณะของวิธี.....	38
3.7.1	ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน.....	38
3.7.2	ความเที่ยง (Precision).....	38
3.7.3	ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD).....	39
3.7.4	ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ).....	40
3.8	การวิเคราะห์ในสารตัวอย่าง.....	40
3.8.1	วิธีการหาปริมาณไอโอดีนในสารตัวอย่าง.....	40
3.8.2	ความแม่นยำ (Accuracy).....	41
3.8.3	การทดสอบตัวรบกวน.....	42
3.9	การไทเทรต.....	44
3.9.1	การเตรียมสารตัวอย่างในการไทเทรต.....	44
<b>บทที่ 4</b>	<b>ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....</b>	<b>46</b>
4.1	ผลสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดหาปริมาณไอโอดีน.....	46
4.1.1	ผลของการหยุดปริมาณสารที่เหมาะสม.....	46
4.1.2	ผลของกระดาศกรองในการหาปริมาณไอโอดีน.....	47
4.1.3	ผลการวิเคราะห์ค่าสี RGB.....	48
4.1.4	ผลของความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่ใช้ทำปฏิกิริยา.....	49
4.1.5	ผลชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent.....	50
4.1.6	ผลความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent.....	51
4.1.7	ผลความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent.....	52
4.1.8	ผลความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent.....	53
4.1.9	ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีน.....	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.10 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไฮดรอกซีลามีน กับ Griess reagent.....	55
4.2 ผลการประเมินคุณลักษณะของวิธี.....	56
4.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน.....	56
4.2.2 ความเที่ยง (Precision).....	57
4.2.3 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD).....	58
4.2.4 ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ).....	60
4.3 การวิเคราะห์ในสารตัวอย่าง.....	60
4.3.1 การหาปริมาณไอโอดีนในสารตัวอย่าง.....	60
4.3.2 ความแม่นยำ (Accuracy).....	61
4.3.3 การตรวจสอบตัวรบกวน.....	63
4.4 การไทเทรต.....	64
4.4.1 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ทางสถิติด้วย t-test.....	64
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ.....	65
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	65
เอกสารอ้างอิง.....	67
ภาคผนวก.....	71

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ปริมาณไอโอดีนที่ควรได้รับในแต่ละช่วงวัย.....	10
ตารางที่ 2.2 แสดงรายละเอียดกระดาษกรองชนิด Standard Qualitative ของบริษัท Whatman.....	11
ตารางที่ 3.1 แสดงสารบวกรวมและปริมาณที่ใช้ในการเตรียมสารบวกรวม.....	42
ตารางที่ 3.2 แสดงความเข้มข้นของสารบวกรวมที่ใช้ในการเตรียม.....	43
ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณสารละลายสีแดงและลักษณะการแพร่บน $\mu$ PADs ซึ่งเป็นหลุมกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร.....	46
ตารางที่ 4.2 แสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ของค่าความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้จากสารละลายไอโอดีนความเข้มข้นต่างๆ.....	58
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าความเข้มข้นของไอโอดีนความเข้มข้น 0 ppm จากการวิเคราะห์ด้วย $\mu$ PADs ที่พัฒนาขึ้น.....	59
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด.....	60
ตารางที่ 4.5 แสดงค่าความเข้มข้นไอโอดีนที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี $\mu$ PADs และวิธีไทเทรต.....	62
ตารางที่ 4.6 แสดงผลความเข้มข้นของตัวบวกรวมที่มีผลต่อการวิเคราะห์.....	63
ตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ทางสถิติด้วย t-test.....	64
ตารางที่ 5.1 สภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณไอโอดีน.....	65

## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงแหล่งอาหารในธรรมชาติที่พบไอโอดีน.....	7
รูปที่ 2.2 แสดงแหล่งอาหารเสริมไอโอดีน.....	8
รูปที่ 2.3 แสดง $\mu$ PADs ที่ประดิษฐ์ด้วยวิธีพิมพ์ด้วยแวกซ์.....	12
รูปที่ 2.4 แสดง $\mu$ PADs ที่ประดิษฐ์ด้วยวิธีพิมพ์ด้วยแสง.....	12
รูปที่ 2.5 แสดงแผ่นสแตนเลสที่ประกอบไปด้วยวงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 16 วง.....	13
รูปที่ 2.6 แสดงรูปตราประทับ.....	14
รูปที่ 2.7 แสดง $\mu$ PADs ที่ถูกประดิษฐ์ด้วยวิธีใช้ปากกาคั้นน้ำ.....	14
รูปที่ 2.8 (ก) แสดง $\mu$ PADs ที่ประกอบไปด้วยบริเวณทำปฏิกิริยา (Reaction zones) บริเวณตรวจวัด (Detection zones) และบริเวณใส่ตัวอย่าง (Sample zones).....	15
(ข) รูปแสดงจุดยุติที่เกิดขึ้นจากการวิเคราะห์หาปริมาณสารผสมแคลเซียมกับแมกนีเซียม และแคลเซียม.....	16
รูปที่ 2.9 (ก) แสดง $\mu$ PADs ที่ประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (main channel), บริเวณสารเคลื่อนที่ (branched channel), บริเวณเคลือบด้วยรีเอเจนต์ (uptake zone) และบริเวณเกิดปฏิกิริยา (testing zone) (ข) กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ไนไตรต์ด้วย $\mu$ PADs.....	16
รูปที่ 2.10 โปรแกรม ImageJ.....	17
รูปที่ 2.11 แสดงการเปิดตัวอย่างไฟล์ภาพที่ต้องการวิเคราะห์.....	17
รูปที่ 2.12 แสดงการเปลี่ยนสีของรูปภาพ.....	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.13 แสดงการกำหนดพื้นที่ของส่วนที่ต้องการวิเคราะห์..... 18

รูปที่ 2.14 แสดงหน้าต่างผลการวิเคราะห์..... 19

รูปที่ 2.15 แสดงการเลือกพารามิเตอร์ RGB ของสีเชื่อมโยงมาใช้ในการวิเคราะห์ผล..... 19

รูปที่ 2.16 ระบบการไหลในการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดตประกอบด้วย  
 P=peristaltic pump, MC=mixing coil, V=valve, D=detector, W=waste,  
 S=สาร ตัวอย่าง, H=ไฮดรอกซีลามี้น, C=ตัวพา, R1=ซัลฟานิลลาไมด์ และ R2=NED.....22

รูปที่ 2.17 ระบบ Flow injection ที่มีการไหลแบบ sequential สำหรับหาปริมาณเพอร์ไอเดต  
 และไอโอเดต ประกอบด้วย S=sample injection valve, P=peristaltic pump,  
 SV=selection valve, RC=reaction coil, D=detector, W=waste,  
 R1=molybdate solution 0.003 M buffered at pH 3.5,  
 R2=buffer solution pH 3.5 and R3=iodide solution 0.1 M.....23

รูปที่ 2.18 ชุดทดสอบสำหรับการไทเทรตแบบไอโอโดเมทรี  
 และตำแหน่งการหยดสารต่างๆลงบน  $\mu$ PADs.....24

รูปที่ 2.19 รูปแบบ  $\mu$ PADs ที่ทำการออกแบบ.....25

รูปที่ 3.1 (ก) หมึกกันน้ำสีดำตราม้าที่ใช้ในงานวิจัยนี้  
 (ข)  $\mu$ PADs ที่ได้จากวิธีประทับตราด้วยหมึกกันน้ำ.....30

รูปที่ 3.2 (ก) แสดงการตั้งค่าโหมดของกล้องถ่ายรูป.....30  
 (ข) การตั้งค่าฟังก์ชันต่างๆ.....31

รูปที่ 3.3 สตูติโอถ่ายภาพ.....31

รูปที่ 3.4 (ก) แสดงจุดที่ทำการโฟกัสก่อนทำการกดชัตเตอร์  
 (ข) แสดงค่าความไวชัตเตอร์และค่ารับแสง.....32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีตโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 และ เบอร์ 4 ในการสร้าง  $\mu$ PADs.....48

รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีต เมื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ด้วย red green และ blue.....49

รูปที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นของไฮดรอกซีลาไมน์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยารีดักชันกับไอโอดีต.....50

รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีตโดยใช้ Griess reagent ที่ละลายด้วยกรดซัลฟูริกและกรดไฮโดรคลอริก.....51

รูปที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent ต่อความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอดีตเข้มข้น 200 ppm.....52

รูปที่ 4.6 ผลของความเข้มข้น NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent กับความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอดีตเข้มข้น 200 ppm.....53

รูปที่ 4.7 ผลของความเข้มข้นซัลฟานิลาไมด์ ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent ต่อความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอดีตเข้มข้น 200 ppm.....54

รูปที่ 4.8 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีตกับไฮดรอกซีลาไมน์ต่อความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอดีตเข้มข้น 300 ppm.....55

รูปที่ 4.9 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไนโตรท์กับ Griess reagent ต่อความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอดีตเข้มข้น 300 ppm.....56

รูปที่ 4.10 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีต เมื่อทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสม.....57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ไอโอดีน (Iodine) หรือไอโอดัด เป็นแร่ธาตุที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติ มีความมากน้อยแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ โดยปกติมักจะพบอยู่ในรูปแบบของเกลือโซเดียมไอโอดัด (Sodium iodide) หรือเกลือโพแทสเซียมไอโอดัด (Potassium iodide) ไอโอดีนนั้นมีความจำเป็นต่อร่างกายของมนุษย์ในทุกช่วงอายุ เป็นแร่ธาตุที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ จำเป็นต้องได้รับจากสารอาหารเพียงเท่านั้น ซึ่งแหล่งอาหารที่มีไอโอดีนจะเป็นอาหารประเภทอาหารทะเล เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา เมล็ดงา ถั่วเมล็ดแบน ไข่ และนม ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้หาบริโภคได้ยาก ราคาสูง จึงทำให้ต้องมีการเสริมไอโอดีนในอาหารทั่วไป ในรูปของเกลือบริโภคเสริมไอโอดีน หรือในรูปแบบของผักเสริมไอโอดีน เพื่อให้ประชาชนที่ไม่มีโอกาสได้รับประทานอาหารทะเลได้รับปริมาณไอโอดีนอย่างเหมาะสม

องค์การอนามัยโลกกำหนดให้ประชาชนควรบริโภคไอโอดีนไม่เกิน 150 ไมโครกรัมต่อวัน [1] และสำหรับในประเทศไทยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ในปีพ.ศ.2554 ได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องเกลือบริโภคเสริมไอโอดีนว่า เกลือบริโภคที่ใช้เป็นอาหารใช้เป็นส่วนผสมหรือเป็นส่วนประกอบของอาหารต้องมีปริมาณไอโอดีนไม่น้อยกว่า 20 มิลลิกรัม และไม่เกิน 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) เนื่องจากไอโอดีนมีความสำคัญต่อระบบการทำงานของร่างกาย ในชีวิตประจำวันมนุษย์ควรได้รับปริมาณของไอโอดีนที่เหมาะสมจะมีประโยชน์ต่อร่างกายเช่น ช่วยพัฒนาสมองควบคุมระบบประสาท ช่วยในการควบคุมน้ำหนักตัว ช่วยบำรุงสุขภาพเส้นผม เล็บ ผิวพรรณ และฟัน ช่วยกระตุ้นการทำงานของหัวใจให้ดีขึ้น ช่วยเรื่องการขับถ่ายปัสสาวะ ควบคุมการกระจายตัวของน้ำตามร่างกาย หากร่างกายได้รับปริมาณไอโอดีนที่มากเกินไปหรือเฉลี่ยมากกว่า 400 ไมโครกรัมต่อวันขึ้นไปก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพได้ จะทำให้ร่างกายมีระดับฮอร์โมนไทรอยด์ลดลง โดยจะทำให้เกิดโทษต่อต่อมไทรอยด์เกิดภาวะฮอร์โมนไทรอยด์เกินหรือภาวะไทรอยด์เป็นพิษ หากได้รับปริมาณน้อยเกินไปจะมีผลต่อการสร้างไทรอยด์ฮอร์โมนทำให้เกิดการเสียสมดุลในการควบคุมการทำงานของต่อมไทรอยด์ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพที่เรียกว่า ความผิดปกติของการขาดสารไอโอดีน (Iodine Deficiency Disorder : IDD) คือเกิดอาการคอพอก (Goiter), ภาวะไทรอยด์ฮอร์โมนต่ำ (Hypothyroidism), โรคเอ๋อ (Cretinism) ถ้ามีการขาดสารไอโอดีนในหญิงตั้งครรภ์ จะมีผลทำให้ทารกมีพัฒนาการของสมองและระบบประสาทที่ช้ากว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปกติ อาการแสดงของโรคขาดสารไอโอดีนนั้น ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการขาดสารไอโอดีน และช่วงระยะเวลาของการขาดสารไอโอดีน

สำหรับการเสริมไอโอดีนในพืช กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขได้ทำการศึกษาเพิ่มสารไอโอดีนในพืชผักชุมชน โดยการปลูกพืชผักพื้นบ้านที่ประชาชนในท้องถิ่นนิยมรับประทาน เช่น ผักคะน้า กะหล่ำปลี ผักกาดหอม ผักบุ้งจีน ผักสะระแหน่ ผักโหระพา มันฝรั่ง มะเขือเทศ ฯลฯ ด้วยการฉีดพ่นพืชด้วยสารละลายโพแทสเซียมไอโอเดต ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ จำนวน 1-2 ครั้ง ในอัตราส่วนและระยะเวลาที่เหมาะสมก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่าพืชจะอาศัยดินเป็นตัวกลางในการดูดซับไอโอดีนไปสะสมในส่วนต่างๆ เช่น ราก ใบ และลำต้น เมื่อมีการสะสมไอโอดีนในพืชจะเปลี่ยนแปลงเป็นรูปของสารประกอบอินทรีย์ (biological iodo-organic compounds) และพืชแต่ละชนิดแม้เป็นพืชสกุลเดียวกันหรือปลูกในพื้นที่เดียวกัน ปริมาณในการดูดซึมไอโอดีนจะไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับปริมาณไอโอดีนในดิน การทับถมของดินตะกอน ชนิดของดินที่ปลูก ปริมาณปุ๋ยที่พืชได้รับ สภาพภูมิอากาศและฤดูกาล ระหว่างที่พืชเจริญเติบโตอีกด้วย พืชเมื่อถูกนำไปปรุงอาหารโดยใช้ความร้อนไอโอดีนจะไม่เสื่อมสลาย และเมื่อมีการรับประทานผักเสริมไอโอดีนนี้ในปริมาณเพียง 100-150 กรัมน้ำหนักสดเท่านั้น จะช่วยสะสมไอโอดีนได้มากถึง 150 – 170 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด [2-4]

จากการศึกษาของ Caffagni และคณะ [5] ได้ทำการศึกษาการดูดซึมไอโอดีนในพืช โดยพบว่า การดูดซึมของพืชแต่ละชนิดมีการดูดซึมไอโอดีนที่แตกต่างกัน และพบว่าในมันฝรั่งและในมะเขือเทศมีการดูดซึมไอโอดีนเข้าสู่เนื้อเยื่อได้มากที่สุด ไอโอดีนในมันฝรั่งในสารฉีดพ่นพืชปริมาณ 280 มิลลิกรัมต่อลิตร และไอโอดีนในมะเขือเทศในสารฉีดพ่นพืชปริมาณ 140 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้มีผลต่อการเก็บปริมาณไอโอดีนในมันฝรั่งและมะเขือเทศได้ดีที่สุด ปริมาณไอโอดีนที่พืชได้รับปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยให้พืชที่มีอายุน้อยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว แต่ถ้ามีปริมาณไอโอดีนสูงเกินไปอาจทำให้การเจริญเติบโตของพืชหยุดชะงัก และจะได้ปริมาณไอโอดีนตามที่สมควรจะได้รับต่อวัน

ตามที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นว่าไอโอดีนนั้นมีความสำคัญเป็นอย่างมาก ทำให้ต้องมีการหาปริมาณไอโอดีนที่ได้รับในสารอาหารที่ได้รับประทานเข้าไป ซึ่งในปัจจุบันมีวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนในเกลือบริโภคด้วยวิธีการไทเทรชัน [6,7] แต่เนื่องจากวิธีไทเทรชันนั้น มีสาเหตุที่ทำให้เกิดความผิดพลาดที่สำคัญ คือ ไอโอดีนที่เกิดชั้นระเหยไปได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นภาชนะที่ใช้ควรปิดมิดชิด และต้องทำการไทเทรตอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังมีวิธีที่ถูกพัฒนาขึ้น ได้แก่ เทคนิคการไหล [8,9] , เทคนิคโครมาโทกราฟี [10] , ไอออนโครมาโทกราฟี [11] , และสเปกโตรโฟโตเมตรี [12]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

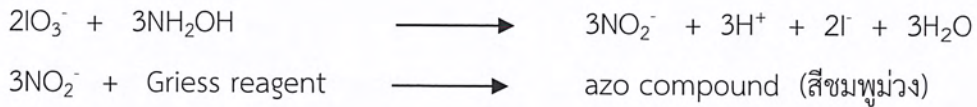
ซึ่งวิธีเหล่านี้ใช้เครื่องมือตรวจวัดราคาแพง มีความยุ่งยากในขั้นตอนการวิเคราะห์ และมีการใช้สารในปริมาณมาก

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ (Microfluidic paper-based analytical devices,  $\mu$ PADs) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์รูปแบบหนึ่ง ที่มีการสร้างช่องทางการไหลของน้ำลงบนกระดาษกรองและแบ่งออกเป็นโซนต่างๆ โดยกระดาษกรองนั้นพื้นฐานเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (hydrophilic) เมื่อทำการสร้างขอบเขตการไหลกั้นด้วยวัสดุที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เมื่อทำการหยดน้ำลงไป น้ำนั้นก็ไหลไปตามช่องทางที่ได้กำหนดไว้ และ  $\mu$ PADs นั้นยังเป็นอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ได้ง่าย น้ำหนักเบา ราคาถูก ใช้แล้วทิ้ง พกพาได้ [13] สามารถตรวจวัดได้หลายหลายวิธีเช่น colorimetry, electrochemistry, fluorometry, chemiluminescence [14] โดยวิธี colorimetry เป็นที่นิยมมากที่สุด สามารถถ่ายรูปหรือสแกนรูปภาพเพื่อวัด Intensity ได้ในปัจจุบันได้มีการเริ่มนำ  $\mu$ PADs มาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ [15] และทางสิ่งแวดล้อม [16]

Myers และคณะ[17] ได้มีการพัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับการไทเทรตแบบไอโอดิเมทรี (iodometric titration) โดยจะเตรียม  $\mu$ PADs ด้วยการพิมพ์ด้วยแวกซ์ สร้างให้มีกรอบสี่เหลี่ยม 12 รูป เรียกว่า loading zone และในกรอบสี่เหลี่ยมจะมีการแบ่งเส้นขอบที่ไม่ชอบน้ำแบ่งออกเป็น 5 โซน ซึ่งสามารถรองรับรีเอเจนต์ได้สูงสุด 5 ชนิดและใน แต่ละ loading zone จะมีการเคลือบไว้ด้วยรีเอเจนต์ต่างชนิดกันโดยไม่มีการผสมกันเพราะจะถูกแยกออกจากกันด้วยแวกซ์ โดยแต่ละ loading zone จะถูกเคลือบไว้ด้วยสาร potassium iodide, sodium thiosulfate, p-toluenesulfonic (tosic acid), น้ำแป้ง และจะหยดสารตัวอย่างไว้ที่บริเวณตรงกลาง และจะนำชุดทดสอบนี้ไปวางบนเครื่องเขย่าเพื่อให้สารตัวอย่าง และรีเอเจนต์ทำปฏิกิริยากันเกิดเป็นสารละลายสีน้ำเงิน โดยงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของไอโอดีนในช่วง 0.8 -15 ppm และเทคนิคนี้รีเอเจนต์จะถูกทำให้แห้ง สามารถเก็บรักษารีเอเจนต์นานกว่าวิธีการไทเทรตไอโอดิเมทรีแบบปกติ แต่มีข้อจำกัดในด้านการวิเคราะห์คือต้องมีการเข้าเครื่องเขย่าเพื่อเขย่าให้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์เข้ากันเพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์

งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนา  $\mu$ PADs โดยสร้างช่องทางการไหลด้วยการประทับตรา (Stamping) ด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำ เพื่อกั้นขอบเขตการไหล โดยจะนำ  $\mu$ PADs มาประยุกต์ใช้ในการหาไอโอดีนในเกลือบริโภคและสารฉีดพ่นพืช ในการตรวจวัดจะอาศัยปฏิกิริยา reduction ของไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีน เพื่อทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นไนไตรท์ จากนั้นให้ไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับ Griess reagent เพื่อทำให้เกิดเป็นสาร azo compound ที่ปรากฏสีชมพูม่วง ดังสมการด้านล่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

