

การตรวจวัดเชิงสีฐานกระดาษบนช่องว่างเหนือสารละลายสำหรับ  
การวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร  
HEADSPACE PAPER-BASED COLORIMETRIC DETECTION FOR  
DETERMINATION OF FORMALDEHYDE IN FOOD

ณัฐพล ยอดเพชร  
NATTAPON YODPACH

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2565

KMITL-2022-SC-M-012-132

HEADSPACE PAPER-BASED COLORIMETRIC DETECTION FOR  
DETERMINATION OF FORMALDEHYDE IN FOOD

NATTAPON YODPACH

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN APPLIED CHEMISTRY  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY SCHOOL OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2022

KMITL-2022-SC-M-012-132

COPYRIGHT 2022

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจวัดเชิงสีฐานกรดไขมันช่องว่างเนื้อสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร
นักศึกษา	นายณัฐพล ยอดเพชร
รหัสประจำตัว	61605097
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมีประยุกต์)
สาขาวิชา	เคมี
พ.ศ.	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้อธิบายถึงการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้แผ่นไมโครเพลท 96 หลุม ช่องว่างเนื้อสารละลายใช้สำหรับการแยกและการตรวจจับด้วยสีโดยใช้กรดซิงก์ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เกิดจากซัลไฟต์ส่วนเกินที่เหลืออยู่หลังจากทำปฏิกิริยากับฟอร์มาลดีไฮด์ ตัวอย่างคือสารสกัดจากอาหารประเภทต่าง ๆ ที่อาจเจือปนด้วยฟอร์มาลดีไฮด์ ซัลไฟต์ที่ทราบปริมาณจะถูกเติมลงในสารสกัดในหลุมเพื่อทำปฏิกิริยากับฟอร์มาลดีไฮด์ ซัลไฟต์ที่เหลือจะถูกทำให้เป็นกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริกเพื่อสร้างก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ก๊าซจะกระจายผ่านช่องว่างด้านบนเนื้อสารละลายเพื่อดูดซับไว้ที่แถบขึ้นของกระดาษบ่งชี้ซึ่งวางอยู่เหนือปากหลุม แอนโทไซยานินที่สกัดจากดอกอัญชันใช้เป็นตัวบ่งชี้ค่า pH ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนสีตามการเพิ่มขึ้นของไฮโดรเจนไอออนโดยการไฮโดรไลซิสของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ดูดซับไว้ แถบกระดาษที่เปลี่ยนสีจะถูกสแกนและภาพดิจิทัลของพื้นที่สีจะถูกวิเคราะห์โดยใช้ซอฟต์แวร์ ImageJ มีช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟที่ 200-1000 มก.ต่อลิตรขีดจำกัดการตรวจจับของสารละลายคือ 55 มก.ต่อลิตร และค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสี ( $r^2$ ) > 0.9975 ตัวอย่างวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์เป็นอาหารสด เช่น อาหารทะเล เนื้อสัตว์ ผัก และอาหารแปรรูปต่าง ๆ ผลลัพธ์ที่ได้จากวิธีการตรวจจับสีโดยใช้กรดซิงก์ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไม่แตกต่างทางสถิติกับค่าที่ได้จากวิธีการไทเทรตโดยใช้การทดลองแบบจับคู่ (Paired t-test)

**คำสำคัญ :** การตรวจวัดเชิงสีบนช่องว่างเนื้อสารละลาย กรดซิงก์ซัลเฟอร์ไดออกไซด์แอนโทไซยานิน สารสกัดดอกอัญชัน ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น ฟอร์มาลดีไฮด์

<b>Thesis Title</b>	Headspace Paper-based Colorimetric Detection for Determination of Formaldehyde in Food
<b>Student</b>	Mr. Nattapon Yodpach
<b>Student ID</b>	61605097
<b>Degree</b>	Master of Science (Applied Chemistry)
<b>Program</b>	Chemistry
<b>Year</b>	2022
<b>Thesis Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Wiboon Praditweangkum

### ABSTRACT

This work describes an analysis of formaldehyde employing a 96-well microplate as multiple headspaces for the separation and paper-based colorimetric detection of sulfur dioxide gas generated from remaining excess sulfite after reaction with formaldehyde. The samples are aqueous extracts of various types of food possibly adulterated with formaldehyde. A known excess amount of sulfite is added to the extract in the well to react with the formaldehyde. The remaining sulfite is acidified with hydrochloric acid to generate sulfur dioxide gas. The gas diffuses through the headspace above the solution to be absorbed at the moist strip of indicator paper placed over the mouth of well. Anthocyanins extracted from the butterfly pea flower is used as the pH indicator giving a color change from the increase of hydrogen ions by hydrolysis of the absorbed sulfur dioxide gas. The exposed paper strip is scanned, and the digital images of the colored region analyzed using ImageJ software. The optimized method has a linear range of 200-1000 mg L<sup>-1</sup> formaldehyde with limit of detection of the aqueous extract of 55 mg L<sup>-1</sup> and coefficient of determination ( $r^2$ ) > 0.9975. Samples of fresh produce, such as seafood, meat, and vegetables, and various processed food were analyzed for formaldehyde content. The results obtained from the headspace paper-based colorimetric detection method are not statistically different from values obtained from the titration method using paired t-tests.

**Keywords :** Headspace Colorimetric Detection, Anthocyanins Indicator Paper, Butterfly-pea Flower Extract, Generated Sulfur Dioxide Gas, Formaldehyde

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องด้วยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในทุก ๆ ขั้นตอนของการทำวิทยานิพนธ์นี้อย่างใกล้ชิด ซึ่งผู้เขียนต้องขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์จากกรมวิทยาศาสตร์บริการ คือ ดร. จรูญ จันทร์สมบูรณ์ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและเรียบร้อย

ขอขอบคุณ นายอาทิตย์ เทศขำ ผู้วิเคราะห์หาข้อมูลและดาต้าออนไลน์จากธนาคารแห่งประเทศไทย ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติให้ถูกต้อง

ขอขอบคุณเพื่อนจากหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยช่วยเหลือซึ่งกันและกันเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่สนับสนุนและให้กำลังใจผู้เขียนด้วยดีเสมอมา

นายณัฐพล ยอดเพชร

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูปภาพ	IX
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนของการศึกษา	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
2.1 ข้อมูลทั่วไปของฟอร์มาลดีไฮด์หรือฟอร์มาลีน	4
2.2 สมบัติของฟอร์มาลดีไฮด์	4
2.2.1 สมบัติทางกายภาพ	5
2.2.2 สมบัติทางเคมี	6
2.3 ผลกระทบจากการรับได้ฟอร์มาลดีไฮด์	6
2.4 แหล่งที่มาของฟอร์มาลดีไฮด์ในธรรมชาติ	7
2.5 ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร	8
2.6 การตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์	9
2.6.1 วิธีวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร	10
2.6.2 การเตรียมตัวอย่าง	13
2.7 ข้อมูลการตรวจพบสารฟอร์มาลีน ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร	15
2.8 แอนโทไซยานิน	16
2.9 หลักการทำงานของเครื่องสแกน	17
2.9.1 ประเภทของเครื่องสแกน	18

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9.2 ภาพจากการสแกน	19
2.9.3 การทำงานของเครื่องสแกน	19
2.10 ระบบสี (Color System)	20
2.10.1 ระบบสี RGB	20
2.10.2 ระบบสี CMYK	21
2.10.3 ระบบสี HSV	22
2.10.4 ระบบ LAB	23
2.11 การประมวลผลภาพ (Image Processing)	24
2.12 งานวิจัยเกี่ยวกับการตรวจฟอร์มาลดีไฮด์	24
2.13 หลักการตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์	27
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย</b>	<b>28</b>
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์	28
3.1.1 สารเคมี	28
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	29
3.2 การเตรียมสารละลาย	30
3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน	30
3.2.2 การเตรียมรีเอเจนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์	32
3.3 การเตรียมชุดทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์	32
3.4 การศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสม	33
3.5 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายรีเอเจนต์	33
3.5.1 ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก	33
3.5.2 ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมซัลไฟต์	34
3.5.3 ความเข้มข้นของสารละลายแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน	35
3.6 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา	36
3.6.1 เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาขั้นช่วงแรก	36
3.6.2 เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาขั้นช่วงการเปลี่ยนสีของกระดาษ	36
3.7 การศึกษาการเลือกค่าสี RGB ที่เหมาะสม	37

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.8 การศึกษาสารรบกวนต่อวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์	38
3.9 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	39
3.9.1 ความเป็นเส้นตรงของกราฟสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์	39
3.9.2 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)	40
3.9.3 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (Limit of quantitation, LOQ)	40
3.10 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างอาหาร	41
3.10.1 วิธีการเตรียมตัวอย่าง	41
3.10.2 วิธีวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างด้วยชุดทดสอบกระดาษ	41
3.11 การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์กับวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานไทเทรต	42
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล</b>	<b>43</b>
4.1 ผลการศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยา	43
4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสม	44
4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ที่เหมาะสม	46
4.4 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา	47
4.4.1 ผลการศึกษาเวลาในเกิดปฏิกิริยาช่วงแรก	47
4.4.2 ผลการศึกษาเวลาในเกิดปฏิกิริยาช่วงการเปลี่ยนสีของกระดาษ	48
4.5 ผลการศึกษาผลของความเข้มข้นแอนโทไซยานิน	50
4.6 ผลการศึกษาการเลือกใช้ความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยา	52
4.7 ผลการศึกษาสารรบกวนต่อการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์	53
4.8 ผลการศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	53
4.8.1 สภาวะเหมาะสมในการสร้างชุดทดสอบแบบกระดาษ	53
4.8.2 ความเป็นเส้นตรง (Linearity)	54
4.8.3 ขีดจำกัดการตรวจสอบ (Limit of detection, LOD)	54
4.8.4 ขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)	56
4.9 ผลการศึกษาวิธีการตรวจวัดเชิงสีฐานกระดาษบนช่องว่างเหนือสารละลาย	
สำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร	56
<b>บทที่ 5 สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	<b>58</b>

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก	63

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สมบัติทางกายภาพของก๊าซฟอร์มัลดีไฮด์และฟอร์มัลลีน	5
2.2 จุดวาบไฟของฟอร์มัลลีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเมทานอล	5
2.3 สมบัติทางเคมีของก๊าซฟอร์มัลดีไฮด์และฟอร์มัลลีน	6
2.4 ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ที่พบในอาหารประเภทต่าง ๆ	15
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	28
4.1 ตารางแสดงปริมาณสารบกกวนที่ยอมรับได้	53
4.2 ตารางเงื่อนไขและสถานะของปฏิกิริยาที่เหมาะสม	53
4.3 แสดงค่าในการคำนวณขีดจำกัดจำนวนของการตรวจพบ	55
4.4 ตารางแสดงผลการตรวจวัดเชิงสีฐานกระดาศบนช่องว่างเหนือ สารละลายสำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในอาหารตัวอย่าง	57

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 เครื่องสแกนแบบ Desktop scanner	18
2.2 เครื่องสแกนแบบ Handy scanner	18
2.3 แสดงระบบสี RGB	21
2.4 แสดงระบบสี CMYK	22
2.5 แสดงระบบสี HSV	23
2.6 แสดงระบบสี LAB	23
4.1 จุดสีแดงบนชุดทดสอบแบบกระดาษที่เกิดขึ้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่าง 0.1 M โซเดียมซัลไฟต์ และ 0.1 M กรดชนิดต่าง ๆ	44
4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์ 0 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร กับค่าความเข้มแสงสีแดงโดยใช้กรดชนิดต่าง ๆ	44
4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าความเข้มแสงสีแดงกับความเข้มข้นไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร	45
4.4 รูปแสดงจุดสีแดงบนกระดาษจากการศึกษาความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร	45
4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีแดงกับความเข้มข้นของโซเดียมซัลไฟต์ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 โมลต่อลิตร	47
4.6 รูปแสดงจุดสีแดงบนกระดาษจากการศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมซัลไฟต์ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 โมลต่อลิตร	47
4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีแดงกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงแรก 60, 90, 150, 180 และ 210 วินาที	48
4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีแดงกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงการเปลี่ยนสีของกระดาษที่เวลา 30, 60, 90 วินาที	49
4.9 รูปแสดงจุดสีแดงบนชุดทดสอบแบบกระดาษโดยมีเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษแตกต่างกัน	49
4.10 รูปแสดงจุดสีแดงบนชุดทดสอบแบบกระดาษผลจากการศึกษาความเข้มข้นของแอนโทไซยานินสกัดที่ชุปใช้ความเข้มข้นแตกต่างกัน	50

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีแดงกับความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน 1, 3, 6, 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร	51
4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีต่าง ๆ (สีแดง, สีเขียว และสีน้ำเงิน) กับความเข้มข้นของสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์	52
4.13 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นในช่วง 0 - 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร	54

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ในปัจจุบันอาหารประเภทเมนูชาบูและหมูกระทะกำลังเป็นกระแสที่นิยมในหมู่วัยรุ่นและวัยทำงาน ยิ่งเพิ่มความนิยมมากขึ้นในช่วงเทศกาลที่เป็นวันหยุดนักขัตฤกษ์หรืองานพบปะสังสรรค์ อาหารปิ้งย่าง ต้ม เหล่านี้มีวัตถุดิบหลักคือเนื้อสัตว์และผักชนิดต่าง ๆ การสั่งซื้อวัตถุดิบในปริมาณมากของร้านผู้ให้บริการอาหารจึงเกิดขึ้นอยู่เสมอเพื่อให้เกิดความคล่องตัวในการบริหารจัดการวัตถุดิบและยังช่วยด้านการลดต้นทุนอีกด้วย สิ่งที่มาอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้คือการถนอมอาหารไม่ให้น่าเสียก่อนถึงเวลานำมาปรุงเป็นอาหาร พอร์มาลดีไฮด์เป็นสารตั้งต้นของวัสดุและสารประกอบเคมีอื่น ๆ มากมาย [1] ในอุตสาหกรรมอาหารพอร์มาลดีไฮด์มักถูกลักลอบนำมาใช้ประโยชน์เพื่อรักษาสภาพของอาหาร ยืดระยะเวลาเน่าเสียของอาหาร พบมากในอาหารประเภทเนื้อสัตว์และอาหารทะเล การเติมสารพอร์มาลดีไฮด์ลงในอาหารเพื่อป้องกันการเน่าบูดได้ แต่ผู้บริโภคที่รับประทานอาหารเหล่านี้จะได้รับพอร์มาลดีไฮด์เข้าสู่ร่างกายทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ เนื่องจากการได้รับสารพอร์มาลดีไฮด์เข้าสู่ร่างกายจะทำให้เกิดขบวนการเมแทบอลิซึมอย่างรวดเร็ว ถึงแม้ว่าพอร์มาลดีไฮด์จะมีค่าครึ่งชีวิตในร่างกายประมาณ 1.5 นาที และจะถูกขับออกจากร่างกายในรูปของฟอร์เทมและคาร์บอนไดออกไซด์ [2] แต่ยังคงมีบางส่วนที่ยังสะสมในร่างกาย พอร์มาลดีไฮด์ที่ตกค้างอยู่จะเปลี่ยนเป็นกรดฟอร์มิก เป็นพิษทำลายเซลล์หรือเนื้อเยื่อของร่างกาย พอร์มาลดีไฮด์เป็นสารประกอบเคมีอินทรีย์ระเหยง่ายที่ใช้ในหลากหลายอุตสาหกรรม แม้ว่าโดยทั่วไปจะถือว่าเป็นสารปนเปื้อนที่เป็นอันตราย [3] มีสูตรเคมี  $\text{CH}_2\text{O}$  หรือ  $\text{H-CHO}$  เป็นแอลดีไฮด์ ( $\text{R-CHO}$ ) ที่ขนาดและความซับซ้อนน้อยที่สุด

ในปี 2006 พอร์มาลดีไฮด์ถูกจัดให้เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์กลุ่มที่ 1 โดยองค์การระหว่างประเทศเพื่อการวิจัยโรคมะเร็ง (IARC) [4] นอกจากนี้กรมโรงงานอุตสาหกรรม กรมประมง และกระทรวงสาธารณสุขโดยคณะกรรมการอาหารและยาห้ามใช้และกำหนดโทษทางกฎหมายเพื่อป้องกันการลักลอบนำพอร์มาลดีไฮด์ไปใช้จนเกิดอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค จากอันตรายที่กล่าวมา การตรวจหาพอร์มาลดีไฮด์ในอาหารจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะป้องกันการได้รับพอร์มาลดีไฮด์เข้าสู่ร่างกาย วิธีการวิเคราะห์ปริมาณพอร์มาลดีไฮด์ที่สะดวกและนิยมใช้สำหรับตัวอย่างอาหาร เช่น ชุดน้ำยาทดสอบ (Test kit) ชุดทดสอบประกอบไปด้วยสารเคมีต่าง ๆ ที่ทำปฏิกิริยากันแล้วสามารถสังเกตได้

ชัดเจนทางกายภาพ เป็นการทดสอบที่ง่าย แต่อย่างไรก็ตามสารเคมีเหล่านั้นมักมีความเข้มข้นสูงและมีสภาพะที่ค่อนข้างรุนแรง ซึ่งเป็นข้อเสียของวิธีวิเคราะห์เหล่านี้

การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และออกแบบชุดทดสอบตรวจวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่สามารถละลายและระเหยได้ในผลิตภัณฑ์อาหารให้เป็นวิธีไม่อันตรายต่อผู้ใช้งานและเป็นมิตรสิ่งแวดล้อม โดยการสร้างชุดทดสอบที่สร้างจากกระดาษกรองที่ออกแบบและตัดแล้วจุ่มลงในสารสกัดธรรมชาติจากดอกอัญชันแห้งที่มีสารแอนโทไซยานินอยู่ การเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินหลังจากการเกิดปฏิกิริยาจะถูกสังเกตและติดตามเพื่อแปรผลเป็นความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ที่ตรวจพบในตัวอย่างอาหาร การติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินสามารถทำได้โดยการใช้เครื่องสแกน และโปรแกรม Image J หรือการมองด้วยสายตา เป็นการทดสอบและตรวจวัดที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็วและใช้ปริมาณสารเคมีน้อย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อพัฒนาชุดทดสอบแบบกระดาษโดยใช้สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันและเทคนิคการแยกของแก๊สเหนือช่วงว่างสารละลายร่วมกับการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงสีด้วยการสแกนจุดสีและวัดค่าความเข้มแสงสีด้วยโปรแกรม Image J อีกทั้งต้องการประยุกต์ให้วิธีที่พัฒนาใช้ได้กับการตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ศึกษางานวิจัยเกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์
- 1.3.2 ศึกษาปฏิกิริยาและหลักการในการตรวจวัดหาฟอร์มาลดีไฮด์
- 1.3.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์
- 1.3.4 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ชุดทดสอบแบบกระดาษ
- 1.3.5 ประเมินคุณลักษณะการวิเคราะห์ของชุดทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น
- 1.3.6 ประยุกต์ใช้ชุดทดสอบกระดาษที่พัฒนาขึ้นในตัวอย่างอาหาร

## 1.4 ขั้นตอนของการศึกษา

- 1.4.1 ศึกษาข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์
- 1.4.2 ศึกษาการปรับใช้การเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินให้เข้ากับชุดทดสอบกระดาษ
- 1.4.3 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้ทดสอบแบบกระดาษเพื่อวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ โดยพิจารณาตัวแปรต่าง ๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ต่าง ๆ ปริมาณของรีเอเจนต์ ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เป็นต้น
- 1.4.4 ศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัด ขีดต่ำสุดสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของฟอร์มาลดีไฮด์ และความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์
- 1.4.5 นำชุดทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างอาหาร
- 1.4.6 รวบรวมผลการวิจัยและดำเนินการเผยแพร่

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 ได้ชุดทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ แบบวิธีที่ใช้เครื่องสแกนและโปรแกรม Image J
- 1.5.2 สามารถนำชุดทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างอาหาร

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ข้อมูลทั่วไปของฟอร์มาลดีไฮด์หรือฟอร์มาลีน

ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารตัวแรกของอนุกรมแอลิฟาติกแอลดีไฮด์ ถูกค้นพบครั้งแรกในปี 1859 โดย Butlerov ถูกผลิตขึ้นตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ยี่สิบ เนื่องจากราคาค่อนข้างต่ำ มีความบริสุทธิ์สูงและปฏิกิริยาทางเคมีที่หลากหลาย ฟอร์มาลดีไฮด์จึงกลายเป็นสารเคมีทางอุตสาหกรรมและการวิจัยที่สำคัญที่สุดแห่งหนึ่งของโลก ที่อุณหภูมิปกติฟอร์มาลดีไฮด์บริสุทธิ์มีลักษณะเป็นก๊าซไม่มีสี [5]

ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ มีความสำคัญต่อกระบวนการสันดาปอาหารของพืชและสัตว์ ฟอร์มาลดีไฮด์สามารถพบได้จากการเผาไหม้ก๊าซ เช่น คว้นจากท่อไอเสียรถยนต์ การเผาหญ้า ต้นไม้ เตามhorn้ำอุตสาหกรรมที่ใช้ระบบก๊าซ และจากคว้นบุหรี่

จากความไม่เสถียรของฟอร์มาลดีไฮด์ในสถานะก๊าซมีแนวโน้มการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันเป็นสารพาราฟอร์มาลดีไฮด์ซึ่งเป็นของแข็ง ดังนั้นการซื้อขายและการขนส่งฟอร์มาลดีไฮด์จึงอยู่ในรูปของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 37-55 % โดยน้ำหนัก และมีส่วนผสมของเมทานอลในอัตราส่วนต่าง ๆ ซึ่งเป็นที่ รู้จักในชื่อฟอร์มาลีน ฟอร์มาลดีไฮด์มีชื่อเรียกอื่น ๆ มากมายเช่น ฟอร์มอล (Formal), ฟอร์มาลิต (Formalith), แพนโนฟอร์ม (Fannoform), ฟอร์มิกออลดีไฮด์ (Formic Aldehyde), ไฟด์ (Fyde), เมทานอล (Methanal) และ ลีโซฟอร์ม (Lysoform) เป็นต้น เป็นวัตถุอันตราย ชนิดที่ 2 ตามพ.ร.บ. วัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือมีไว้ในครอบครองต้องแจ้งให้พนักงานเจ้าหน้าที่ทราบก่อนและต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ ซึ่งการผลิตหรือนำเข้าต้องขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย

### 2.2 สมบัติของฟอร์มาลดีไฮด์

ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารที่อยู่ในสถานะของก๊าซที่ไม่เสถียร เวลาใช้งานในอุตสาหกรรมต่าง ๆ จะอยู่ในรูปของสารละลายเป็นของเหลว สมบัติของฟอร์มาลดีไฮด์ในสถานะก๊าซและของเหลวมีความแตกต่างกัน ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นก๊าซไวไฟ ไม่มีสี มีกลิ่นฉุน มีฤทธิ์กัดกร่อน น้ำหนักมากกว่าอากาศเล็กน้อย ไม่เสถียร เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันได้ง่าย ส่วนฟอร์มาลีน มีสมบัติแตกต่างกันความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำ รวมทั้งอัตราส่วนผสมของเมทานอลในสารละลาย [6]

### 2.2.1 สมบัติทางกายภาพ

ฟอร์มัลดีไฮด์ที่มีสถานะเป็นก๊าซและฟอร์มัลลีนที่มีสถานะเป็นของเหลวมีสมบัติทางกายภาพดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางกายภาพของก๊าซฟอร์มัลดีไฮด์และฟอร์มัลลีน [6]