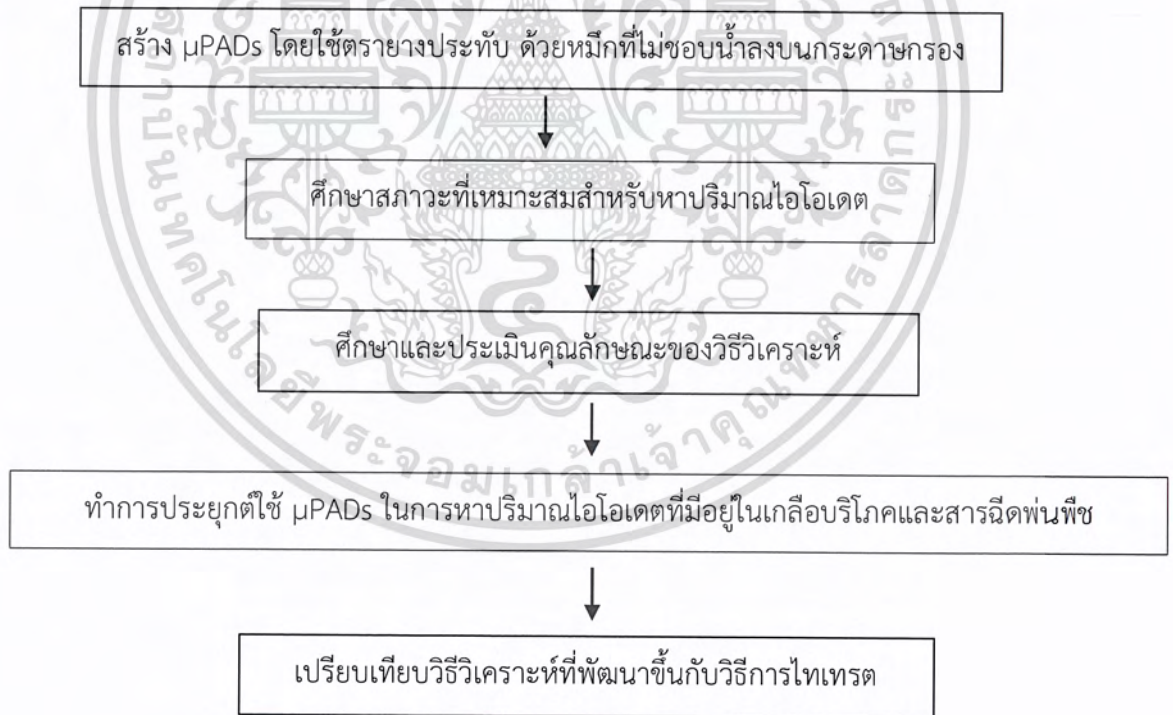


จากนั้นถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูป และนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ หาค่า Intensity เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดต

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 พัฒนา  $\mu\text{PADs}$  สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดต
- 1.2.2 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการใช้  $\mu\text{PADs}$  ตรวจวัดหาปริมาณไอโอเดต
- 1.2.3 ประยุกต์ใช้  $\mu\text{PADs}$  ในการหาปริมาณไอโอเดตที่มีอยู่ในเกลือบริโภคและสารฉีดพ่นพืช

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้อุปกรณ์  $\mu$ PADs สำหรับตรวจวัดหาปริมาณไอโอดีน ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ในการหาปริมาณไอโอดีนในเกลือบริโภคและสารฉีดพ่นพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ไอโอดีน

ไอโอดีน (Iodine,  $I_2$ ) เป็นแร่ธาตุที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ จะสามารถพบใน หิน ดิน น้ำทะเล อากาศ และสิ่งมีชีวิต มักจะพบอยู่ในรูปแบบของเกลือโซเดียมไอโอไดด์ (Sodium iodide) หรือเกลือโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide) หรือเป็นสารประกอบอินทรีย์ ในสิ่งมีชีวิต เช่น ในเลือด เนื้อเยื่อ น้ำนม เหงื่อ และปัสสาวะ และมีมากน้อยแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ ดังนั้นไอโอดีนเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกาย แต่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ จำเป็นต้องได้รับจากสารอาหารเพียงเท่านั้น ซึ่งแหล่งอาหารที่พบไอโอดีนจะเป็นอาหารประเภทอาหารทะเล เมล็ดงา ถั่วเมล็ดแบน ไข่ และนม ในร่างกายจะมีปริมาณไอโอดีนประมาณ 25-50 มิลลิกรัม ซึ่งไอโอดีนจะถูกสะสมขึ้นในต่อมไทรอยด์ 70-80% ของไอโอดีนทั้งหมด อีกส่วนหนึ่งจะอยู่ตามกล้ามเนื้อส่วนต่างๆ ของร่างกาย [18]

ไอโอดีนเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญและจำเป็นต่อร่างกาย เนื่องจากไอโอดีนเป็นส่วนประกอบสำคัญในการสร้างฮอร์โมนที่เรียกว่า ฮอร์โมนไทรอกซิน (Thyroxine) ที่สร้างจากต่อมไทรอยด์ ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารอาหารต่างๆ ในร่างกาย ที่เกี่ยวข้องกับการใช้พลังงาน จึงมีผลต่อพลังงานและอุณหภูมิของร่างกายอย่างมาก เพื่อให้เซลล์ต่างๆ ที่ในร่างกายผลิตพลังงานได้ตามความต้องการของร่างกาย และที่สำคัญทำหน้าที่และเสริมการเจริญเติบโตของ สมอง และประสาทเนื้อเยื่อประกอบของร่างกาย ช่วยกระตุ้นการทำงานของหัวใจให้ดีขึ้น การทำงานของต่อมไทรอยด์มีผลต่อสภาพจิตใจ สภาพของผผ ผิวหนัง เล็บ และ ฟัน ของร่างกาย และการดูดซึมน้ำตาลจากลำไส้เล็กจะทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อการผลิตไทรอกซิน เป็นไปตามปกติ และหากมีฮอร์โมนไทรอกซินมากหรือน้อยเกินไปจะส่งผลกระทบต่อเมแทบอลิซึมของร่างกาย ก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ หากมีการผลิตฮอร์โมนไทรอกซินมากเกินไปจะส่งผลให้ต่อมไทรอยด์เกิดภาวะฮอร์โมนไทรอยด์เกินหรือภาวะไทรอยด์เป็นพิษ หรือถ้าหากมีการผลิตฮอร์โมนไทรอกซินน้อยเกินไปจะเกิดภาวะการขาดสารไอโอดีน (Iodine Deficiency Disorder : IDD) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคคอพอก (Goiter), ภาวะไทรอยด์ฮอร์โมนต่ำ (Hypothyroidism), โรคเอ๋อ (Cretinism) [19]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.1 ไอโอดีนในธรรมชาติ

แหล่งที่พบไอโอดีนทั่วไปตามธรรมชาติ (รูปที่ 2.1) เช่น อาหารทะเล กุ้ง หอย ปู สาหร่ายทะเล และปลาทะเล ยกตัวอย่างปริมาณไอโอดีนในปลาทะเล 100 กรัม มีไอโอดีนประมาณ 50 ไมโครกรัม สาหร่ายทะเล 100 กรัม มีไอโอดีนประมาณ 200 ไมโครกรัม และ เปลือกทะเล 5 กรัม มีไอโอดีน 10 - 25 ไมโครกรัม ไอโอดีนเป็นแร่ธาตุที่ระเหยเป็นไอได้ เมื่อไอโอดีนจากทะเลระเหยมาพร้อมกับน้ำเป็นเมฆและฝนตกลงสู่พื้นดิน ทำให้ในพื้นที่นั้นมีความเข้มข้นของไอโอดีน ดังนั้นในบริเวณที่อยู่ห่างไกลทะเลหรือบริเวณหลังเขาที่อับลมทะเลจึงมีไอโอดีนในพืชอยู่น้อยกว่าอาหารทะเล ดังนั้นแหล่งอาหารไอโอดีนที่สำคัญ คือ อาหารจากทะเล และพืชที่ปลูกบนดินที่มีธาตุไอโอดีน [20] ไอโอดีนเป็นแร่ธาตุที่เกิดขึ้นเองทั่วไปตามธรรมชาติแต่มีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ส่วนใหญ่จะพบปริมาณไอโอดีนมากในพื้นที่ภาคกลางจะพบในดินและแถบที่ราบลุ่ม ปากแม่น้ำและชายทะเลมากกว่าภาคพื้นที่ ในภาคเหนือ ภาคอีสาน



รูปที่ 2.1 แสดงแหล่งอาหารในธรรมชาติที่พบไอโอดีน

### 2.1.2 ไอโอดีนในอาหารเสริมไอโอดีน

แหล่งอาหารเสริมไอโอดีน (รูปที่ 2.2) เช่น เกลือเสริมไอโอดีนเป็นเกลือบริโภคที่ใช้เป็นส่วนผสมหรือเป็นส่วนประกอบของอาหาร โดยเกลือเสริมไอโอดีน 5 กรัม มีปริมาณไอโอดีนประมาณ 150 - 250 ไมโครกรัม โดยปกติคนเราบริโภคเกลือประมาณวันละ 5 กรัม หรือ 1 ช้อนชา ปริมาณไอโอดีนที่ได้รับจะเพียงพอต่อความต้องการของร่างกายในแต่ละวัน ในน้ำปลาเสริมไอโอดีนจะมีปริมาณไอโอดีน 80 ไมโครกรัม ต่อน้ำปลา 10 มิลลิตร นอกจากการเสริมไอโอดีนในน้ำดื่ม เป็นการใช้น้ำดื่มเพื่อช่วยเหลือพื้นที่ที่มีปัญหาโรคขาดสารไอโอดีน โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมไอโอเดต หยดในน้ำดื่มของโรงเรียนหรือครัวเรือน เมื่อดื่มน้ำวันละ 1 ลิตร จะได้รับสารไอโอดีนประมาณ 150 - 200 ไมโครกรัม และในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์มะหมี่กิ่งสำเร็จรูป ที่ได้เติมสารไอโอดีนในของเครื่องปรุงรสที่บรรจุไว้ในซองของมะหมี่ โดยเติมในปริมาณ 50 ไมโครกรัมทุกยี่ห้อ [21]



รูปที่ 2.2 แสดงแหล่งอาหารเสริมไอโอดีน

### 2.1.3 ไอโอดีนในพืช

ปริมาณไอโอดีนในพืชจะขึ้นอยู่กับปริมาณไอโอดีนในดิน การทับถมของดินตะกอน ชนิดของดินที่ปลูก ปริมาณปุ๋ยที่พืชได้รับ สภาพภูมิอากาศและฤดูกาลระหว่างที่พืชเจริญเติบโต เนื่องจากพืชจะอาศัยดินเป็นตัวกลางในการดูดซับไอโอดีนไปสะสมในส่วนต่างๆ สุนิรัตน์ ยั่งยืน และคณะ[3] ได้เก็บตัวอย่างผักสวนครัวในพื้นที่บ้านหนองคู ต. หนองปลิง อ. เมือง จ.มหาสารคาม เพื่อวิเคราะห์หาไอโอดีน พบว่าพืชสวนครัวมีปริมาณของไอโอดีน ระหว่าง 2.67-45.90  $\mu\text{g}/100\text{g}$  ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.45  $\mu\text{g}/100\text{g}$  ซึ่งพืชสวนครัวที่ประชาชนปลูกในแต่ละชนิดมีปริมาณไอโอดีนที่แตกต่างกัน โดยผักที่มีปริมาณไอโอดีนมากที่สุดคือ แมงลัก รองลงมาคือ ต้นหอม มะเขือเทศ และกระถิน ตามลำดับ

### 2.1.4 สภาวะการขาดไอโอดีน

ในประเทศไทยพบว่าการเกิดสภาวะขาดไอโอดีนโดยส่วนใหญ่จะเป็นผู้ที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่ราบสูง ไกลภูเขา ห่างไกลจากชายทะเล โดยในปี พ.ศ. 2557 จังหวัดที่พบว่าเกิดสภาวะขาดไอโอดีนมี จังหวัดแม่ฮ่องสอน แพร่ น่าน เลย อุดรธานี หนองคาย หนองบัวลำภู ขอนแก่น ชัยภูมิ มหาสารคาม กาฬสินธุ์ บึงกาฬ นครพนม ร้อยเอ็ด ยโสธร อำนาจเจริญ มุกดาหาร อุบลราชธานี สุรินทร์ นครราชสีมา นครสวรรค์ อุทัยธานี ลพบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม นครนายก นนทบุรี สิงห์บุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นราธิวาส เนื่องจากอาหารที่มีปริมาณไอโอดีนสูงหาบริโภคได้ยาก ราคาสูง ขนส่งยาก และไม่สะดวกในการเดินทาง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคขาดสารไอโอดีน หมายถึง สภาวะร่างกายได้รับสารไอโอดีนไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกายเป็นประจำ กำหนดความรุนแรงของภาวะขาดไอโอดีน จะถือว่าขาดเล็กน้อยเมื่อผู้นั้นได้รับไอโอดีนระหว่าง 50-100 ไมโครกรัมต่อวัน สำหรับขาดปานกลางเมื่อผู้นั้นได้รับไอโอดีนระหว่าง 25-50 ไมโครกรัม และจะถือว่าขาดรุนแรงเมื่อได้รับไอโอดีนน้อยกว่า 25 ไมโครกรัมต่อวัน ซึ่งสภาวะการขาดไอโอดีนมีผลต่อการสร้างไทรอยด์ฮอร์โมนทำให้เกิดการเสียสมดุลในการควบคุมการทำงานของต่อมไทรอยด์ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพที่เรียกว่า ความผิดปกติของการขาดสารไอโอดีน (Iodine Deficiency Disorder : IDD) คือเกิดอาการคอพอก (Goiter) ไฮโปไทรอยด์ (Hypothyroidism) โรคเอื้อ (Cretinism) ซึ่งทำให้ระดับสติปัญญาพัฒนาช้ากว่าปกติ และมีพัฒนาการทางร่างกายต่ำกว่าเกณฑ์ ถ้ามีการขาดสารไอโอดีนในหญิงตั้งครรภ์ จะมีผลทำให้ทารกมีพัฒนาการของสมอง และระบบประสาทที่ช้ากว่าปกติ และหากขาดสารไอโอดีนในระดับรุนแรง อาจทำให้แท้งหรือตายก่อนคลอด หรือเกิดความพิการแต่กำเนิด อาการแสดงของโรคขาดสารไอโอดีนนั้นจะขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการขาดสารไอโอดีน และช่วงระยะเวลาของการขาดสารไอโอดีน [22]

ความผิดปกติของการขาดสารไอโอดีน เป็นสาเหตุของการเกิดโรคคอพอก (Goiter) ซึ่งเป็นโรคที่ต่อมไทรอยด์มีขนาดโตขึ้นผิดปกติจนสามารถมองเห็นหรือคลำพบได้ เนื่องจากไอโอดีนเป็นสารสำคัญที่จำเป็นต่อการผลิตฮอร์โมนไทรอกซีน (Thyroxine) จากต่อมไทรอยด์ เมื่อร่างกายได้รับปริมาณไอโอดีนไม่เพียงพอปริมาณของไทรอกซีนจะลดลงมีผลให้ต่อมพิทูอิทารี (Pituitary) หลั่งฮอร์โมนกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของต่อมไทรอยด์ให้มากขึ้นส่งผลทำให้ต่อมไทรอยด์โตขึ้น [23] อาการของคอพอกที่เด่นชัดคือ ต่อมไทรอยด์โตขึ้นจนทำให้ลำคอบริเวณคอหอยบวมและจะกีดขวางอาหารและหลอดลม ทำให้กลืนอาหารและหายใจได้ลำบาก

ไฮโปไทรอยด์ หรือภาวะขาดไทรอยด์ คือภาวะที่ต่อมไทรอยด์ผลิตฮอร์โมนไทรอยด์ออกมาได้ไม่เพียงพอ โดยต่อมไทรอยด์ซึ่งอยู่ด้านหน้าส่วนล่างของคอจะทำหน้าที่ผลิตและส่งฮอร์โมนไทรอยด์เข้าไปในกระแสเลือด ทั้งนี้ฮอร์โมนดังกล่าวยังส่งผลต่ออวัยวะเกือบทุกส่วนของร่างกายตั้งแต่หัวใจไปยังสมอง และจากกล้ามเนื้อไปที่ผิวหนัง ฮอร์โมนไทรอยด์นั้นจะควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกาย โดยกระบวนการเมตาบอลิซึมส่งผลต่ออุณหภูมิ อัตราการเต้นหัวใจ และการเผาผลาญพลังงาน หากร่างกายผลิตฮอร์โมนไทรอยด์ไม่เพียงพอ จะส่งผลให้กระบวนการทำงานของร่างกายช้าผิดปกติ กระบวนการเมตาบอลิซึมทำงานช้าลง ส่งผลให้รู้สึกอ่อนเพลีย ท้องผูก ปวดเมื่อยตามร่างกาย ผิวหนังแห้งผก และซึมเศร้า ผู้ป่วยไฮโปไทรอยด์บางรายอาจเกิดภาวะแทรกซ้อนเรียกว่าภาวะมิกซีเดมาโคมา (Myxedema Coma) เป็นภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรง เมื่อผู้ป่วยประสพภาวะนี้แล้วอาจก่อให้เกิดอันตรายถึงชีวิต โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาการของภาวะมิกซีตีมาโคมาประกอบด้วยความดันโลหิตต่ำ หายใจแผ่ว อุณหภูมิร่างกายลดลง ไม่ตอบสนองใด ๆ และถึงขั้นหมดสติ ในกรณีที่เกิดอาการร้ายแรงที่สุดอาจทำให้เสียชีวิตได้ [24]

นอกจากนี้สภาวะการขาดไอโอดีนยังส่งผลต่อการตั้งครรภ์ ในช่วงการตั้งครรภ์คุณแม่ต้องการสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายเพื่อบำรุงสุขภาพของตนเองและส่งต่อไปยังทารกในครรภ์ เพราะหลังจากตั้งครรภ์ได้ 4 เดือน ต่อมไทรอยด์จะทำงานเพิ่มขึ้น ดังนั้นคนท้องจึงต้องการไอโอดีนสูงกว่าคนปกติ เพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ หากหญิงตั้งครรภ์ได้รับไอโอดีนไม่เพียงพอจะส่งผลให้ทารกในครรภ์ขาดสารไอโอดีนไปด้วย เนื่องจากไอโอดีนเป็นสารที่ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ ในทารกจะต้องได้รับจากมารดาเท่านั้น จะส่งผลให้เกิดความผิดปกติกับทารกในครรภ์ ทำให้เกิดภาวะพิการทางสมอง (ปัญญาอ่อน) ต่อมไทรอยด์ไม่ทำงานแต่กำเนิด ร่างกายเล็กผิดปกติ เต็บโตเข้า กล้ามเนื้ออ่อนแรง สติปัญญาต่ำกว่ามาตรฐาน หรือที่ร้ายแรงที่สุดคือเกิดสภาวะแท้ง [25] จะเห็นได้ว่าไอโอดีนมีความสำคัญต่อร่างกายจึงควรได้รับปริมาณตามความเหมาะสมดังในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณไอโอดีนที่ควรได้รับในแต่ละช่วงวัย [26]

อายุ	ปริมาณไอโอดีน/วัน ที่ควรได้รับ (ไมโครกรัม/วัน)
เด็กแรกเกิด - 5 ปี	90
เด็กอายุ 6 - 12 ปี	120
ผู้ชายอายุ 9-13 ปี	120
ผู้ชายอายุ 14-70 ปี	150
ผู้หญิงอายุ 9-13 ปี	120
ผู้หญิงอายุ 14-70 ปี	150
หญิงมีครรภ์ หญิงให้นมบุตร	250

## 2.2 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ ( $\mu$ PADs)

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ (Microfluidic paper-based analytical devices,  $\mu$ PADs) นั้นเป็นอุปกรณ์การวิเคราะห์รูปแบบหนึ่งที่มีการใช้กระดาษกรองที่มีพื้นฐานเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ มีการสร้างช่องทางการไหลลงบนกระดาษกรองและทำการแบ่งพื้นที่ออกเป็นสัดส่วนด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำ ทำให้เมื่อหยดสารที่มีคุณสมบัติชอบน้ำลงไป สารก็จะไหลไปตามช่องทางที่กำหนดไว้ ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถควบคุมการไหลของสารได้ตามต้องการ นอกจากนี้  $\mu$ PADs ยังเป็นอุปกรณ์การวิเคราะห์ที่สามารถใช้แล้วทิ้งได้ ประดิษฐ์ได้ง่าย ต้นทุนต่ำ และยังพกพาได้

กระดาษกรองที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมี 2 ชนิด แบบมาตรฐาน (Standard qualitative) และ ไม่มีเถ้า (Ashless quantitative) โดยกระดาษกรองแต่ละเบอร์นั้นจะมีขนาดรูพรุนแตกต่างกัน ซึ่งขนาดของรูพรุนก็มีผลต่อความเร็วในการกรองหรือการแพร่ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงรายละเอียดกระดาษกรองชนิด Standard Qualitative ของบริษัท Whatman [27]

Standard qualitative cellulose filters papers			
Grade	Nominal particle retention in liquid ( $\mu\text{m}$ )	Filtration speed (approx) Herzberg (s)	Flow - aspect
1	11	150	Medium
2	8	240	Medium
3	6	325	Medium – thick
4	20 – 25	37	Very fast
5	2.5	1420	Slow

### 2.2.1 การสร้าง $\mu$ PADs

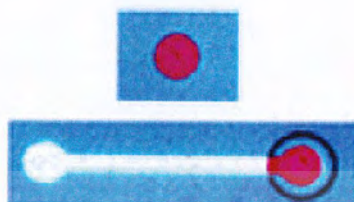
$\mu$ PADs นั้นประดิษฐ์ได้หลากหลายวิธีแล้วแต่ความเหมาะสมในการประยุกต์ใช้เข้ากับวิธีการวิเคราะห์ ได้แก่

#### 2.2.1.1 การพิมพ์ด้วยแวกซ์

เป็นวิธีที่สร้าง  $\mu$ PADs ขึ้นมาได้สะดวกมีขั้นตอนไม่มาก และสามารถป้องกันการรั่วไหลของสารได้ แต่มีข้อจำกัดคือต้องมีการให้ความร้อนเพื่อทำให้ขี้ผึ้งละลายเกิดเป็นขอบกั้นกำหนดช่องทางการไหล Nguyen และคณะ [28] ได้มีการพัฒนา  $\mu$ PADs เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณของนิกเกิล (Ni) โดยมีการใช้เครื่องปริ้นมาช่วยในการพิมพ์ โดยใช้กระดาษกรอง Whatman ตัดขนาดให้พอดีกับเครื่องปริ้น แล้วนำไปวางบนแผ่นอะลูมิเนียมให้ความร้อนกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอเพื่อทำให้ขี้ผึ้งละลาย เป็นการสร้างเส้นทางกั้นที่ไม่ชอบน้ำ เกิดเป็นเส้นทางการไหลเกิดขึ้น สร้างให้มีวงกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

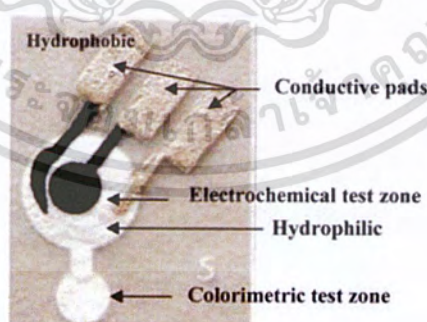
สองด้าน และเส้นทางการไหลกว้าง 2.5 มิลลิเมตร ยาว 3 มิลลิเมตร (รูปที่ 2.3) หลังจากนั้นด้านหลังจะมีการปิดด้วยเทป เพื่อป้องกันไม่ให้สารละลายซึมออกทางด้านล่างของแผ่นกระดาษ



รูปที่ 2.3 แสดง  $\mu$ PADs ที่ประดิษฐ์ด้วยวิธีพิมพ์ด้วยแวกซ์

### 2.2.1.2 การพิมพ์ด้วยแสง

Apilux และคณะ [29] พัฒนา  $\mu$ PADs สำหรับหาปริมาณทองและเหล็ก โดยใช้เทคนิคการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าและทางสีเข้ามารวม โดยนำกระดาษกรองที่มีการเคลือบด้วยสารไวต่อแสงไปอบที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปฉายภายใต้แสงยูวี และนำไปเข้าเครื่องอบที่อุณหภูมิเดิมอีกครั้ง หลังจากนั้นนำไปล้างด้วยไอโซโพรพานอล แล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้านั้นจะทำการติดขั้วต่างๆไว้บน  $\mu$ PADs โดยใช้หมึกคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน (Working electrode) และเป็นขั้วไฟฟ้าช่วย (Counter หรือ Auxiliary electrode) แล้วใช้หมึกซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) หลังจากนั้นจะอบ  $\mu$ PADs เพื่อให้หมึกแห้งพร้อมใช้งาน (รูปที่ 2.4)

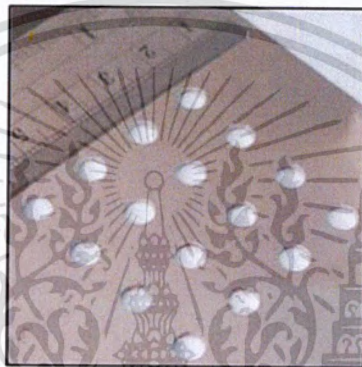


รูปที่ 2.4 แสดง  $\mu$ PADs ที่ประดิษฐ์ด้วยวิธีพิมพ์ด้วยแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.1.3 การประทับตรา

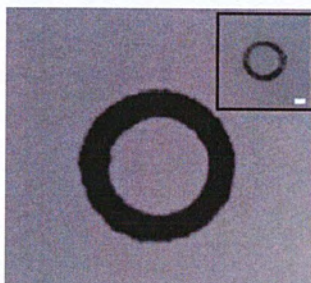
เป็นวิธีสร้างที่ง่ายและใช้ต้นทุนต่ำ Manbohia และคณะ [30] มีการพัฒนา  $\mu$ PADs เพื่อตรวจวัดโดพามีนด้วยเทคนิคการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า จะใช้แผ่นสแตนเลสที่มีวงกลม 16 วง (รูปที่ 2.5) แล้วใช้วิธีประทับตราด้วยซีฟิ่ง โดยให้ความร้อนจนซีฟิ่งละลายและจุ่มกระดาษกรองลงไปเป็นเวลา 60 วินาที แล้วนำออกมาให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้องแล้วดึงแผ่นกระดาษกรองที่จุ่มแช่ออกจากซีฟิ่ง จากนั้นนำกระดาษกรองอีกแผ่นที่ไม่ได้จุ่มซีฟิ่งมาประกบกันด้วยแผ่นสแตนเลสแล้วให้ความร้อน ให้ซีฟิ่งจากแผ่นที่จุ่มส่งผ่านไปยังอีกแผ่น



รูปที่ 2.5 แสดงแผ่นสแตนเลสที่ประกอบไปด้วยวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 16 วง

### 2.2.1.4 การประทับด้วยหมึก

การประทับตราด้วยหมึกเป็นวิธีที่ประดิษฐ์ได้ง่าย สะดวกรวดเร็วอีกวิธีหนึ่ง Curto และคณะ [31] ได้มีพัฒนา  $\mu$ PADs โดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และใช้หมึกกันน้ำเป็นตัวสร้างขอบเขตกันการไหลของสาร โดยจะผสมหมึกกันน้ำเข้ากับตัวทำละลายในอัตราส่วน 1 : 1 v/v เพื่อให้เมื่อนำไปประทับลงบนกระดาษกรอง หมึกกันน้ำจะแห้งได้เร็วขึ้น โดยทำการประทับลงบนกระดาษกรองที่มี stone ink-pad รองไว้บริเวณด้านหลังเพื่อทำให้หมึกที่ประทับนั้นแทรกซึมผ่านรูพรุนในกระดาษกรองได้ดียิ่งขึ้น (รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.6 แสดงรูปตราประทับ

#### 2.2.1.5 การใช้ปากกากันน้ำ

เป็นวิธีการสร้างที่สะดวกและต้นทุนต่ำอีกวิธีหนึ่ง สามารถออกแบบเส้นทางการไหล แนวกั้นได้ตามต้องการ ปากกาที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นชนิดกันน้ำ แต่สามารถละลายในแอลกอฮอล์ได้ Gallibu และคณะ [32] ได้มีงานวิจัยเกี่ยวกับการสร้าง  $\mu$ PADs อย่างง่ายด้วยการใช้ปากกากันน้ำ สำหรับใช้ในการหาปริมาณกลูโคส โดยจะใช้ปากกากันน้ำวาดลงไปบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ในการวาดจะมีการใช้ XY plotter ในการช่วยเพื่อกำหนดแรงที่ใช้วาดสม่ำเสมอ ให้หมึกแทรกซึมผ่านกระดาษกรองได้ รูปที่ (2.7)



รูปที่ 2.7 แสดง  $\mu$ PADs ที่ถูกประดิษฐ์ด้วยวิธีใช้ปากกากันน้ำ

### 2.2.2 เทคนิคการตรวจวัดที่ประยุกต์กับ $\mu$ PADs

#### 2.2.2.1 การตรวจวัดสี (Colorimetry)

เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกและตรวจวัดได้รวดเร็ว เป็นการตรวจวัดที่จะตอบสนองต่อสีที่เกิดขึ้น โดยจะทำการสแกนหรือถ่ายภาพบริเวณโซนตรวจวัด แล้วส่งถ่ายข้อมูลไปยังคอมพิวเตอร์หรือโทรศัพท์มือถือเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

### 2.2.2.2 การตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมี (Electrochemistry)

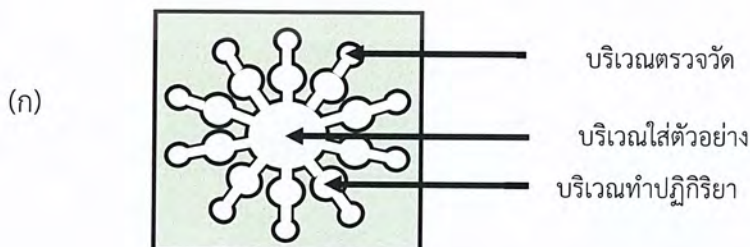
การตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมีเป็นเทคนิคที่ใช้พลังงานต่ำ มีความไวในการวิเคราะห์และความจำเพาะเจาะจงที่ดี จะมีการใช้ขั้ว 3 ชนิด ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) และขั้วไฟฟ้าช่วย (Counter หรือ Auxiliary electrode) ไปติดบนกระดาษ ในปัจจุบันมีการพัฒนา  $\mu$ PADs ที่มีการตรวจวัดทางไฟฟ้าเรียกว่า Paper-based Electrochemical Devices (PEDs)

### 2.2.2.3 การตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorometry)

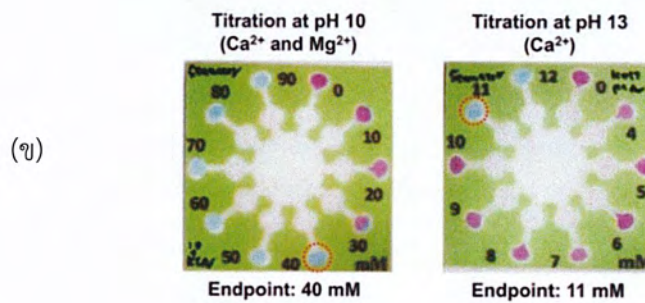
เป็นวิธีที่ตรวจวัดความเข้มแสงที่ถูกปลดปล่อยออกมา โดยมีการกระตุ้นให้พลังงานความยาวคลื่นที่เหมาะสมแก่การเกิดการวาวแสง หรือทำปฏิกิริยาให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ที่สามารถเกิดการวาวแสงได้ เมื่อให้พลังงานโมเลกุลภายในจะถูกกระตุ้นเกิดการสั่นและเคลื่อนที่ไปยังระดับพลังงานที่ไม่เสถียร จากนั้นจึงเกิดการตกกลับลงมาซึ่งการตกกลับลงมานั้นจะมีการคายพลังงานออกมาในรูปของแสง

### 2.2.3 การประยุกต์ใช้ $\mu$ PADs ในงานทางเคมีวิเคราะห์

Karita และคณะ [13] พัฒนา  $\mu$ PADs เพื่อตรวจวัดหาปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมในตัวอย่างน้ำธรรมชาติ โดยอาศัยปฏิกิริยาการไทเทรตโลหะกับกรดเอทิลีนไดอามีนเตตราอะซีติก (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) และมีอินดิเคเตอร์เพื่อช่วยให้เห็นจุดยุติได้ชัดเจน ซึ่งชุดอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นจะสร้างขึ้นด้วยวิธีพิมพ์ด้วยแวกซ์ มีบริเวณตรวจวัด บริเวณทำปฏิกิริยา และบริเวณบรรจุตัวอย่าง แบ่งแยกออกจากกัน (รูปที่ 2.8 ก) โดยวิธีนี้ที่บริเวณทำปฏิกิริยาจะมีการหยดอีดีทีเอลงไปที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อทำการหยดตัวอย่าง รอยนปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ ที่บริเวณตรวจวัดก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีเกิดขึ้น ซึ่งสามารถสังเกตจุดยุติได้โดยใช้ตาเปล่าได้ (รูปที่ 2.8 ข)

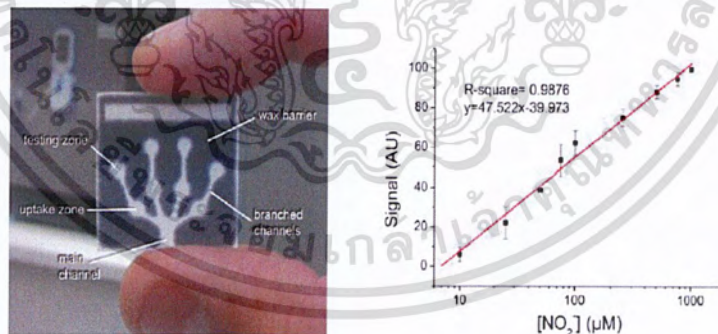


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 (ก) แสดง  $\mu$ PADs ที่ประกอบไปด้วยบริเวณทำปฏิกิริยา (Reaction zones) บริเวณตรวจวัด (Detection zones) และบริเวณใส่ตัวอย่าง (Sample zones) (ข) รูปแสดงจุดยุติที่เกิดขึ้นจากการวิเคราะห์หาปริมาณสารผสมแคลเซียมกับแมกนีเซียม และแคลเซียม

Bhakta และคณะ [33] ได้มีการพัฒนา  $\mu$ PADs ให้สามารถใช้งานทางด้านชีวการแพทย์ โดยจะพัฒนา  $\mu$ PADs สำหรับหาปริมาณของไนโตรเจนในน้ำลาย เพื่อที่วินิจฉัยโรคปรีทันต์ ซึ่งงานวิจัยนี้จะสร้างชุดอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยวิธีพิมพ์ด้วยแว็กซ์ (รูปที่ 2.9 ก) จากนั้นตรวจวัดไนโตรท์ที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิคการตรวจภาพถ่ายหรือสแกน โดยอาศัย Griess reaction งานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดไนโตรท์ได้ในช่วง 10-1000  $\mu$ M และมีขีดจำกัดการตรวจวัด 10  $\mu$ M (รูปที่ 2.9 ข)



(ก.)

(ข.)

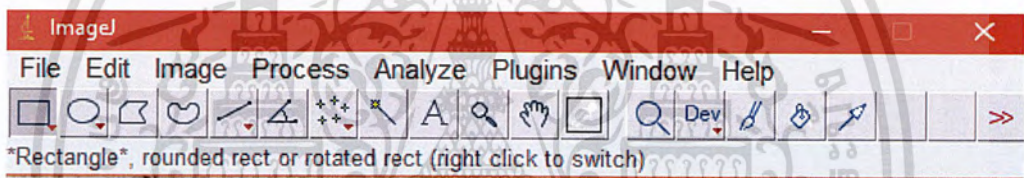
รูปที่ 2.9 (ก) แสดง  $\mu$ PADs ที่ประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (main channel), บริเวณสารเคลื่อนที่ (branched channel), บริเวณเคลือบด้วยรีเอเจนต์ (uptake zone) และบริเวณเกิดปฏิกิริยา (testing zone) (ข) กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ไนโตรท์ด้วย  $\mu$ PADs

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 การใช้งานโปรแกรม ImageJ และการประมวลผลแบบ Histogram

ImageJ คือ โปรแกรมที่สร้างขึ้นมาวิเคราะห์และประมวลผลไฟล์ภาพ เป็นโปรแกรมของสถาบันวิจัย National Institute of Mental Health (NIMH) ประเทศสหรัฐอเมริกา ปัจจุบันได้มีการนำ ImageJ มาใช้มากขึ้นในการวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์เนื่องจากโปรแกรมนี้นักเขียนมาเพื่ออำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ข้อมูลจากรูปภาพ ตัวอย่างเช่น การวัดความเข้มสีของภาพ การนับจำนวนเซลล์ที่ได้จากภาพถ่าย การหาพื้นที่ของวัตถุ เป็นต้น ต่อมาจึงได้มีการพัฒนามาวิเคราะห์ขนาดของเกรนและการกระจายตัวของภาคตัดขวางของวัสดุ เป็นการประยุกต์ใช้เพื่อหาคุณสมบัติของวัสดุอีกวิธีหนึ่ง [34]

(1) เปิดโปรแกรม ImageJ (รูปที่ 2.10) จากนั้นเปิดไฟล์ภาพที่ต้องการวิเคราะห์โดยไปที่ File > Open จะได้ตัวอย่างไฟล์ภาพที่ใช้นำมาวิเคราะห์ (รูปที่ 2.11)



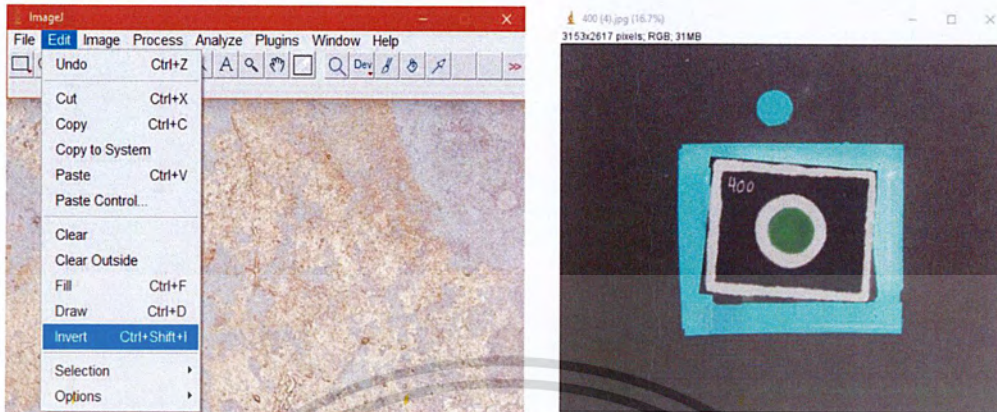
รูปที่ 2.10 โปรแกรม ImageJ






รูปที่ 2.11 แสดงการเปิดตัวอย่างไฟล์ภาพที่ต้องการวิเคราะห์

(2) เมื่อได้ภาพมาแล้วให้ไปที่ Edit > Invert เพื่อเปลี่ยนสีของภาพ (รูปที่ 2.12)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.12 แสดงการเปลี่ยนสีของรูปภาพ

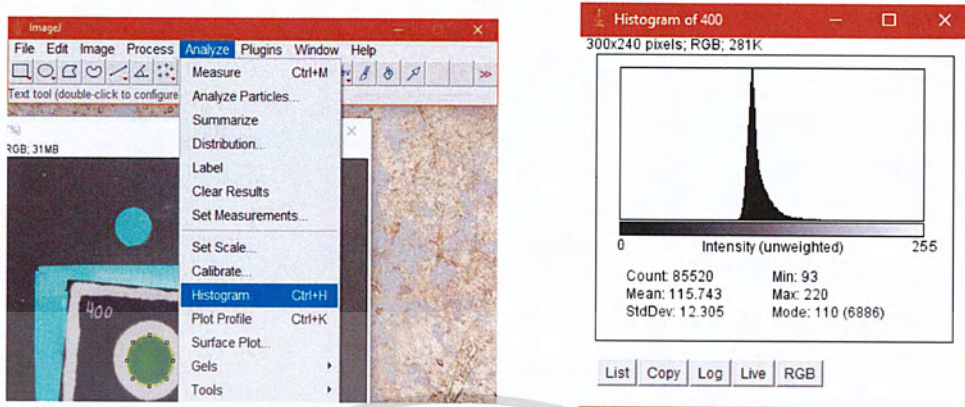
(3) เครื่องมือสำหรับการเลือกส่วนที่ต้องการวิเคราะห์ เครื่องมือที่ใช้สำหรับขยายภาพ (Magnifying glass)  เครื่องมือที่ใช้สำหรับขยายภาพ เลื่อนรูปภาพ (Scrolling Tool)  และ เครื่องมือที่ใช้สำหรับกำหนดพื้นที่ของส่วนที่ต้องการวิเคราะห์ (Oval)  (รูปที่ 2.13)



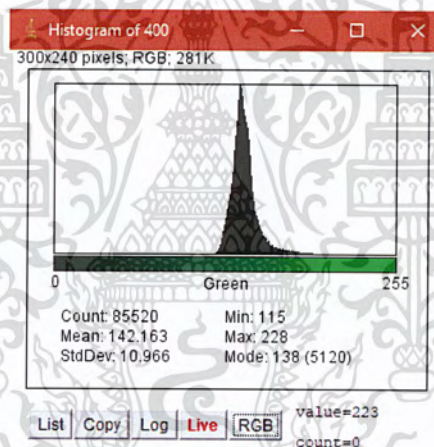
รูปที่ 2.13 แสดงการกำหนดพื้นที่ของส่วนที่ต้องการวิเคราะห์

(4) เลือกการวิเคราะห์ เมื่อได้กำหนดพื้นที่ที่ต้องการวิเคราะห์แล้วจากนั้นจะทำการวิเคราะห์ โดยไปที่ Analyze > Histogram จากนั้นโปรแกรมจะแสดงหน้าต่างผลการวิเคราะห์ (ดังรูปที่ 2.14) การแสดงผลของภาพจะแสดงการวิเคราะห์ในรูปแบบ Histogram โดยการเลือกพารามิเตอร์ RGB ของสีเขียว (Green) และนำค่าเฉลี่ย (Mean) ที่ได้มาใช้ในการวิเคราะห์ผล (รูปที่ 2.15)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.14 แสดงหน้าต่างผลการวิเคราะห์



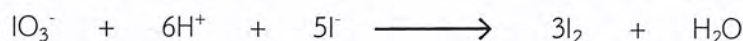
รูปที่ 2.15 แสดงการเลือกพารามิเตอร์ RGB ของสีเขียวมาใช้ในการวิเคราะห์ผล

## 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

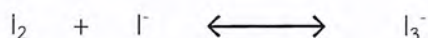
### 2.4.1 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีน

#### 2.4.1.1 การไทเทรต [35]

ในปัจจุบันวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนจะใช้วิธีการไทเทรตแบบไอโอดิเมตรี (Iodometric titration) เป็นการไทเทรตสารละลายไอโอดีนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาอื่นอีกทีหนึ่ง การหาปริมาณไอโอดีนจะมีปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน คือปฏิกิริยาแรกจะเป็นการเติมกรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) ให้ทำปฏิกิริยากับไอโอดีนเพื่อทำให้ไอโอดีนในเกลืออยู่ในรูปของไอโอดีนอิสระ (free iodine) ดังในสมการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตเห็นาไปไซประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



จากนั้นเติมโพแทสเซียมไอโอไดต์ (KI) เพื่อให้ไอโอดีนทำปฏิกิริยากับ  $\text{I}^-$  เกิดเป็น  $\text{I}_3^-$  จะช่วยให้ไอโอดีนอิสระละลายน้ำได้ดีขึ้น ดังในสมการ



ปฏิกิริยาที่สองจะเป็นการไทเทรตหาปริมาณไอโอดีนเนื่องจาก  $\text{I}_3^-$  ไม่เสถียรจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาผันกลับมาเป็น  $\text{I}_2$  ซึ่งเป็นรูปที่เสถียรมากกว่า จึงไทเทรตหา  $\text{I}_2$  โดยใช้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) เป็นไทเทรนต์ เกิดปฏิกิริยาดังสมการ