สมบัติของสาร	ก๊าซฟอร์มัลดีไฮด์	ฟอร์มัลลีน
สภาพที่ปรากฏ	ไม่มีสี	ไม่มีสี
กลิ่น	กลิ่นฉุนรุนแรง	กลิ่นฉุนรุนแรง
น้ำหนักโมเลกุล (g/mol)	30.03	30.03
จุดเดือด	19.5° C ที่ความดันบรรยากาศ	96° C ที่ความดันบรรยากาศ
จุดหลอมเหลว / จุดเยือกแข็ง	(ไม่มี)	-92° C
อุณหภูมิวิกฤติ	137.2 – 141.2 5° C	(ไม่มี)
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	-	2.8 – 4.0 ที่อุณหภูมิ 20° C
ความหนาแน่นไอสัมพัทธ์	1.08 ที่อุณหภูมิ 20° C	1.04 ที่อุณหภูมิ 20° C
Log K <sub>ow</sub>	0.35	0.35
ความดันไอ	3,890 มม.ปรอท ที่อุณหภูมิ 20° C	1.52 มม.ปรอท ที่อุณหภูมิ 20° C
ความสามารถในการละลาย	ละลายได้ดีในน้ำ แอลกอฮอล์ อีเทอร์ อะซีโตน	ละลายได้ดีในน้ำ แอลกอฮอล์ อีเทอร์ อะซีโตน
อุณหภูมิที่ติดไฟได้เอง	424° C	424° C

ตารางที่ 2.2 จุดวาบไฟของฟอร์มัลลีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเมทานอล [6]

ความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์ (% โดยน้ำหนัก)	ส่วนผสมของเมทานอล (% โดยน้ำหนัก)	จุดวาบไฟ (°C)
37.2	0.5	85
37.2	4.1	75
37.1	8.0	67
37.2	10.1	64
37.1	11.9	56
37.5	14.0	56

## 2.2.2 สมบัติทางเคมี

ก๊าซฟอร์มาลดีไฮด์และฟอร์มาลีนมีสมบัติทางเคมีดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 สมบัติทางเคมีของก๊าซฟอร์มาลดีไฮด์และฟอร์มาลีน [6]

สมบัติทางเคมี	ก๊าซฟอร์มาลดีไฮด์	ฟอร์มาลีน
การเกิดปฏิกิริยา	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. พอลิเมอไรเซชัน</li> <li>2. ออกซิเดชัน</li> <li>3. แออดิชั่น</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. พอลิเมอไรเซชัน</li> <li>2. ดีคอมโพสิชัน</li> <li>3. รีดักชัน</li> <li>4. ออกซิเดชัน</li> <li>5. แออดิชั่น</li> <li>6. คอนเดนเซชัน</li> </ol>
สารที่ต้องหลีกเลี่ยง	Amines, AZO compounds, Caustics, Dithiocarbamates, Alkali & alkali earth metals, Nitrides, Nitro compound, Unsaturated aliphatics and sulfides, Organic peroxides, Oxidizing agents, Reducing agents	
สารอันตรายที่เกิดจากการสลายตัว	เมื่อถูกความร้อนสารจะสลายตัวเป็นกรดฟอร์มิก เมื่อเกิดเพลิงไหม้สลายตัวให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเกิดไฮโดเจน เกิดหมอกควันที่เป็นพิษ	

## 2.3 ผลกระทบจากการรับได้ฟอร์มาลดีไฮด์

การได้รับก๊าซฟอร์มาลดีไฮด์หรือฟอร์มาลีนส่งผลกระทบต่อดวงตา ระบบทางเดินหายใจ และเป็นสารที่อาจทำให้เกิดมะเร็งได้ กระนั้นการใช้การในระดับสากลยังมีความเห็นหลากหลายเกี่ยวกับการจัดจำแนกฟอร์มาลีนกับการเป็นสารก่อมะเร็ง หน่วยงาน International Agency for Research on Cancer ได้จำแนกให้ฟอร์มาลีนเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่มที่ 1 [4] โดยการสำรวจและเก็บข้อมูลจากคนที่เกิดมะเร็ง นอกจากนั้นกลุ่มประชาคมยุโรป (EU) จำแนกให้ฟอร์มาลีนเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่มที่ C3 คือ ยังไม่มีข้อมูลแน่ชัดพอที่จะชี้ชัดว่าการเกิดมะเร็งในคนเป็นผลจากการได้รับฟอร์มาลีน

การผสมเมทานอลในอัตราส่วนผสมที่มากขึ้นมีแนวโน้มที่จะทำให้จุดวาบไฟของฟอร์มาลีนลดต่ำลงเป็นสารในสถานะของเหลวและไวไฟ ทั้งยังมีความสามารถในการกักร้อนตามมาด้วย ในทางตรงกันข้ามถ้าเมทานอลเป็นส่วนผสมในอัตราที่น้อยลงก็จะทำให้จุดวาบไฟที่อุณหภูมิสูงขึ้น นั้นหมายความว่าฟอร์มาลีนมาความไวไฟน้อยลง ไม่จัดว่าเป็นสารไวไฟ แต่ยังคงความสามารถในการกัก

ก่อน ทั้งนี้ทั้งนั้นฟอร์มัลดีไฮด์และฟอร์มาลีนยังคงมีความเหมือนกันคือเมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายจะส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินหายใจและอาจเป็นสารก่อให้เกิดมะเร็ง

การสูดดมสารฟอร์มัลดีไฮด์หรือฟอร์มาลีนอาจส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินหายใจ อาการที่แสดงคือ รู้สึกแสบที่โพรงจมูก เจ็บระคายคอ ไอ หายใจไม่สะดวก น้ำท่วมปอด ปอดเกิดการอักเสบ และอาจร้ายแรงขึ้นขั้นเสียชีวิตในกรณีที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณสูง ระบบผิวหนังก็เป็นอีกระบบที่ได้รับผลกระทบและแสดงอาการหลังได้รับสารฟอร์มัลดีไฮด์ อาการที่แดงคือ ผิวหนังเกิดผื่นคัน ผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีขาวเป็นการไหม้ของผิวหนังหลังการสัมผัสกับฟอร์มาลีนโดยตรง อีกหนึ่งระบบที่มีความน่าสนใจหลังได้รับสารฟอร์มัลดีไฮด์ขึ้นคือ ระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากการยังมีการลักลอบนำฟอร์มัลดีไฮด์มาใช้ประโยชน์กับอาหารกันมาก เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่ปนเปื้อนฟอร์มัลดีไฮด์ที่มีปริมาณมากพอ ร่างกายจะแสดงอาการเช่น เกิดอาการปวดศีรษะชั้นรุนแรง ปวดบริเวณช่องท้อง บริเวณปากและภายในลำคอรู้สึกแห้ง ชีพจรเต้นเร็วผิดปกติ รู้สึกแน่นหน้าอก ในบางกรณีเกิดอาการท้องเสีย อาเจียน คลื่นไส้ คอแข็ง ปัสสาวะลำบากหรือปัสสาวะมีเลือดปน เหงื่อออกร่างกายอุณหภูมิลดต่ำลง มีอาการอ่อนเพลีย มีการได้รับรายงาน เกิดกรณีบุคคลที่ได้รับประทานฟอร์มาลีน 2 ซ้อนโต๊ะ พบว่า เสียชีวิตหลังจากการรับประทานฟอร์มาลีนเข้าไป 3 ชั่วโมง เมื่อชันสูตรพลิกศพร่างกายผู้เสียชีวิตมีรายงานว่ที่บริเวณหลอดอาหาร กระเพาะอาหารและ ลำไส้เล็ก มีร่องรอยแผลไหม้ของเนื้อเยื่อในบริเวณดังกล่าว [7]

อาการข้างต้นที่เป็นอาการที่แสดงในระยะอันสั้นหลังได้รับฟอร์มัลดีไฮด์เข้าสู่ร่างกาย ในระยะยาวมีการรับได้รับรายงานสนับสนุนว่าสารฟอร์มัลดีไฮด์ที่เป็นสารประกอบของฟอร์มาลีนเป็นสารที่กระตุ้นให้เกิดมะเร็งได้ [4]

## 2.4 แหล่งที่มาของฟอร์มัลดีไฮด์ในธรรมชาติ

ฟอร์มัลดีไฮด์เกิดจากกระบวนการต่าง ๆ ภายในร่างกายสิ่งมีชีวิตทั้งที่อาศัยเอนไซม์และไม่อาศัยเอนไซม์ เช่น ในปฏิกิริยา demethylation ของวัฏจักรเมทโฮนิน โฮโมซิสเตอิน (methionine-homocysteine cycles) one carbon pool เมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนและเมทานอล ขบวนการ lipid peroxidation และขบวนการ P-450 dependent demethylation เป็นต้น [8] ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ที่พบในเลือดลิง หนู และมนุษย์มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 2.4, 2.2 และ 2.6 มิลลิกรัมต่อลิตร [8] ฟอร์มัลดีไฮด์ในสิ่งมีชีวิตมี 2 รูป คือ รูปอิสระ และรูปที่รวมอยู่กับสารอื่น เช่น กรดนิวคลีอิก โปรตีน กรดอะมิโน เอมีน ครีเอติน และนิวคลีโอไทด์ [9] ร่างกายคนถูกประเมินค่าหมุนเวียนของฟอร์มัลดีไฮด์ในแต่ละวันได้ประมาณ 873-1,310 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

ต่อวัน จากของเหลวที่มีทั้งหมดในร่างกาย ประมาณ 49 ลิตร [8] โดยฟอร์มัลดีไฮด์พบว่ามีค่าครึ่งชีวิตที่ค่อนข้างสั้นมากประมาณ 1-1.5 นาที [10] ฟอร์มัลดีไฮด์อิสระมีความสามารถอ่องไวในการเกิดปฏิกิริยามากกว่ารูปแบบอื่น ร่างกายมีกระบวนการกำจัดฟอร์มัลดีไฮด์เพื่อป้องกันความเป็นพิษที่จะเกิดกับร่างกายโดยผ่านกระบวนการทำงานของเอนไซม์ และกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ ในสัตว์ทะเลที่มีการผลิตสารไตรเมทิลเอมีนออกไซด์เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ ภายหลังจากสัตว์ทะเลตายลง สารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนสภาพเป็นไตรเมทิลเอมีน และฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยการทำงานของแบคทีเรียและความร้อน มีรายงานการพบฟอร์มัลดีไฮด์ในสัตว์ทะเล เช่น หอย ปลา หมึก และกุ้ง แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น อาหารที่กิน สายพันธุ์ ขนาด แหล่งอาศัย และสภาพแวดล้อมของการเก็บรักษาซาก [8]

## 2.5 ฟอร์มัลดีไฮด์ในอาหาร

การปนเปื้อนและสิ่งเจือปนในอาหารเป็นปัญหาสำคัญที่พบได้บ่อยครั้งเมื่อเราพูดถึงเรื่องของอันตรายที่อาจพบในอาหาร มีรายงานการตรวจพบฟอร์มัลดีไฮด์ในอาหารประเภทสัตว์น้ำทางทะเล [11] การขาดการควบคุมด้านกฎระเบียบที่ชัดเจนและบทลงโทษที่รุนแรง โครงสร้างพื้นฐานของการขนส่งที่ไม่มีประสิทธิภาพซึ่งส่งผลกระทบต่อ การเก็บรักษา การแช่เย็น และความต้องการผลผลิตของผู้บริโภคที่มีเพิ่มขึ้นเป็นสิ่งที่นำไปสู่ให้เกิดการลักลอบใช้สารฟอร์มัลดีไฮด์เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร อาหารที่เจือปนฟอร์มัลดีไฮด์อาจมีผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค เนื่องจากความเป็นอันตรายของฟอร์มัลดีไฮด์มีอยู่มากมายเมื่อเข้าสู่ร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเด็กมีความเสี่ยงสูงมากขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่ไม่ปลอดภัยและเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิต

ฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสารตัวการที่ก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศทั่วไปและมีสถานะเป็นก๊าซที่อุณหภูมิแวดล้อม มีสถานะเป็นของเหลวในรูปสารละลาย มีการนำไปใช้กันอย่างแพร่หลายในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ใกล้ชิดกับมนุษย์ในการดำเนินชีวิตประจำวัน เช่น เฟอร์นิเจอร์ สีทิวาสตูดต่าง ๆ และน้ำยาทำความสะอาด ฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสารก่อมะเร็งที่มีรายงานออกแล้วว่าเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้คน [4] การลักลอบนำฟอร์มัลดีไฮด์มาใช้ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารในประเทศยังคงมีให้เห็นอยู่ การที่จะกล่าวหาว่าอาหารปลอมปนด้วยฟอร์มาลีน เพื่อปกป้องผู้บริโภค จำเป็นต้องมีหลักฐานที่สามารถยืนยันการมีอยู่จริงของสารปนเปื้อน การทดสอบเชิงคุณภาพด้วยสีเป็นเทคนิคหนึ่งที่ยอมรับง่ายต่อการนำมาใช้ระหว่างการตรวจสอบ อย่างไรก็ตามปกติแล้วในธรรมชาติสามารถทำให้เกิดฟอร์มัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นหลากหลายในอาหาร จึงเป็นเรื่องยากจนถึงปัจจุบันที่จะใช้การตรวจวัดเชิงคุณภาพมาเป็นหลักฐานที่แน่ชัดของปลอมปนฟอร์มาลีน

ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่สามารถพบได้ในอาหารที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติจะแตกต่างกันไปตามชนิด ประเภท ของผลิตภัณฑ์อาหาร อาหารทะเล ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปแห้งหรือ รมควัน และในกลุ่มเห็ดบางชนิด อาหารเหล่านี้เป็นกลุ่มที่มักพบปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อยู่มาก ตัวอย่างเช่น อาหารประเภทปลาทะเลน้ำลึกที่เก็บรักษาโดยการแช่แข็งพบปริมาณ 232-293 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อาหารแปรรูปแฮมรูปค้อนพบปริมาณ 224-267 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หมักตากแห้งฝอยพบปริมาณ 0-169.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เห็ดหอมสดพบปริมาณ 127.8-248.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นต้น [8] นอกจากนี้ European Food Safety Authority (EFSA) ได้ทำการประเมินปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่เราจะได้รับเข้าสู่ร่างกายจากการรับประทานอาหาร 1 กิโลกรัมต่อวัน ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่จะได้รับไม่เกิน 100 มิลลิกรัม หรือ ประมาณ 1.7-1.4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (สำหรับคนที่มีน้ำหนักในช่วง) 60-70 กิโลกรัม [8]

World Health Organization (WHO) ได้กำหนดเกณฑ์การได้รับฟอร์มาลดีไฮด์ที่ผู้บริโภคสามารถรับได้ในประจำวันและไม่ส่งผลต่อสุขภาพ (Tolerable daily intake; TDI) คือไม่เกิน 0.15 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม [12] และ U.S. EPA ได้ตั้งค่าเกณฑ์การยอมรับได้ในการบริโภคอาหารที่มีฟอร์มาลดีไฮด์แล้วไม่ส่งผลต่อร่างกาย (Reference dose; RfD) ไว้ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน [13] การกำหนดเกณฑ์ค่าสูงสุด (maximum level; ML) ในแต่ละประเทศจะแตกต่างกันไปตามประเภทของอาหาร เช่น อาหารประเภทสัตว์ทะเลมีการกำหนดค่าไว้ที่ช่วง 5-60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กระทรวงสาธารณสุขในประเทศไทยจะเป็นผู้ประกาศกำหนดดังกล่าว ใช้สำหรับอ้างอิงค่าสารปนเปื้อนที่พบตามธรรมชาติ ประกาศฉบับที่ 151 (พ.ศ. 2536) ได้กำหนดให้ฟอร์มาลีนเป็นสารต้องห้ามในอาหาร ซึ่งหมายถึงฟอร์มาลดีไฮด์ที่ตรวจพบต้องมาจากการเติมสารนี้ลงไป ในอาหารด้วยวัตถุประสงค์ต่าง ๆ ไม่ใช่ฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ [8]

## 2.6 การตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์

การหาวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจวัดหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร และการมีอยู่ของฟอร์มาลดีไฮด์ในธรรมชาติทำให้การตรวจวัดหาฟอร์มาลีนในอาหารเป็นเรื่องท้าทาย ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์อาหารสดมีความแตกต่างกันไป ความซับซ้อนกระบวนการผลิตและปัจจัยแวดล้อม ฟอร์มาลดีไฮด์เกิดขึ้นตามธรรมชาติในรูปแบบอิสระและรูปแบบสร้างพันธะ ฟอร์มาลดีไฮด์สามารถจับกับโปรตีนขนาดเล็ก อีนิน ไทโรซีน และไลซีน ที่ย้อนกลับได้ซึ่งเป็นผลให้เกิดสารกลุ่ม methylol, Schiff bases, methylene bridges และ อิมิดาโซลิดโนนแอดดักต์ โดยพื้นฐานแล้ว

ฟอร์มาลดีไฮด์อิสระมีความน่าสนใจทางด้านพิษวิทยา และเป็นสารประกอบที่ตรวจวัดว่าเป็นสารเจือปนที่อาจเกิดขึ้นได้ [14, 15]

สารฟอร์มาลดีไฮด์มีการตรวจวัดวิเคราะห์ได้ในหลายเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดในอาหาร เช่น สเปกโทรโฟโตเมตรี (Spectrophotometry) โครมาโทกราฟี (Chromatography) ฟลูออโรเมตรี (Fluorometry) จมูกอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic nose; E-nose) ไบโอสเซนเซอร์ (Biosensor) และการตรวจคัดกรองด้วยชุดทดสอบ (Screening test kits) เป็นต้น แบ่งการตรวจวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารได้ 2 เป็น 2 ลักษณะคือ การใช้ชุดตรวจสอบสำหรับทดสอบอาหารนอกห้องปฏิบัติการ เป็นวิธีการตรวจวัดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อิสระที่เติมเพื่อวัตถุประสงค์อื่น ไม่ได้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และการตรวจหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดจากธรรมชาติและรวมทั้งการเติมลงไป เพื่อให้ได้ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ทั้งหมดอย่างแน่ชัด

การวิเคราะห์ 2 ลักษณะดังกล่าวมีรูปแบบการสกัดที่แตกต่างกัน วิธีการสกัดจะส่งผลต่อการตรวจวัดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่มาจากแหล่งที่มาต่างกัน เช่น การสกัดตัวอย่างอาหารที่จะนำไปหาฟอร์มาลดีไฮด์ในรูปแบบอิสระ จะดำเนินการสกัดตัวตัวอย่างทำลาย ด้วยเทคนิคคลื่นความถี่สูง หรือการเขย่า เพื่อให้ฟอร์มาลดีไฮด์ละลายและแยกตัวออกมาจากตัวอย่างมาสู่ตัวทำลาย ส่วนวิธีการสกัดที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีทั้งหมดจะนิยมใช้วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด สามารถสกัดฟอร์มาลดีไฮด์ได้ทั้งรูปแบบอิสระและฟอร์มาลดีไฮด์ที่รวมกับสารอื่น เรียกว่าฟอร์มาลดีไฮด์ทั้งหมด (total formaldehyde) วิธีการสกัดมีความสำคัญที่จะบ่งบอกและบอกถึงที่มาของฟอร์มาลดีไฮด์ที่ตรวจวัดได้

## 2.6.1 วิธีวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร

การวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารสามารถทำได้หลายวิธี อาศัยเทคนิคที่ต่างกัน ในแต่ละวิธี มีความเหมาะสมต่อสถานที่ทำการทดลองและชนิดของตัวอย่าง ข้อดี ข้อเสีย ความถูกต้องแม่นยำ ต่างกันไป สามารถจำแนกเทคนิคและวิธีการที่ใช้ ในการวิเคราะห์ได้ดังนี้

### 2.6.1.1 สเปกโทรโฟโตเมตรี (Spectrophotometry)

เป็นเทคนิคที่อาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างฟอร์มาลดีไฮด์กับรีเอเจนต์ที่มีความจำเพาะ ได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ที่สามารถทำการวัดค่าความยาวคลื่นจำเพาะของสารนั้น ซึ่งความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์นี้จะแปรผันไปตามความเข้มข้นของปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์

### 1. Nash method

เป็นวิธีที่ค้นพบด้วย Nash ตั้งแต่ปี 1953 เป็นปฏิกิริยา Hantzsch ระหว่างอะเซติลอะซิโตน (acetyl acetone) แอมโมเนีย และฟอร์มัลดีไฮด์ภายใต้สภาวะการให้ความร้อนเพื่อเร่งปฏิกิริยา ได้เป็น 3,5-ไดอะซิetyl-1,4-ไดไฮโดรลูติดีน (3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine) และวัดปริมาณที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร (nm) ซึ่งปฏิกิริยาจะสมบูรณ์ด้วยการปรับกรด-ด่าง โดยแอมโมเนียม อะซิเตต (ammonium acetate) พร้อมกับการให้ความร้อนควบคู่ไปด้วย เพิ่มความไวของการวิเคราะห์ได้ด้วยการวัดฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัม (fluorescence spectrum) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความไวในการตรวจวัด มีความจำเพาะ และสภาวะการทดลองที่ไม่รุนแรง ค่าใช้จ่ายไม่สูง เป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับ ข้อเสียคือ จำเป็นต้องให้ความร้อนช่วยในการเกิดปฏิกิริยา การใช้เวลาในการวิเคราะห์ เป็นวิธีที่นิยมไปพัฒนาเป็นการวิเคราะห์ที่ใช้ในภาคสนาม [16, 17]

### 2. 4-Amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazol(AHMT) method

เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่าง AHMT กับ ฟอร์มัลดีไฮด์ที่ได้จากการสกัดตัวอย่าง เกิดขึ้นในสภาวะที่มีความเป็นด่างเข้มข้น ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีสีม่วงมีความยาวคลื่นจำเพาะที่ 550 นาโนเมตร การวิเคราะห์ด้วยเทคนิควิธีนี้มีความไวในการตรวจวัดที่ระดับความเข้มข้นต่ำเป็นส่วนในล้านส่วน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม/ลิตร) มีความถูกต้องแม่นยำ เป็นที่ยอมรับ วิธีการวิเคราะห์นี้มักถูกนำไปใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ทั่วไปในอาหาร และอาหารทะเล ข้อเสียคือในการเกิดปฏิกิริยาจำเป็นต้องทำในสภาวะที่มีความเป็นด่างเข้มข้น และมีสารคาร์บอนเนตเกิดขึ้น [18, 19]

### 3. Kinetic spectrophotometric method

เป็นวิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตรีซึ่งทำการวัดผลของการเร่งปฏิกิริยา (catalytic effect) จากการเข้าทำปฏิกิริยากันระหว่างสารที่ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสี หรือไม่มีก็ได้ ข้อดีคือวิธีนี้ช่วยเพิ่มความไวและความจำเพาะของการวิเคราะห์ เช่น การทำปฏิกิริยากันของโรดามีน บี (Rhodamine B; RhB) กับโพแทสเซียม โบรมेट (potassium bromate) ซึ่งจะมีฟอร์มัลดีไฮด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้นใช้วิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตรีตรวจวัดและติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารจากสีม่วงไปจนถึงไม่มีสี ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร [8, 20]

### 2.6.1.2 โครมาโทกราฟี (Chromatography)

หลักการของโครมาโทกราฟีเป็นการแยกฟอร์มัลดีไฮด์ หรือสารอนุพันธ์ ออกจากส่วนผสมอื่นให้บริสุทธิ์ด้วยสารนำพาที่สามารถเคลื่อนที่ไปบนวัฏภาคหนึ่งและตรวจวัดด้วย เครื่องมือวัด (detector) มีเหมาะสมกับสารที่แยกออกมา ซึ่งมีหลายเทคนิคตัวอย่างเช่น