เมื่อไทเทรตไอโอดีนกับสารละลายจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน จากนั้นหยดน้ำแบ่งซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ลงไป โดยน้ำแบ่งจะทำปฏิกิริยากับไอโอดีนเกิดเป็นสารละลายสีน้ำเงิน ไทเทรตต่อไปเรื่อยๆ จนถึงจุดยุติ ที่จุดยุติจะได้สารละลายใสไม่มีสีเพราะไอโอดีนทำปฏิกิริยาพอดีกับโซเดียมไทโอซัลเฟต

ซึ่งเทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ดีและหาความเข้มข้นไอโอดีนได้ในช่วงกว้าง แต่มีข้อจำกัดคือใช้สารเคมีในปริมาณที่มาก ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน อีกทั้งไอโอดีนอิสระยังถูกออกซิไดซ์ด้วยแสงกลายเป็นไอโอดีนไดซึ่งต้องเก็บไว้ในที่มืด และไอโอดีนเป็นสารที่ระเหยได้อย่างรวดเร็ว จึงต้องทำการไทเทรตอย่างรวดเร็ว วิธีนี้จึงไม่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนที่มีจำนวนตัวอย่างปริมาณมากได้

#### 2.4.1.2 เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography)

Rebery และคณะ [36] ได้พัฒนาการหาปริมาณไอโอไดต์และไอโอเดตในเกลือบรีโภาคโดยวิธีไอออนโครมาโทกราฟีร่วมกับการตรวจวัดแอมเพอโรเมทรีในการตรวจวัด (Amperometric detection) โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการรีดิวซ์ไอโอเดตให้เป็นไอโอไดต์ด้วยโซเดียมไบซัลไฟต์ ( $\text{NaHSO}_3$ ) จึงทำการวิเคราะห์เกลือเสริมไอโอดีนที่มีทั้งไอโอไดต์และไอโอเดตร่วมกัน และทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารทั้งสองแยกจากกันได้ เทคนิคนี้สามารถตรวจวัดหาปริมาณได้ไอโอเดตที่ความเข้มข้นมากกว่า 5 ppm ในเกลือบรีโภาคได้ ในงานวิจัยนี้พบว่าตัวรบกวนไม่มีผลต่อการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kumar และคณะ [11] ได้พัฒนาเทคนิคในการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดตและซัลเฟต โดยพัฒนาเทคนิค Anion exchange chromatography ร่วมกับเทคนิคการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า โดยเทคนิคนี้ต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อกำจัด คลอไรด์ (Cl<sup>-</sup>) ตัวรบกวนหลักออกจากสารตัวอย่าง การใช้ Guard column ที่ภายในมีการบรรจุเรซินที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นซิลเวอร์ (Ag<sup>+</sup> form) โดยหมู่ฟังก์ชันที่เป็นซิลเวอร์ จะมีความสามารถในการดักจับคลอไรด์ โบรไมด์ (Br<sup>-</sup>) และไอโอไดด์ ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดตและซัลเฟต คือปริมาณ 0.5 และ 0.05 µg/mL ตามลำดับ

#### 2.4.1.3 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry)

Pena-Pereira และคณะ [12] ได้มีการพัฒนาวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี สำหรับตรวจวัดปริมาณไอโอเดตที่มีอยู่ในน้ำ ด้วยวิธี Microvolume UV-VIS Spectroscopy โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอโอเดตให้กลายเป็นไอโอดีนที่ระเหยได้ ดังสมการ



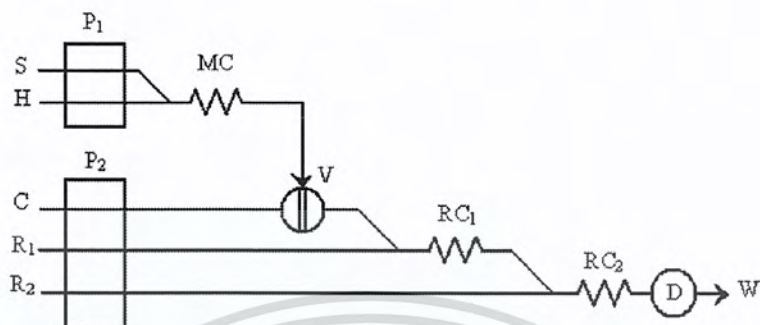
จากนั้นสกัดด้วยเทคนิค Liquid-phase microextraction ให้ไอโอดีนเข้ามาอยู่ภายในหยดของ N,N-dimethylformamide การทดลองทำโดยให้หยด N,N-dimethylformamide ปริมาตร 2.5 µl แขนงตัวอย่างที่ปลายเข็มบริเวณบริเวณส่วนเหนือสารละลาย (headspace) ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก โดยปั่นกวนที่ความเร็ว 1400 rpm เป็นเวลา 7 นาที แล้วเติมโพแทสเซียมไอโอไดด์ งานวิจัยนี้มีขีดจำกัดของการตรวจวัดอยู่ที่ 1.1 µg/l

#### 2.4.1.4 เทคนิคการไหล (Flow based techniques)

Mohammad และคณะ [37] ได้พัฒนาการหาปริมาณไอโอเดตในตัวอย่างที่เป็นเกลือด้วยเทคนิค flow injection (FI) โดยงานวิจัยนี้อาศัยปฏิกิริยาการทำระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีเนน จะได้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นคือไนไตรท์ จากรูปที่ 2.16 ระบบการไหลจะนำสารตัวอย่าง (S) ให้ไหลไปทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีลามีเนนในสารละลายกรด (H) เกิดไนไตรท์ จากนั้นไหลไปทำปฏิกิริยากับซัลฟานิลลาไมด์ (R<sub>1</sub>) และ N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NED) (R<sub>2</sub>) ได้ผลิตภัณฑ์ azo dye ซึ่งเป็น

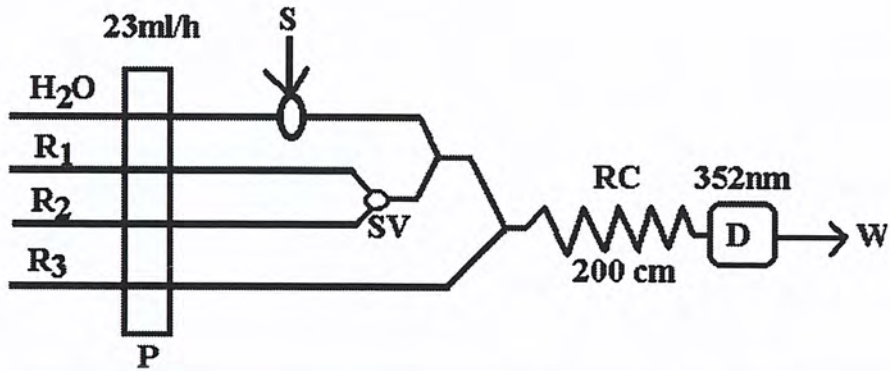
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายสีชมพู ตรวจวัดด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ในงานวิจัยนี้จะได้กราฟมาตรฐานในช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0.1-30 mg/L โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9992



รูปที่ 2.16 ระบบการไหลในการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีตประกอบด้วย P=peristaltic pump, MC=mixing coil, V=valve, D=detector, W=waste, S=สารตัวอย่าง, H=ไฮดรอกซีลามีน, C=ตัวพา, R1=ซัลฟานิลาไมด์ และ R2=NED

Ensafi และคณะ [38] ได้หาปริมาณเพอร์ไอโอดีตและไอโอดีต ด้วยการเทคนิค Flow injection ที่มีกรไหลแบบเป็นลำดับ (sequential) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับไอโอดีตที่ pH 3.5 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไอโอดีน ระบบการไหลจะประกอบด้วยวาล์ว 3 ทาง (SV) (รูปที่ 2.16) หากต้องการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีตเพียงอย่างเดียวจะทำการเลือกช่องทางการไหล ให้สารผสมเพอร์ไอโอดีตและไอโอดีตไหลไปทำปฏิกิริยากับโมลิบดีตที่พีเอช 3.5 (R1) เมื่อเข้าสู่ในระบบตรวจวัดจะปรากฏเพียงฟิเคการดูดกลืนแสงของไอโอดีตเพียงอย่างเดียว เนื่องจากโมลิบดีตมีความสามารถในการบดบังสัญญาณของเพอร์ไอโอดีต และหากต้องการวิเคราะห์หาปริมาณเพอร์ไอโอดีตจะสามารถทำได้ด้วยการเลือกช่องทางการไหล ให้สารผสมไปทำปฏิกิริยากับไอโอดีตและบัฟเฟอร์ที่พีเอช 3.5 (R2) ซึ่งจะปรากฏฟิเคการดูดกลืนแสงรวมของเพอร์ไอโอดีตและไอโอดีตขึ้น (รูปที่ 2.17) ในงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดเพอร์ไอโอดีตและไอโอดีตได้ที่ช่วง 0.050–5.0 และ 0.050–10  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ



รูปที่ 2.17 ระบบ Flow injection ที่มีการไหลแบบ sequential สำหรับหาปริมาณเพอร์ไอโอดีตและไอโอดีต ประกอบด้วย S=sample injection valve, P=peristaltic pump, SV=selection valve, RC=reaction coil, D=detector, W=waste, R1=molybdate solution 0.003 M buffered at pH 3.5, R2=buffer solution pH 3.5 and R3=iodide solution 0.1 M

#### 2.4.1.5 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical techniques)

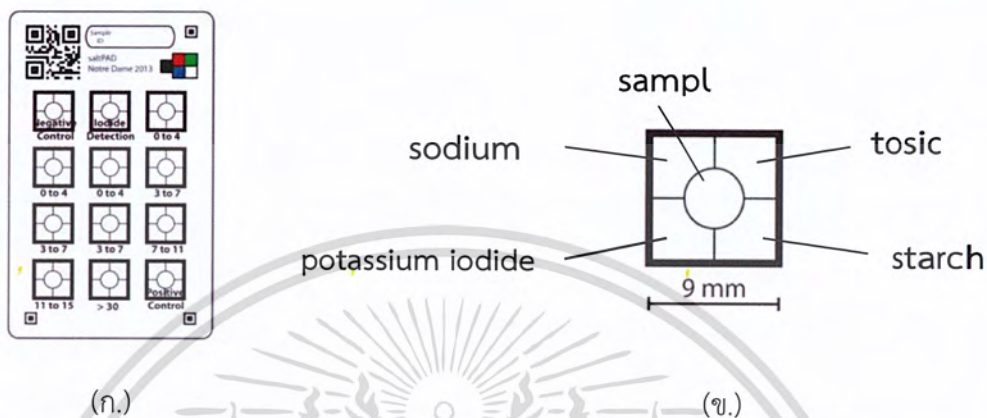
Tabrizi และคณะ [39] ได้มีการพัฒนาปรับปรุงขั้วไฟฟ้า glassy carbon โดยการทำให้โพลีเมอร์ของ diphenylamine กับ p-phenylenediamine ในสารละลายกรดซัลฟูริก ได้ผลิตภัณฑ์คือ copoly(diphenylamine 2:4 p-phenylenediamine) (copoly(DPA2:4PPA)) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าที่มีการเคลือบด้วย (copoly(DPA2:4PPA)) จะมีความไวต่อการวัดค่าของไอโอดีต จากการตรวจวัดด้วยแอมเพอโรเมทรีและโวลแทมเมทรีที่อิเล็กโทรดที่มีการเคลือบด้วยโพลีเมอร์พบว่าสามารถวิเคราะห์หาไอโอดีตได้ในช่วงความเข้มข้น 50-550  $\mu\text{M}$  และขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้คือ 0.8  $\mu\text{M}$

#### 2.4.1.6 เทคนิคการใช้ $\mu\text{PADs}$

Myers และคณะ [17] ได้มีการพัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับการไทเทรตแบบไอโอดีตเมทรี (Iodometric titration) โดยจะเตรียม  $\mu\text{PADs}$  ด้วยการพิมพ์ด้วยแว็กซ์ สร้างให้มีรอบสี่เหลี่ยม 12 รูป เรียกว่า loading zone เป็นบริเวณสำหรับเกิดปฏิกิริยา (รูปที่ 2.18 ก.) และในกรอบสี่เหลี่ยมก็มีการแบ่งเส้นขอบที่ไม่ชอบน้ำแบ่งออกเป็น 5 โซน ซึ่งสามารถรองรับรีเอเจนต์ได้สูงสุด 5 ชนิด ในแต่ละ loading zone จะมีการเคลือบไว้ด้วยรีเอเจนต์ต่างชนิดกัน ได้แก่ โพแทสเซียมไอโอดีต กรดซัลฟูริก น้ำแป้ง และโซเดียมไทโอซัลเฟต โดยไม่มีการผสมเพราะจะถูกแยกออกจากกันด้วยแว็กซ์ และโดยจะหยุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารตัวอย่างไว้ที่บริเวณตรงกลาง (รูปที่ 2.18 ข.) จากนั้นนำชุดทดสอบนี้ไปวางบนเครื่องเขย่าเพื่อให้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ละลายหลุดออกจากกระดาษเพื่อทำปฏิกิริยากันเกิดเป็นสารละลายสีน้ำเงิน

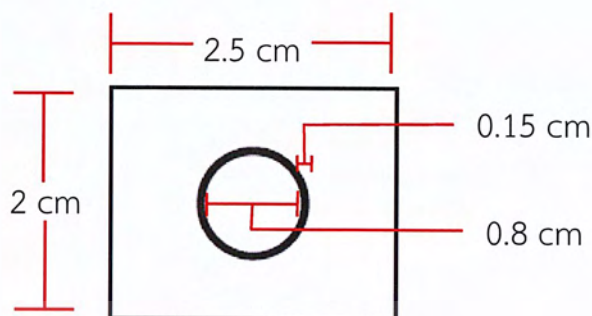


รูปที่ 2.18 ชุดทดสอบสำหรับการไทเทรตแบบไอโอโดเมทรีและตำแหน่งการหยดสารต่างๆ ลงบน  $\mu$ PADs

โดยงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของไอโอดีนในช่วง 0.8 - 15 ppm และมีจุดเด่นคือรีเอเจนต์จะถูกทำให้แห้งและสามารถเก็บรักษารีเอเจนต์นานกว่าวิธีการไทเทรตไอโอโดเมทรีแบบปกติ แต่มีข้อจำกัดคือต้องมีการเขย่าเพื่อให้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ละลายเข้ากันและเกิดปฏิกิริยา ซึ่งต้องทำด้วยความระมัดระวัง ไม่ให้หยดของสารละลายกระเด็นออกจากบริเวณที่ทำปฏิกิริยา

## 2.5 งานวิจัยนี้

ในงานวิจัยนี้ได้สร้าง  $\mu$ PADs ด้วยวิธีการประทับด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำ (Indelible ink) ลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยออกแบบให้เป็นช่องวงกลมสำหรับเกิดปฏิกิริยา มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงกลม 8 มิลลิเมตรและความหนาของเส้นขอบวงกลมเท่ากับ 1.5 มิลลิเมตร (ดังรูป 2.19) หลักการวิเคราะห์จะทำได้โดยหยดสารตัวอย่างและรีเอเจนต์ลงไปตรงช่องวงกลมซึ่งเป็นบริเวณที่ชอบน้ำเพื่อเกิดปฏิกิริยา โดยรีเอเจนต์ที่ใช้สำหรับในงานวิจัยนี้คือไฮดรอกซีลามีนทำหน้าที่ให้เกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ไอโอเดต เกิดเป็นไอโอไดต์และไนไตรท์ และ Griess reagent ซึ่งเป็นสารละลายผสมของซัลฟานิลไมด์และ NED ในสารละลายกรด



รูปที่ 2.19 รูปแบบ  $\mu$ PADs ที่ทำการออกแบบ

การหาปริมาณไอโอเดตอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีนได้ผลิตภัณฑ์เป็นไนไตรท์ จากนั้นไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับ Griess Reagent ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดขึ้นจะเกิดเป็นสารประกอบเอโซ (azo compound) ซึ่งเป็นสารละลายสีชมพู จากนั้นจะทำการถ่ายภาพสีของสารผลิตภัณฑ์เพื่อนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นด้วยโปรแกรม ImageJ



การวิเคราะห์ผลโดยโปรแกรม ImageJ จะแสดงผลการวิเคราะห์ออกมาเป็นความเข้มสี โดยความเข้มสีที่เกิดขึ้นจะแปรตามความเข้มข้นของไอโอเดต ถ้าความเข้มข้นของไอโอเดตมากจะส่งผลทำให้เกิดไนไตรท์มากจึงส่งผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์สุดท้ายเข้มไปด้วย ดังนั้นชุดทดสอบบนกระดาษนี้จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้เพื่อหาปริมาณไอโอเดตได้

### บทที่ 3

## วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

#### 3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (%)	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
โพแทสเซียมไอโอเดต (Potassium iodate)	$KIO_3$	99.4	APS Finechem, Australia
ไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ (Hydroxylamine hydrochloride)	$NH_2OH \cdot HCl$	99	Alfa Aesar, USA
ซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanitamide)	$H_2NSO_2NH_2$	99	Carlo Erba, Italy
แนฟทิลเอธิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-Naphthyl) ethylenediaminedihydrochloride, NED)	$C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$	96	Alfa Aesar, USA
เมทานอล (Methanol)	$CH_3OH$	99.99	Fisher scientific, UK
กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)	$HCl$	37	Carlo Erba, Italy

ใช้น้ำที่ปราศจากไอออน (Deionized water – Mill Q) ที่ได้จากเครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ (Zeneer UP 900, Human corporation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1.2 อุปกรณ์

ปีกเกอร์	ขนาด	100	มิลลิลิตร
		50	มิลลิลิตร
		25	มิลลิลิตร
		10	มิลลิลิตร
		5	มิลลิลิตร
ขวดวัดปริมาตร	ขนาด	100	มิลลิลิตร
		50	มิลลิลิตร
		25	มิลลิลิตร
		10	มิลลิลิตร
		5	มิลลิลิตร
ไมโครปิเปต	ขนาด	1 – 5	มิลลิลิตร
		100 – 1000	ไมโครลิตร
		1 – 10	ไมโครลิตร
กระบอกตวง	ขนาด	100	มิลลิลิตร
หลอดหยด			
ช้อนตักสาร			
แท่งคนสาร			
ปากคีบ			
กระดาษกรอง	Whatman เบอร์ 1		
หมึกกันน้ำสีดำตราม้า			
ตรายางที่ออกแบบสำหรับทำ $\mu$ PADs			
สตูดิโอถ่ายรูป			
กล้องถ่ายรูป	SONY DSC-WX500		
เครื่องชั่ง	4 ตำแหน่ง		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.2 การเตรียมสารละลาย

### 3.2.1 สารละลายมาตรฐานไอโอเดต

เตรียมสารละลายมาตรฐานไอโอเดตความเข้มข้น 1000 ppm โดยชั่งโพแทสเซียมไอโอเดตมา 0.1224 g จากนั้นนำไปละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน และถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml และปรับปริมาตรจนถึงขีดบอกปริมาตร

จากนั้นเตรียมสารละลายไอโอเดตความเข้มข้น 0, 50, 100, 200, 300 และ 400 ppm โดยใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายมาตรฐานไอโอเดตความเข้มข้น 1000 ppm มา 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 ml ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml แล้วปรับให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

### 3.2.2 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก

เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 M โดยปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37% w/w มา 2 ml ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 ml จากนั้นปรับให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

### 3.2.3 สารละลายไฮดรอกซีลามีน

เตรียมสารละลายไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.1 M โดยชั่งไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ 0.1737 g ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml ปรับปริมาตรด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M จนถึงขีดบอกปริมาตร

### 3.2.4 สารละลายเมทานอล

เตรียมสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 70% v/v โดยใช้กระบอกลงขนาด 100 ml โดยการนำสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 99.99% v/v มา 70 ml และเติมน้ำปราศจากไอออนลงไปอีก 30 ml จากนั้นถ่ายลงในภาชนะปิด เพื่อป้องกันการระเหยของสาร

### 3.2.5 สารละลาย Griess reagent

ชั่งซัลฟานิลไมด์ 0.2152 g และ NED 0.2010 g ลงในบีกเกอร์ จากนั้นปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37% w/w ลงไป 209  $\mu$ L และเติมสารละลายเมทานอล 70% v/v ลงไปเพื่อทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายสารในบีกเกอร์ จากนั้นถ่ายลงขวดวัดปริมาตรขนาด 5 ml แล้วปรับให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยเมทานอล 70% v/v

โดยสุดท้ายแล้ว Griess reagent ที่เตรียมได้จะมีความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์ 0.25 M, NED 0.02 M และกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M

### 3.3 การเตรียมตัวอย่าง

#### 3.3.1 เตรียมตัวอย่างจากสารฉีดพ่นพืช

##### 3.3.3.1 สารฉีดพ่นสำหรับมันฝรั่ง

เตรียมโดยปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดต 1000 ppm มา 2.80 ml ลงในขวดวัดปริมาตร 10 ml จากนั้นปรับจนถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำประปา หรือ

##### 3.3.3.2 สารฉีดพ่นสำหรับมะเขือเทศ

เตรียมโดยปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดต 1000 ppm มา 1.40 ml ลงในขวดวัดปริมาตร 10 ml จากนั้นปรับจนถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำประปา

#### 3.3.2 เตรียมตัวอย่างจากเกลือยี่ห้อต่างๆ

ในการทดลองนี้มีการใช้สารตัวอย่างเกลือทั้งสิ้น 4 ยี่ห้อ คือ ปรงทิพย์, ทหาร, ขอบฟ้าเขียว และ ท็อปส์

เตรียมโดยชั่งสารตัวอย่างเกลือแต่ละยี่ห้อ 3.0000 g ลงในบีกเกอร์ จากนั้นละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ถ่ายลงขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