#### 1. ไฮเพอร์ฟอร์แมนลิวิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography; HPLC)

วิธี HPLC จะใช้การกลั่นและการเปลี่ยนรูปของฟอร์มัลดีไฮด์ใน กระบวนการทำให้เกิดสารอนุพันธ์ (derivatization) ซึ่งจะใช้ 2,4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดราซีน (2,4-Dinitrophenylhydrazine; 2,4-DNPH) ทำการแยกสารอนุพันธ์ด้วย HPLC ตรวจวัดด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 355 นาโนเมตร วิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจงสูง มีความไวในการตรวจวัด และมีความความแม่นยำ ตัวอย่างที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์เช่น กลุ่มอาหารทะเล สามารถตรวจวัด ได้ที่ความเข้มข้นในระดับส่วนในพันล้านส่วนไปจนถึงความเข้มข้นสูงที่ระดับส่วนในล้านส่วน ข้อเสีย คือ 2,4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดราซีนสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารประเภทอัลดีไฮด์ และคีโตนได้ในระดับที่ดี ด้วยเช่นกัน มีการใช้เวลากว่า 1 ชั่วโมง ในกระบวนการทำให้เกิดสารอนุพันธ์ [8]

#### 2. โซลิตเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน-แก๊สโครมาโทกราฟี (Solid Phase Microextraction (SPME)-GC-MS)

วิธีวิเคราะห์นี้อาศัยความสามารถของวัสดุไฟเบอร์ชนิดพิเศษที่มีความสามารถในการดักจับฟอร์มัลดีไฮด์ จากนั้นทำให้เข้มข้นขึ้น และทำให้เกิดสารอนุพันธ์ได้ต่อเนื่อง ในขั้นตอนเดียว โดยใช้เพนตะฟลูออโรเบนซิลไฮดรอกซิลลามีน ไฮโดรคลอไรด์ (Pentafluorobenzylhydroxylamine Hydrochloride; PFBHA) จากนั้นทำการแยกสารอนุพันธ์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี และตรวจวัดด้วยเครื่องมือ แมส ดีเทคเตอร์ (Mass detector) ข้อดีของวิธีนี้ คือ มีความไวต่อปฏิกิริยาสูง วิเคราะห์ได้อย่างต่อเนื่อง ใช้เวลาน้อย วิเคราะห์สารที่ความเข้มข้นต่ำระดับส่วนในพันล้านส่วนได้ ข้อเสียคือ วิธีนี้จำเป็นต้องใช้เครื่องมือและวัสดุที่มีราคาสูง [8]

### 2.6.1.3 ฟลูออโรเมตรี (Fluorometry)

วิธีฟลูออโรเมตรีอาศัยการทำงานของเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (fluorometer) ในการตรวจวัดอย่างต่อเนื่อง ภายหลังจากที่ฟอร์มาลดีไฮด์เกิดปฏิกิริยากับสารเคมี เช่น อะซิโตะอะซิตา นิไลด์ (acetoacetanilide; AAA), 4-อะมิโน-3-เพนเทน-2-1 (ฟลูอออรอล-พี) (4-amino-3-pentene-2-1(Fluoral-P)), 1,3-ไซโคลเฮกเซนไดโอน (ซีเอชดี) (1,3-cyclohexanedione (CHD)), 5,5-ไดเมทิล-1,3-ไซโคลเฮกเซนไดโอน ไดมิโดน (5,5-dimethyl-1,3-cyclohexanedione dimedone) และ 2,4-เพนเทนไดโอน (อะซิโตะอะซิโตน) (2,4-pentanedione (acetylacetone)) ข้อดีคือ เมื่อเทียบกับเครื่อง spectrophotometer แล้วถือว่ามีควมไวในการวิเคราะห์ที่สูงกว่า แต่ข้อเสียคือ เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์มีราคาสูง [8]

### 2.6.1.4 การตรวจคัดกรอง (Screening test)

เป็นการตรวจวัดที่สามารถทราบผลได้เร็วด้วยการใช้ชุดทดสอบ (test kits) การวิเคราะห์เป็นการติดตามผลการเปลี่ยนแปลงสีของสารเคมีหลังจากเกิดปฏิกิริยากับฟอร์มาลดีไฮด์ แล้วนำผลมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อแปรเป็นปริมาณที่ตรวจพบ มีอยู่หลากหลายเทคนิค ยกตัวอย่าง เช่น เทคนิคคัลเลอร์ิเมตรี (Colorimetry) วิธีนี้มีความไวที่ไม่สูงมากนัก มักถูกรบกวนด้วยแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในอาหาร สารที่ใช้ทำปฏิกิริยาเป็นสารในกลุ่ม Chromogenic agents ที่เกิดสีได้หลังจากเกิดปฏิกิริยาเคมี เช่น 3-เมทิล-2-เบนโซไทอาโซลอนไฮดราโซน (3-methyl-2-benzothiazolonehydrazone; MBTH) เป็นสารที่มีราคาสูง การนำไปใช้กับตัวอย่างที่เป็นแก๊สจะใช้ 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,3-triazol ในการทำให้เกิดสี แต่มักถูกรบกวนได้ง่ายจากสารในกลุ่มอัลดีไฮด์ความไวของวิธีนี้จึงไม่สูงมากนัก ข้อดีคือเกิดปฏิกิริยาได้เร็ว ประหยัดเวลาในการวิเคราะห์ [8]

## 2.6.2 การเตรียมตัวอย่าง

การสกัดฟอร์มาลดีไฮด์จากตัวอย่างเป็นวิธีที่สำคัญ เพราะอาจส่งผลต่อการวิเคราะห์ ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารที่ถูกต้อง รูปแบบของฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารมีทั้งในรูปอิสระและรวมกับสารอื่น เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก กรดอะมิโน เอมีน ครีเอติน และนิวคลีโอไทด์ โดยพันธะเคมี 3 ชนิด คือ reversible bond, acid-labile bond, acid-resistant bond ซึ่งจะแยกการตรวจวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ได้ 2 แบบ คือ การตรวจฟอร์มาลดีไฮด์ในรูปอิสระ และการตรวจฟอร์มาลดีไฮด์ที่รวม

กับสารอื่นและรูปแบบอิสระ จะเห็นได้ว่าจุดประสงค์ในการตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารจะมีผลต่อการเลือกวิธีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถแยกตามรายละเอียดได้ดังนี้

#### 2.6.2.1. การวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ

การเตรียมตัวอย่างจะทำการสกัดฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยตัวทำละลาย เช่น น้ำหรือสารละลายกรด ผ่านการเขย่า หรือใช้เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่สูง (sonicate) ในการแยกฟอร์มาลดีไฮด์จากอาหารให้ละลายเข้าสู่ตัวทำละลาย ฟอร์มาลดีไฮด์ที่สกัดออกมาแล้วจะถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีที่เหมาะสมต่อไป วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีนี้มีข้อเสียคือ มีสารรบกวนอยู่มากส่งผลกระทบต่อวิเคราะห์

#### 2.6.2.2. การวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ทั้งหมด

เป็นการเตรียมตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ทั้งหมดในอาหาร ทั้งในรูปอิสระและฟอร์มาลดีไฮด์ที่รวมกับสารอื่น โดยอาศัยหลักการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ฟอร์มาลดีไฮด์ทั้ง 2 รูปแบบจะถูกแยกออกจากตัวอย่างและละลายสู่ตัวทำละลาย นำฟอร์มาลดีไฮด์ที่สกัดออกมาแล้วไปวิเคราะห์ด้วยวิธีการที่เหมาะสมต่อไป วิธีการกลั่นสามารถลดปริมาณสารรบกวนได้ดี ข้อเสียคือ ใช้เวลาในการกลั่นเป็นเวลานานเพื่อที่จะแยกฟอร์มาลดีไฮด์ที่รวมอยู่กับสารอื่นให้ออกมา [8]

## 2.7 ข้อมูลการตรวจพบสารฟอร์มาลีน ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร

ตารางที่ 2.4 ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่พบในอาหารประเภทต่าง ๆ [8, 21, 22]

ผลิตภัณฑ์อาหาร	ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	ผลิตภัณฑ์ที่พบสูงสุด
เนื้อสัตว์ (เนื้อทำแซนวิช เนื้อตัดเย็น แฮม ไส้กรอก แฮมรมควัน)	2.5-267	แฮมรมควัน
นมและผลิตภัณฑ์นม (นมแพะ นมวัว นมสด นมปรุงแต่ง ชีส)	0.041-3.3	ชีส
อาหารทะเล - ปลา - กุ้ง กุ้ง ปู - หมึกสด - หมึกแห้งฉีก	6.4-293 1-98 0.26-19.7 0-169.6	ปลาทะเลน้ำลึกแช่แข็ง (deep frozen hake)
ผลไม้และผัก (แอปเปิ้ล แครอท แตงโม แอปปริคอต มะเขือเทศ กล้วย มันฝรั่ง กะหล่ำปลี บัทรูท ลูก แพร์ หัวหอม ผักกาดหัว เห็ดชิตา เกะ)	6.3-406	เห็ดชิตาเกะ (เห็ดหอม)
กาแฟ (กาแฟพร้อมดื่ม กาแฟผงสำเร็จรูป)	3.4-16.3	กาแฟผงสำเร็จรูป
เครื่องดื่ม (ผสมแอลกอฮอล์ ไม่ผสม แอลกอฮอล์ เบียร์)	0.02-8.7	เครื่องดื่มไม่ผสมแอลกอฮอล์ (soft drink)
น้ำตาลและสารให้ความหวาน	0.75	

## 2.8 แอนโทไซยานิน [23, 24]

แอนโทไซยานินเป็นฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง (ฟีนอลิกไฟโตเคมีคอล) ซึ่งเป็นสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิของพืชชนิดหนึ่ง แอนโทไซยานินอยู่ในตระกูลฟลาโวนอยด์ แต่มีรูปแบบของฟลาโวนิลิโพรเพอร์ซึ่งทำให้พวกมันแตกต่างจากฟลาโวนอยด์ประเภทอื่น แอนโทไซยานินโดยทั่วไปไม่มีกลิ่น และมีรสฝาด เม็ดสีแอนโทไซยานินส่วนใหญ่เป็นตัวแทนของดอกไม้และผลไม้ของพืชบางชนิด เช่น สีส้ม สีฟ้า สีม่วง สีชมพู และสีแดง สีแอนโทไซยานินได้รับผลกระทบอย่างมากจากโครงสร้าง ค่า pH, อุณหภูมิ, เอนไซม์, รังสียูวี, เม็ดสีร่วมและการมีอยู่ของออกซิเจน แอนโทไซยานินมีหลากหลายสี เช่น แคลมอน-ชมพู, แดง, ม่วง, น้ำเงิน ขึ้นอยู่กับ pH

แอนโทไซยานินเป็นสีผสมอาหารธรรมชาติที่ละลายน้ำได้ โดยมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 400–1,200 แอนโทไซยานินมีขั้ว ดังนั้นจึงสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น เมทานอล เอทานอล และน้ำ รูปแบบทางเคมีของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับไกลโคไซด์ของเกลือฟลาโวนิลิเนียม (2-phenyl benzo pyrylium) แต่มีความแตกต่างทางโครงสร้างในจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล ระดับของเมทิลเลชันของหมู่ไฮดรอกซิล และลักษณะและจำนวนของมอยอิตีน้ำตาลที่ติดอยู่กับโมเลกุล โครงสร้างของแอนโทไซยานินยังแตกต่างกันไปตามตำแหน่ง ธรรมชาติ และจำนวนของกรดอะลิฟาติกหรืออะโรมาติกที่ติดอยู่กับน้ำตาล โดยทั่วไป แอนโทไซยานินจะมีกลูโคไซด์เพียงหน่วยเดียว แต่มีสารแอนโทไซยานินหลายชนิดที่มีน้ำตาลติดอยู่ตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป ที่หลายตำแหน่งหรือติดเป็นโซ่ข้างโอลิโกแซ็กคาไรด์ ความเข้มและชนิดของสีของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับ การมีอยู่ของกลุ่มไฮดรอกซิลและเมทอกซิล การปรากฏตัวของกลุ่มไฮดรอกซิลจำนวนมากเปลี่ยนสีเป็นโทนสีน้ำเงิน ในขณะที่การปรากฏตัวของกลุ่มเมทอกซิลมากขึ้นบ่งชี้ว่ามีรอยแดงเพิ่มขึ้น เม็ดสีแอนโทไซยานินประกอบด้วยโครงสร้างไกลโคไซด์ของแอนโทไซยานินและแอนโธไซยานิดิน โดยที่รูปแบบไกลโคไซด์คือแอนโทไซยานิน และอะไกลโคโคน (non-sugar) แสดงถึงแอนโธไซยานิดิน แอนโธไซยานิดินส่วนใหญ่พบในพืช 6 ชนิด เช่น ไซยานิดิน (50%), เดลฟินิดิน (12%), pelargonidin (12%), พีโอนิดิน (12%), มัลวิดิดิน (7%) และพิทูนิดิน (7%) นอกจากนี้ แอนโธไซยานิดินบางชนิดยังเป็นที่รู้จัก เช่น aurantidin, europinidin, luteolinidin, rosinidin เป็นต้น

Cyanidin เป็นเม็ดสีม่วงแดง พบมากในผลเบอร์รี่และผักที่มีสีแดง เช่น ข้าวโพดสีม่วง มันเทศ เป็นต้น Delphinidin เป็นเม็ดสีสีแดงน้ำเงินที่พบในพืช โดยปกติดอกไม้สีฟ้าจะมาจากเม็ดสีนี้ Pelargonidin เป็นเม็ดสีสีแดงส้ม ส่วนใหญ่พบในผลไม้สีแดงและดอกไม้สีส้ม Peonidin เป็นแอนโธไซยานิดินที่มีสารเมทิลเลต มีสีม่วงแดงในสมุนไพร เช่น ผลเบอร์รี่และองุ่น Malvidin เป็นแอนโธไซยานิดินที่มีเมทิลสีม่วง ส่วนใหญ่พบในดอกไม้สีฟ้า เช่น ไวน์เวฟบลูและไวน์แดง Petunidin เป็นแอนโธ

ไฮยานินดินที่มีเมทิลเลตสีแดงเข้มที่ละลายน้ำได้ซึ่งส่วนใหญ่พบในกลีบดอกสีม่วงของดอกไม้และแบล็คเคอร์แรนท์ ความคงตัวของสีของเมดสีแอนโทไซยานินแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของเมดสี pH แสง อุณหภูมิ เม็ดสีร่วม อีออนของโลหะ เอ็นไซม์ ออกซิเจน และโครงสร้างของแอนโธไซยานิน คุณสมบัติเปลี่ยนสีตามค่า pH ของแอนโทไซยานินมาจากธรรมชาติของไอออนิกของแอนโทไซยานิน โดยทั่วไป แอนโทไซยานินจะมีสีแดงในสภาพที่เป็นกรด สีชมพูในสภาพเป็นกลาง และสีน้ำเงินในสภาพด่าง แอนโทไซยานินมีความคงตัวสูงขึ้นภายใต้สภาวะที่เป็นกรดสูงเนื่องจากพื้นฐานของฟลาโวลีเทียมไอออนบวก ซึ่งทำให้แอนโทไซยานินละลายได้ในสารละลายที่เป็นน้ำ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ขึ้นกับค่า pH ของแอนโทไซยานิน ที่ pH ต่ำ แอนโทไซยานินมีอยู่ในรูปของคาร์บินอล ซูโดเบส และโครงสร้างควินโนนอยด์ จากนั้นจึงแปรสภาพเป็นโครงสร้างคาลโคน โมโนไกลโคไซด์และ 3,5-diglycosides โดยทั่วไปมีไกลโคไซด์อยู่ในเมดสีแอนโธไซยานิน และน้ำตาลที่พบโดยทั่วไป ได้แก่ กลูโคส ไซโลส กาแลคโตส แรมโนส อาราบิโนส และรูติโนส นอกจากนี้ แอซิเลชันของโครงสร้างแอนโทไซยานินด้วยกรดอะลิฟาติกและซินนามิกจะเพิ่มความหลากหลายของแอนโทไซยานินที่พบในธรรมชาติ แม้ว่าสาร petanin จะมีความเสถียรที่ pH สูงแต่แอนโทไซยานินส่วนใหญ่จะเริ่มสลายตัวที่ pH สูง ความคงตัวของแอนโธไซยานินขึ้นอยู่กับการมีอยู่ของกลุ่มไฮดรอกซิลและเมทอกซิลเพิ่มเติม โดยที่ pelargonidin เป็นรูปแบบที่เสถียรที่สุดของแอนโธไซยานิน การเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิและการสร้างเมดสี เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าสีของดอกไม้ที่เปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินอันเนื่องมาจากการสร้างสีของแอนโธไซยานินผ่านฟลาโวนอยด์จึงทำให้ความเข้มของสีของดอกไม้ดีขึ้น ความเสถียรของแอนโทไซยานินเป็นที่รู้จักกันว่าได้รับอิทธิพลอย่างมากจากอุณหภูมิ สังเกตได้ว่าสีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีส้มแม้ที่อุณหภูมิเพียง 40 องศาเซลเซียส

## 2.9 หลักการทำงานของเครื่องสแกน [25]

เครื่องสแกน หรือ scanner เป็นอุปกรณ์ที่เชื่อมต่อเข้ากับคอมพิวเตอร์เพื่อทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงภาพต้นฉบับ (รูปภาพ, ภาพวาด, ตัวอักษร) ให้เป็นข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ ข้อมูลเหล่านี้สามารถถูกนำมาดัดแปลง แก้ไข หรือแก้ไขเพิ่มเติม โดยผ่านการเชื่อมต่อเข้ากับคอมพิวเตอร์ที่มีหน้าจอแสดงผล รวมทั้งยังจัดเก็บหรือจัดส่งไปยังอุปกรณ์อื่น ๆ ได้ ความหมายของคำว่าสแกน (scan) หมายถึง กราดตรวจ เครื่องกราดภาพหรือกราดภาพเครื่องสแกน ภาพจะถูกทำการตรวจสอบข้อมูลอย่างละเอียดในลักษณะเชิงอักษร หรือภาพโดยเกิดขึ้นเรียงลำดับทีละส่วน

## 2.9.1 ประเภทของเครื่องสแกน

### 2.9.1.1 Desktop scanner มีลักษณะเป็นแท่นแนวราบ แบ่งเป็น 2 แบบ

1. แบบใส่กระดาษแล้วเลื่อนกระดาษเอง (sheet fed scanner)
2. แบบวางกระดาษแล้วให้หัวสแกนเลื่อนอ่านข้อมูลจากกระดาษ (Flatbed scanner) เครื่องสแกนภาพ Desktop scanner ดังแสดงในรูปที่ 2.1



Sheet fed Scanner [26]



Flatbed Scanner [27]

รูปที่ 2.1 เครื่องสแกนแบบ Desktop scanner

### 2.9.1.2 Handy scanner มีขนาดกะทัดรัดใช้มือถือจับไว้ได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 เครื่องสแกนแบบ Handy scanner [28]

หลักการทำงานของเครื่องสแกนคือ ส่วนอ่านภาพจะทำงานโดยอาศัยหลักการสะท้อนหรือการส่องแสงผ่านของแสงกับภาพต้นฉบับที่มีลักษณะทึบแสงหรือโปร่งแสงให้แสงตกกระทบกับอุปกรณ์ส่วนไวแสง (photosensitive) หรือในทางเทคนิคเรียกว่า Charge-Couple Device (CCD)

อุปกรณ์ CCD นี้ทำหน้าที่รับแสงที่มาจากกระทบเก็บไว้ในเส้นเล็กของเซลล์และทำการแปลงคลื่นแสงของแต่ละเซลล์เล็กหลาย ๆ เซลล์ให้เป็นคลื่นความต่างศักย์ที่มีความแตกต่างกันไปขึ้นกับอัตราส่วนของระดับความเข้มข้นของแสงที่มาจากกระทบในแต่ละเซลล์ ADC : Analog to Digital Converter หรือตัวแปลงสัญญาณอนาล็อกเป็นดิจิทัลเป็นอุปกรณ์ทำหน้าที่แปลงคลื่นความต่างศักย์ให้เป็นข้อมูลที่คอมพิวเตอร์ทั่วไปสามารถเข้าใจเหมือนกัน โปรแกรมในการอ่านจะเป็นส่วนควบคุมการทำงานของเครื่องอ่านภาพให้รับข้อมูลเข้าและจัดเก็บข้อมูลในแหล่งจัดเก็บแฟ้มข้อมูลภาพของระบบคอมพิวเตอร์ต่อไป

### 2.9.2 ภาพจากการสแกน

ภาพที่แสดงบนจอคอมพิวเตอร์จะอยู่ในรูปแบบดิจิทัล คอมพิวเตอร์จะแทนชิ้นส่วนเล็ก ๆ ของภาพเรียกว่า พิกเซล (pixels) ขนาดของไฟล์รูปภาพจะมีส่วนประกอบที่เป็นพิกเซลเล็ก ๆ จำนวนมากเป็นร้อยเป็นพัน คอมพิวเตอร์ทำการประมวลผลและบันทึกค่าความเข้มและสีของพิกเซลด้วยจำนวน 1 บิต หรือจำนวนหลาย ๆ บิต จำนวนพิกเซลจะสัมพันธ์กับความละเอียดของภาพและถ้ามีจำนวนบิตต่อพิกเซลมากที่สุดได้จะมากตามไปด้วย ลักษณะการเก็บข้อมูลมีหลายระบบ เช่น 1, 8 และ 24 บิต ในกรณี ข้อมูลแบบ 1 บิต จะใช้สำหรับเก็บข้อมูลต่อพิกเซล 2 สถานะ คือ 1 และ 0 ซึ่งเป็นการแสดงผลออกมาได้เพียงสีขาวและดำ แต่ในกรณี 8 บิต มีการแบ่งระบบความแตกต่างของสีได้ 256 ระดับ โดยทั่วไปปกติแล้วสายตามนุษย์มีความสามารถมองเห็นสีได้ต่างไปจากเทคนิคการรวมแม่สี หรือที่เรียกว่า dithering ภาพที่คนและคอมพิวเตอร์มองเห็นจึงแตกต่างกัน ในกรณีระบบ 24 บิต ส่งผลต่อภาพให้สามารถแสดงสีได้ใกล้เคียงกับความจริงมากที่สุด เรียกว่า photo-realistic โดยในระบบ 24 บิต จะเป็นออกเป็น 3 ส่วน คือ แดง เขียว น้ำเงิน ส่วนละ 8 บิต เมื่อนำทั้ง 3 ส่วนรวมเข้าด้วยกันแล้วจึงจะสามารถแสดงสีที่แตกต่างกันออกไปได้ถึง 16.7 ล้านสี

### 2.9.3 การทำงานของเครื่องสแกน

เครื่องสแกนมีส่วนประกอบที่สำคัญคือแหล่งกำเนิดแสง (light source) ซึ่งมีหน้าที่ให้กำเนิดแสงและฉายแสงไปที่กระดาษซึ่งวางอยู่บนพื้นผิวกระจก ฝาปิดที่มีลักษณะเป็นแผ่นเรียบสีขาวจะช่วยให้การสะท้อนแสงเกิดขึ้นได้ดี หลังจากเครื่องสแกนได้รับคำสั่งให้เริ่มทำงาน ไฟฟ้าของขั้วดันมอเตอร์ทำงานขยับและเคลื่อนหัวสแกนผ่านใต้กระดาษดังกล่าว ในระหว่างเคลื่อนที่หัวสแกนจะทำหน้าที่ดักจับแสงที่สะท้อนกลับมาจากแต่ละพื้นที่ของกระดาษหรือประมาณ  $1/90,000$  ตารางนิ้ว แสงจากกระดาษจะสะท้อนผ่านระบบกระจกส่งผลให้แสงเกิดการเดินทางไปในทิศทางที่เหมาะสมไปสู่

เลนส์ เลนส์ทำหน้าที่รวบรวมเอาแสงที่รับได้ส่งผ่านไปสู่อะแดปเตอร์ เพื่อประมวลแปลงข้อมูลแสงเหล่านี้ให้ออกมาในรูปของกระแสไฟฟ้า กรณีเมื่อแสงผ่านมายังไดโอดมากปริมาณของกระแสไฟฟ้าที่ได้ก็จะมากขึ้นตามไปด้วย ถ้าหากเป็นกรณีของเครื่องสแกนแบบสีแสงที่สะท้อนนี้จะผ่านมายังที่ฟิลเตอร์แดง เขียว หรือน้ำเงินซึ่งจะอยู่บริเวณหน้าไดโอด ADC ทำหน้าที่เก็บข้อมูลแบบอนาล็อกในแต่ละส่วนนี้ไว้ ข้อมูลในแต่ละส่วนเหล่านี้เรียกว่า พิกเซล จำนวนพิกเซลในพื้นที่ความยาวหนึ่งนิ้วจะมีประมาณ 300 – 1,200 พิกเซล ในการเครื่องที่ของเครื่องสแกนบางรุ่นบางประเภทตัวกระดาษจะอยู่กับที่แต่สิ่งที่เคลื่อนไปคือส่วนของหัวสแกน แต่ในกรณีเครื่องสแกนระดับสูงนั้น หัวอ่านจะถูกตรึงอยู่กับที่แต่จะมีตัวหมุนเข้ามาช่วยทำให้กระดาษที่เข้าไปให้เคลื่อนที่ จากกรณีการทำงานของเครื่องสแกนรุ่นนี้จะทำให้ได้คุณภาพของภาพจากเครื่องสแกนมีคุณภาพที่สูงกว่า

## 2.10 ระบบสี (Color System) [29]

ระบบสีที่เป็นที่นิยมใช้งานในปัจจุบันมีอยู่หลายระบบ การนำไปใช้งานจะคำนึงถึงความเหมาะสมในแต่ละงานที่แตกต่างกัน โดยปกติทั่วไประบบสีมีแนวความคิดที่เหมือนกันคือ จุดที่อยู่ในพื้นที่ว่างสามมิติจะถูกแทนด้วยจุดสี ซึ่งแต่ละจุดในพื้นที่ว่างจะมีแกนอ้างอิง แต่ละแกนล้วนแล้วแต่มีความเป็นอิสระต่อกัน ตัวอย่างที่จะกล่าวถึงเช่นในระบบ RGB มีแกนสี ได้แก่ แกนสีแดง แกนสีเขียว และแกนสีน้ำเงิน ต่างกันกับในระบบ HSV จะมีแกนเป็นค่าสี หรือ hue คือความบริสุทธิ์ของสี (saturation) และแกนความสว่างสี (value)

ปกติทั่วไปแล้วระบบสีหรือระบบการแทนค่าสีถูกใช้ในงานกราฟิกคอมพิวเตอร์เป็นหลัก ระบบสีที่มักถูกนำไปใช้ ส่วนใหญ่ประกอบไปด้วย 4 ระบบสีด้วยกัน คือ RGB, CMYK, HSV, และ Lab การทำงานในแต่ละระบบจะมีความแตกต่างกันดังนี้

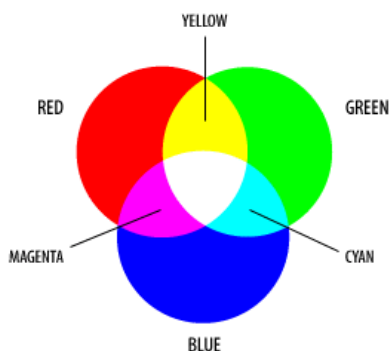
### 2.10.1 ระบบสี RGB

ระบบสี RGB เป็นระบบสีที่เกี่ยวข้องกับของแสง ซึ่งเกิดจากการหักเหของแสงผ่านแท่งแก้วปริซึมเกิดเป็นแถบสี ที่เรียกว่าสเปกตรัม (spectrum) สามารถแยกสีตามการมองเห็นได้ 7 สี คือ แดง แสด เหลือง เขียว น้ำเงิน คราม ม่วง สีแต่ละสีเกี่ยวข้องกับพลังงานที่แตกต่างกันในรูปแบบของรังสี ช่วงความยาวคลื่นที่ต่างกันส่งผลต่อสายตามองเห็นได้ต่างกัน แสงสีม่วงมีความถี่คลื่นสูงสุด คลื่นแสงที่มีความถี่สูงกว่าแสงสีม่วงเรียกว่า แสงอัลตราไวโอเล็ต (ultra violet) และคลื่นแสงสีแดงมีความถี่ต่ำที่สุด คลื่นแสงที่ต่ำกว่าแสงสีแดงเรียกว่า อินฟราเรด (Infrared) คลื่นแสงที่มีความถี่สูงกว่าสี

ม่วงและต่ำกว่าสีแดงจะมีผลให้สายตาของมนุษย์จะไม่สามารถรับรู้ได้ เมื่อดูจากผลการศึกษาก็พบว่าแสงสีทั้งหมดเกิดได้จากแสงสีหลัก ๆ 3 สี คือ สีแดง สีน้ำเงิน และสีเขียว ในสัดส่วนที่มีความเข้มข้นแต่ละแสงสีแตกต่างกันไป เมื่อนำมาผสมทำกันทำให้เกิดสีอื่นได้มากมาย ดังเช่นเดียวกันกับบนจอคอมพิวเตอร์สามารถพบสีได้มากถึง 16.7 ล้านสี ซึ่งใกล้เคียงกับสีที่ตาเรารับรู้ได้ในยามเวลาปกติ และจุดที่มีสีทั้งสามสีรวมกันจะกลายเป็นสีขาว นิยมเรียกการผสมสีเช่นนี้ว่า “Additive” หรือการผสมสีแบบบวก ซึ่งเป็นการผสมสีขั้นที่ 1 หรือ นำเอา Red Green Blue มาผสมครั้งละ 2 สี ก็จะทำให้สีเกิดใหม่ เช่น

Blue	+	Green	=	Cyan
Red	+	Blue	=	Magenta
Red	+	Green	=	Yellow

แสงสี RGB ถูกนำมาใช้เกี่ยวกับการส่องสว่างบนจอทีวีและจอแสดงผลคอมพิวเตอร์ เป็นการสร้างจากการให้กำเนิดแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ทำให้สีดูสว่างกว่าความเป็นจริง ระบบสี RGB แสดงในรูปที่ 2.3

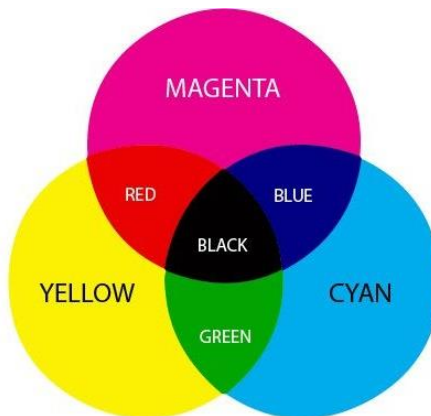


รูปที่ 2.3 แสดงระบบสี RGB [30]

### 2.10.2 ระบบสี CMYK

เป็นระบบสีที่นิยมใช้ในสื่อสิ่งพิมพ์และเครื่องพิมพ์ ประกอบด้วยสีพื้นฐาน คือ สีฟ้า (Cyan), สีม่วงแดง (Magenta), สีเหลือง (Yellow) และสีดำ (Black) เกิดขึ้นจากการนำทั้งสามสีมาผสมกัน แต่จะไม่ดำสนิทเนื่องจากหมึกพิมพ์มีความไม่บริสุทธิ์ โดยเรียกการผสมสีทั้ง 3 สีเช่นนี้ว่า “Subtractive Color” หรือการผสมสีแบบลบ หลักการเกิดสีของระบบสีชนิดนี้คือ หมึกสีหนึ่งจะดูดกลืนสีจากสีหนึ่งแล้วสะท้อนกลับออกมาเป็นสีต่าง ๆ เช่น สีดูดกลืนสีจากสีหนึ่งแล้วสะท้อนกลับ

ออกมาเป็นสีต่าง ๆ เช่น สีฟ้าดูตลกสิ้นสีม่วงและสะท้อนออกมาเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งจะสังเกตได้ว่าสีที่สะท้อนออกมานั้นจะเป็นสีหลักของระบบ RGB นั่นเอง การเกิดสีแบบนี้ในระบบนี้จึงตรงข้ามกับการเกิดสีในระบบ RGB ระบบสี CMYK แสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงระบบสี CMYK [31]

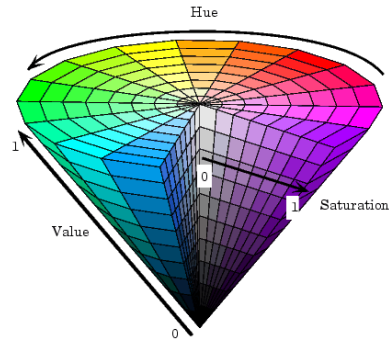
### 2.10.3 ระบบสี HSV

เป็นระบบสีพื้นฐานในการมองเห็นสีในธรรมชาติของมนุษย์ ประกอบด้วยสี 3 ลักษณะคือ

1. Hue คือ สีต่าง ๆ ที่สะท้อนออกมาจากวัตถุแล้วเดินมาเข้าสู่สายตาเรา ทำให้เราสามารถมองเห็นวัตถุเป็นสีต่าง ๆ ได้ แต่ละสีจะมีความแตกต่างกันตามความยาวของคลื่นแสงที่มากกระทบวัตถุและสะท้อนกลับมาที่ดวงตาของเรา Hue มักถูกวัดโดยตำแหน่งการแสดงสีบน Standard Color Wheel ซึ่งถูกแทนที่ด้วยองศาจาก 0 ถึง 360 องศา สามารถแทนให้อยู่ในอยู่รูปขององศาได้คือ สีแดง เท่ากับ 0 องศา สีเขียวเท่ากับ 120 องศา และสีน้ำเงิน เท่ากับ 240 องศา

2. Saturation คือ ความสดหรือความอึมของสี โดยค่าความสดของสีนี้จะเริ่มต้นที่ 0 ไปจนถึง 100 ความสดของสีจะน้อยสุดที่ค่าเท่ากับ 0 และมีค่าความสดสูงสุดที่ค่าเท่ากับ 100 ถ้าถูกวัดโดยตำแหน่งบน Standard Color Wheel ค่า Saturation จะเพิ่มขึ้นจากจุดกึ่งกลางจนถึงเส้นขอบ โดยค่าที่เส้นขอบจะมีสีที่ชัดเจนและอึมตัวที่สุด

3. Value คือ ระดับความสว่างและความมืดของสี โดยค่าความสว่างของสีจะกำหนดในช่วงตั้งแต่ 0 ไปจนถึง 100 ค่าความสว่างจะน้อยสุดที่ค่าเท่ากับ 0 จะเห็นเป็นสีดำ และมีค่าความสว่างสูงสุดที่ค่าเท่ากับ 100 สีจะมีความสว่างมากระบบสี HSV แสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 แสดงระบบสี HSV [32]

#### 2.10.4 ระบบ LAB

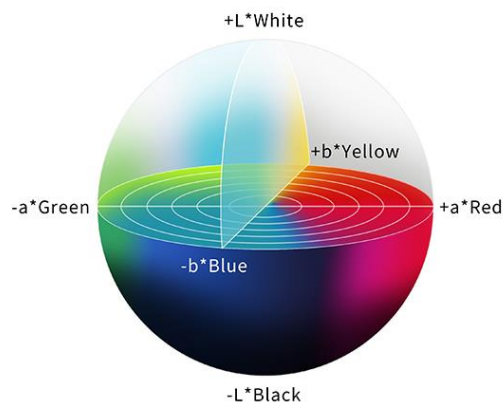
ระบบสีแบบ LAB เป็นระบบค่าสีที่ถูุกำหนดขึ้นจาก CIE (Commission Internationale d' Eclairirage) เพื่อให้เป็นสีมาตรฐานกลางของการวัดสีทุกรูปแบบ ครอบคลุมทุกสีในระบบ RGB และ CMYK และใช้ได้กับสีที่เกิดจากอุปกรณ์ทุกอย่างไม่ว่าจะเป็นจอคอมพิวเตอร์ เครื่องพิมพ์ เครื่องสแกนและอื่น ๆ ส่วนประกอบของระบบสีนี้ได้แก่

L หรือ Luminance เป็นการกำหนดความสว่างซึ่งมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 เมื่อแทนค่าเป็น 0 จะได้เป็นสีดำ หากแทนค่าเป็น 100 จะได้เป็นสีขาว

A เป็นค่าของสีที่ไล่จากสีเขียวไปสีแดง

B เป็นค่าของสีที่ไล่จากสีน้ำเงินไปสีเหลือง

ระบบสี LAB แสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แสดงระบบสี LAB [33]

## 2.11 การประมวลผลภาพ (Image Processing) [34]

การประมวลผลภาพ (Image Processing) หมายถึง การนำเอาภาพมาเข้าสู่การประมวลผล หรือผ่านการคำนวณจากคอมพิวเตอร์ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ต้องการทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ มีขั้นตอนสำคัญ ๆ คือ การทำให้ภาพมีความคมชัดมากขึ้น การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพการ แบ่งส่วนของวัตถุที่สนใจออกมาจากภาพ เพื่อนำภาพวัตถุที่ได้ไปวิเคราะห์หาข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น ขนาด รูปร่าง และทิศทางการเคลื่อนที่ของวัตถุในภาพ จากนั้นนำข้อมูลเชิงปริมาณเหล่านี้ไปวิเคราะห์ เพื่อสร้างเป็นระบบ และเพื่อใช้ประโยชน์ในงานด้านอื่น ๆ โดยหนึ่งในขั้นตอนของการประมวลผลภาพ คือ การประมวลผลสีของภาพซึ่งจะใช้ระบบสี (Color Model) ในการประมวลผลภาพ

เมื่อหลายสิบปีมาแล้ว การประมวลผลภาพนั้น จะอยู่ในรูปของการประมวลผลสัญญาณอนาล็อก (analog) โดยใช้อุปกรณ์ปรับแต่งแสง (optics) ซึ่งวิธีเหล่านั้นก็ไม่ได้หายสาบสูญ หรือเลิกใช้ไป แต่คงยังมีใช้เป็นส่วนสำคัญ สำหรับการประยุกต์ใช้งานบางอย่าง เช่น ฮอโลกราฟี (holography) แต่เพราะด้วยราคาอุปกรณ์คอมพิวเตอร์ในปัจจุบันมีราคาถูกลงอย่างมาก และประสิทธิภาพความเร็วในการประมวลผลไวขึ้น การประมวลผลด้านการแสดงภาพดิจิทัล (digital image processing) จึงได้รับความนิยมมากกว่าเพราะการประมวลผลที่ได้ซับซ้อนขึ้น แม่นยำ และง่ายในการลงมือปฏิบัติ ยกตัวอย่างการนำภาพมาเปลี่ยนแปลงเป็นข้อมูลดิจิทัล ตัวอย่างเช่น ในระบบตรวจสอบกระดาษคำตอบ ระบบตรวจจับใบหน้าในกล้องดิจิทัล ระบบอ่านบาร์โค้ด ระบบตรวจจับความเคลื่อนไหวเพื่อการรักษาความปลอดภัย เป็นต้น

## 2.12 งานวิจัยเกี่ยวกับการตรวจฟอร์มมาลดีไฮด์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ [35] ได้ผลิตชุดทดสอบฟอร์มมาลดีไฮด์ที่พบในอาหารที่รวดเร็วสะดวกต่อการตรวจวัดภายในชุดอุปกรณ์ดังกล่าวประกอบด้วยสารเคมีสำหรับการทดสอบที่สำคัญ 3 ชนิด และหลอดสำหรับใช้บรรจุของเหลวที่แช่อาหาร โดยชุดน้ำยาที่ 1 ได้แก่สารละลายฟีนอลไฮดราซีนไฮโดรเจนคลอไรด์ ชุดน้ำยาที่ 2 ได้แก่ สารละลายโพแทสเซียมเฮกซะไซไดร์ยานิเฟอร์เรตและน้ำยาชุดที่ 3 ได้แก่ สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น วิธีการตรวจสอบจัดทำขึ้นด้วยวิธีที่ง่ายพร้อมแนบมากับชุดทดสอบ ซึ่งการทดสอบระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจได้คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้รายงานผลการตรวจสอบอาหารในตลาดสดของกรุงเทพมหานครจำนวน 48 ตัวอย่าง พบว่ามีฟอร์มมาลีนในปลาหมึกกรอบส่วนประกอบในถ้วยเดียว

เย็นตาโฟจำนวน 2 ตัวอย่าง (จากทั้งหมดกลุ่ม 6 ตัวอย่าง) ผ่าซีรีว้าว จำนวน 3 ตัวอย่าง (ทั้งหมดกลุ่ม จาก 4 ตัวอย่าง)

British Standard DD CEN/TS 13130-23 [36] เป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีการแพร่ออกมาจากผลิตภัณฑ์ยางสังเคราะห์และยางธรรมชาติภายใต้สภาวะทดสอบ migration ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ขั้นตอนจะเกิดขึ้นจากฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำทำปฏิกิริยากับอะซีติลอะซีโตนได้เป็นไดเมทิลไพริดีน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ต่อด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 413 นาโนเมตร วัดปริมาณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

A. N. Ramdzan และคณะ [37] ได้พัฒนาและนำเสนออุปกรณ์ไมโครแพด ( $\mu$ PAD) ที่พัฒนาสำหรับการตรวจวัดอัลดีไฮด์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำลาย สารดังกล่าวเป็นสารที่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงการเกิดโรคมะเร็ง ผู้วิจัยจึงได้เลือกปฏิกิริยาที่ขึ้นอยู่กับการเกิดสีระหว่างอัลดีไฮด์, 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone (MBTH) และ iron(III) ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็น formazan dye เป็นสารสีน้ำเงิน นอกจากนั้นแล้ว  $\mu$ PAD ยังได้รับการออกแบบแบบสามมิติที่มีกระดาษ 2 ชั้นซ้อนทับกัน และนำการใช้หมึกมาพิมพ์แบบ wax ปริ้น  $\mu$ PAD ให้เป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำตามรูปแบบที่ออกแบบ และที่ต้องทำเป็น 2 ชั้นเพราะปฏิกิริยาที่เลือกนำมาใช้งานมี 2 ขั้นตอนภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของ  $\mu$ PAD แสดงผลในช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 20.4 - 114.0 ไมโครโมลาร์ ค่าขีดจำกัดที่ตรวจพบเท่ากับ 6.1 ไมโครโมลาร์และค่า %RSD เท่ากับ 12.7% (n=5) อุปกรณ์  $\mu$ PAD สามารถเก็บรักษาไว้ได้สูงสุด 41 วัน ในที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียส

P. Wahed และคณะ [14] ได้ทำการวิจัยศึกษาวิธีการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารสำหรับมนุษย์และอาหารสัตว์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟของเหลวความดันสูง (HPLC) โดยหาสภาวะที่เหมาะสมและ ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีโครมาโตกราฟของเหลวความดันสูง พบว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่มีคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ที่ดี โดยพิจารณาจากความเป็นเส้นตรง ความเที่ยง ความจำเพาะ ความแม่นยำและความคงทน วิธีวิเคราะห์นี้สามารถประยุกต์ใช้กับตัวอย่างอาหารที่มีความหลากหลายได้ อย่างมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับวิธีอ้างอิงมาตรฐาน

O. Bunkoed และคณะ [38] ได้ทำการพัฒนาเซนเซอร์สำหรับการตรวจหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในอากาศ โดยเลือกวิธีการโซล-เจลในการจับกับรีเอเจนต์ที่ใช้ในการตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์ ซึ่งคณะผู้วิจัยเลือกใช้รีเอเจนต์เป็นอะซีติลอะซีโตน เมื่อทำปฏิกิริยากับฟอร์มาลดีไฮด์ จะให้เป็นผลิตภัณฑ์สีเหลืองซึ่งทำการตรวจวัดได้โดยตรง โดยใช้วิธีสเปกโตรเมทรีที่ไม่ต้องเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ และจากผลการทดลองพบว่าขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 0.03 ppmv ซึ่งต่ำกว่าค่าสัมพัทธ์ความเข้มข้นสูงสุดที่รายงานโดยองค์การอนามัยโลก และจากในตัวอย่าง

อากาศพบว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 6.39 % และ 4.69 % ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 1 ppmv ตามลำดับ

S.T. Girousi และคณะ [39] ได้นำเสนอวิธีฟลูออโรเมทรีซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ง่าย มีความไวและมีความจำเพาะเจาะจงสำหรับการตรวจวัดหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างน้ำ สามารถตรวจหา ปริมาณได้อย่างต่อเนื่องและคณะผู้วิจัยได้เลือกใช้ 3,4-diaminoanisole ในสารละลายเอทานอล-น้ำ ในสถานะต่างเป็นสารฟลูออเรสเซนต์เช่นเซอร์ความเข้มแสงของฟลูออเรสเซนต์ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบ ในตัวทำละลายและตัวรบกวนอื่น ๆ จากวิธีการวิเคราะห์พบว่ามีความขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 0.6 ไมโครกรัมต่อลิตร ค่าร้อยละคืนกลับเท่ากับ 93% และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 6.05% ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อลิตร

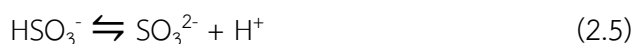
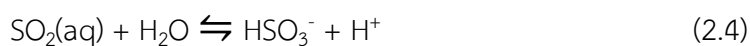
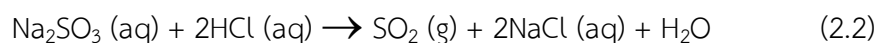
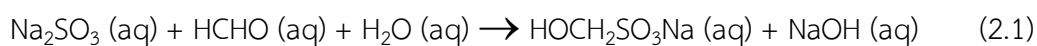
K. P. Shrivastaw and S. Singh [40] ทำการพัฒนาวิธีตรวจวัดเพื่อหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในสารชีวภาพ โดยนำเสนอเป็นโครงสร้างเชิงซ้อนที่เกิดสปีโดยเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารฟอร์มาลดีไฮด์กับฟีนิลไฮดราซีน โปแทสเซียมเพอริกไซยาไนด์ และคลอโรฟอร์มที่มีเมทานอล ปรากฏอยู่ ซึ่งมีความเสถียรภาพที่ดี มีความจำเพาะเจาะจง และมีความไวสูงต่อการวิเคราะห์

S. Teerasong และคณะ [41] ได้พัฒนาระบบการไหลที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดหาปริมาณของฟอร์มาลดีไฮด์ที่อาจปนเปื้อนอยู่ในอาหาร โดยอาศัยความรู้พื้นฐานจาก hantzsch reaction และภายใต้สภาวะที่เหมาะสมให้กราฟเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 10-100 ไมโครโมลาร์ ได้ให้ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบและค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 0.06 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ อีกทั้งได้ประยุกต์ระบบวิเคราะห์เพื่อนำไปวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ หมักแห้ง ผัก และเห็ด

ประกาย อนันต์คำ และ รัชณี ใจดี [35] ได้ศึกษาวิจัยการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่พบในผลิตภัณฑ์สำหรับล้างจานจากการสุ่มตัวอย่างจากร้านค้าและห้างสรรพสินค้าภายในเขตอำเภอเมือง จังหวัดลำปาง การตรวจสอบอาศัยหลักการของปฏิกิริยาการควมแน่นระหว่างฟอร์มาลดีไฮด์กับกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารประกอบควิโนนที่มีลักษณะเป็นสารสีม่วงเข้ม มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 578 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ตัวอย่างจำนวน 6 รายการ พบว่ามีปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อยู่ในช่วง 5-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 0.017 (n=11) เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เท่ากับ 0.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์พบว่ามีความร้อยละของการกลับคืนของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 100

## 2.13 หลักการตรวจวัดฟอร์มาลดีไฮด์

ในงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนโทไซยานินและแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เริ่มต้นจากปฏิกิริยาของฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างกับสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกเพื่อทำปฏิกิริยากับโซเดียมซัลไฟต์ที่มากเกินไปเกิดเป็นแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ลอยขึ้นไปรวมตัวกับโมเลกุลของน้ำบนกระดาษทำให้เกิดความเป็นกรดและค่อย ๆ เปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินจากสีน้ำเงินม่วงไปเป็นสีแดง ซึ่งความเข้มของสีแดงจะแปรผกผันไปตามปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ แสดงตามสมการต่อไปนี้



## บทที่ 3

### วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

##### 3.1.1 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (%)	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)	HCl	98.1	Signa Aldrich, Germany
โซเดียมซัลไฟต์ (Sodium sulfite)	Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	98.0	AR/ACS – LOBAL Chemie, India
ฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde)	CH <sub>2</sub> O	37.0 (w/v)	Carlo Erba, France
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	NaOH	98.0	AR/ACS – LOBAL Chemie, India
กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	95.0	Fisher, Finland
ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)	C <sub>20</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	98.0	Carlo Erba, France
น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)	-	-	Milli Q gradient
โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogen phthalate)	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> KO <sub>4</sub>	99.5	Carlo Erba, France
กรดอะซิติก (Acetic acid)	CH <sub>3</sub> COOH	99.9	Carlo Erba, France

ตารางที่ 3.1 (ต่อ) สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (%)	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
อะซีทาลดีไฮด์ (Acetaldehyde)	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O	99.0	PanReac AppliChem , Germany
ซาลิไซลาลดีไฮด์ (Salicylaldehyde)	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	99.0	ACROS ORGANICS, Belgium
เบนซาลดีไฮด์ (Benzaldehyde)	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	99.0	AR/ACS – LOBAL Chemie, India
อะซีโตน (Acetone)	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	99.5	Merck, Thailand
3-เมทิล-2-บิวทานอน (3-methyl-2-butanone)	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	98.0	ACROS ORGANICS, Belgium
อะซีโตนฟีโนน (Acetophenone)	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	98.0	Merck, Thailand

### 3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต (Micropipette size 10 – 100 microliter; NEXTY-100 - BIOLAB, Japan), (Pipette size 500 – 5000 microliter; SL-5000PL - Mettler Toledo, USA), (Micropipette size 5-50 microliter; Pipettor 12-channel - DLAB, USA)

2. กระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาด 110 มิลลิเมตร และเบอร์ 42 ขนาด 70 มิลลิเมตร (Filter paper qualitative – Whatman – GE Healthcare UK Ltd., UK)

3. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analysis balance; CPA224S – Sartorius, Canada)

4. เครื่องกวนแม่เหล็ก พร้อมให้ความร้อน (Magnetic Stirrer – HARIKUL SCIENCE CO., LTD.)