### 3.4 การสร้าง $\mu$ PADs

ทำการออกแบบแม่แบบ  $\mu$ PADs ในโปรแกรม Microsoft office PowerPoint โดยกำหนดขนาดและความหนาต่างๆ ดังนี้

วงกลมจะมีความหนาเส้นขอบวงกลม 0.15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายในวงกลม 0.8 เซนติเมตร และกรอบสี่เหลี่ยมจะมีกว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 2.5 เซนติเมตร ความหนาของเส้นขอบสี่เหลี่ยม 0.05 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำแบบไปทำเป็นตรายางแบบมีหมึกในตัว ก่อนการใช้งานตรายางให้นำตรายางไปแช่หมึกกันน้ำสีดำ ในงานวิจัยนี้จะใช้วิธีประทับด้วยหมึก โดยใช้หมึกกันน้ำสีดำตราม้า (รูปที่ 3.2 ก) แช่ทิ้งไว้จนสังเกตได้ว่าหมึกได้ซึมลงไปยังตรายาง จากนั้นใช้ทิชชูซับหมึกส่วนเกินออก แล้วนำไปประทับลงบนกระดาษกรอง Whatman ค้างไว้ประมาณ 3 – 5 วินาที โดยสังเกตว่าหมึกนั้นจะต้องซึมทะลุผ่านจากด้านหน้าลงไปยังด้านหลัง และได้วงกลมที่มีความหนาของเส้นรอบวงสม่ำเสมอและมีขนาดตามที่ต้องการ จึงจะถือว่า  $\mu$ PADs นั้น สามารถใช้งานได้ (รูปที่ 3.1 ข)



รูปที่ 3.1 (ก) หมึกกันน้ำสีดำตราม้าที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (ข)  $\mu$ PADs ที่ได้จากวิธีประทับตราด้วยหมึกกันน้ำ

### 3.5 การตั้งค่ากล้องถ่ายรูปและการถ่ายภาพ $\mu$ PADs

#### 3.5.1 การตั้งค่ากล้องถ่ายรูป

- (1) เริ่มจากการตั้งค่าโหมดของกล้องถ่ายรูปให้อยู่ในโหมด P (รูปที่ 3.2 ก)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

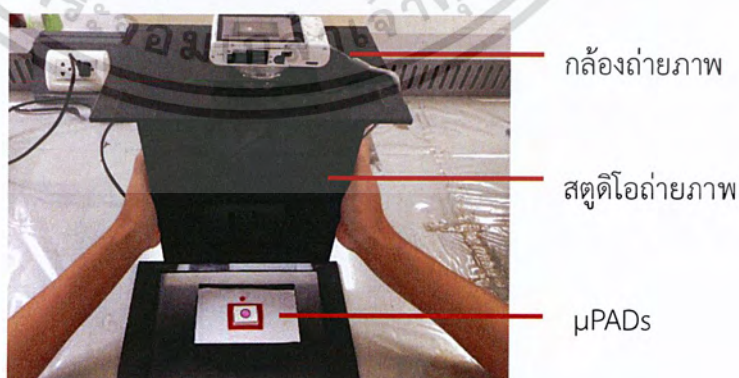


รูปที่ 3.2 (ก) แสดงการตั้งค่าโหมดของกล้องถ่ายรูป (ข) การตั้งค่าฟังก์ชันต่างๆ

(2) จากนั้นทำการกดปุ่มฟังก์ชัน (fn) ก็จะขึ้นหน้าต่างแสดงค่าภายในต่างๆขึ้นมา โดยในงานวิจัยนี้ได้มีการปรับค่าต่างๆ ให้เป็นไปดังนี้ ISO = 200, Metering Mode = Spot, White Balance = +2.00 โดยค่าเหล่านี้จะต้องคงที่ตลอดการทดลอง (รูปที่ 3.2 ข)

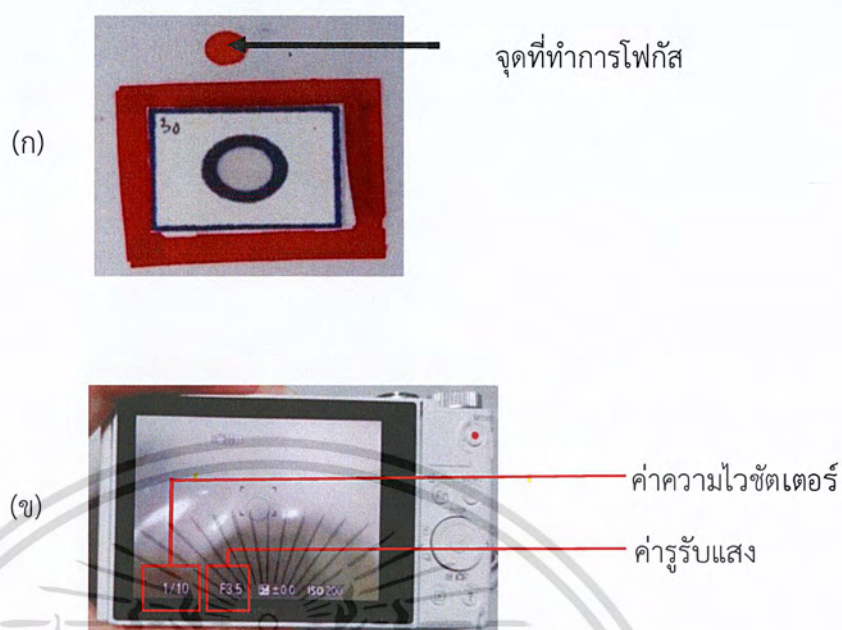
### 3.5.2 การถ่ายภาพ $\mu$ PADs

ในการถ่ายภูมุนั้น จะทำการถ่ายภาพในสตูดิโอที่มีการควบคุมปริมาณแสง มีลักษณะเป็นกล่องทึบแสง ภายในมีหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ เพื่อให้แสงกระจายตัวเท่ากันทุกทิศทางและป้องกันแสงจากภายนอกเข้ามา ทำให้รูปที่ได้มีปริมาณแสงที่เท่ากันทุกครั้ง (รูปที่ 3.3) นอกจากนี้ยังมีการควบคุมการโฟกัสของกล้องโดยในการถ่ายภาพในแต่ละครั้ง หลังจากวาง  $\mu$ PADs ลงไปในสตูดิโอและตั้งค่ากล้องถ่ายรูปเรียบร้อยแล้ว โดยจะทำการกดโฟกัสที่จุดสีแดงเหนือช่องใส่  $\mu$ PADs ก่อน (รูปที่ 3.4 ก)



รูปที่ 3.3 สตูดิโอถ่ายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 (ก) แสดงจุดที่ทำการโฟกัสก่อนทำการกดชัตเตอร์ (ข) แสดงค่าความไวชัตเตอร์และค่ารูรับแสง

เพื่อเป็นการกำหนดให้จุดสีแดงด้านบนเป็นตัวอ้างอิงในการโฟกัสในแต่ละครั้ง หลังจากทำการกดโฟกัสที่จุดสีแดงแล้วจึงค่อยเบนกล้องถ่ายรูปลงมาให้หน้าจอดีกับ  $\mu$ PADs สังเกตค่าความไวชัตเตอร์และค่ารูรับแสง ที่บริเวณด้านล่างของจอกล้องถ่ายรูป (รูปที่ 3.4 ข) ในการวิเคราะห์แต่ละครั้งควรมีค่าความไวชัตเตอร์และค่ารูรับแสงที่เท่ากัน ซึ่งแสดงว่ารูปภาพที่ได้มีความสว่างความชัดแตกต่างกัน หลังจากนั้นก็กดชัตเตอร์และนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อหาค่าความเข้มสี (Intensity) โดยวัดค่าความเข้มสีในสเกลเขียว (Green intensity)

### 3.6 การดำเนินการทดลอง

#### 3.6.1 ศึกษาการหดยปริมาณสารที่เหมาะสม

นำ  $\mu$ PADs ที่สร้างขึ้นโดยการประทับด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำมาหยดด้วยสารละลายสีแดงในปริมาณต่างๆ กันได้แก่ 1, 2, 3, 4 และ 5  $\mu$ l จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งแล้วถ่ายรูปด้วยกล้องดิจิทัล สังเกตการกระจายตัวของสารละลายสีแดงในวงกลมของ  $\mu$ PADs

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6.2 ศึกษาชนิดของกระดาษกรองในการสร้าง $\mu$ PADs

ศึกษาผลของชนิดกระดาษกรองที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน ทำการเปรียบเทียบระหว่างกระดาษกรองเบอร์ 1 และ 4 โดยทำการทดลองกับสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 ppm

1. นำกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 สร้าง  $\mu$ PADs ด้วยการประทับด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำ
2. หยดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 0 ppm ปริมาตร 3  $\mu$ l ตามด้วยหยดไฮดรอกซีลามี้น ปริมาตร 3  $\mu$ l และ Griess reagent ลงไปด้วยปริมาตร 3  $\mu$ l จากนั้นทำการถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูป
3. วัดค่าความเข้มสีที่ได้ด้วยโปรแกรม ImageJ
4. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง
5. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอดีนเป็น 100, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 ppm
6. เปลี่ยนชนิดของกระดาษกรองเป็น Whatman เบอร์ 4 และทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1-5
7. นำค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีกับความเข้มข้นไอโอดีน

### 3.6.3 ศึกษาการวิเคราะห์ค่าสี RGB

ศึกษาค่าสี RGB ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน โดยทำการเปรียบเทียบระหว่าง สีแดง (Red) สีเขียว (Green) และสีน้ำเงิน (Blue) 4 โดยทำการทดลองกับสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 0, 50, 100, 200, 300 และ 400 ppm

1. หยดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 0 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามี้นความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 20 วินาทีเพื่อให้ปฏิกิริยากัน แล้วนำไปถ่ายรูปเพื่อนำไปตรวจวัดด้วยโปรแกรม ImageJ
2. วัดค่าความเข้มสีของแต่ละสเกลสี ได้แก่ สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน
3. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง
4. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 3 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอดีนเป็น 50, 100, 200, 300 และ 400 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. นำค่าเฉลี่ยความเข้มข้นที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าความเข้มข้นไอโอเดต

### 3.6.4 ศึกษาความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่ใช้ทำปฏิกิริยา

ศึกษาความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไอโอเดต โดยทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นไฮดรอกซีลามีนที่ 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 M

1. ทำการหดยสารละลายไอโอเดตความเข้มข้น 200 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.05 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 20 วินาทีเพื่อให้ปฏิกิริยากัน แล้วนำไปถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูป

2. วิเคราะห์ความเข้มข้นด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว

3. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 3 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนเป็น 0.10, 0.15, 0.20 M

5. นำค่าเฉลี่ยความเข้มข้นที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีน

### 3.6.5 ศึกษาชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ศึกษาชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างกรดซिटริก และกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นเท่ากันคือ 0.5 M

1. เตรียมสารละลาย Griess reagent ที่มีซัลฟานิลไมด์ 0.25 M, NED 0.02 M และกรดซिटริก 0.5 M ละลายสารทั้งหมดด้วยเมทานอลความเข้มข้น 70% v/v

2. ทำการหดยสารละลายไอโอเดตความเข้มข้น 0 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 20 วินาทีเพื่อให้ปฏิกิริยากัน แล้วนำไปถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูป

3. วิเคราะห์ความเข้มข้นด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว

4. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอเดตเป็น 100, 200 และ 400 ppm
6. เปลี่ยนชนิดของกรดในการเตรียม Griess reagent โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 M และทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 5
7. นำค่าเฉลี่ยความเข้มข้นที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับความเข้มข้นไอโอเดต

### 3.6.6 ศึกษาความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent

ศึกษาความเข้มข้นของเมทานอลที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไอโอเดต โดยทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นเมทานอลที่ 0, 25, 50, 70 และ 80 % v/v

1. เตรียมสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 25% v/v จากนั้นนำเมทานอลที่เตรียมขึ้น นำไปใช้ในการเตรียม Griess reagent ที่มีซัลฟานิลไมด์ 0.25 M, NED 0.02 M และกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M
2. ทำการหยดสารละลายไอโอเดตความเข้มข้น 200 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 20 วินาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา แล้วนำไปถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายรูป
3. วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว
4. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง
5. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายเมทานอลเป็น 0, 50, 70 และ 80 % v/v โดยทำการเจือจางเมทานอลที่ 0, 50, 70 และ 80 ml ตามลำดับ
6. นำค่าเฉลี่ยความเข้มข้นที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับความเข้มข้นเมทานอล

### 3.6.7 ศึกษาความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ศึกษาความเข้มข้นของ NED ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไอโอเดต โดยทำการเปรียบเทียบความเข้มข้น NED ที่ 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.04 M

1. เตรียมสารละลาย Griess reagent ที่มีซัลฟานิลไมด์ 0.25 M, NED 0.01 M และกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M ละลายด้วยเมทานอลความเข้มข้น 70% v/v ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 ml ปริมาณเมทานอลจนถึงขีดบอกปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ทำการหยดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 200 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 20 วินาทีเพื่อให้ปฏิกิริยากัน แล้วนำไปถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูป
3. วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว
4. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง
5. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent เป็น 0.02, 0.03 และ 0.04 M
6. นำค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีกับความเข้มข้นของ NED

### 3.6.8 ศึกษาความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ศึกษาความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน โดยทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์ที่ 0.05, 0.10, 0.20, 0.25 และ 0.50 M

1. เตรียมสารละลาย Griess reagent โดยทำการชั่งที่มีซัลฟานิลาไมด์ 0.05 M, NED 0.01 M และกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M ละลายด้วยเมทานอลความเข้มข้น 70% v/v ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 ml ปรับด้วยเมทานอลจนถึงขีดบอกปริมาตร
2. ทำการหยดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 200 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 20 วินาทีเพื่อให้ปฏิกิริยากัน แล้วนำไปถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูป
3. วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว
4. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง
5. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์ ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent เป็น 0.10, 0.20, 0.25 และ 0.50 M
6. นำค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีกับความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6.9 ศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีन

ศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีนที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน โดยทำการเปรียบเทียบเวลา 15, 30, 60 และ 90 วินาที

1. ทำการหยดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 300 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 30 วินาที เพื่อให้ปฏิกิริยากัน แล้วนำไปถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูป
2. วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว
3. โดยแต่ละเวลาทำซ้ำ 2 ครั้ง
4. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 3 โดยเปลี่ยนเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีนเป็น 30, 60 และ 90 วินาที
5. นำค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีกับเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีน

### 3.6.10 ศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับ Griess reagent

ศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นกับ Griess reagent ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน โดยทำการเปรียบเทียบเวลา 15, 20, 30 และ 60 วินาที

1. ทำการหยดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 300 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 10 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 30 วินาที เพื่อให้ปฏิกิริยากัน แล้วนำไปถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูป
2. วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว
3. โดยแต่ละเวลาทำซ้ำ 2 ครั้ง
4. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1 - 3 โดยเปลี่ยนเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นกับ Griess reagent เป็น 15, 20, 30 และ 60 วินาที
5. นำค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ได้มาใช้พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีกับเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นกับ Griess reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.7 การประเมินคุณลักษณะของวิธี

#### 3.7.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  หยดลง  $\mu\text{PAD}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีเนเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา และจากนั้นจึงหยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  ทิ้งไว้ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที นำไปบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายรูป รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที

2. วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว

3. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1- 3 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นไอโอเดตเป็น 0, 50, 100, 150, 300 และ 400 ppm

5. นำค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ได้มาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีกับความเข้มข้นไอโอเดต

#### 3.7.2 ความเที่ยง (Precision)

เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่กำหนด ในการแสดงผลลัพธ์ออกมาได้ค่าเดิม เมื่อทำการวิเคราะห์ซ้ำหลายๆครั้ง หรือความสามารถในการแสดงค่าซ้ำ (repeatability) โดยสามารถระบุในรูปของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, RSD) จะนิยมแสดงเป็นค่าร้อยละ โดยใช้สูตร

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation)

$\bar{x}$  คือ ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ (Mean)

SD หาได้จากสูตร

$$SD = \sqrt{\frac{\sum i (x_i - \bar{x})^2}{N}}$$

- เมื่อ  $x_i$  คือ ค่าที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละครั้ง  
 $\bar{x}$  คือ ค่าเฉลี่ยของค่าที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด  
 $N$  คือ จำนวนครั้ง

#### การทดลองหาความเที่ยง

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอดีนเข้มข้น 0 ppm ปริมาตร 3  $\mu$ l หยดลง  $\mu$ PAD จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีนเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 3  $\mu$ l จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา และจากนั้นจึงหยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาทีนำไปถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายรูป รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที
2. วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว
3. โดยแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 2 ครั้ง
4. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1- 3 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นไอโอดีนเป็น 0, 30, 50, 100, 150, 300 และ 400 ppm
5. นำค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความเที่ยง

#### 3.7.3 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

LOD หมายถึงความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้ สามารถหาขีดจำกัดของการตรวจวัด โดยใช้สูตร

$$LOD = \frac{3SD \text{ of blank}}{\text{slop}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.7.4 ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

LOQ หมายถึงความเข้มข้นต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณหรือรายงานผลโดยมี accuracy และ precision ที่ยอมรับได้ สามารถหาขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ โดยใช้สูตร

$$\text{LOQ} = \frac{10\text{SD of blank}}{\text{slop}}$$

#### การทดลองหาความเที่ยง, LOD และ LOQ

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอดีนเข้มข้น 0 ppm ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  หยดลง  $\mu\text{PAD}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีเนเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา และจากนั้นจึงหยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  ทิ้งไว้ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที นำไปถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัล รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที
2. วิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ในโหมดสเกลสีเขียว
3. ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 0 ppm ซ้ำจำนวน 7 ครั้ง
4. คำนวณวิเคราะห์หาค่า LOD และ LOQ

## 3.8 การวิเคราะห์ในสารตัวอย่าง

### 3.8.1 วิธีการหาปริมาณความเข้มข้นไอโอดีนในสารตัวอย่าง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างเกลือ 4 ชนิดได้แก่ เกลือยี่ห้อปรุงพิพย์ เกลือยี่ห้อขอบฟ้าเขียว เกลือยี่ห้อตราทหาร เกลือยี่ห้อท็อปส์ การเตรียมสารตัวอย่างเกลือจะเตรียมตามหัวข้อ 3.3.2 และการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างสารชนิดฟันทิช 2 ชนิดได้แก่ มันฝรั่งและทะเลือเทศ จะทำการเตรียมสารตัวอย่างตามหัวข้อ 3.3.3.1 - 3.3.3.2 เมื่อเตรียมสารตัวอย่างเรียบร้อยแล้วนำสารละลายตัวอย่างมาวิเคราะห์โดย

#### การวิเคราะห์สารตัวอย่างสารเกลือ 4 ชนิด

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างเกลือ ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  หยดลง  $\mu\text{PAD}$  จำนวน 5 หยด โดยก่อนที่จะหยดถัดไปนั้น จะต้องเป่าด้วยไดร์ให้สารตัวอย่างแห้งก่อน จนเมื่อถึงหยดที่ 5 หลังจากหยดให้จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีเนเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาทีเพื่อให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยา และจากนั้นจึงหยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  ทิ้งไว้ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที นำไปบันทึกภาพด้วยกล้องดิจิทัล รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที

2. นำภาพถ่ายที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J โดยเลือกพารามิเตอร์ของสีในช่วงของสีเขียว

#### การเตรียมสารตัวอย่างสารฉีดพ่นพืช มันฝรั่ง และมะเขือเทศ

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างเกลือ ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  หยดลง  $\mu\text{PAD}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีนเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา และจากนั้นจึงหยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  ทิ้งไว้ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที นำไปบันทึกภาพด้วยกล้องดิจิทัล รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที

2. นำภาพถ่ายที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ โดยเลือกพารามิเตอร์ของสีในช่วงของสีเขียว

#### 3.8.2 ความแม่นยำ ( Accuracy )

เป็นค่าที่แสดงถึงความใกล้เคียงระหว่างค่าที่วัดได้จากการทดลอง ( measurement value,  $X_i$ ) และค่าจริง ( true value,  $X_t$ ) หากค่าที่วัดได้จริงมีค่าใกล้เคียงกับค่าจริงจะมีค่า %error ต่ำ ซึ่งแสดงว่ามีความแม่นยำสูง ( good accuracy ) โดยความแม่นยำสามารถหาได้โดยสมการ

$$\text{Relative error} = \left| \frac{X_i - X_t}{X_t} \right|$$

$$\% \text{Error} = \text{Relative error} \times 100$$

เมื่อ  $x_i$  คือ ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์

$x_t$  คือ ค่าจริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.8.3 การทดสอบตัวרבกวน

ในสารฉีดพ่นพืชจะมีสารดังแสดงในตารางที่ 3.1 นี้เป็นองค์ประกอบ ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาว่าสารเหล่านี้มีผลต่อการวิเคราะห์หาไอโอเดตหรือไม่

ตารางที่ 3.1 แสดงสารרבกวนและปริมาณที่ใช้ในการเตรียมสารרבกวน [5]

สารตัวרבกวน	ความเข้มข้นในสารฉีดพ่นพืช (ppm)
โพแทสเซียมไนเตรต ( $\text{KNO}_3$ )	404
แคลเซียมไนเตรต ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	656
แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	180
EDTA	18
กรดบอริก ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	0.6
ซิงค์ซัลเฟต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.2
โซเดียมโมลิบเดต ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.1
แมงกานีสซัลเฟต ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	0.7