5. เครื่องสแกน (Cannon scan LiDE110, USA)

6. กระดาษวัดค่า pH (Universal indicator pH 0 – 14 – Merck, Germany)

7. ปีกเกอร์

8. ปิเปต, ลูกยาง
9. หลอดหยด
10. บิวเรต
11. กระจกตวง
12. ขวดรูปชมพู่
13. แท่งแก้วคนสาร
14. ช้อนตักสาร
15. กระจกนาฬิกา
16. นาฬิกาจับเวลา
17. ขวดวัดปริมาตร
18. จานหลุมพลาสติก (96 well plate)

## 3.2 การเตรียมสารละลาย

### 3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

#### 3.2.1.1 สารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ (ความเข้มข้นร้อยละ 37 w/v) 0.27 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน สอบเทียบความเข้มข้นของสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ดังนี้

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ (ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร) ปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด (Indicator reagent) สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู หยดกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร 3-4 หยด จนกระทั่งสีชมพูหายไป

2. ปิเปตสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่เดิม สารละลายจะเปลี่ยนกลับมาเป็นสีชมพู ไทเทรตด้วยกรดซัลฟิวริก (ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร) จนถึงจุดยุติ (สีชมพูหายไป) บันทึกปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ นำมาคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ ตามสมการดังนี้

$$FA = [30.0(C_1V_1) \times 1000] / V_2 \quad (3.1)$$

เมื่อ FA คือ ความเข้มข้นของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร  
 C1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไทเทรตในหน่วยโมลต่อลิตร

V1 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกในหน่วยมิลลิลิตร

V2 คือ ปริมาตรของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในหน่วยมิลลิลิตร

### 3.2.1.2 สารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 37 w/v ปริมาตร 2.57 มิลลิลิตร (ปริมาตรได้จากการคำนวณการสอบเทียบความเข้มข้นสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์) ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกมาตร คำนวณปริมาตรสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ตามสมการดังนี้

$$\text{ปริมาตร (mL)} = (10,000 \text{ mg/L}) \times 100 \text{ mL} / (C \text{ mg/L}) \quad (3.2)$$

เมื่อ C คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์จากการสอบเทียบความเข้มข้น (Standardization)

### 3.2.1.3 สารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้นในช่วง 200 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์เข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร ได้สารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

### 3.2.2 การเตรียมรีเอเจนต์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์

#### 3.2.2.1 สารละลายโซเดียมซัลไฟด์ (ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร)

ชั่งน้ำหนักผงโซเดียมซัลไฟด์ 0.315 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

#### 3.2.2.2 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร)

ปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นปริมาตร 0.98 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

#### 3.2.2.3 การเตรียมสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันแห้ง

สารละลายแอนโทไซยานินความเข้มข้น 6% w/v เตรียมโดยชั่งดอกอัญชันแห้งน้ำหนัก 3 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงบีกเกอร์เดิม ใช้แท่งแก้วดันให้ดอกอัญชันแห้งจมอยู่ในสารละลาย ปิดบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟิคา นำบีกเกอร์ไปให้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส บนเครื่องกวนสารให้ความร้อนเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นกรองสารละลายขณะร้อนด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 วางสารละลายแอนโทไซยานินให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

### 3.3 การเตรียมชุดทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์

ตัดกระดาษกรองเบอร์ 42 เป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดความกว้าง 15 มิลลิเมตร ความยาว 65 มิลลิเมตร นำกระดาษกรองที่ตัดแล้วไปจุ่มลงในสารละลายแอนโทไซยานินจากข้อ 3.2.2.3 เป็นเวลา 30 วินาที วางกระดาษในลักษณะสัมผัสกับวัสดุรองรับให้น้อยที่สุด ปล่อยให้กระดาษให้แห้งพอหมาดเป็นเวลา 150 – 240 วินาที จึงนำไปใช้ในขั้นตอนวิเคราะห์ต่อไป

### 3.4 การศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาสำหรับการสร้างชุดทดสอบด้วยกระดาษ

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเติมตามลำดับ เขย่าจานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางจานหลุมหนึ่ง ๆ ให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 90 วินาที

3. ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเติมตามลำดับ

4. คีบกระดาษซุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนหลุมทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเต็ยรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่าจานหลุมอย่างระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางจานหลุมหนึ่ง ๆ ให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 50 วินาที

5. คีบกระดาษทดสอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วหลังจากครบกำหนดเวลาดำเนินการที่จุดสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษด้วยเครื่องสแกน

6. นำรูปภาพไปวิเคราะห์หาค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่าสี RGB ที่ได้มาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์ความเหมาะสมการกระจายตัวของข้อมูล

7. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-6 โดยเปลี่ยนเงื่อนไขจากการหยดกรดไฮโดรคลอริกที่ข้อ 3 เป็นกรดซัลฟิวริก, กรดฟอสฟอริก และกรดอะซิติก ที่ความเข้มข้นเท่ากันที่ 0.10 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

### 3.5 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายรีเอเจนต์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาสำหรับการสร้างชุดทดสอบด้วยกระดาษ

#### 3.5.1 ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ

2. ปีเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ เขย่าจานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 90 วินาที

3. ปีเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ

4. คีบกระดาษซุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียรรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่าจานหลุมอย่างระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 50 วินาที

5. คีบกระดาษทดสอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วหลังจากครบกำหนดเวลายานที่กจุดสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษด้วยเครื่องสแกน

6. นำรูปภาพไปวิเคราะห์หาค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่าสี RGB ที่ได้มาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์ความเหมาะสมการกระจายตัวของข้อมูล

7. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-6 โดยเปลี่ยนเงื่อนไขจากการหยดกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร ที่ข้อ 3 เป็นกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.50 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

### 3.5.2 ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมซัลไฟด์

1. ปีเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ

2. ปีเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ เขย่าจานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 90 วินาที

3. ปีเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ

4. คีบกระดาษซุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนหลุมทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียรรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่าจานหลุมอย่างระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 50 วินาที

5. คีบกระดาศษทศอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วจกักรบกำหนดเวลา บันทักจุดสีที่เกดขึ้นบนกระดาศษด้วยเครื่องสแกน

6. นำรูปภาพไปวิเคราะห์หาค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่าสี RGB ที่ได้มา สร้างกราฟหาความสัมพันธ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์ความเหมาะสมการกระจายตัวของข้อมูล

7. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-6 โดยเปลี่ยนเงื่อนไขจากการหยดสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร ที่ข้อ 1 เป็นสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ความเข้มข้น 0.05, 0.10 และ 0.50 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

### 3.5.3 ความเข้มข้นของสารละลายแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันแห้ง

1. ปีเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ

2. ปีเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิม ตามลำดับ เขย่างานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางงานหลุมพลาสติกให้ ปฏิกริยาเกิดต่อไปอีก 90 วินาที

3. ปีเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ

4. คีบกระดาศษซุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนหลุมทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียวยรวดเร็วจกักรเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่างานหลุมอย่าง ระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางงานหลุมพลาสติกให้ปฏิกริยาเกิดต่อไปอีก 50 วินาที

5. คีบกระดาศษทศอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วจกักรบกำหนดเวลา บันทักจุดสีที่เกดขึ้นบนกระดาศษด้วยเครื่องสแกน

6. นำรูปภาพไปวิเคราะห์หาค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่าสี RGB ที่ได้มา สร้างกราฟหาความสัมพันธ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์ความเหมาะสมการกระจายตัวของข้อมูล

7. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-6 โดยเปลี่ยนเงื่อนไขการเตรียมกระดาศษทศอบซุบแอนโทไซยานิน ที่ข้อ 4 จากความเข้มข้นแรก 6% w/v เปลี่ยนเป็นการซุบกระดาศษทศอบด้วยสารละลาย สกัดแอนโทไซยานินความเข้มข้น 1%, 3%, 9% และ 12% w/v ตามลำดับ

### 3.6 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

#### 3.6.1 เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาขั้นช่วงแรก ( $T_1$ )

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิม ตามลำดับ เขย่างานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางงานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 150 วินาที ( $T_1$  เท่ากับ 210 วินาที)

3. ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ

4. คีบกระดาษซุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนหลุมทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียรรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่างานหลุมอย่างระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางงานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 50 วินาที ( $T_2$  เท่ากับ 60 วินาที)

5. คีบกระดาษทดสอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วหลังจากครบกำหนดเวลาดำเนินที่จุดสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษด้วยเครื่องสแกน

6. นำรูปภาพไปวิเคราะห์หาค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่าสี RGB ที่ได้มาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์ความเหมาะสมการกระจายตัวของข้อมูล

7. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-6 โดยเปลี่ยนเงื่อนไขเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงแรก ที่ข้อ 2 จาก  $T_1$  เดิม 210 วินาที เปลี่ยนเป็น 60, 90, 120, 150 และ 180 วินาที ตามลำดับ โดยคงที่เวลาเขย่าเท่าเดิม

#### 3.6.2 เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาขั้นช่วงการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษ ( $T_2$ )

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิม

ตามลำดับ เขย่าจานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 90 วินาที ( $T_1$  เท่ากับ 150 วินาที)

3. ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ

4. คีบกระดาษซุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนหลุมทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียวยรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่าจานหลุมอย่างระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 140 วินาที ( $T_2$  เท่ากับ 150 วินาที)

5. คีบกระดาษทดสอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วหลังจากครบกำหนดเวลายับที่จุดสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษด้วยเครื่องสแกน

6. นำรูปภาพไปวิเคราะห์หาค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่าสี RGB ที่ได้มาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์ความเหมาะสมการกระจายตัวของข้อมูล

7. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-6 โดยเปลี่ยนเงื่อนไขเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษ ที่ข้อ 4 จาก  $T_2$  เดิม 150 วินาที เปลี่ยนเป็น 30, 60, 90, 120 วินาทีตามลำดับ โดยคงที่เวลาเขย่าเท่าเดิม

### 3.7 การศึกษาการเลือกค่าสี RGB ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยชุดทดสอบกระดาษ

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟต์เข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ เขย่าจานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 90 วินาที ( $T_1$  เท่ากับ 150 วินาที)

3. ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ

4. คีบกระดาษซุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนหลุมทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียวยรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่าจานหลุมอย่าง

ระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 50 วินาที ( $T_2$  เท่ากับ 60 วินาที)

5. คีบกระดาษทดสอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วหลังจากครบกำหนดเวลาบันทึกจุดสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษด้วยเครื่องสแกน

6. นำรูปภาพไปวิเคราะห์หาค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่าสีแดง (R, Red) ที่ได้มาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์ความเหมาะสมการกระจายตัวของข้อมูล

7. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-6 โดยเปลี่ยนเงื่อนไขในการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์เป็นแกน x และจากเดิมใช้ค่าสีแดง (R, Red) เป็นแกน y ที่ข้อ 6 เปลี่ยนเป็นค่าสีเขียว (G, Green), สีฟ้า (B, Blue) ตามลำดับ

### 3.8 การศึกษาสารรบกวนต่อวิธีวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยชุดทดสอบกระดาษ

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร (ที่มีเติมการสารรบกวนชนิด Acetaldehyde ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 40, 80, 120, 160 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรผสมอยู่) ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ เขย่าจานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 90 วินาที ( $T_1$  เท่ากับ 150 วินาที)

3. ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิมตามลำดับ

4. คีบกระดาษซึบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนหลุมทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียรรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่าจานหลุมอย่างระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 50 วินาที ( $T_2$  เท่ากับ 60 วินาที)

5. คีบกระดาษทดสอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วหลังจากครบกำหนดเวลาบันทึกจุดสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษด้วยเครื่องสแกน

6. นำรูปภาพไปวิเคราะห์หาค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่าสีแดง (R, Red) ที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารรบกวน และวิเคราะห์หาช่วงความทนทานของวิธีวิเคราะห์ต่อปริมาณสารรบกวน (Tolerance limit) แต่ละชนิด

7. ทำการทดลองซ้ำข้อที่ 1-6 โดยเปลี่ยนเงื่อนไขในการเติมสารรบกวนลงในสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ข้อ 2 จากเดิมเป็นสาร Acetaldehyde ความเข้มข้น 0, 40, 80, 120, 160 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปลี่ยนเป็น

7.1 Salicylaldehyde ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

7.2 Benzaldehyde ความเข้มข้น 0, 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร

7.3 Acetone ความเข้มข้น 0, 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร

7.4 3-methyl-2butanone ความเข้มข้น 0, 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร

7.5 Acetophenone ความเข้มข้น 0, 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

### 3.9 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

3.9.1 ความเป็นเส้นตรงของกราฟจากสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ความเข้มข้นในช่วง 0 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในจานหลุมพลาสติก 6 หลุมตามลำดับ จากนั้นหยดสารละลายมาตรฐานฟอร์มัลดีไฮด์ความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในถาดหลุม 6 หลุมตามลำดับเดิม เขย่าจานหลุมพลาสติกเป็นเวลา 60 วินาที วางจานหลุมพลาสติกให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปอีก 90 วินาที จากนั้นหยดกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เขย่าจานหลุมเป็นเวลา 10 วินาที คีบกระดาษชุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนหลุมทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียรรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก วางจานหลุมพลาสติกให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปอีก 50 วินาที บันทึกภาพจุดสีแดงที่เกิดขึ้นบนกระดาษทันทีที่ครบกำหนดเวลาด้วยเครื่องสแกน จากนั้นนำภาพไปหาค่าสี RGB ด้วย

โปรแกรม Image J แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน  
พอร์มาลดีไฮด์กับค่าความเข้มสีแดง (Red Intensity, R) และหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ  
(Determination coefficient,  $r^2$ )

### 3.9.2 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$\text{LOD} = Y_B + 3S_B \quad (3.3)$$

เมื่อ  $Y_B$  คือ y-intercept

$S_B$  คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y (Random error in y-intercept)

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad (3.4)$$

เมื่อ  $y_I$  คือ ค่าจริงที่ได้จากเครื่องมือ

$\hat{Y}_I$  คือ ค่าที่ได้จากการแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง y

n คือ จำนวนชุดการทดลอง

### 3.9.3 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (Limit of quantitation, LOQ)

$$\text{LOQ} = Y_B + 10S_B \quad (3.5)$$

เมื่อ  $Y_B$  คือ y-intercept

$S_B$  คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y (Random error in y-intercept)

### 3.10 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างอาหาร

#### 3.10.1 วิธีการเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างอาหารหนัก 50 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร เขย่าเล็กน้อย ปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองสารละลาย ตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ลงขวดรูปชมพู่อีกใบ ทดสอบความเป็นกรดเบสของสารละลาย ตัวอย่างด้วยกระดาษวัดค่า pH พร้อมปรับค่า pH ของสารละลายตัวอย่างให้เป็นกลางที่ pH เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์มอีกครั้งรอกการนำสารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์ขั้นต่อไป

#### 3.10.2 วิธีวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างด้วยชุดทดสอบกระดาษ

1. บีบสารละลายโซเดียมซัลไฟต์เข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุม ตามลำดับ
2. บีบสารละลายตัวอย่างปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 3 หลุม แรกและเติมน้ำปราศจากไอออนในอีก 3 หลุมถัดมาเพื่อใช้เป็นชุดเปรียบเทียบ เป็นการทำซ้ำ 3 ครั้ง ในแต่ละ 1 เซตการทดลอง จากนั้นเขย่างานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวังเป็นเวลา 60 วินาที วางงานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 90 วินาที
3. ใช้ไมโครบีบหลายชาแนล บีบกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในงานหลุมพลาสติก 6 หลุมเดิม
4. คีบกระดาษชุบสารละลายแอนโทไซยานิน จากข้อ 3.3 ด้วยฟอเซปสแตนเลส ปิดลงบนทั้ง 6 หลุม ให้ปิดสนิทอย่างเดียรรวดเร็วหลังการเติมกรดไฮโดรคลอริก เขย่างานหลุมพลาสติกอย่างระมัดระวัง นาน 10 วินาที วางงานหลุมพลาสติกให้ปฏิกิริยาเกิดต่อไปอีก 50 วินาที
5. คีบกระดาษทดสอบวางลงบนเครื่องสแกนอย่างรวดเร็วหลังจากครบกำหนดเวลา บันทึกจุดสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษด้วยเครื่องสแกน
6. นำรูปภาพจากเครื่องสแกนไปวิเคราะห์หาค่าสีในโหมด RGB ด้วยโปรแกรม Image J นำค่าสี RGB ที่ได้มาแปรผลและคำนวณหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่พบในตัวอย่างอาหาร

### 3.11 การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนากับวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานไทเทรต

ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่ตรวจวัดจากวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นถูกเลือกนำมาเปรียบเทียบผลกับวิธีมาตรฐานไทเทรตแบบดั้งเดิม โดยใช้การคำนวณทางสถิติ pair t-test ในการตัดสินใจ ส่วนการเตรียมตัวอย่างด้วยการวิธีมาตรฐานไทเทรตจะดำเนินการทดลองเหมือนกับข้อที่ 3.10.1 ดำเนินการทดลองดังต่อไปนี้

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ (ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร) ปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด (Indicator reagent) สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู หยดกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร 3-4 หยด จนกระทั่งสีชมพูหายไป
2. ปิเปตสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ตัวอย่าง ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่เดิม สารละลายจะเปลี่ยนกลับมาเป็นสีชมพู ไทเทรตด้วยกรดซัลฟิวริก (ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร) จนถึงจุดยุติ (สีชมพูหายไป) บันทึกปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ คำนวณหาความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในสารละลายตัวอย่าง ตามสมการดังนี้

$$FA = [30.0(C_1V_1) \times 1000] / V_2 \quad (3.1)$$

- เมื่อ FA คือ ความเข้มข้นฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร  
 C1 คือ ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ไทเทรตหน่วยโมลต่อลิตร  
 V1 คือ ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกในหน่วยมิลลิลิตร  
 V2 คือ ปริมาตรสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในหน่วยมิลลิลิตร

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผล

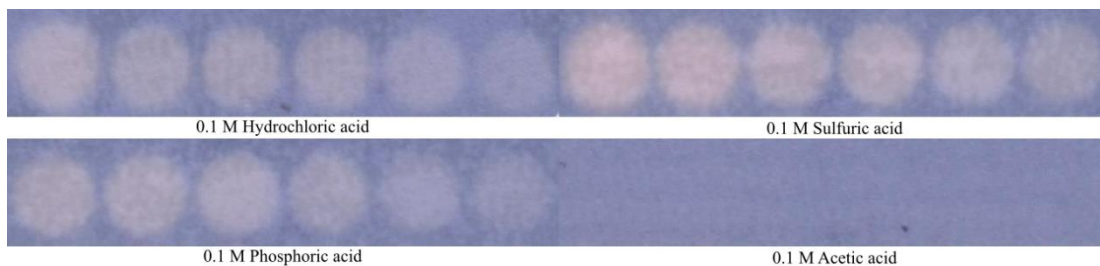
จากการเลือกปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัดเชิงสีฐานกระดาษบนช่องว่างเหนือสารละลาย สำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร โดยอาศัยการติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินที่ซุบอยู่บนกระดาษหลังเกิดการสัมผัสและเกิดปฏิกิริยากับแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาหลังเติมกรดไฮโดรคลอริก ผลการศึกษาการเลือกใช้สารเคมีต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อความสามารถในการวิเคราะห์ของชุดทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นจะแสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

#### 4.1 ผลการศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาสำหรับสร้างชุดทดสอบด้วยกระดาษ

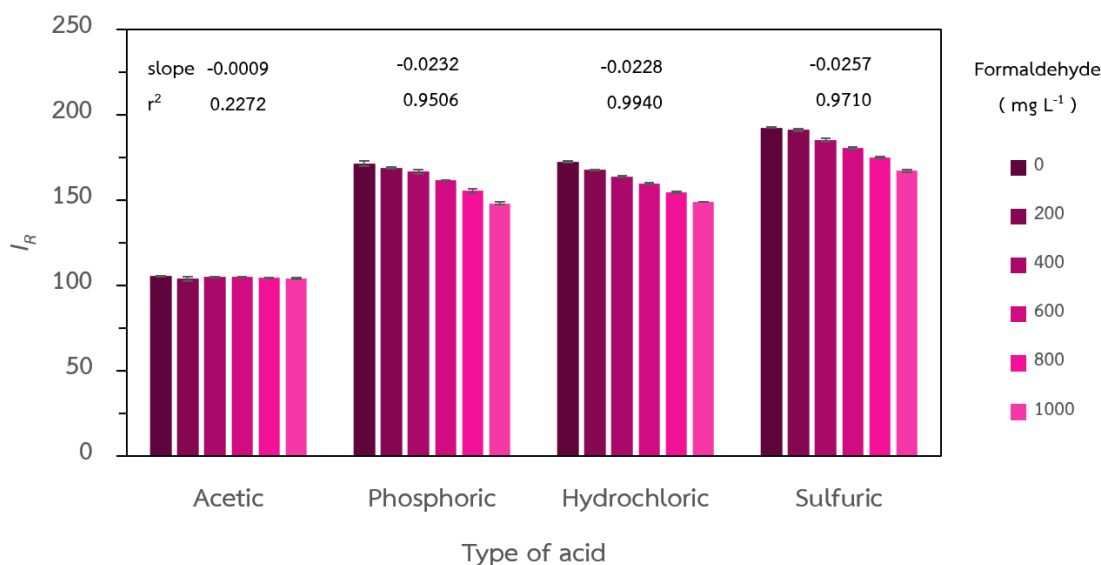
จากการศึกษาหาชนิดของกรดที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาที่ใช้กับชุดทดสอบแบบกระดาษ ซึ่งเปรียบเทียบกับระหว่างกรด 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตรเท่ากันได้แก่

- 1.) กรดไฮโดรคลอริก
- 2.) กรดซัลฟิวริก
- 3.) กรดฟอสฟอริก
- 4.) กรดอะซีติก

ผลการศึกษาชนิดของกรดที่เหมาะสมกับชุดทดสอบแบบกระดาษแสดงดังรูปภาพที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 พบว่าชนิดของกรดไฮโดรคลอริกทำให้เกิดจุดสีแดงบนกระดาษซุบแอนโทไซยานินที่ชัดเจน และสามารถหาค่าความเข้มแสงสีแดงได้อย่างมีนัยสำคัญ แม้กรดฟอสฟอริกจะให้ผลที่คล้ายกัน แต่กรดฟอสฟอริกมีความหนืดมากกว่าส่งผลต่อความสม่ำเสมอของการเกิดปฏิกิริยาเล็กน้อย การเลือกใช้กรดซัลฟิวริกทำให้เกิดสีแดงบนกระดาษได้ชัดเจนแต่เมื่อวิเคราะห์สีด้วยโปรแกรมแล้วนำค่าที่ได้สร้างกราฟดังรูปที่ 4.2 ที่ช่วงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ 0 – 200 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดซัลฟิวริกทำให้เกิดสีแดงมากเกินไปซึ่งเป็นค่าสีแดงที่ใกล้จุดสูงสุดของแอนโทไซยานินเป็นกระดาษ การเปลี่ยนแปลงในช่วงนี้จึงน้อยมาก จากการศึกษากรดทั้ง 4 ชนิดที่ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พบว่ากรดไฮโดรคลอริกมีความเหมาะสมสำหรับปฏิกิริยานี้มากที่สุด



รูปที่ 4.1 จุดสีแดงบนชุดทดสอบแบบกระดาษที่เกิดขึ้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่าง 0.1 M โซเดียมซัลไฟต์, 0 – 1,000 ppm ฟอรัมาลดีไฮด์ และ 0.1 M กรดชนิดต่าง ๆ ที่ต้องการศึกษา

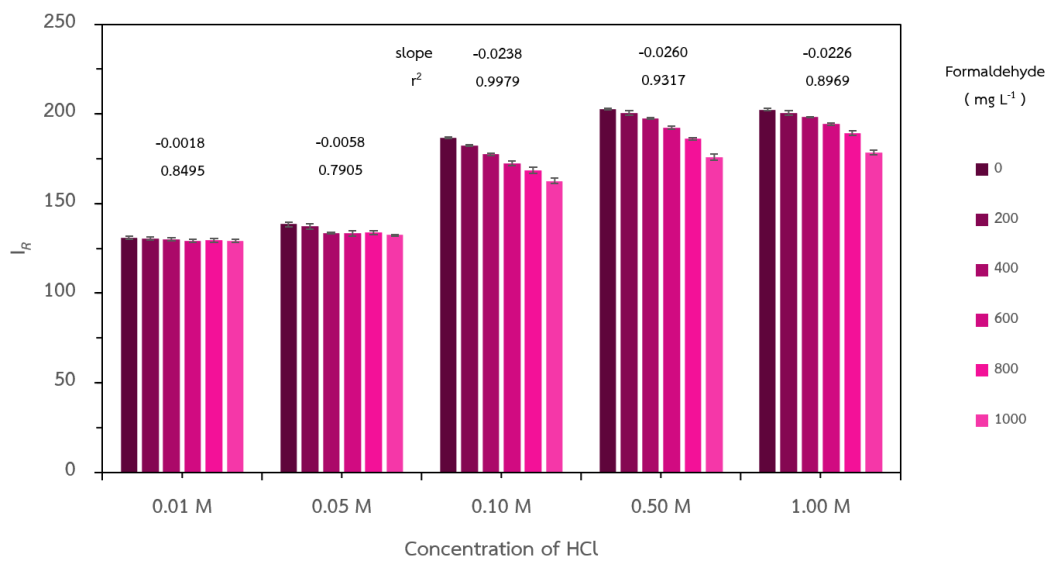


รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟอรัมาลดีไฮด์ 0 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร กับค่าความเข้มแสงสีแดงบนชุดทดสอบแบบกระดาษที่ใช้กรดชนิดต่าง ๆ

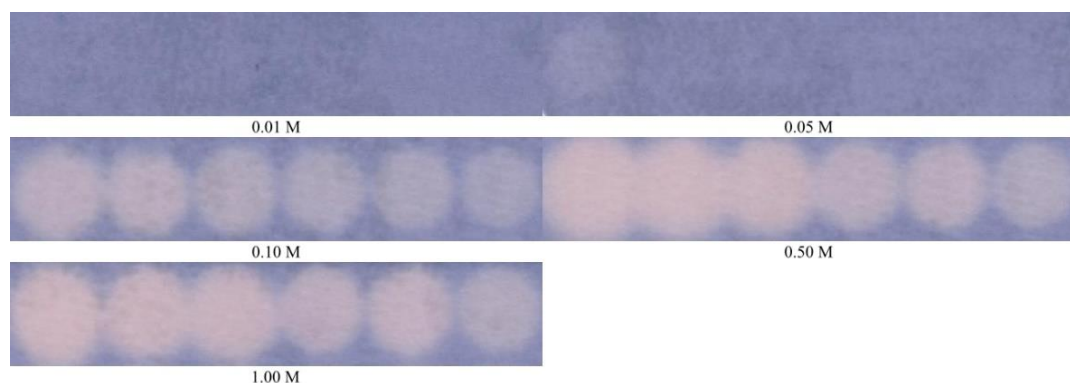
#### 4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาสำหรับชุดทดสอบแบบกระดาษ

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ากรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตรมีความเหมาะสมต่อปฏิกิริยานี้สำหรับการสร้างชุดทดสอบแบบกระดาษดังจะเห็นได้จากรูปที่ 4.3 กราฟแสดงให้ถึงการกระจายของค่าความเข้มสีแดงหลังโซเดียมซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร เข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานฟอรัมาลดีไฮด์ในแต่ละช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โซเดียมซัลไฟต์ที่มากเกินไปจะเกิดปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริกที่เติมลงไปเกิดเป็นแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ปริมาณแก๊สและจุดสีแดงบนกระดาษที่เกิดขึ้นแปรผกผันไปตามความเข้มข้นของกรดไฮโดร

คลอริก ที่ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกน้อยกว่า 0.1 โมลต่อลิตร มีค่าการกระจายตัวของข้อมูลน้อยมากเมื่อเทียบกับเมื่อใช้กรดความเข้มข้นสูงขึ้น เป็นเพราะความเข้มข้นที่น้อยเกินไปทำให้ปฏิกิริยาเกิดแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ได้น้อยกระดาศที่ซูปแอนโทนิยานินเกิดการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นสีแดงน้อยมากดังจะเห็นได้จากรูปที่ 4.4 ส่งผลให้ไม่สามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงได้ แต่เมื่อดูความสัมพันธ์ของการกระจายตัวของข้อมูลจะพบว่าที่กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตรมีการกระจายตัวของข้อมูลที่ดีที่สุด จากข้อมูลการศึกษาสรุปได้ว่าความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลต่อลิตร มีความเหมาะสมที่ต่อปฏิกิริยาที่ใช้กับชุดทดสอบแบบกระดาศนี้



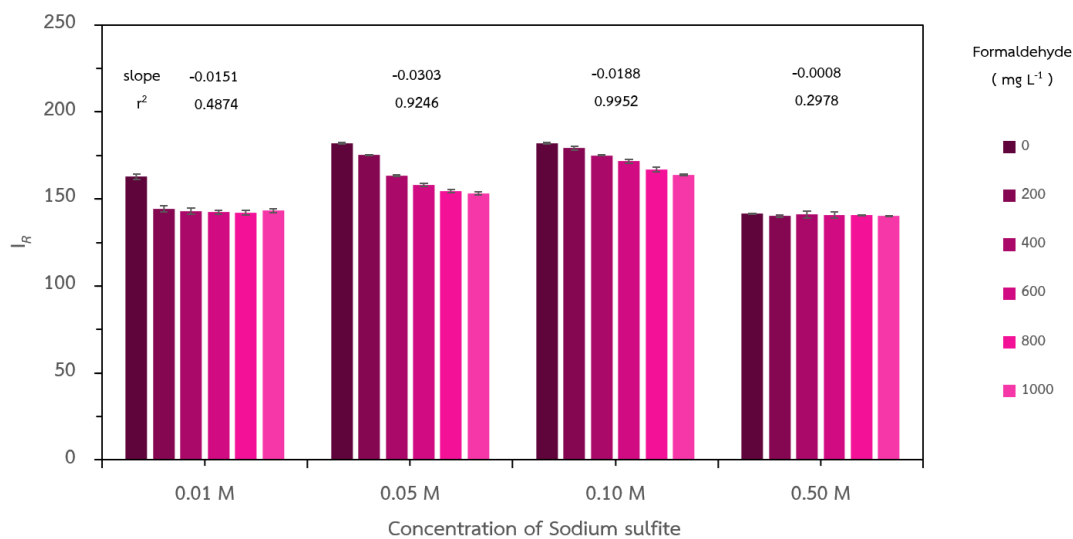
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าความเข้มแสงสีแดงกับความเข้มข้นไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร



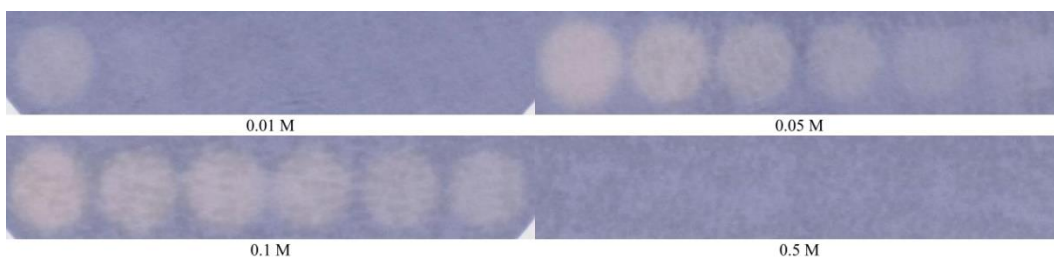
รูปที่ 4.4 รูปแสดงจุดสีแดงบนกระดาศจากการศึกษาความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร

### 4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยา สำหรับชุดทดสอบแบบกระดาษ

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นโซเดียมซัลไฟต์ที่ส่งผลต่อการเกิดสีแดงบนกระดาษทดสอบ จากรูปที่ 4.5 และ 4.6 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นโซเดียมซัลไฟต์ 0.01 โมลต่อลิตร หลังจากเติมกรดไฮโดรคลอริกแล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีแดงบนกระดาษได้น้อยมีเพียงหลุมแรกที่มีเกิดแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพียงพอที่ส่งผลให้เกิดสีแดงเล็กน้อย หลุมที่เหลือมีการเกิดแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ได้น้อยเกินกว่าจะส่งผลให้แอนโทไซยานินบนกระดาษเปลี่ยนเป็นสีแดงได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโซเดียมซัลไฟต์เป็น 0.05 โมลต่อลิตร พบว่าสีแดงบนกระดาษปรากฏชัดขึ้นอย่างชัดเจนแต่หากสังเกตจากรูปที่ 4.5 กราฟแสดงสัมพันธ์ค่าความเข้มแสงสีแดงจะเห็นว่าข้อมูลมีความกระจายตัวน้อย ข้อมูลกระจายตัวกันไม่สม่ำเสมอ สอดคล้องกับรูปที่ 4.6 สีแดงบนกระดาษช่วงความเข้มข้นฟอร์มาดีไฮด์ 800 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสีแดงใกล้เคียงกันมากส่งผลต่อประสิทธิภาพการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ที่แม่นยำของชุดทดสอบแบบกระดาษ การศึกษาเพิ่มความเข้มข้นโซเดียมซัลไฟต์เป็น 0.5 โมลต่อลิตร ความเข้มข้นที่มากเกินไปนี้ทำให้สารละลายผสมในหลุมทดสอบก่อนการเติมกรดไฮโดรคลอริกเพื่อเร่งปฏิกิริยาให้เกิดแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์นั้นมีปริมาณโซเดียมซัลไฟต์อยู่มากเกินกว่าที่ปริมาณกรดที่เติมลงไปจะเร่งปฏิกิริยาให้เกิดแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ขึ้นมาทำให้แอนโทไซยานินบนกระดาษเปลี่ยนแปลงเป็นสีแดงได้ดังรูปที่ 4.6 การศึกษาความเข้มข้นโซเดียมซัลไฟต์ที่ 0.1 โมลต่อลิตร พบว่ามีสีแดงเกิดขึ้นบนกระดาษที่ชัดเจนดี และค่าความเข้มแสงสีแดงจากกราฟให้รูปที่ 4.5 มีการกระจายตัวของข้อมูลที่ชัดเจนและสม่ำเสมอ ดังนั้นจากข้อมูลการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นโซเดียมซัลไฟต์ 0.1 โมลต่อลิตรเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีแดงกับความเข้มข้นโซเดียมซัลไฟต์ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 โมลต่อลิตร



รูปที่ 4.6 รูปแสดงจุดสีแดงบนกระดาษจากการศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมซัลไฟต์ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 โมลต่อลิตร

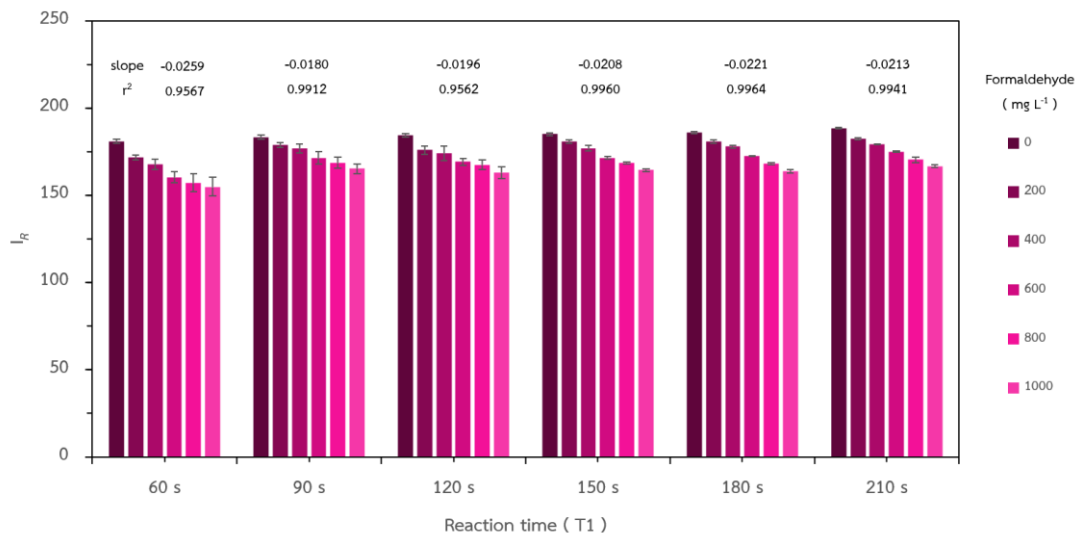
#### 4.4 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาสำหรับชุดทดสอบแบบกระดาษ

ปฏิกิริยาที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์สำหรับชุดทดสอบแบบกระดาษสามารถแบ่งช่วงการศึกษาเวลาที่เหมาะสมออกเป็น 2 ช่วง ได้แก่

##### 4.4.1 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในเกิดปฏิกิริยาสำหรับชุดทดสอบแบบกระดาษช่วงแรก

การเกิดปฏิกิริยาช่วงแรกเป็นการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมซัลไฟต์และสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ผลิตภัณฑ์ที่เราสนใจคือปริมาณโซเดียมซัลไฟต์ที่เหลือหลังการ

เกิดปฏิกิริยา การให้เวลาปฏิกิริยาดำเนินไปแตกต่างกันไปส่งผลให้ปริมาณโซเดียมซัลไฟด์ที่เหลือหลังการเกิดปฏิกิริยามีความแตกต่างกันจึงต้องทำการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา ผลการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาจะแสดงข้อมูลตามรูปที่ 4.7



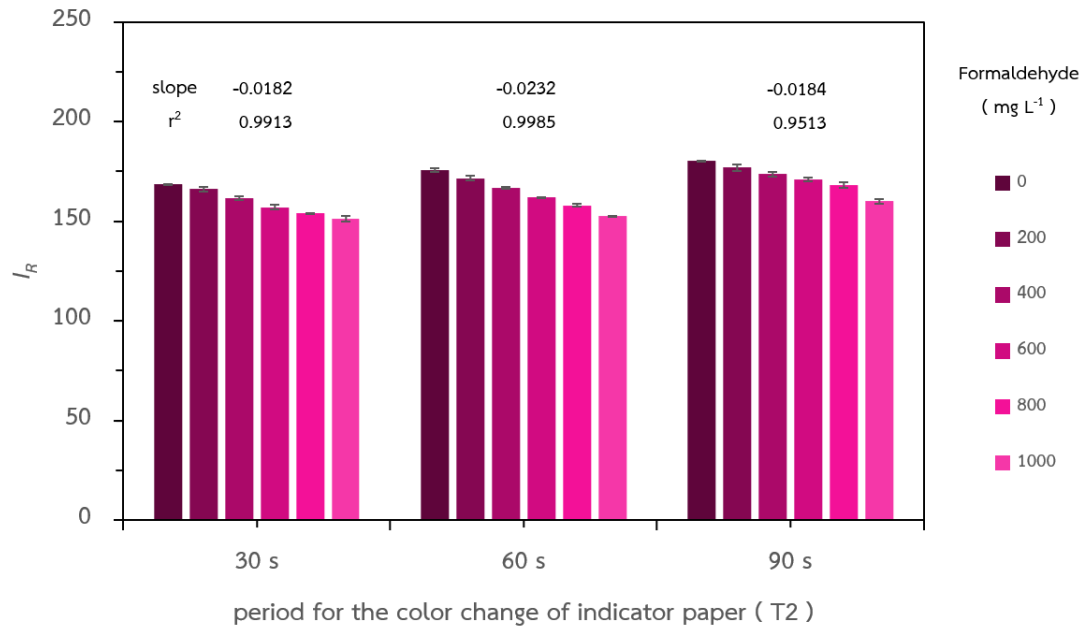
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นสีแดงกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงแรก 60, 90, 150, 180 และ 210 วินาที

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเมื่อให้เวลาในการดำเนินไปของปฏิกิริยาตั้งแต่ 150 วินาทีเป็นต้นไป ผลของค่าความเข้มข้นสีแดงที่เป็นข้อมูลสำคัญในการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์สำหรับชุดทดสอบแบบกระดาศมีค่าความแปรปรวนของข้อมูลน้อยกว่าช่วงที่ให้เวลาในการดำเนินไปของปฏิกิริยาในช่วง 60 – 120 วินาที เช่นเดียวกับกับที่เวลา 180 และ 210 วินาที จากผลข้อมูลการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการใช้เวลาในการดำเนินไปของปฏิกิริยาในช่วงแรกนาน 150 วินาทีเป็นเวลาที่น้อยที่สุดแต่ให้ค่าความแปรปรวนที่ดีกว่าจึงเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

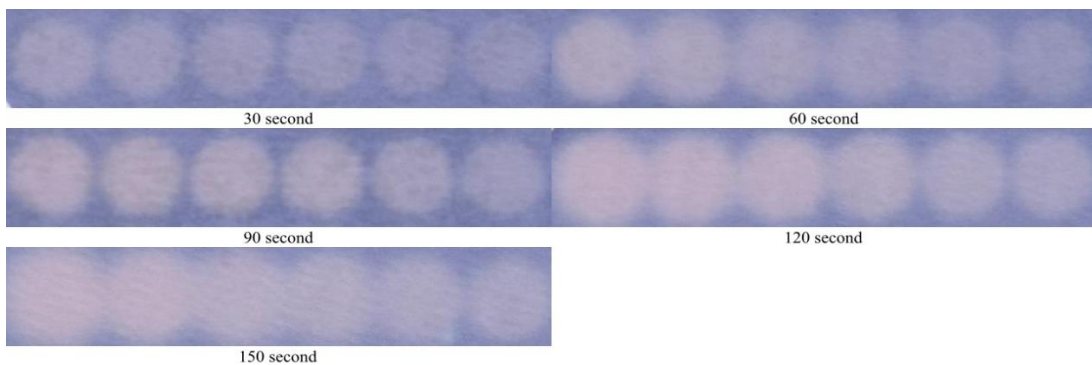
#### 4.4.2 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในเกิดปฏิกิริยาสำหรับชุดทดสอบแบบกระดาศช่วงการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาศ (T2)

ผลการศึกษาปฏิกิริยาในช่วงการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาศ (T2) เป็นการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมซัลไฟด์ที่เหลือจากปฏิกิริยาในช่วงแรกเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริกที่เติมลงไปในงานหลุมพลาสติกหลังจากครบเวลา 150 วินาที การให้เวลาในการดำเนินไปของ

ปฏิกิริยาที่แตกต่างกันมีผลต่อการเกิดปริมาณแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์สำคัญในการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ดังแสดงตามรูปที่ 4.8



**รูปที่ 4.8** กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีแดงกับเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษที่เวลา 30, 60 และ 90 วินาที



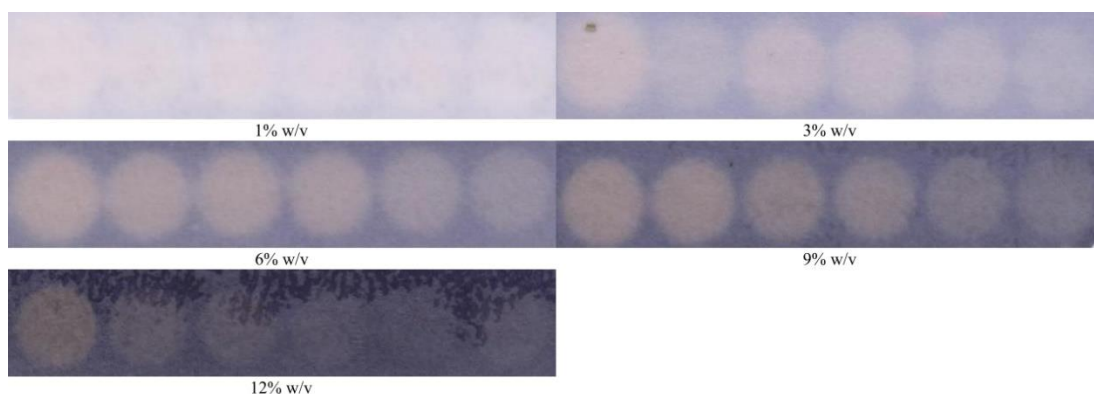
**รูปที่ 4.9** รูปแสดงจุดสีแดงบนชุดทดสอบแบบกระดาษโดยมีเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษแตกต่างกัน