#### 3.8.3.1 การเตรียมตัวרבกวน

เตรียมตัวרבกวนแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยการปิเปตด้วยปริมาตรที่เหมาะสมลงในสารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 200 ppm เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี  $\mu\text{PADs}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดตความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 2 ml ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 ml จากนั้นปิเปตตัวรบกวนความเข้มข้น 2000 ppm ปริมาตร 5 มิลลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำจนถึงขีดปริมาตร 10 ml จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของไอโอเดตและตัวรบกวนเท่ากับ 200 ppm และ 1000 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวรบกวนความเข้มข้นอื่นๆสามารถเตรียมได้ ตามตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงความเข้มข้นของสารรบกวนที่ใช้ในการเตรียม

ความเข้มข้นของตัวรบกวนที่ ต้องการเตรียม (ppm)	ปริมาตรตัวรบกวนเข้มข้น 2000 ppm ที่ต้องปิเปตมา	ปริมาตรสุดท้าย (ml)
1000	5.00	10
900	4.50	10
800	4.00	10
700	3.50	10
600	3.00	10
500	2.50	10
450	2.25	10
400	2.00	10
300	1.50	10
200	1.00	10
100	0.50	10
50	0.25	10
40	0.20	10
30	0.15	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.8.3.2 การทดลองหาความเข้มข้นของตัวรบกวน

1. ปิเปตสารมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 200 ppm ที่ไม่มีตัวรบกวนปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  หยดลง  $\mu\text{PAD}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีเนเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา และจากนั้นจึงหยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  ทิ้งไว้ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที นำไปบันทึกภาพด้วยกล้องดิจิทัล รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที

2. นำภาพถ่ายที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J โดยเลือกพารามิเตอร์ของสีในช่วงของสีเขียว

3. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-2 แต่เปลี่ยนเป็นสารมาตรฐานไอโอเดต 200 ppm ที่มีการเติมตัวรบกวนความเข้มข้นต่างๆในการทดลอง

4. นำค่าที่ได้หาความคลาดเคลื่อน (error) คือ ค่าที่เบี่ยงเบนไปจากค่าจริงหรือควรจะเป็น ในงานวิจัยนี้ใช้เกณฑ์ในการพิจารณา %error น้อยกว่า 10 จะยอมรับว่าค่าที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกับค่าจริง

$$\%error = \frac{X_i - X_t}{X_t} \times 100$$

เมื่อ  $X_t$  คือ ค่าจริงของตัวรบกวน

$X_i$  คือ ค่าที่วิเคราะห์ได้

## 3.9 การไทเทรต

### 3.9.1 การเตรียมสารตัวอย่างในการไทเทรต

#### 3.9.1.1 การเตรียมสารตัวอย่างเกลือ

1. ชั่งตัวอย่างเกลือ ให้มีน้ำหนัก 3 g เเทเกลือที่ชั่งได้ลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำประปาในจนถึงปริมาตร 10 ml ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2. ปิเปตสารตัวอย่างเกลือจากข้อที่ 1. ปริมาตร 2.50 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร จะได้สารตัวอย่างเกลือสำหรับการไทเทรต

### 3.9.1.2 การเตรียมสารตัวอย่างสารฉีดพ่นพืช

#### การเตรียมสารตัวอย่างสารฉีดพ่น มันฝรั่ง

ปิเปตสารตัวอย่างจากข้อที่ 3.3.3.1 ปริมาตร 1.07 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 10 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำประปาจนถึงขีดปริมาตร จะได้สารตัวอย่างเกลือสำหรับการไทเทรต

#### การเตรียมสารตัวอย่างสารฉีดพ่นปุย มะเขือเทศ

ปิเปตสารตัวอย่างสารฉีดพ่นจากข้อที่ 3.3.3.2 ปริมาตร 2.14 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 10 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำประปาจนถึงขีดปริมาตร จะได้สารตัวอย่างสารฉีดพ่นปุยสำหรับการไทเทรต

### 3.9.1.3 การทดลองหาปริมาณไอโอดีนในสารตัวอย่างด้วยวิธีการไทเทรต

1. นำขวดรูปชมพู่ที่มีสารตัวอย่างมาเติมสารละลายกรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ ) เข้มข้น 1 M ปริมาตร 5 ml ตามด้วยเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) เข้มข้น 10% w/v ปริมาตร 10 ml
2. นำขวดในข้อ 1. ไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ( $Na_2S_2O_3$ ) เข้มข้น  $2 \times 10^{-4}$  M จนกระทั่งได้เป็นสีเหลืองอ่อน แล้วเติมน้ำแข็งเข้มข้น 1% w/v ลงไป 1 มิลลิลิตร จะได้สารละลายสีน้ำเงินแกมม่วง
3. ไทเทรตต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินแกมม่วงเปลี่ยนเป็นใสไม่มีสี จึงหยุดบันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ทำซ้ำรวมทั้งหมด 3 ครั้ง
4. คำนวณหาความเข้มข้นของและไอโอดีนในสารตัวอย่างในรูปของ  $mg IO_3^- / kg \text{ salt}$  สำหรับสารตัวอย่างเกลือ และ  $mg IO_3^- / L$  สำหรับตัวอย่างฉีดพ่นปุย เปรียบเทียบสำหรับวิธีทางสถิติ t-test กับวิธี  $\mu$ PADs

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้จะพัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอดีน โดยอาศัยการทำปฏิกิริยารีดักชันของไอโอดีนด้วยไฮดรอกซีลามีน จากนั้นไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับ Griess reagent เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีชมพู ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการวิจัยและอภิปรายผล การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง การวิเคราะห์ในสารตัวอย่าง การศึกษาตัวรบกวน การประเมินคุณลักษณะต่างๆ ของวิธี และการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์กับวิธีมาตรฐาน

#### 4.1 ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณไอโอดีน

##### 4.1.1 ผลของการหดยุติปริมาตรสารที่เหมาะสม

นำกระดาษกรองที่ประทับแนวการไหลลงไปด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำไปหยดด้วยสารละลายสีแดง ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5  $\mu\text{l}$  จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งแล้วถ่ายรูปด้วยกล้องดิจิทัล ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาตรสารละลายสีแดงและลักษณะการแพร่บน  $\mu\text{PADs}$  ซึ่งเป็นหลุมกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร

ปริมาตรที่หยด	ลักษณะการแพร่
1	
2	
3	
4	
5	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

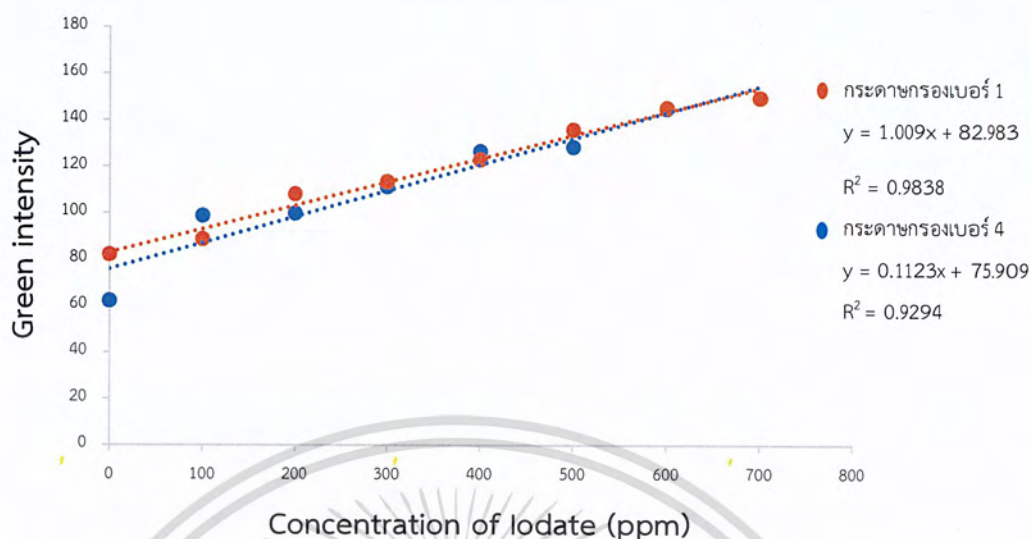
ผลการทดลองพบว่าที่ปริมาตร 1 และ 2  $\mu\text{l}$  สารละลายสีแดงเกิดกระจายได้ไม่เต็มวง จึงได้ทดลองเพิ่มปริมาตรสารที่หยดมากขึ้นเป็นปริมาตร 3, 4 และ 5  $\mu\text{l}$  ตามลำดับ ผลการทดลองปรากฏว่าสารละลายสีแดงสามารถแพร่ได้ทั่วและเต็มบริเวณวงกลม โดยไม่ซึมล้นออกมานอกขอบหมึกแนวกันที่ได้ประทับตราไว้

ในงานวิจัยนี้จะนำ  $\mu\text{PADs}$  ที่พัฒนาขึ้นมาวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดตซึ่งจะต้องหยดสารละลายมาตรฐานไอโอเดต สารละลายไฮดรอกซีลามีเน และ Griess reagent ในการทดสอบ จึงเลือกปริมาตรที่น้อยที่สุด แต่ยังสามารถกระจายได้เต็มวงคือ ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  ซึ่งสารละลายจะแพร่เต็มวงตั้งแต่ครั้งแรกที่หยด และไม่มีการกระจายออกนอกวงเมื่อมีการหยดสารซ้ำ

#### 4.1.2 ผลของกระดาษกรองในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอเดต

เตรียมกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และ 4 ประทับแนวกันไหลด้วยหมึกกันน้ำ หลังจากนั้นทำการหยดสารละลายไอโอเดตความเข้มข้นต่างๆ ตามด้วยหยดไฮดรอกซีลามีเนและ Griess reagent ลงไปด้วยปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  จากนั้นทำการถ่ายรูป และนำค่าเฉลี่ยความเข้มสีที่ได้มาใช้พลอตกราฟมาตรฐาน (Calibration)

ผลการทดลองพบว่ากระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ให้ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน (ดังรูปที่ 4.1) ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เนื่องจากการใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นั้นสามารถทำให้สารละลายแพร่กระจายเต็มวงพอดีได้สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีที่มีความสม่ำเสมอทั่วกันในบริเวณพื้นที่วงกลม

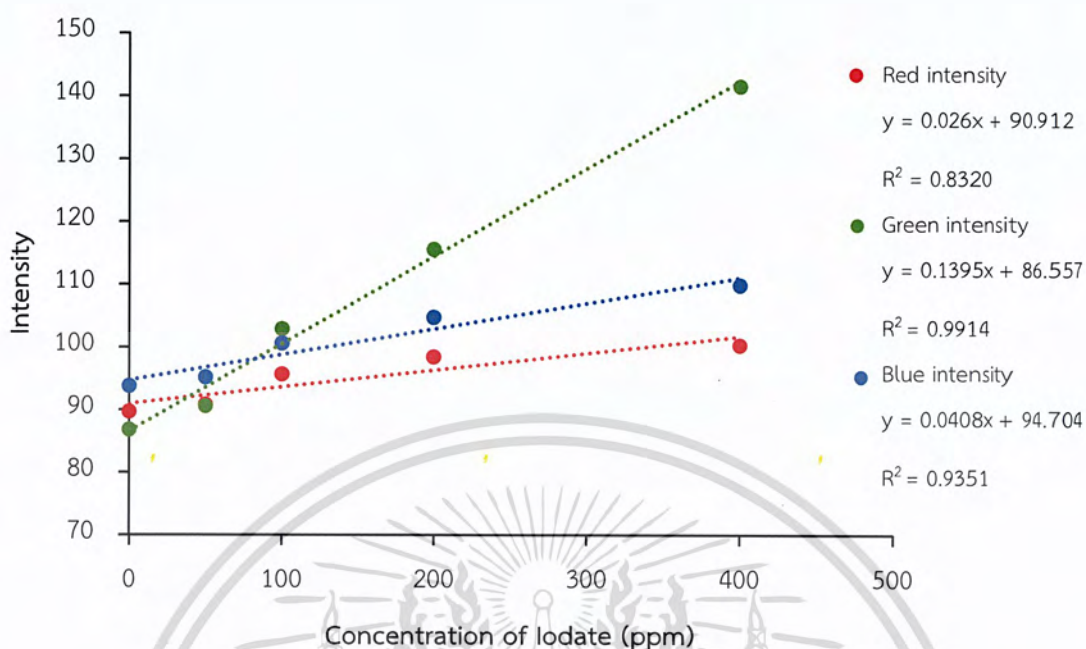


รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอเดตโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 และ เบอร์ 4 ในการสร้าง  $\mu$ PADs

#### 4.1.3 ผลการวิเคราะห์ค่าสี RGB

เป็นการทดลองเพื่อหาสเกลสีที่เหมาะสมในการตรวจวัดความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นบน  $\mu$ PADs ทดลองโดยปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดตที่ความเข้มข้นต่างๆลงไปปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที แล้วจากนั้นหยดด้วยไฮดรอกซีลามีนปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที และหยดตามด้วย Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu$ l บันทึกภาพผลที่เกิดขึ้นที่เวลา 50 วินาที และนำไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นด้วยโปรแกรม Image J โดยวิเคราะห์ค่าสเกลสีของ สีแดง (red) สีเขียว (green) และสีน้ำเงิน (blue)

เมื่อพิจารณาจากกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอโอเดตและความเข้มสีที่วิเคราะห์ได้ พบว่า ความเข้มสีของสีเขียว (green) มีความชันมากและมีความเป็นเส้นตรงดีที่สุด ให้ค่า  $R^2 = 0.9914$  (ดังรูปที่ 4.2) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกค่าสเกลสีเขียว (green) มาใช้ในการอ่านค่าความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

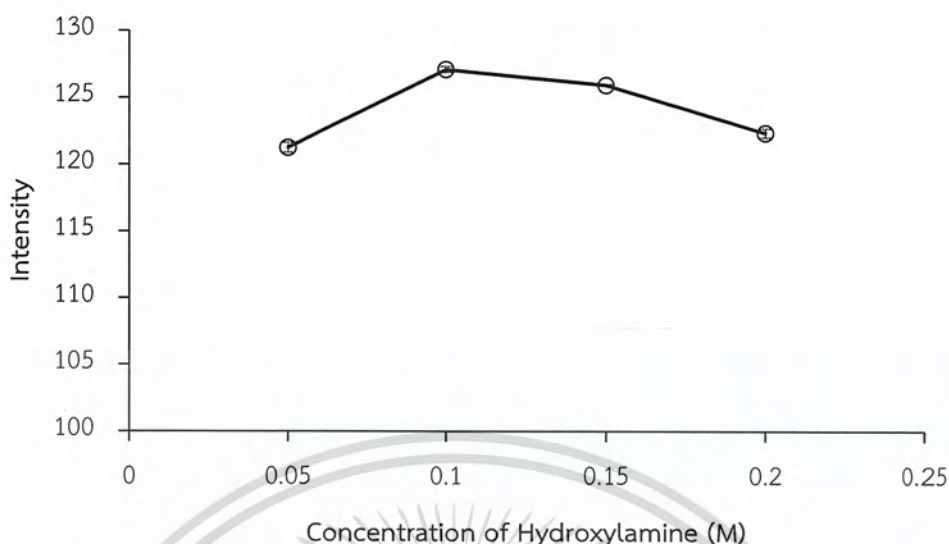


รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอเดต เมื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ด้วย red green และ blue

#### 4.1.4 ผลของความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่ใช้ทำปฏิกิริยา

ทำการทดลองหาความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่เหมาะสมใช้ในการทำปฏิกิริยารีดักชันกับไอโอเดต โดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 M ทั้ง 3 ความเข้มข้นนี้จะถูกเตรียมในตัวทำละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 0.5 M และทดสอบโดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดตที่ความเข้มข้น 200 ppm หยดลงบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีน ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที หยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu$ l บันทึกภาพผลที่เกิดขึ้นที่เวลา 50 วินาทีและนำไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J

เมื่อนำภาพถ่ายมาตรวจวัดความเข้มสี พบว่าสารผลิตภัณฑ์ของไฮดรอกซีลามีนที่ความเข้มข้น 0.01 M จะได้ค่าความเข้มสีที่มากที่สุด (รูปที่ 4.3) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่ความเข้มข้น 0.1 M ในการทำปฏิกิริยา

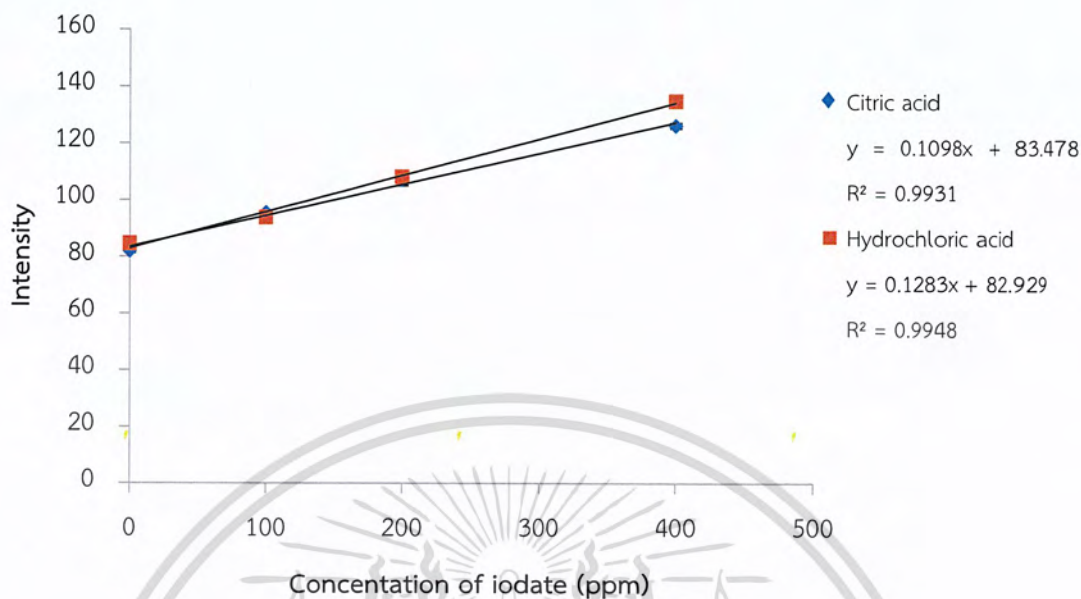


รูปที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่ใช้ในการทำปฏิกิริยารีดักชันกับไอโอเดต

#### 4.1.5 ผลชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ทำการทดลองหาชนิดของกรดที่เหมาะสมในการเตรียม Griess reagent โดยศึกษาเปรียบเทียบกรด 2 ชนิด ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก ที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยทำการละลายซัลฟานิลไมด์และ NED ด้วยกรดแต่ละชนิด จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเมทานอลในขวดวัดปริมาตร จากนั้นนำไปทดสอบหาปริมาณไอโอเดตบน  $\mu$ PADs โดย ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดตความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีน ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที หยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu$ l บันทึกภาพผลที่เกิดขึ้นที่เวลา 50 วินาทีและนำไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นด้วยสเกลสีเขียว โดยใช้โปรแกรม Image J

เมื่อพิจารณาจากความเข้มสีและกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 4.4) พบว่า Griess reagent ที่เตรียมโดยกรดไฮโดรคลอริกจะให้ค่าความเข้มสีมากกว่า และให้ช่วงความเป็นเส้นตรงดีกว่า คือ  $R^2 = 0.9948$  ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้กรดไฮโดรคลอริกในการเตรียม Griess reagent

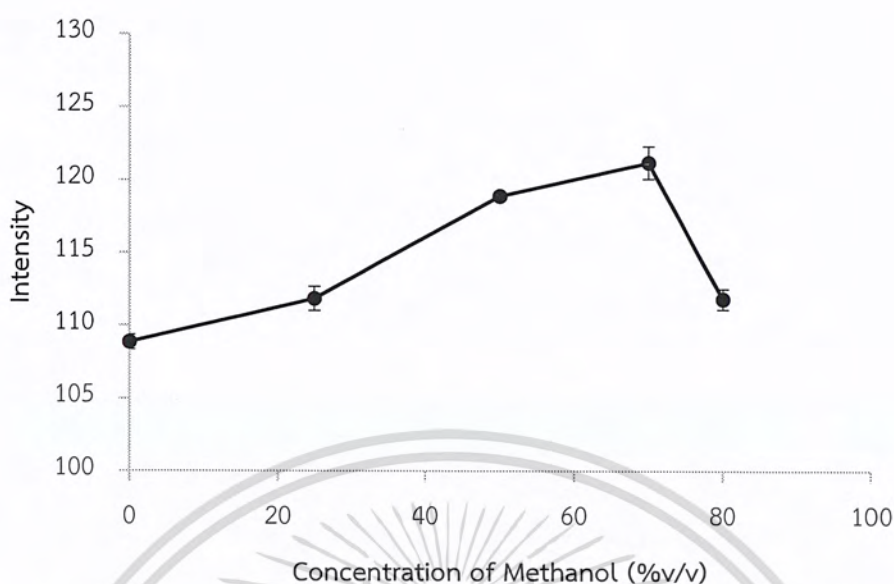


รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอเดตโดยใช้ Griess reagent ที่ละลายด้วยกรดซิตริกและกรดไฮโดรคลอริก

#### 4.1.6 ผลความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent

ทำการทดลองหาความเข้มข้นเมทานอลที่เหมาะสมในการเตรียม Griess reagent โดยทำการทดลองเมทานอลที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 70 และ 80% v/v จะทำการทดลองโดยทดลองลงบน  $\mu$ PADs ด้วยการบีบสารละลายมาตรฐานไอโอเดตที่ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีน ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที หยด Griess reagent ที่ละลายด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 3  $\mu$ l บันทึกภาพผลที่เกิดขึ้นที่เวลา 50 วินาทีและนำไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ

เมื่อพิจารณาจากค่าความเข้มสีที่นำมาตรวจวัด พบว่าความเข้มสีจะเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเมทานอลจาก 25 เป็น 70% v/v (รูปที่ 4.5) และที่ความเข้มข้น 80% v/v พบว่าจะอาจเกิดการแพร่ของสารละลายออกไปนอกวง และทำให้ความเข้มสีลดลง ทั้งนี้เนื่องจากที่ความเข้มข้นเมทานอลสูงจะทำให้ชะหมึกที่ใช้เป็นขอบแนวกันการไหลได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นเมทานอลที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent ที่ความเข้มข้น 70% v/v

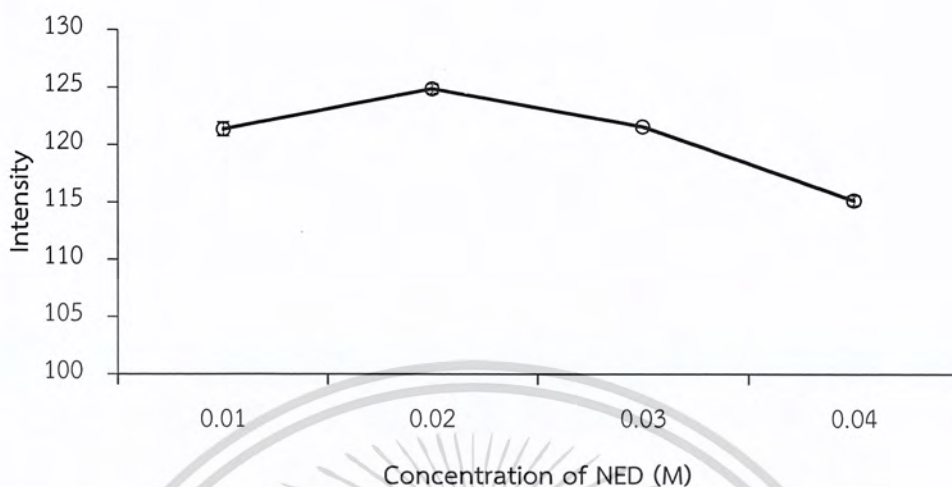


รูปที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent ต่อความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 200 ppm

#### 4.1.7 ผลความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ทำการทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent โดยเตรียม NED ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.04 M จากนั้นจะทำการทดลองบน  $\mu$ PADs โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดตที่ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีน ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที หยด Griess reagent ที่เตรียมด้วย NED ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 3  $\mu$ l บันทึกภาพผลที่เกิดขึ้นที่เวลา 50 วินาทีและนำไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ

เมื่อพิจารณาจากค่าความเข้มสีพบว่า NED ที่ความเข้มข้น 0.02 M จะได้ค่าความเข้มสีที่สูงที่สุด (รูปที่ 4.6) ดังนั้นในงานวิจัยนี้ความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent จะเลือกใช้ที่ความเข้มข้น 0.02M

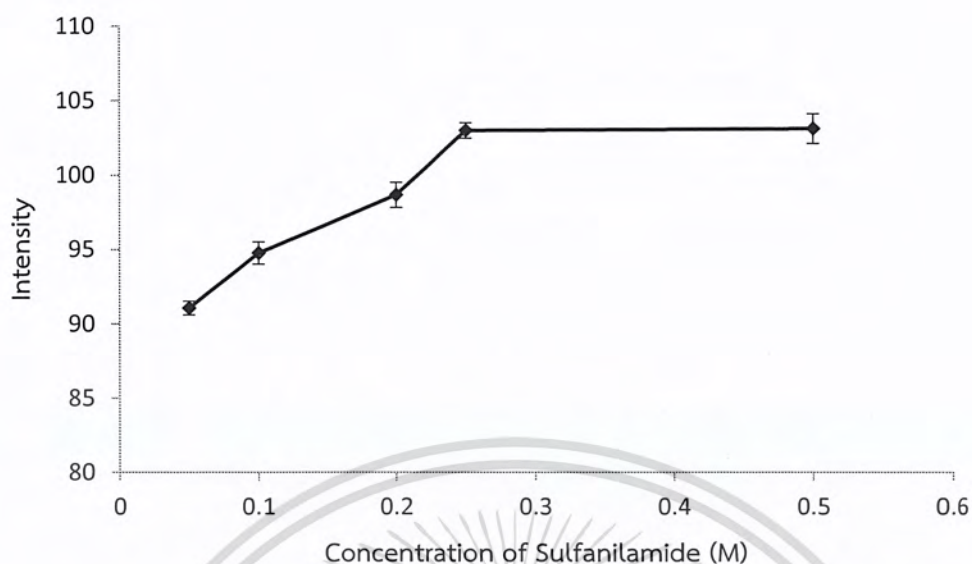


รูปที่ 4.6 ผลของความเข้มข้น NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent กับความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 200 ppm

#### 4.1.8 ผลความเข้มข้นของซัลฟานิลลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ทำการทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของซัลฟานิลลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent โดยเตรียมซัลฟานิลลาไมด์ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.20, 0.25 และ 0.50 M จากนั้นจะทำการทดลองบน  $\mu$ PADs โดยปีเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดตที่ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีน ปริมาตร 3  $\mu$ l ทิ้งไว้ 15 วินาที หยด Griess reagent ที่เตรียมด้วยซัลฟานิลลาไมด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 3  $\mu$ l บันทึกภาพผลที่เกิดขึ้นที่เวลา 50 วินาทีและนำไปวิเคราะห์หาค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J

เมื่อพิจารณาพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซัลฟานิลลาไมด์จาก 0.05 M ไปเป็น 0.25 M จะส่งผลให้ค่าความเข้มสีที่ได้มีค่ามากขึ้นตามความเข้มข้น และที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 M (รูปที่ 4.7) ให้ความเข้มสีที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของซัลฟานิลลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent เท่ากับ 0.25 M

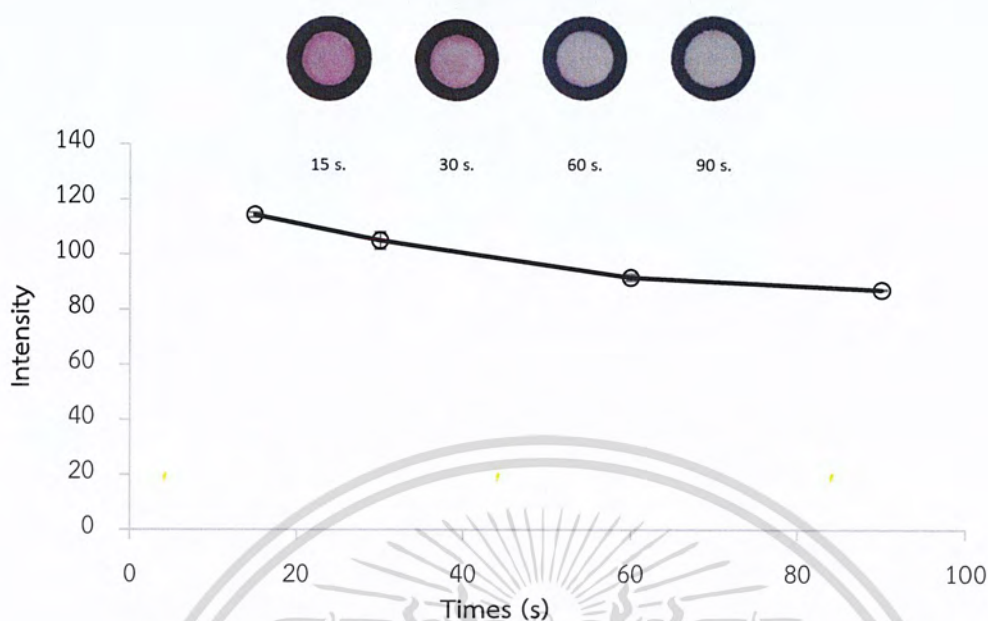


รูปที่ 4.7 ผลของความเข้มข้นซัลฟาไมด์ ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent ต่อความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 200 ppm

#### 4.1.9 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีน

ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตและไฮดรอกซีลามีนที่เวลาต่างกัน โดยในการทดลองจะทำการหยดสารละลายไอโอเดตความเข้มข้น 300 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 30 วินาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา แล้วนำไปบันทึกภาพเพื่อนำไปตรวจวัดด้วยโปรแกรม ImageJ และเปลี่ยนเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีนเป็น 30, 60 และ 90 วินาที

เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายที่นำมาตรวจวัดพบว่าเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีนที่เวลา 15 วินาที จะได้สีผลิตภัณฑ์ที่เข้มที่สุด ได้ความเข้มสีมากที่สุด และเมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาจะพบว่าสีของผลิตภัณฑ์จะยิ่งอ่อนลงจะส่งผลต่อความเข้มสีที่ได้น้อยลง (รูปที่ 4.8) ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีนที่เวลา 15 วินาที

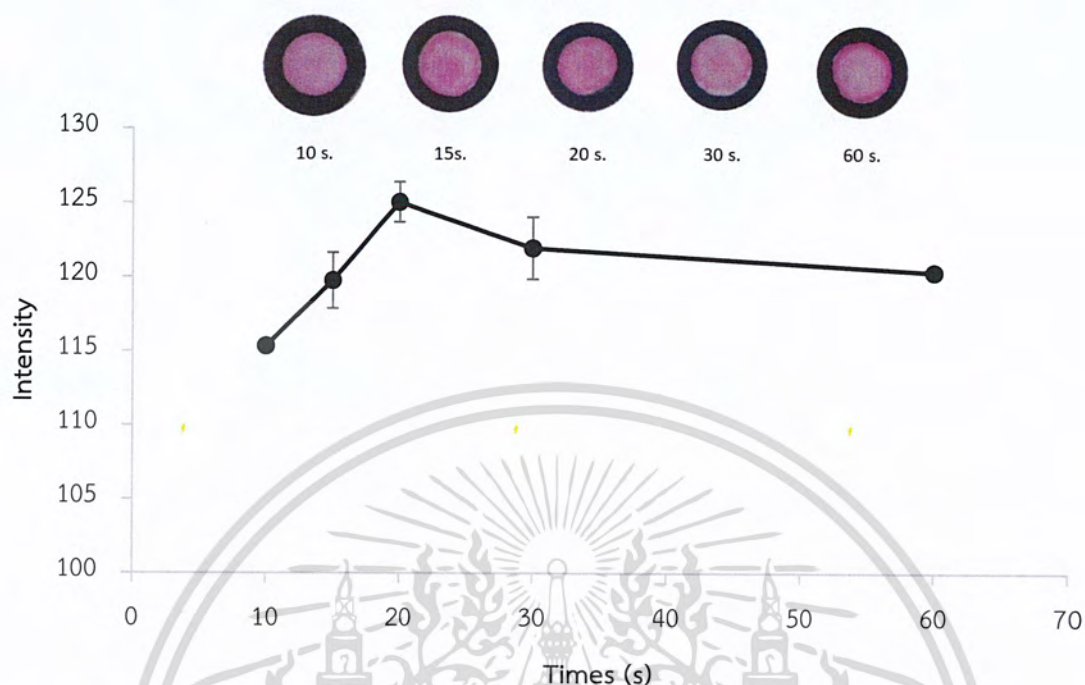


รูปที่ 4.8 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีนต่อความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอดีนเข้มข้น 300 ppm

#### 4.1.10 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับ Griess reagent

ทำการหยดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 300 ppm ลงบน  $\mu$ PADs 3  $\mu$ l จากนั้นจับเวลา 15 วินาที แล้วจึงหยดไฮดรอกซีลามีนความเข้มข้น 0.1 M ลงไป 3  $\mu$ l และจับเวลา 10 วินาที แล้วจึงหยด Griess reagent ลงไป 3  $\mu$ l จับเวลาอีก 30 วินาที เพื่อให้ปฏิกิริยากัน แล้วนำไปบันทึกภาพเพื่อนำไปตรวจวัดด้วยโปรแกรม ImageJ และเปลี่ยนเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับ Griess reagent เป็น 15, 20, 30 และ 60 วินาที

เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายที่นำมาตรวจวัดภาพของเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับ Griess reagent พบว่าเมื่อใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานานขึ้นสีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความชัดเจนขึ้น (รูปที่ 4.9) ที่เวลา 20 วินาทีจะได้ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์มากที่สุด เมื่อเพิ่มระยะเวลามากขึ้นจนถึง 60 วินาที สีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความเข้มลดลงเล็กน้อย ดังนั้นในงานวิจัยนี้เวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไฮดรอกซีลามีนกับ Griess reagent จะใช้เวลา 20 วินาทีก่อนนำไปบันทึกภาพเพื่อนำไปตรวจวัดด้วยโปรแกรม ImageJ



รูปที่ 4.9 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับ Griess reagent ต่อความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 300 ppm

## 4.2 ผลการประเมินคุณลักษณะของวิธี

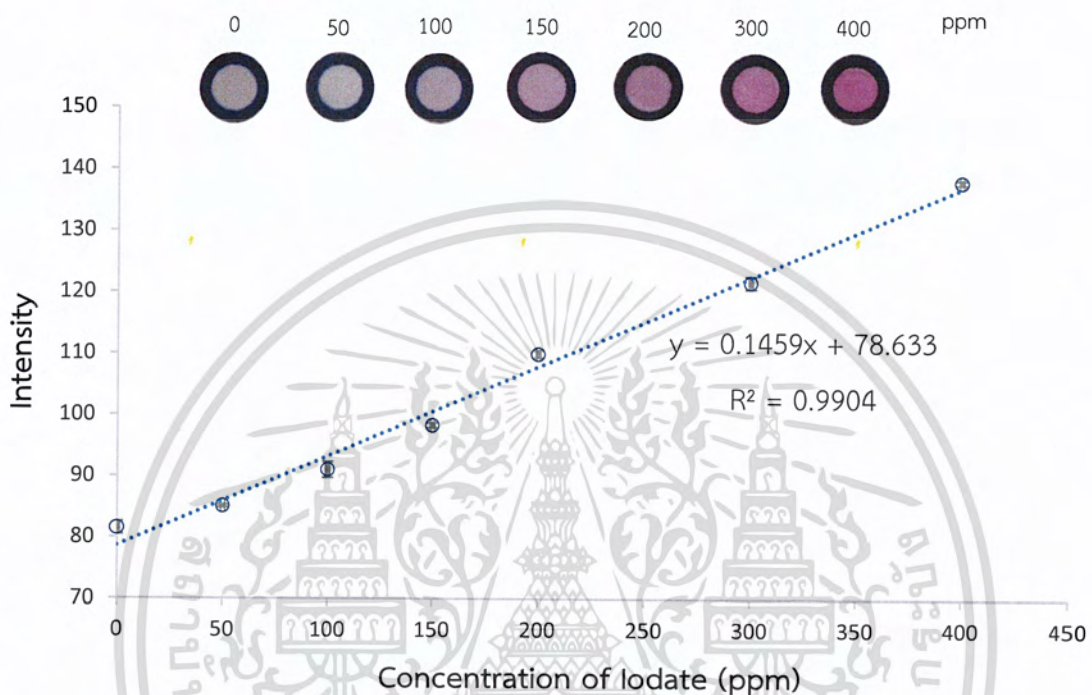
### 4.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

ทำการสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายไอโอเดตความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200, 300 และ 400 ppm โดยทำการหยดไอโอเดตปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  ลงบน  $\mu\text{PAD}$  ทิ้งไว้ 15 วินาที จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีนเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  จับเวลาทิ้งไว้ 15 วินาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา และจากนั้นจึงหยด Griess reagent ปริมาตร 3  $\mu\text{l}$  ต่ ทิ้งไว้ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที จากนั้นนำไปถ่ายภาพและวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ

เมื่อนำค่าความเข้มสีของแต่ละความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ ไปพลอตกราฟความเข้มข้นไอโอเดต และค่าความเข้มสี พบว่าความเข้มสีมีค่าแปรผันตามความเข้มข้น เนื่องจากความเข้มข้นของไอโอเดตที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้เกิดการรีดิวซ์ด้วยไฮดรอกซีลามีนได้เพิ่มขึ้น เกิดเป็นไอโอไดด์และไนไตรท์ได้มากขึ้น ทำให้ไนไตรท์ปฏิกิริยากับ Griess reagent ได้มากขึ้น เกิดเป็นสารประกอบเอโซสีชมพูม่วงที่มีสีเข้มขึ้น และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่าในช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์ไอโอดेटตั้งแต่ 50-400 ppm มีสมการเส้นตรงคือ  $y = 0.1459x + 78.633$  และมีค่า  $R^2 = 0.9904$  (รูปที่ 4.10)



รูปที่ 4.10 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไอโอดेट เมื่อทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

#### 4.2.2 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงในการวิเคราะห์สามารถพิจารณาได้จากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ซึ่งหาค่าจากการนำสารละลายไอโอดेटความเข้มข้น 0 – 400 ppm ไปหยดลงบน  $\mu$ PADs เพื่อทำปฏิกิริยา โดยทำซ้ำแต่ละความเข้มข้น จำนวน 3 ซ้ำ แสดงผลได้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ของค่าความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้จากสารละลายไอโอเดตความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น สารละลายไอโอ เดต (ppm)	ค่าความเข้มข้น				SD	RSD	%RSD
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	81.97	80.33	82.23	81.51	1.03	0.0127	1.27
50	84.94	85.36	84.99	85.10	0.23	0.0027	0.27
100	90.46	90.19	92.56	91.07	1.30	0.0142	1.42
150	97.93	98.26	98.72	98.30	0.40	0.0041	0.41
200	109.85	109.38	110.56	109.93	0.59	0.0054	0.54
300	122.83	120.93	121.12	121.63	1.05	0.0086	0.86
400	137.57	138.33	138.14	138.02	0.40	0.0029	0.29

โดยค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เมื่อนำไปคำนวณเป็นร้อยละ (%RSD) หากมีค่าน้อย แสดงว่าการวิเคราะห์นั้นมีความเที่ยงสูง และจากผลการทดลองพบว่า %RSD ที่ได้มีค่าน้อยกว่า 5% ซึ่งเป็นค่าที่ถือว่ามีความเที่ยงสูง

#### 4.2.3 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัด ทำได้โดยหาค่าความเข้มข้นของสารละลายไอโอเดตความเข้มข้น 0 ppm จำนวน 7 ครั้ง แสดงผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าความเข้มข้นของไอโอดีนความเข้มข้น 0 ppm จากการวิเคราะห์ด้วย  $\mu$ PADs ที่พัฒนาขึ้น

ความเข้มข้นของสารละลายไอโอดีน ( ppm )	ค่าความเข้มแสง
0	81.50
	82.33
	81.97
	80.33
	82.23
	82.48
	80.35
ค่าเฉลี่ย	81.60
SD	0.92

แทนค่าลงในสมการ

$$\text{LOD} = \frac{3\text{SD of blank}}{\text{slope}}$$

จะได้

$$\text{LOD} = \frac{3 \times 0.92}{0.1459}$$

$$= 18.9$$

ดังนั้นขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดของชุดทดสอบบนกระดาษมีค่าเท่ากับ 18.9 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ .

#### 4.2.4 ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

จากข้อมูลในตารางที่ 4.2 จะนำมาแทนค่าลงในสมการ

$$\text{LOQ} = \frac{10\text{SD of blank}}{\text{slope}}$$

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad \text{LOQ} &= \frac{10 \times 0.92}{0.1459} \\ &= 63.1 \end{aligned}$$

ดังนั้นขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของชุดทดสอบบนกระดาษมีค่าเท่ากับ 63.1 ppm

### 4.3 การวิเคราะห์ในสารตัวอย่าง

#### 4.3.1 การหาปริมาณไอโอเดตในสารตัวอย่าง

การหาปริมาณไอโอเดตในสารตัวอย่างเกลือ 4 ชนิดและสารฉีดพ่นพืช 2 ชนิด โดยสารตัวอย่างเกลือนั้นมีความเข้มข้นของปริมาณไอโอเดตต่ำ จึงต้องทำการหยดซ้ำ 5 ครั้ง และสารฉีดพ่นพืชนั้นสามารถหยดลงบน  $\mu\text{PADs}$  แล้วนำไปวิเคราะห์ได้เลย โดยวิเคราะห์ซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง แสดงผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าความเข้มแสงของตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด

ชนิดของตัวอย่าง	ค่าความเข้มแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เกลือบี้ห่อปรุงทิพย์	95.58	92.71	96.67	94.99
เกลือบี้ห่อทหาร	91.92	91.90	95.68	93.17
เกลือบี้ห่อท็อปส์	92.65	91.62	91.10	91.79
เกลือบี้ห่อขอบฟ้าเขียว	90.69	93.41	92.81	92.30
สารฉีดพ่นมันฝรั่ง	119.18	118.43	120.89	119.50
สารฉีดพ่นมะเขือเทศ	98.71	99.70	99.07	99.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ตัวอย่างเกลื้อยี่ห้อปรุ้งทิพย์

ในการคำนวณหาความเข้มข้นไอโอเดตในสารตัวอย่างเกลื้อ จะแทนค่าความเข้มข้นไปสมการเส้นตรง  $y = 0.1418x + 83.039$  (กราฟมาตรฐานที่ได้ ณ วันที่วิเคราะห์ตัวอย่าง)

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad 94.99 &= 0.1418x + 83.039 \\ x &= 84.28 \end{aligned}$$

สำหรับตัวอย่างเกลื้อทำการหยดซ้ำ 5 ครั้ง

ดังนั้นตัวอย่างเกลื้อยี่ห้อปรุ้งทิพย์ดังนั้นใน 1 หยดจะมีความเข้มข้นของไอโอเดต  $84.28 / 5 = 16.9$  ppm

ตัวอย่างเกลื้อยี่ห้ออื่นๆ คำนวณได้ในทำนองเดียวกัน ผลแสดงดังตารางที่ 4.5

### ตัวอย่างสารฉีดพ่นพืช

ในการคำนวณหาความเข้มข้นไอโอเดตในสารฉีดพ่นพืช จะแทนค่าความเข้มข้นไปสมการถดถอย  $y = 0.1459x + 78.633$

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad 119.50 &= 0.1459x + 78.633 \\ x &= 280.1 \end{aligned}$$

ดังนั้นตัวอย่างสารฉีดพ่นปุ๋ยสำหรับมันฝรั่งจะมีความเข้มข้นของไอโอเดต 280.1 ppm

ตัวอย่างสารฉีดพ่นมะเขือเทศ สามารถคำนวณได้ในทำนองเดียวกัน ผลแสดงดังตารางที่ 4.5

จากประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ที่ได้มีการกำหนดปริมาณไอโอดีนในเกลื้อบริโภค ดังนั้นจึงนำความเข้มข้นที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $\mu\text{PADs}$  ไปคำนวณให้ได้ความเข้มข้นของไอโอดีนให้อยู่ในหน่วย  $\text{mg/kg}$  พบว่าเกลื้อยี่ห้อปรุ้งทิพย์, ทหาร, ท็อปส์ และขอบฟ้าเขียว มีความเข้มข้นของไอโอดีน 40.87, 34.6, 29.8 และ 31.7  $\text{mg}$  ของ  $1/\text{kg}$  ของเกลื้อ ตามลำดับ (วิธีการคำนวณของสารตัวอย่างอยู่ในภาคผนวก) และจากผลการทดลองพบว่าสารตัวอย่างเกลื้อทั้ง 4 ยี่ห้อ นั้นมีปริมาณไอโอดีนอยู่ในช่วงที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด

#### 4.3.2 ความแม่นยำ (Accuracy)

ในการศึกษาหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ด้วย  $\mu\text{PADs}$  จะกำหนดให้ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $\mu\text{PADs}$  เป็นค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ และค่าที่ได้จากการไทเทรตซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานเป็นค่าจริง คำนวณหาค่า %Error โดยแสดงผลดังตาราง 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าความเข้มข้นไอโอเดตที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี  $\mu$ PADs และวิธีไทเทรต

ชนิดของตัวอย่าง	ความเข้มข้น ไอโอเดตจาก วิธี $\mu$ PADs (ppm)	ความเข้มข้น ไอโอเดตจาก วิธีไทเทรต (ppm)	%Error
เกลี้อยี่ห้อปรุงทิพย์	16.9	17.7	4.5
เกลี้อยี่ห้อทหาร	14.3	13.9	2.9
เกลี้อยี่ห้อTops	12.3	13.1	6.1
เกลี้อยี่ห้อขอบฟ้าเขียว	13.1	18.0	27.2
สารฉีดพ่นมันฝรั่ง	280.1	270.4	3.6
สารฉีดพ่นมะเขือเทศ	140.7	137.6	2.3

แทนค่าลงในสมการ

$$\text{Relative error} = \left| \frac{x_i - x_t}{x_t} \right|$$

$$\% \text{Error} = \text{Relative error} \times 100$$

ตัวอย่างเกลี้อยี่ห้อปรุงทิพย์

จะได้

$$\% \text{Error} = \left| \frac{16.9 - 17.7}{17.7} \right| \times 100$$

$$\% \text{Error} = 4.5$$

ดังนั้นในการวิเคราะห์หาไอโอเดตในสารตัวอย่างเกลี้อยี่ห้อปรุงทิพย์มีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน 4.5 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองพบว่า %Error ที่คำนวณได้ส่วนใหญ่มีค่าต่ำกว่า 10% ซึ่งแสดงถึงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3.3 การตรวจสอบตัวรบกวน

จากการศึกษาตัวรบกวนทั้ง 9 ชนิด โดยทำการผสมตัวรบกวนความเข้มข้นต่างๆเข้ากับสารละลายไอโอเดต 200 ppm หยอดทดสอบลงบน  $\mu$ PADs แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ หาค่าความเข้มสีที่ได้ ดังนั้นค่าความเข้มสีที่ได้จากสารละลายไอโอเดตผสมตัวรบกวนจะถูกนำไปคำนวณเปรียบเทียบกับค่าความเข้มสีของสารละลายไอโอเดตที่ไม่เติมตัวรบกวน เพื่อคำนวณหาค่า %Error โดยความเข้มข้นของสารตัวรบกวนที่ทำให้ %Error อยู่ในช่วง  $\pm 10\%$  จะถือว่าไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ และถือว่าที่ความเข้มข้นนี้เป็นค่าความทนทานในการวิเคราะห์ ( Tolerance limit ) แสดงผลการทดลองดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงผลความเข้มข้นของตัวรบกวนที่มีผลต่อการวิเคราะห์

สารตัวรบกวน	ความเข้มข้นสูงสุดที่ทำการทดลอง (ppm)	%Error
โพแทสเซียมไนเตรต ( $\text{KNO}_3$ )	450	9.9809
แคลเซียมไนเตรต ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ )	500	9.9920
แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4$ )	200	9.9536
EDTA	40	9.6951
บอริกแอซิด ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	100	6.0752
ซิงค์ซัลเฟต ( $\text{ZnSO}_4$ )	200	-9.4568
โซเดียมโมลิบเดต ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ )	30	-9.5910
แมงกานีสซัลเฟต ( $\text{MnSO}_4$ )	50	-7.4012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 การไทเทรต

##### 4.4.1 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ทางสถิติด้วย t-test

ในงานวิจัยนี้ใช้ t- test มาเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างค่าที่วิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ซึ่งในงานวิจัยนี้ก็คือวิธี  $\mu$ PADs กับวิธีมาตรฐานหรือวิธีที่ยอมรับได้ซึ่งก็คือ วิธีการไทเทรต (ตารางที่ 4.5) และผลทางสถิติแสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.7 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ทางสถิติด้วย t-test

	Paper-based	Titration
Mean	79.56666667	78.45
Variance	12216.07467	11225.123
Observations	6	6
Pearson Correlation	0.999855741	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	5	
t Stat	0.554492147	
P(T<=t) one-tail	0.301564647	
t Critical one-tail	2.015048373	
P(T<=t) two-tail	0.603129295	
t Critical two-tail	2.570581836	

จากผลการทดลองพบว่า  $T_{stat} < T_{crit}$  : แสดงว่าค่าที่วิเคราะห์หาค่าได้จากทั้งวิธีทั้งสองวิธีนี้ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้พัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษเพื่อที่จะทำการประยุกต์ใช้ตรวจวัดปริมาณไอโอเดตที่มีอยู่ในเกลือบรโภคและสารฉีดพ่นพืช ทำการประดิษฐ์  $\mu$ PADS ด้วยวิธีประทับด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 หาปริมาณไอโอเดตโดยอาศัย Griess reaction โดยให้ไอโอเดตนั้นทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีลามีเน่เกิดเป็นไนไตรท์เกิดขึ้น จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยาต่อกับ Griess reagent เกิดเป็นสารประกอบเอโซสีชมพูเกิดขึ้น จากนั้นทำการถ่ายภาพและนำตรวจวัดความเข้มสีที่เกิดขึ้นด้วยโปรแกรม ImageJ โดยความเข้มสีที่เกิดขึ้นนั้นแปรผันตรงกับความเข้มข้นของไอโอเดตที่วัดได้ โดยจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณไอโอเดตด้วย  $\mu$ PADS ได้ผลสรุปดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 สภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณไอโอเดต

สภาวะที่ทำการศึกษา	สภาวะเหมาะสมที่เลือก
ปริมาณสารที่หยดลงบน $\mu$ PADS	3 $\mu$ l
เบอร์ของกระดาษกรอง	เบอร์ 1
ค่าสี RGB	Green Intensity
ความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีเน่ที่ใช้ทำปฏิกิริยา	0.1 M
ชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent	กรดไฮโดรคลอริก
ความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent	70 % v/v
ความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent	0.02 M
ความเข้มข้นของซัลฟานิลลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent	0.25 M
เวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีเน่	15 วินาที
เวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับ Griess reagent	20 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานอยู่ที่ไอโอดีความเข้มข้น 50 – 400 ppm ได้สมการเส้นตรง  $y = 0.1459x + 78.633$  และมี  $R^2 = 0.9904$  มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 18.9 ppm และมีขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 63.1 ppm เมื่อทำการประยุกต์หาปริมาณไอโอดีในตัวอย่างเกลือบริโภคและสารฉีดพ่นพืช พบว่าสามารถหาความเข้มข้นของไอโอดีได้เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานด้วยวิธีทางสถิติ t-test พบว่าทั้งสองวิธีนี้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ หรือกล่าวได้ว่าสามารถใช้วิธี  $\mu$ PADs ในการปริมาณไอโอดีได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] วรุฒิ เจริญศิริ. 2553. ไอโอดีน. [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.bangkokhealth.com/index.php/health/health-general/food-nutrition>. เข้าถึงเมื่อ 2 มี.ค. 2562.
- [2] ศูนย์ปฏิบัติการตรวจคัดกรองคัดกรองสุขภาพทารกแรกเกิดแห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2559. “โครงการนวัตกรรมแก้ปัญหาโรคเอ่อและภาวะการขาดสารไอโอดีนในพื้นที่อย่างยั่งยืน” [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.neoscreen.go.th/web/index.php>. เข้าถึงเมื่อ 2 มี.ค. 2562.
- [3] สุนิรัตน์ ยั่งยืน, ธิดารัตน สมดี, 2013. “Iodine concentration of certain vegetables in Borabue Disrrict Mahasarakham Province.” *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*. 3 : 233-241. เข้าถึงเมื่อ 2 มี.ค. 2562.
- [4] วิธีการใช้ไอโอดีนในสวน. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://th.yellowbreadshorts.com/4281-how-to-use-iodine-in-garden-and-in-garden-tips-experienced.html>. เข้าถึงเมื่อ 2 มี.ค. 2562.
- [5] Caffagni, A. Arru, L. Meriggi, P. Milc, J. Perata, P. Pecchioni, N. 2011. “Iodine fortification plant screening process and accumulation in tomato fruits and potato tubers.” *Communication in Soil and Plant Analysis*. 42 : 706-718.
- [6] กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2559. “วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารเล่มที่ 4”
- [7] “Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination.” *World Health Organization*. 2007.
- [8] Jakmune, j. Grudpan, K. 2001. “Flow injection amperometry for the determination of iodate in iodized table salt.” *Analytica Chimica Acta*. 438 : 299-304.
- [9] Lima, M.B. Barreto, I.S. Andrade, S.E. Almeida, L.F. Araujo, C.U. 2012. “A micro-flow-batch analyzer with solenoid micro-pumps for the photometric determination of iodate in table salt.” *talata*. 100 : 308-312.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [10] Liu, L. li, X. Wang, H. Cao, X. Ma, W. 2017. "Reduction of iodate in iodated salt to iodide during cookong with iodine as measured by an improved HPLC-MS method." *Journal of Nutritional Biochemistry*. 42 : 95-100.
- [11] Kumar, S.D. Maiti, B. Mathur, P.K. 2001. "Determination of iodate and sulphate in iodized common salt by ion chromatography with conductivity detection." *Talanta*. 53 : 701-705.
- [12] Pena-Perreira, F. Senra-Ferreiro, S. Lavilla, I. Bendicho, C. 2010. "Determination of iodate in waters by cuvetteles UV-vis micro-spectrophotometry after liquid-phase microextraction." *Talanta*. 81 : 625-629.
- [13] Karita, S. Kaneta, T. 2016. "Chelate titrations of Ca(2+) and Mg(2+) using microfluidic paper-based analytical devices." *Analytic Chimica Acta*. 924 : 60-67
- [14] Fu, L.M. Wang, Y.N. 2018. "Detection methods and application of microfluidic paper-baesd analytical devices." *Trends in Analytical Chemistry*. 107 : 196-211.
- [15] Yetisen, A.K. Akram, M.S. Lowe, C.R. 2013. "Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices." *Lab on a Chip*.
- [16] Ogawa, K. Kaneta, T. 2016. "Determination of Iron Ion in the Water of a Natural Hot Spring Using Microfluidic Paper-based Analytical Devices." *Analytical Sciences*. 32 : 31-34.
- [17] Myers, N.M. Kernisan, E.N. Lieberman, M. 2019. "Lab on Paper : Iodometric Titration on a Printed Card" *Analytical Chemistry*.
- [18] นิธิยา รัตนานพนนท์. ไอโอดีนในร่างกาย. [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/7067/iodine-in-body>. เข้าถึงเมื่อ 5 มี.ค. 2562.
- [19] Pompam. 2560. ไอโอดีน คืออะไรและมีความสำคัญอย่างไร. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://healthgossip.co/what-is-iodine>. เข้าถึงเมื่อ 5 มี.ค. 2561.
- [20] ไอโอดีน (Iodine). [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.greenclinic.in.th/iodine.html>. เข้าถึงเมื่อ 5 มี.ค. 2562.
- [21] แหล่งอาหารไอโอดีนในธรรมชาติ. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://il.mahidol.ac.th/e-media/iodine/chapter1/food.html>. เข้าถึงเมื่อ 5 มี.ค. 2562.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [22] โรคขาดสารไอโอดีน. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://il.mahidol.ac.th/e-media/iodine/chapter2/idd.html>. เข้าถึงเมื่อ 5 มี.ค. 2562.
- [23] โรคคอพอกจากการขาดไอโอดีน. [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=9&chap=12&page=t9-12-infodetail15.html>. เข้าถึงเมื่อ 6 มี.ค. 2562.
- [24] ไฮโปไทรอยด์ (Hypothyroidism). [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.pobpad.com/ไฮโปไทรอยด์>. เข้าถึงเมื่อ 6 มี.ค. 2562.
- [25] หญิงตั้งครรภ์ต้องการ ไอโอดีน มากกว่าคนธรรมดาเพราะเหตุใด?. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://med.mahidol.ac.th/ramachannel/home/article/19037/>. เข้าถึงเมื่อ 6 มี.ค. 2562.
- [26] พวงทอง ไกรพิบูลย์. ภาวะขาดไอโอดีน (Iodine deficiency). [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://haamor.com/th/ภาวะขาดไอโอดีน>. เข้าถึงเมื่อ 7 มี.ค. 2562
- [27] กระดาษกรอง Whatman: ราคา และ ขนาดรูพรุน (Pore size). [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://share.psu.ac.th/blog/sat-instcent/33369>. เข้าถึงเมื่อ 8 มี.ค. 2562.
- [28] Nguyen, M.P. Meredith, N.A. Kelly, S.P. Henry, C.S. 2018. "Design considerations for reducing sample loss in microfluidic paper-based analytical devices." *Analytica Chimica Acta*. 1-6.
- [29] Apilux, A. Dungchai, W. Siangproh, W. Praphairaksit, N. Henry, C.S. Chailapakul, O. 2010. "Lab-on-Paper with Dual Electrochemical/ Colorimetric Detection for Simultaneous Determination of Gold and Iron." *Analytical Chemistry*. 82 :1727-1732.
- [30] Manbohia, A. Ahmadib, S.H. 2019. "Sensitive and selective detection of dopamine using electrochemical microfluidic paper-based analytical nanosensor." *Sensing and Bio-Sensing Research*. 23 : 100270.
- [31] Curto, V.F. Ruiz, N.L. Capitan-Vallvey, L.F. Palma, A.J. Benito-Lopez, F. Diamonda, D. 2013. "Fast prototyping of paper-based microfluidic devices by contact stamping using indelible ink." *RSC Advances*. 3.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [32] Gallibu, C. Gallibu, C. Avoundjian, A. Gomez, F.A. 2016. "Easily Fabricated Microfluidic Devices Using Permanent Marker Inks for Enzyme Assays" *micromachines*. 7,6 : 1-7.
- [33] Bhakta, S.A. Borba, R. Jr, M.T. Garcia, C.D. Carrilho, E. 2014. "Determination of nitrite in saliva using microfluidic paper-based analytical devices." *Analytica Chimica Acta*. 809 : 117-122.
- [34] การใช้โปรแกรม ImageJ. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://sites.google.com/site/thaiimagej/>. เข้าถึงเมื่อ 12 มี.ค. 2562.
- [35] การหาปริมาณไอโอดีนในเกลือที่อยู่ในรูปของไอโอเดต โดยวิธี titration. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://il.mahidol.ac.th/e-media/iodine/chapter3/titrate.html>. เข้าถึงเมื่อ 16 มี.ค. 2562.
- [36] Rebarry, B. Paul, P. Ghosh, P.K. 2010. "Determination of iodide and iodate in edible salt by ion chromatography with integrated amperometric detection." *Food Chemistry*. 123 : 529-534.
- [37] Mohammad, A. Shabani, H. Ellis, P.S. McKelvie, I.D. 2011. "Spectrophotometric determination of iodate in iodised salt by flow injection analysis." *Food Chemistry*. 129 : 704-707.
- [38] Ensafi, A.A. Chamjangali, M.A. 2003. "Sequential flow injection determination of iodate and periodate with spectrophotometric detection." *Spectro chimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 59 : 2897-2903.
- [39] Tabrizi, M.A. Ebrahimi, L. 2014. "The electrochemical copolymerization of diphenylamine and p-phenylenediamine and its use as a modified electrode for amperometric determination of iodate." *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 724 : 8-14



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก

### วิธีคำนวณในการหาปริมาณไอโอดีนในเกลือ

ตัวอย่างเกลือปุ๋ยที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $\mu$ PADs มีความเข้มข้นของไอโอดेट 16.9 ppm หรือ mg/ml

คิดเป็น ; หากมีไอโอดेटหนัก 175 mg จะมีปริมาณไอโอดีน 127 mg

ถ้ามีไอโอดेटหนัก 16.9 mg จะมีปริมาณไอโอดีน  $(16.9 \times 127) / 175 = 12.26$  mg

; ในสารละลาย 1000 ml มีปริมาณไอโอดีน 12.26 mg

ถ้าเตรียมสารละลาย 10 ml จะมีปริมาณไอโอดีน  $(12.26 \times 10) / 1000 = 0.1226$  mg

ฉะนั้น ในเกลือ 3 g จะมีปริมาณไอโอดีน 0.1226 mg

ถ้าเกลือ 1000 g จะมีปริมาณไอโอดีน  $(0.1226 \times 1000) / 3 = 40.87$  mg

จึงสรุปได้ว่าตัวอย่างเกลือยี่ห้อปุ๋ยนั้นมีความเข้มข้นของไอโอดีน 40.87 mg/kg ของเกลือ

ตัวอย่างเกลืออาหารที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $\mu$ PADs มีความเข้มข้นของไอโอดेट 14.3 ppm หรือ mg/ml

คิดเป็น ; หากมีไอโอดेटหนัก 175 mg จะมีปริมาณไอโอดีน 127 mg

ถ้ามีไอโอดेटหนัก 14.3 mg จะมีปริมาณไอโอดีน  $(14.3 \times 127) / 175 = 10.38$  mg

; ในสารละลาย 1000 ml มีปริมาณไอโอดีน 10.38 mg

ถ้าเตรียมสารละลาย 10 ml จะมีปริมาณไอโอดีน  $(10.38 \times 10) / 1000 = 0.1038$  mg

ฉะนั้น ในเกลือ 3 g จะมีปริมาณไอโอดีน 0.1038 mg

ถ้าเกลือ 1000 g จะมีปริมาณไอโอดีน  $(0.1038 \times 1000) / 3 = 34.6$  mg

จึงสรุปได้ว่าตัวอย่างเกลือยี่ห้ออาหารนั้นมีความเข้มข้นของไอโอดีน 34.6 mg/kg ของเกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างเกลือทอปส์ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $\mu$ PADs มีความเข้มข้นของไอโอดีน 12.3 ppm หรือ mg/ml

คิดเป็น ; หากมีไอโอดีนหนัก 175 mg จะมีปริมาณไอโอดีน 127 mg

ถ้ามีไอโอดีนหนัก 12.3 mg จะมีปริมาณไอโอดีน  $(12.3 \times 127) / 175 = 8.93$  mg

; ในสารละลาย 1000 ml มีปริมาณไอโอดีน 8.93 mg

ถ้าเตรียมสารละลาย 10 ml จะมีปริมาณไอโอดีน  $(8.93 \times 10) / 1000 = 0.0893$  mg

ฉะนั้น ในเกลือ 3 g จะมีปริมาณไอโอดีน 0.0893 mg

ถ้าเกลือ 1000 g จะมีปริมาณไอโอดีน  $(0.0893 \times 1000) / 3 = 29.8$  mg

จึงสรุปได้ว่าตัวอย่างเกลี่ยห่อทอปส์นั้นมีความเข้มข้นของไอโอดีน 29.8 mg/kg ของเกลือ

ตัวอย่างเกลือขอบฟ้าเขียวที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย  $\mu$ PADs มีความเข้มข้นของไอโอดีน 13.1 ppm หรือ mg/ml

คิดเป็น ; หากมีไอโอดีนหนัก 175 mg จะมีปริมาณไอโอดีน 127 mg

ถ้ามีไอโอดีนหนัก 13.1 mg จะมีปริมาณไอโอดีน  $(13.1 \times 127) / 175 = 9.51$  mg

; ในสารละลาย 1000 ml มีปริมาณไอโอดีน 9.51 mg

ถ้าเตรียมสารละลาย 10 ml จะมีปริมาณไอโอดีน  $(9.51 \times 10) / 1000 = 0.0951$  mg

ฉะนั้น ในเกลือ 3 g จะมีปริมาณไอโอดีน 0.0951 mg

ถ้าเกลือ 1000 g จะมีปริมาณไอโอดีน  $(0.0951 \times 1000) / 3 = 31.7$  mg

จึงสรุปได้ว่าตัวอย่างเกลี่ยห่อขอบฟ้าเขียวนั้นมีความเข้มข้นของไอโอดีน 31.7 mg/kg ของเกลือ