จากข้อมูลในรูปที่ 4.8 พบว่าเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษที่ 60 วินาที มีค่าความชันของกราฟและความกระจายตัวของข้อมูลที่ดีกว่าที่เวลาอื่น ๆ จากรูปที่ 4.9 ที่เวลา 30 วินาทีจุดสีแดงบนชุดทดสอบแบบกระดาษยังเกิดได้ไม่เต็มที่ค่าความเข้มสีแดง

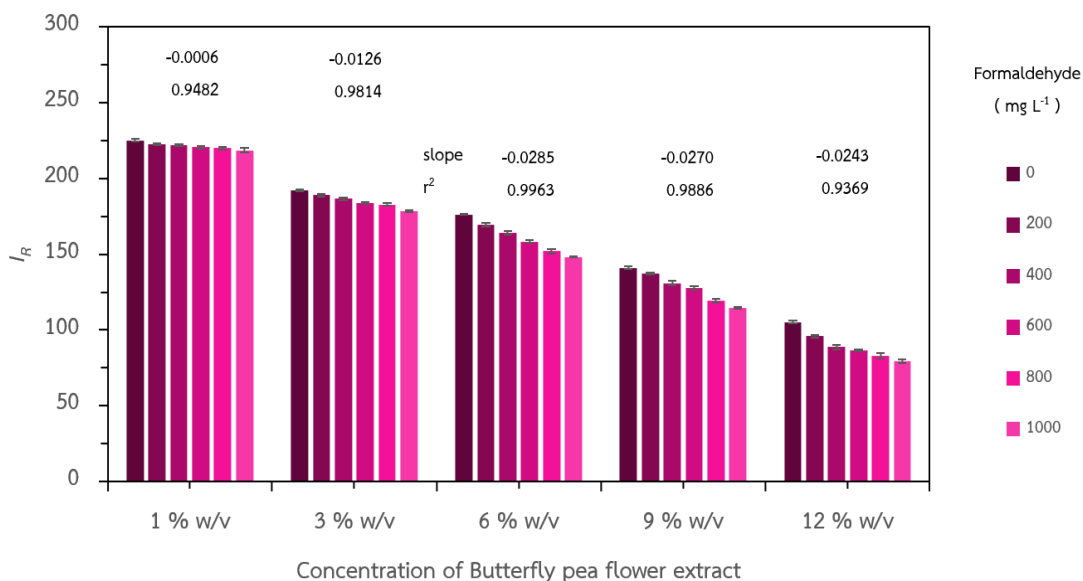
ระดับสูงสุดมีค่าน้อย ค่าความเข้มแสงสีแดงที่ความเข้มข้นฟอร์มาลดีไฮด์ 0 กับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าลดลงหลังจากให้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงหลังเป็นเวลามากกว่า 60 วินาที ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการแยกช่วงความเข้มข้นดังกล่าวลดลง อีกทั้งเมื่อให้เวลาการเกิดปฏิกิริยาช่วงหลังเป็นเวลามากกว่า 90 วินาที จุดสีแดงเป็นกระกระดาขมมีลักษณะซ้อนทับกับ จากผลการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงหลังแสดงให้เห็นว่าที่เวลา 60 วินาทีมีความเหมาะสมต่อปฏิกิริยาให้ข้อมูลการกระจายตัวความเข้มแสงสีแดงที่ดีกว่าจึงเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

#### 4.5 ผลการศึกษาผลของความเข้มข้นแอนโทไซยานิน

กระดาขมกรองที่ใช้สำหรับชุดทดสอบแบบกระดาขมจะถูกตัดตามที่ออกแบบไว้และถูกนำไปชุบลงในสารละลายแอนโทไซยานินสกัดที่มีความเข้มข้น 1, 3, 6, 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ผลจากการศึกษาความเข้มข้นของแอนโทไซยานินสกัดจะแสดงจะรูปที่ 4.10 และรูปที่ 4.11 ดังต่อไปนี้



รูปที่ 4.10 รูปแสดงจุดสีแดงบนชุดทดสอบแบบกระดาขมผลจากการศึกษาความเข้มข้นของแอนโทไซยานินสกัดที่ชุบใช้ความเข้มข้นแตกต่างกัน



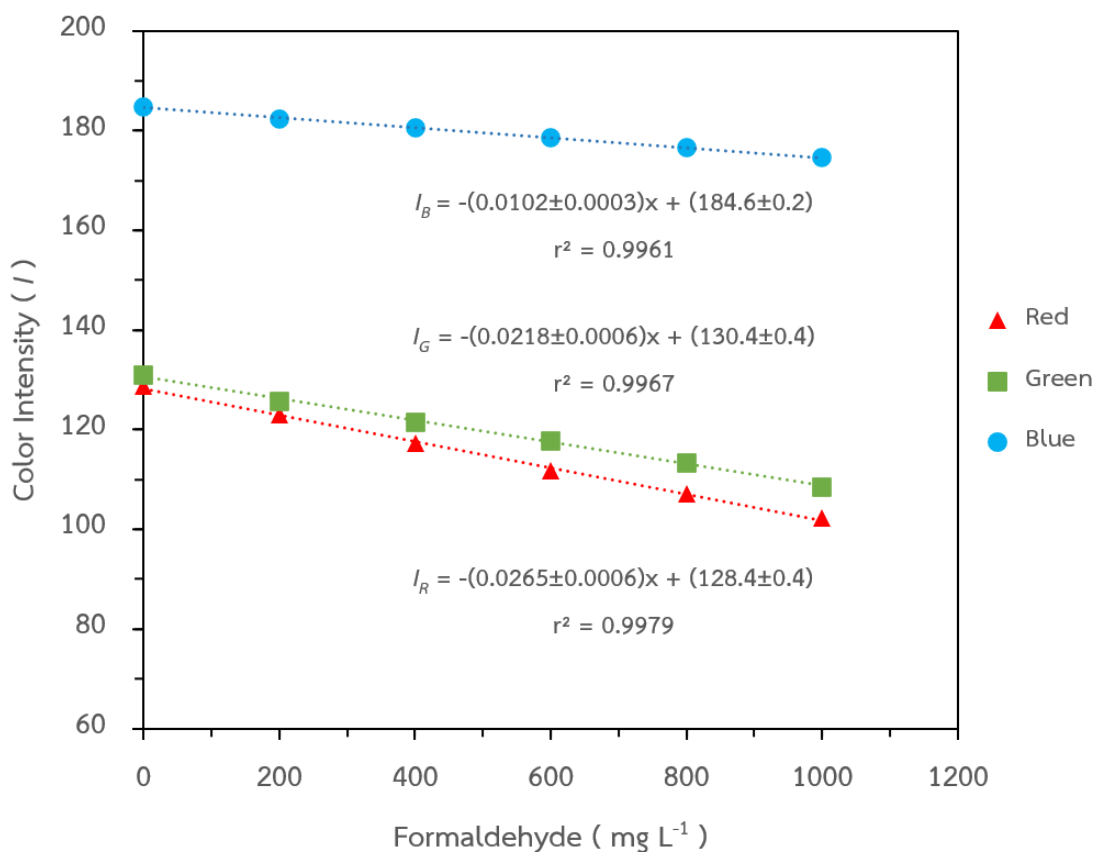
**รูปที่ 4.11** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีแดงกับความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน 1, 3, 6, 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร

จากรูปที่ 4.10 แสดงผลการศึกษาว่าความเข้มข้นของแอนโทไซยานินที่ใช้ส่งผลต่อความเข้มข้นน้ำเงินและสีแดงบนกระดาษ ที่ความเข้มข้นแอนโทไซยา 1 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ปรากฏสีน้ำเงินก่อนเปลี่ยนแปลงและสีแดงหลังเกิดปฏิกิริยาน้อยมากเนื่องจากมีความหนาแน่นของแอนโทไซยานินที่เป็นตัวแสดงการเปลี่ยนแปลงสีน้อยทำให้ค่าความเข้มแสงสีแดงที่ตรวจวัดได้มีค่าน้อยตามไปด้วยดังจะเห็นในรูปที่ 4.11 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นแอนโทไซยานินขึ้นเป็น 3 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ผลที่ปรากฏคือสีน้ำเงินและแดงบนกระดาษมีความชัดเจนขึ้น ค่าความเข้มแสงสีแดงมีความชันของกราฟที่ดีขึ้น เมื่อใช้ความเข้มข้นแอนโทไซยานินสูง 12 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ส่งผลต่อกระดาษหลังชุบแอนโทไซยานินทำให้มีแอนโทไซยานินส่วนเกินที่ไม่ระเหยออกไปตามเวลาที่กำหนด เนื่องจากที่ความเข้มข้นดังกล่าวสารละลายแอนโทไซยานินมีความหนืดชั้นสูง การระเหยเป็นแก๊สของสารละลายในหลุมจึงลดน้อยลงทำให้ประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ลดลง เมื่อนำมาใช้ทดสอบจริงแอนโทไซยานินจะรบกวนการวิเคราะห์ความเข้มแสงสีแดงที่ถูกต้องและแม่นยำ ที่ความเข้มข้น 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ให้ผลการศึกษาที่น่าสนใจได้ค่าความเข้มแสงสีแดงที่ใกล้เคียงกัน แต่ผลของความเข้มข้นแอนโทไซยานิน 6 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ให้ค่าการกระจายตัวของข้อมูลที่สม่ำเสมอ มีค่าความชันของกราฟที่ดี เป็นความเข้มข้นของแอนโทไซยานินที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีน้ำเงินเป็นสีแดงได้มาก ดังนั้นจากผลการศึกษาความเข้มข้นแอนโทไซยานินที่เหมาะสมสำหรับชุดทดสอบแบบกระดาษคือ 6 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร

#### 4.6 ผลการศึกษาการเลือกใช้ความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาสำหรับชุดทดสอบแบบกระดาษ

วิธีการตรวจวัดเชิงสีฐานกระดาษบนช่องว่างเหนือสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์การศึกษานี้เลือกใช้ความเข้มแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมบนคอมพิวเตอร์ ผลการศึกษาการเลือกสีที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.12

ผลจากศึกษาพบว่า สีแดงมีความเหมาะสมที่จะเลือกใช้สำหรับการวิเคราะห์นี้เพราะการเปลี่ยนแปลงสีที่ตรวจวัดได้สูงกว่าสีน้ำเงินและสีเขียว ค่าความชันที่สูงนี้จะส่งผลให้การวิเคราะห์มีความถูกต้องและแม่นยำกว่าการเลือกใช้สีน้ำเงินและเขียว



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีต่าง ๆ (สีแดง, สีเขียว และสีน้ำเงิน) กับความเข้มข้นของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในช่วง 0 - 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 4.7 ผลการศึกษาสารรบกวนต่อการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์

การศึกษาความทนทานและขอบเขตยอมรับได้ของปฏิกิริยาที่มีต่อสารรบกวนที่ส่งผลต่อความถูกต้องในการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ได้ผลการศึกษาได้ตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงปริมาณสารรบกวนที่ยอมรับได้

Interference	Tolerance limit (ppm)
Acetaldehyde	80
Salicylaldehyde	500
Benzaldehyde	500
Acetone	> 500
3-methyl-2-butanone	> 500
Acetophenone	> 500

#### 4.8 ผลการศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

##### 4.8.1 สภาวะเหมาะสมในการสร้างชุดทดสอบแบบกระดาษ

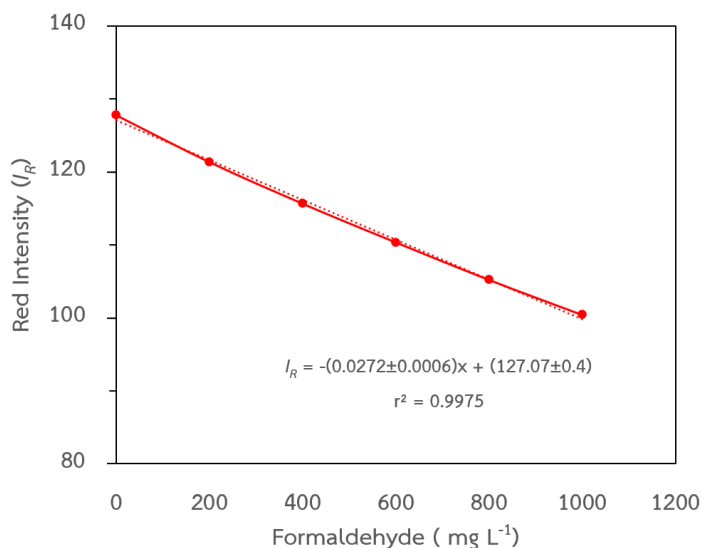
สามารถเตรียมชุดทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิธีวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ตารางเงื่อนไขและสภาวะของปฏิกิริยาที่เหมาะสมสำหรับชุดทดสอบแบบกระดาษ

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
ความเข้มข้นของสารละลาย	
- สารละลายโซเดียมซัลไฟต์	0.10 โมลต่อลิตร
- กรดไฮโดรคลอริก	0.10 โมลต่อลิตร
- สารละลายแอนโทไซยานิน	6% w/v
ปริมาตรของสารละลายโซเดียมซัลไฟต์	20 ไมโครลิตร
ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก	20 ไมโครลิตร
ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน/สารละลายตัวอย่าง	60 ไมโครลิตร
เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาขั้นตอนแรก (T1)	150 วินาที
เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาขั้นตอนสอง (T2)	60 วินาที

#### 4.8.2 ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เมื่อนำค่าความเข้มแสงสีแดง (Red Intensity,  $I_R$ ) และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์มาสร้างกราฟมาตรฐาน ได้ผลดังต่อไปนี้



**รูปที่ 4.13** กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นในช่วง 0 - 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากรูปที่ 4.13 พบว่ากราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0 - 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสมการเชิงเส้นตรง คือ  $y = -0.0272x + 127.07$  และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $r^2$ ) เท่ากับ 0.9975

#### 4.8.3 ขีดจำกัดของการตรวจสอบ (Limit of detection, LOD)

สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$\text{LOD} = Y_B + 3S_B$$

เมื่อ  $Y_B$  คือ y-intercept

$S_B$  คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y (Random error in y-intercept)

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

เมื่อ  $y_i$  คือ ค่าจริงที่ได้จากเครื่องมือ

$\hat{y}_i$  คือ ค่าที่ได้จากการแทนค่า  $x$  ลงในสมการเส้นตรง  $y$

$n$  คือ จำนวนชุดการทดลอง

จากกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน  
ฟอร์มาลดีไฮด์กับค่าความเข้มแสงสีแดงได้สมการเส้นตรงคือ  $y = -0.0272x + 127.07$  นำไปคำนวณ  
ค่าต่าง ๆ เพื่อหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่า  $y_i$ ,  $\hat{y}_i$  และ  $(y_i - \hat{y}_i)^2$  ในการคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบ

ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	$y_i$	$\hat{y}_i$	$y_i - \hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
0	127.776	127.069	0.707	0.500
200	121.351	121.625	-0.274	0.075
400	115.654	116.180	-0.526	0.277
600	110.346	110.736	-0.390	0.152
800	105.217	105.292	-0.075	0.006
1,000	100.420	99.847	0.573	0.328
			รวม	1.3374
			$S_B$	0.4989

เมื่อแทนค่าและคำนวณแล้วพบว่าได้ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบฟอร์มาลดีไฮด์ มี  
ค่าเท่ากับ 54.87 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้นในช่วง 0 – 1,000 มิลลิกรัมต่อ  
ลิตร

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

$$LOQ = Y_B + 10S_B$$

เมื่อ  $Y_B$  คือ y-intercept

$S_B$  คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y (Random error in y-intercept)

จากการแทนค่าและคำนวณจากสมการกราฟมาตรฐาน  $y = -0.0272x + 127.07$  แล้วพบว่า ได้ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณมีค่าเท่ากับ 182.91 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับฟอร์มาลดีไฮด์ ความเข้มข้นในช่วง 0 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 4.9 ผลการศึกษาวิธีการตรวจวัดเชิงสีฐานกระดาษบนช่องว่างเหนือสารละลายสำหรับ การวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร

การวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์โดยชุดทดสอบแบบกระดาษได้ทำการศึกษาตามวิธีที่ พัฒนาขึ้น เพื่อตรวจวัดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารได้แสดงปริมาณ ฟอร์มาลดีไฮด์ที่ตรวจพบและเปรียบเทียบวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้กับวิธีมาตรฐานไทเทรตแบบดั้งเดิม แสดงผลตามตารางที่ 4.4

**ตารางที่ 4.4** ตารางแสดงผลการตรวจวัดเชิงปริมาณกระดาศบนช่องว่างเนื้อสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในอาหารตัวอย่าง

ลำดับ	ตัวอย่างอาหาร	ความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์ $\pm$ SD (n=3)	
		วิธีกระดาศ (mg L <sup>-1</sup> )	วิธีไทเทรต (mg L <sup>-1</sup> )
<b>อาหารทะเล</b>			
1	หมึก	741 $\pm$ 11	730 $\pm$ 17
2	กุ้ง	ND	ND
3	ปลาตอลลี	ND	ND
<b>เนื้อสัตว์</b>			
4	ผ้าชีริว	214 $\pm$ 6	190 $\pm$ 17
<b>ผักสด</b>			
5	เห็ด	298 $\pm$ 5	290 $\pm$ 17
6	ถั่วงอก	828 $\pm$ 19	870 $\pm$ 2
7	ยอดมะพร้าวอ่อน	917 $\pm$ 7	970 $\pm$ 17
<b>อาหารแปรรูป</b>			
8	แหนมหมู	ND	ND
9	แฮมหมู	370 $\pm$ 10	395 $\pm$ 9
10	ขนมจีน	ND	ND

จากตารางปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีการตรวจวัดเชิงปริมาณกระดาศบนช่องว่างเนื้อสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ในอาหารที่พัฒนาขึ้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานไทเทรต แสดงถึงความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ที่ผู้วิจัยพัฒนาขึ้น จากการเปรียบเทียบผลของปริมาณความเข้มข้นของฟอร์มัลดีไฮด์ที่ตรวจวัดได้กับวิธีมาตรฐานไทเทรตเป็นการเพิ่มความน่าเชื่อถือของการวิเคราะห์มากยิ่งขึ้น

## บทที่ 5

# สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาการตรวจวัดเชิงสีฐานกระดาษบนช่องว่างเหนือสารละลาย สำหรับการวิเคราะห์ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร ซึ่งอาศัยติดตามการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงสีของ แอนโทไซยานินจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง วิธีที่พัฒนาขึ้นมีการใช้สารเคมีปริมาณน้อย และมีการเลือกใช้ สารบ่งชี้สกัดธรรมชาติจากดอกอัญชันมีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากกว่าชุดทดสอบหาปริมาณ ฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีขายอยู่ทั่วไปตามปกติ ข้อดีคือ ราคาถูก ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย สามารถ วิเคราะห์ตัวอย่างในปริมาณมากในเวลาไม่นาน ชุดทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นมีความสามารถ เหมาะสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ช่วง 0 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดของ การตรวจพบ เท่ากับ 55 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดปริมาณ เท่ากับ 183 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดทดสอบแบบกระดาษนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างอาหารทั่วไปได้

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ประสิทธิภาพความละเอียดของการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์สามารถปรับปรุง ให้มีการรายงานค่าได้ละเอียดมากยิ่งขึ้น

5.2.2 ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น หากนำไปประยุกต์เข้ากับโทรศัพท์มือถือเพื่อการตรวจวัดค่า ความเข้มแสงที่แม่นยำจะยิ่งเพิ่มความสามารถการตอบสนองต่อการตรวจวัดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่ ตรวจพบได้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Reuss, G., et al. 2000. "Formaldehyde." **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.**
- [2] Martin, R.T., Camargo, L.P. and Miller, S.A. 2014. "Marine-degradable Polylactic Acid." **Green Chemistry.** 16(4) : 1768-1773.
- [3] Dvořák, P., et al. 2000. "A New Electroanalytical Methodology for the Determination of Formaldehyde in Wood-based Products." **Talanta.** (2020)217 : 121068.
- [4] Humans, I.W., G., o.t., E., o., C.R., t. 2006. "Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol." **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.** Vol. 88 : 1.
- [5] Gerberich, H.R. and Seaman, G.C. 2000. "Formaldehyde." **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.**
- [6] มงคล พันธุ์โกมล 2553 "คู่มือการจัดการสารเคมีอันตรายสูง ฟอรัมาลดีไฮด์ (Formaldehyde)" กรมโรงงานอุตสาหกรรม พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ
- [7] บุตรยี่, ช. 2536 ฟอรัมาลีน กับ อาหาร [Online]. Available : <https://www.doctor.or.th/article/detail/3244>. accessed : 11 Feb 2022
- [8] สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 2561. ฟอรัมาลดีไฮด์ในอาหาร. (1) : 48.
- [9] Songur, A., Ozen, O.A. and Sarsilmaz, M. 2010. "The Toxic Effects of Formaldehyde on the Nervous System." **Reviews of environmental contamination and toxicology.** 2010(1) : 105-118.
- [10] Squire, R.A. and Cameron, L.L. 1984. "An analysis of potential carcinogenic risk from formaldehyde." **Regulatory Toxicology and Pharmacology.** 4(2) : 107-129.
- [11] Wongniramaikul, W., Limsakul, W. and Choodum, A. 2018 "A Biodegradable Colorimetric Film for Rapid Low-cost Field Determination of Formaldehyde Contamination by Digital Image Colorimetry." **Food chemistry.** 18(249) : 154-161.
- [12] Kim, H.S. et al. 2021. "Migration of Monomers, Plastic Additives, and Non-intentionally Added Substances from Food Utensils Made of Melamine–

- formaldehyde Resin Following Ultraviolet Sterilization." **Food Control.** 21(125) : 107981.
- [13] Yeh, T.S., et al. 2013. "Analysis of Free and Bound Formaldehyde in Squid and Squid Products by Gas Chromatography–mass Spectrometry." **journal of food and drug analysis.** 21(2) : 190-197.
- [14] Wahed, P., et al. 2016. "Determination of Formaldehyde in Food and Feed by an In-house Validated HPLC Method." **Food chemistry.** 16(202) : 476-483.
- [15] Rehbein, H. 1987. "Determination of the Formaldehyde Content in Fishery Products." **Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und Forschung.** 185(4) : 292-298.
- [16] Sritharathikhun, P., Oshima, M. and Motomizu, S. 2005. "On-line Collection /Concentration of Trace Amounts of Formaldehyde in Air with Chromato membrane Cell and its Sensitive Determination by Flow Injection Technique Coupled with Spectrophotometric and Fluorometric Detection." **Talanta.** 67(5) : 1014-1022.
- [17] Li, Q., Sritharathikhun, P. and Motomizu, S. 2007. "Development of Novel Reagent for Hantzsch Reaction for the Determination of Formaldehyde by Spectrophotometry and Fluorometry." **Analytical sciences.** 23(4) : 413-417.
- [18] Guo, X.L., et al. 2018. "Smartphone-based Microfluidic Colorimetric Sensor for Gaseous Formaldehyde Determination with High Sensitivity and Selectivity." **Sensors.** 18(9) : 3141.
- [19] Yamagata, M. and Low, L.K. 1995. "Rapid Determination of Formaldehyde in Banana Shrimp, *Penaeus Merguensis*." **Journal of food science.** 60(4) : 718-720.
- [20] Cui, X., et al. 2007. "Kinetic Spectrophotometric Method for Rapid Determination of Trace Formaldehyde in Foods." **Analytica chimica acta.** 590(2) : 253-259.
- [21] Bianchi, F., et al. 2007. "Fish and Food Safety: Determination of Formaldehyde in 12 Fish Species by SPME Extraction and GC–MS Analysis." **Food Chemistry.** 100(3) : 1049-1053.
- [22] Claeys, W., et al. 2009. "Formaldehyde in Cultivated Mushrooms: a Negligible Risk for the Consumer." **Food Additives and Contaminants.** 26(9) : 1265-1272.

- [23] Saptarini, N.M., Suryasaputra, D. and Nurmalia, H. 2015 "Application of Butterfly Pea (*Clitoria Ternatea* Linn) Extract as an Indicator of Acid-base Titration." **J. Chem. Pharm. Res.** 7 : 275-280.
- [24] Roy, S. and Rhim, J.W. 2021. "Anthocyanin Food Colorant and its Application in pH-responsive Color Change Indicator Films." **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** 61(14) : 2297-2325.
- [25] Mahidol. "Scanner" [Online]. Available : <https://il.mahidol.ac.th/e-media/computer/system/scanner.htm>. 2022.
- [26] "Sheet Fed Scanner Picture" [Online]. Available : <https://www.brother.co.th/en/products/all-scanners/scanners/ads-3100>. 2022.
- [27] "Flatbed Scanner" [Online]. Available : <https://th.canon/th/business/flatbed-scanner-unit-102/product>. 2022.
- [28] "Handy Scanner" [Online]. Available : <https://www.newlandaidc.com/en/products/HandheldScanner/HR1070.html>. 2022.
- [29] "ระบบสี" [Online]. Available : <https://sites.google.com/site/pongnuntipisek/3-rabb-si>. 2022.
- [30] "RGB Model Picture" [Online]. Available : <https://www.nixsensor.com/blog/what-is-rgb-color/>. 2022.
- [31] "CMYK System Picture" [Online]. Available : <https://www.printingcenterusa.com/blog/what-is-cmyk-and-why-is-it-used-for-printing/>. 2022.
- [32] "HSV Color System Picture" [Online]. Available : <http://www.ece.northwestern.edu/localapps/matlabhelp/toolbox/images/color11.html>. 2022.
- [33] "LAB color system picture" [Online]. Available : <https://www.linshangtech.com/tech/lab-color-model-color-meter-tech1432.html>. 2022.
- [34] "เทคโนโลยีการประมวลผลภาพ" [Online]. Available : <https://sillovely.wordpress.com/2013/06/11/เทคโนโลยีการประมวลผลภาพ/>. 2022.
- [35] "ฟอร์มาลดีไฮด์ / ฟอร์มาลีน ภัยร้ายใกล้ตัว" [Online]. Available : <http://scijournal.hcu.ac.th/ojs/index.php/scijournal/article/view/28>. 2022.
- [36] Simoneau, C., 2008. "Food Contact Materials." **Comprehensive analytical chemistry.** 51 : 733-773.

- [37] Ramdzan, A.N., et al., 2016. "Development of a Microfluidic Paper-based Analytical Device for the Determination of Salivary Aldehydes." **Analytica Chimica Acta.** 919 : 47-54.
- [38] Bunkoed, O., et al., 2010. "Sol-gel Based Sensor for Selective Formaldehyde Determination." **Analytica chimica acta.** 659(1-2) : 251-257.
- [39] Girousi, S.T., et al., 1997. "Fluorometric Determination of Formaldehyde." **Fresenius' journal of analytical chemistry.** 358(5) : 667-668.
- [40] Shrivastaw, K.P. and Singh, S. 1995. "A New Method for Spectrophotometric Determination of Formaldehyde in Biologicals." **Biologicals.** 23(1) : 47-53.
- [41] Teerasong, S., et al., 2010. "A Multiple Processing Hybrid Flow System for Analysis of Formaldehyde Contamination in Food." **Analytical Sciences.** 26(5) : 629-633.

ภาคผนวก



Contents lists available at ScienceDirect

Analytica Chimica Acta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/aca](http://www.elsevier.com/locate/aca)

## Multi-well plate as headspaces for paper-based colorimetric detection of sulfur dioxide gas: An alternative method of sulfite titration for determination of formaldehyde

Nattapon Yodpach<sup>a</sup>, Rattikan Chantiwas<sup>b</sup>, Prapin Wilairat<sup>c</sup>, Nathawut Choengchan<sup>a</sup>, Wiboon Praditweangkum<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, School of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand

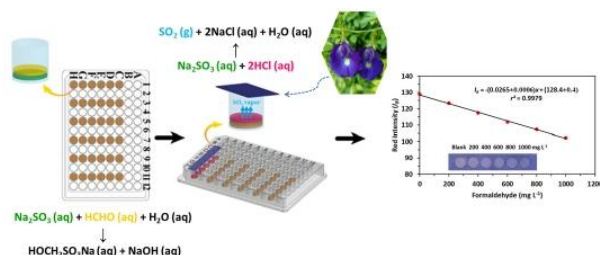
<sup>b</sup> Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Rama VI Rd, Bangkok, 10400, Thailand

<sup>c</sup> Analytical Sciences and National Doping Test Institute, Mahidol University, Rama VI Rd, Bangkok, 10400, Thailand

### HIGHLIGHTS

- A 96-well microplate as multiple headspaces for gas separation.
- Multiple samples per analysis cycle with an indicator paper strip.
- Moist indicator strip without patterned fabrication provides good seal over wells.
- Formaldehyde analysis via remaining sulfite acidified to generate sulfur dioxide.
- Natural anthocyanins indicator extracted from butterfly pea flower.

### GRAPHICAL ABSTRACT



### ARTICLE INFO

#### Keywords:

96-well microplate  
Headspace colorimetric detection  
Anthocyanins indicator paper  
Butterfly pea flower extract  
Generated sulfur dioxide gas  
Formaldehyde

### ABSTRACT

This work describes the analysis of formaldehyde using a 96-well microplate as multiple headspaces for the separation of sulfur dioxide gas generated from the sulfite remaining after its reaction with the formaldehyde in the sample. The quantitation of the gas is by colorimetric detection of an indicator paper placed over the microplate. The samples are aqueous extracts of various foods that are possibly adulterated with formaldehyde. A known excess amount of sulfite is added to the extract solution aliquoted in the well. The remaining sulfite is acidified with hydrochloric acid to generate sulfur dioxide gas which diffuses through the headspace above the solution to be absorbed at the moist strip of the indicator paper placed over the mouth of the wells. Anthocyanins extracted from the butterfly pea flower is used as the pH indicator giving a color change from the increase of hydrogen ions by hydrolysis of the absorbed sulfur dioxide gas. The exposed paper strip is scanned, and the digital images of the colored region analyzed using ImageJ software. The optimized method has a linear range of 200–1000 mg L<sup>-1</sup> formaldehyde with limit of detection ((2.57\*SD of intercept)/(slope of calibration line)) of the aqueous extract of 40 mg L<sup>-1</sup> and coefficient of determination ( $r^2$ ) > 0.9979. Samples of fresh produce, such as seafood, meat, and vegetables, and various processed food were analyzed for their possible formaldehyde content. The results obtained from the headspace paper-based colorimetric detection are not statistically different from the values obtained from the titration method by paired *t*-tests.

\* Corresponding author.

E-mail address: [wiboon.pra@kmitl.ac.th](mailto:wiboon.pra@kmitl.ac.th) (W. Praditweangkum).

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340704>

Received 30 August 2022; Received in revised form 18 November 2022; Accepted 3 December 2022

Available online 7 December 2022

0003-2670/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Formaldehyde is harmful to human health and has been identified as a potent cancer-causing compound by the International Agency for Research on Cancer (IARC) [1–3]. An aqueous solution of formaldehyde known as formalin is commonly used as an embalming fluid and as a preservative for biological materials [4,5]. As it can prevent protein decomposition, formaldehyde is sometimes illicitly added to preserve fresh and processed food for longer shelf-life in tropical countries [6]. Most countries do not allow the use of formaldehyde in food including Thailand where formaldehyde is prohibited according to Notification of the Ministry of Public Health No. 391 B E. 2561 (AD 2018) [7,8]. However, the United States Environmental Protection Agency (USEPA) allows the use of formaldehyde at a concentration of  $2.5 \text{ g kg}^{-1}$  for food preservation [9]. Although the maximum daily intake of formaldehyde has not been set, the European Food Safety Authority (EFSA) has recommended that this should not exceed  $100 \text{ mg per day}$  [7,10].

Various instrumental methods for formaldehyde analysis in food have been reported, including high-performance liquid chromatography (HPLC) [9], gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) [11], electrochemical analysis [12], capillary electrophoresis [13], Raman spectroscopy [14], fluorescence spectroscopy [15], chemiluminescence [16], and UV-visible spectrophotometry [17,18]. All these methods provide good sensitivity but require laboratory instrumentation and trained operators. Miniaturization is a logical step towards reducing the size and operating complexities of instruments to a small device with ease of operation [19]. Miniaturization can be applied at all steps of the analytical process, especially in sample separation, analyte separation, and detection [20,21]. The use of miniaturized analytical devices also reduces reagent consumption to a micro or nanoscale [19]. Recently, colorimetric methods for the determination of formaldehyde have been developed employing micro-volume centrifuge tubes with transmittance of the solutions recorded by a smartphone [22,23]. The method employed solution volumes at a microscale and small convenient consumer devices. However, the color of the food sample itself can interfere with the measurement of transmittance of the solution [24–27]. The sodium sulfite titration method has been employed for paper-based analytical devices (PAD) with direct optical detection for semi-quantitative determination of formaldehyde in food [27]. The PAD device provides advantages of simple fabrication, low cost, ease of use and rapid analysis. However, an extraction step may be needed to avoid matrix interferences.

The separation of volatile gas from a sample solution can be achieved by employing a headspace volume above the sample. Such membrane-less gas-diffusion (MGD) unit was first presented by Choengchan et al. for on-line gas-liquid separation in flow-based systems [28]. Other headspace configurations for gas diffusion have been reported, including glass vial in a close chamber [29], 3-dimension  $\mu$ PADs [30], multi-wells [31,32], and 96-well microplates [33]. The 96-well microplate with wells arranged in an array is convenient as multiple headspaces. Colorimetric detection is commonly used for measurement of the gas absorbed in the acceptor solution. The latter can be in the form of a hanging liquid microdroplet [34,35] or impregnated on a paper [32,33,36–40]. The single drop microextraction has been employed together with a mobile phone for the determination of formaldehyde in textile and wastewater samples [41]. The paper-based colorimetric detection has been employed for analysis of formaldehyde in indoor air [42].

Anthocyanin flavonoids are water-soluble compounds with blue, purple, or red color and are found in many kinds of flowers, vegetables, and fruits. Anthocyanins are composed of one of several aglycone cores called anthocyanidin which are bonded with a glycoside, such as glucose, galactose, xylose, arabinose, rutinose, or rhamnose [43]. Three major anthocyanidins that occur in butterfly pea flowers have been identified as kaempferol, quercetin, and myricetin. Their flavanol glycoside structures are shown in Fig. 1 [44]. These aglycone cores are affected by pH and the color of their solution can be changed by

adjustment of the pH. Pigment from the butterfly pea flower has thus been used as a pH indicator in acid-base titration [45,46]. Besides miniaturization, the sustainable analytical approach is another concept of green analytical chemistry which can be into an analytical process [47,48]. Natural anthocyanins have been employed as a colorimetric indicator in paper-based detection of ammonia [33,37] and in the Ormosil coating for the optical detection of formaldehyde [49]. These methods have sustainability through the use of natural products as reagents.

We report a paper-based colorimetric detection of formaldehyde in food using a moist filter paper impregnated with the butterfly pea flower extract. The paper strip, acting as a pH indicator, is placed over the wells of a 96-well microplate. The analytical method is based on the reaction of excess sulfite with formaldehyde. The sulfite is added to the sample solutions in the wells of the microplate. The excess sulfite is acidified with addition of acid to generate sulfur dioxide gas. Each well of the microplate operates as a headspace for the sulfur dioxide gas to diffuse to the underside of the moist indicator paper. The gas is absorbed and hydrolyzed, acidifying the moist pH indicator paper which changes color. The exposed paper is removed, scanned and the images analyzed for color intensities using ImageJ [50]. A linear calibration line is constructed using the relationship between the red color intensities and concentrations of standard formaldehyde solutions.

## 2. Experimental

### 2.1. Chemicals and materials

All chemicals were of analytical grade. Solutions were prepared in deionized (DI) water ( $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ , Milli-Q, Millipore). A stock standard solution of  $10,000 \text{ mg L}^{-1}$  formaldehyde was prepared by diluting  $2.70 \text{ mL}$  of  $37\% \text{ w/v}$  formaldehyde (Carlo Erbra, France) in a  $100\text{-mL}$  volumetric flask and making to volume with DI water. The stock formaldehyde solution was standardized following the NIOSH Manual of Analytical Methods [25]. Working standard solutions of formaldehyde ( $200\text{--}1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) were prepared daily by appropriate dilution of the stock solution. A solution of  $0.10 \text{ M}$  sodium sulfite was prepared by dissolving  $0.316 \text{ g}$  of  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (Loba Chemie, India) and making to volume with DI water in a  $25\text{-mL}$  volumetric flask. A  $0.10 \text{ M}$  hydrochloric acid solution was prepared by diluting  $0.20 \text{ mL}$  of concentrated HCl (Sigma-Aldrich, Germany) in a  $25\text{-mL}$  volumetric flask and making to volume with DI water. The paper used for colorimetric detection was Whatman Grade 42 filter paper ( $70\text{-mm}$  diameter, GE Healthcare Life Sciences, UK).

### 2.2. Preparation of solution of butterfly pea flower extract

Commercial dried butterfly pea flower was purchased from a local traditional medicine shop (Ladkrabang, Bangkok, Thailand). A  $6\% \text{ w/v}$  solution of the flower extract was prepared following the procedure described by Saptarini et al. [45] with some modifications. Briefly,  $3.0 \text{ g}$  of the dried flower was added to  $50 \text{ mL DI water}$  in a  $250\text{-mL}$  beaker and the mixture boiled for  $5 \text{ min}$ . The cooled aqueous extract was strained through a muslin cloth. Extracts of  $1, 9,$  and  $12\% \text{ w/v}$  were similarly prepared using  $0.50, 4.5,$  and  $6.0 \text{ g}$  of the dried flower, respectively.

Kungsuwan et al. [51] found that the concentration of anthocyanin in the extract solution can be predicted from the amount of butterfly pea flower in the extraction by the equation  $y = 0.587x + 3.922$ , where  $y$  is the concentration of anthocyanin ( $\text{mg dL}^{-1}$ ) and  $x$  is the amount of butterfly pea flower ( $\text{g}$ ). For a  $6\% \text{ w/v}$  solution of the butterfly pea flower extract, the concentration of anthocyanin can be calculated as being  $ca. 7.44 \text{ mg dL}^{-1}$ .

### 2.3. Experimental procedure

#### 2.3.1. Preparation of indicator paper

The indicator paper strip was prepared after the pipetting steps of standards/samples and sulfite reagent solutions into the wells (procedure ② in Fig. 2(a), Section 2.3.2(a)). A rectangular strip of the filter paper, 1.5 cm × 6.5 cm, was immersed for 30 s in the 6% w/v flower extract contained in a Petri dish. The indicator paper was then lifted out of the solution using forceps gripping a corner of the paper and drawing the surface of the paper against the top edge of the Petri dish to remove excess solution. The wet paper strip was placed lengthwise leaning against the wall of a clean Petri dish to drain further, and making sure that the surface of the indicator paper strip did not touch the bottom surface of the dish. After completion of the addition of the 0.10 M hydrochloric acid solution into the six adjoining wells (see procedure ③ in Fig. 2(a)), the moist paper strip was placed over the mouths of the six wells with the moisture acting as a gas sealant.

#### 2.3.2. Procedure for formaldehyde analysis using headspace paper-based colorimetric detection

##### (a) Measurements of formaldehyde standard solutions

A 96-well microplate (12 × 8 wells, 7 mm diameter, 300 µL capacity; Thermo Scientific, Denmark) is employed. The plate is oriented so that the 8 columns have the markings H to A, reading from left to right. The 12 rows are marked 1 to 12, going from the top to bottom (see Fig. 2(a)).

Three 60-µL aliquots of a blank sample (DI water) are simultaneously dispensed into wells of the rows marked 1, 3, and 5 of column H, using a 12-channel micropipette (DLAB Scientific Instrument Inc., USA), as shown in procedure ① in Fig. 2(a)). This is followed by dispensing three 60-µL aliquots of a 200 mg L<sup>-1</sup> standard formaldehyde solution into wells of row marked 1, 3, and 5 of column G. This is repeated for the 400, 600, 800, and 1000 mg L<sup>-1</sup> standard solutions which are dispensed into wells in rows 1, 3 and 5 of the columns F, E, D, and C, respectively (see procedure ① in Fig. 2(a)). Then six 20-µL aliquots of 0.10 M sulfite solution are simultaneously added into the 6 wells of row 1 (containing the blank and five standard solutions) (see procedure ② in Fig. 2(a)). This step is repeated for row 3 and for row 5. The 96-well microplate is shaken briefly and allowed to stand for 150 s (see procedure ② in Fig. 2(a)). The indicator paper is prepared (see Section 2.3.1) during this waiting period. Then six 20-µL aliquots of 0.10 M hydrochloric acid are simultaneously dispensed into the 6 wells of row 1 (see procedure ③ in Fig. 2(a)). The moist indicator paper strip is now carefully placed over the row of the 6 reaction wells. The 96-well microplate is shaken briefly and allowed to stand for 60 s. The strip of indicator paper is then removed and the side that was exposed to the sulfur dioxide vapor scanned on a flatbed scanner (CanoScan LiPE210, Canon, Thailand) (see Fig. 2(a)). Procedure ③ and subsequent steps are repeated for row 3 and row 5. The target wells for the various dispensing steps of the solutions described are also given in Table 1 for clarity.

##### (b) Measurement of food samples

Food samples, which include fresh squid, shrimp, fish, raw cow tripe, mushrooms, bean sprouts, coconut shoots, Thai pork sausage, ham, and rice-flour noodles, were purchased from local markets in Ladkrabang District of Bangkok, Thailand. Samples (ca. 1 g) are accurately weighed out in 10-mL vials. Then 2.0 mL DI water is added into each vial and the vials sonicated for 10 min. The solutions are filtered with a Whatman No. 1 filter paper (GE Healthcare Life Sciences, UK). To prevent decrease of the added sodium sulfite by acidic extracts or the amount of added hydrochloric acid being insufficient due to alkaline extracts, the pH of the filtrate is adjusted to pH 7 by adding small aliquots of either 0.10 M hydrochloric acid or 0.10 M sodium hydroxide. A 50 g weight of sample in a 250-mL Erlenmeyer flask with addition of 100 mL DI water is employed for the titration procedure.

The procedure described for the blank/standard solutions (Section 2.3.2 (a)) are carried out using samples #1 to #6 instead of the blank and five standard solutions, i.e., using wells in rows 1, 3, and 5 and columns H to C of a new 96-well microplate. Further sets of 6 samples can be analyzed in the same manner.

#### 2.3.3. Quantitation procedure

The recorded digitalized color images (JPEG format with 600 dpi) of the paper strips are analyzed using ImageJ software [50]. A circular region (50 × 50 pixels, 1.5 mm diameter, 7.1 mm<sup>2</sup>) is selected at the center of each colored zone. The red intensity of the 3 areas of a standard/sample are measured and the mean red intensities ( $I_R$ ) used as the quantitation variable.

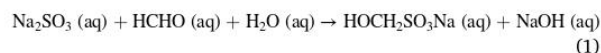
A linear calibration curve is prepared by plotting the mean red intensities ( $I_R$ ) against the concentrations of the formaldehyde standard solutions. Section 3.2.1 describes the experiment employed to select the suitable color intensity values for the quantitation variable.

#### 2.4. Conventional titration method for formaldehyde analysis

The pH-adjusted sample filtrates (see Section 2.3.2 (b)) are analyzed for formaldehyde by the titration procedure following the NIOSH analytical method [25] with some modifications. Briefly, 20.0 mL of the filtrate is mixed with 20.0 mL of 0.10 M sodium sulfite and 3–5 drops of phenolphthalein added as the indicator. The solution is titrated with standardized sulfuric acid and the endpoint recorded at the color change of the titrant from pink to colorless. The concentration  $C$  of formaldehyde in solution is given by  $C$  (mg mL<sup>-1</sup>) =  $(30.0 \cdot N_a \cdot V_a) / V_s$ , where 30.0 is the molecular weight of formaldehyde,  $N_a$  is the normality of sulfuric acid,  $V_a$  (mL) is the volume of sulfuric acid at the end-point, and  $V_s$  (mL) is the volume of the sample.

### 3. Results and discussion

In this work, formaldehyde in the sample solution reacts with excess sodium sulfite in the first step (procedure ① in Fig. 2(a)) by reaction (1) [26,52].



Hydrochloric acid is then added to react with the remaining sodium

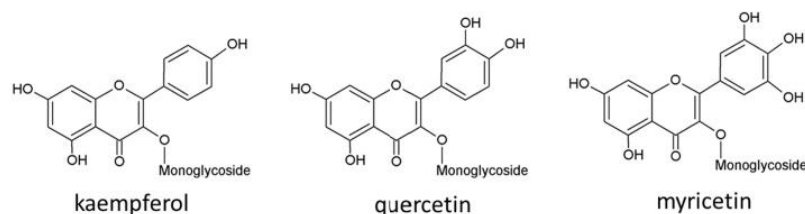
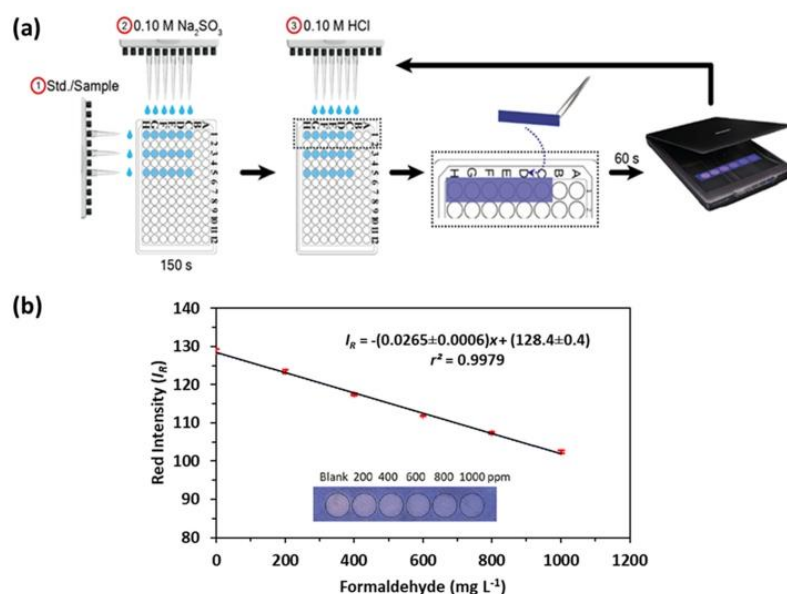


Fig. 1. Molecular structures of flavonol glycoside of three major anthocyanin flavonoids found in butterfly pea flowers [44].



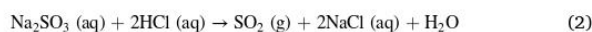
**Fig. 2.** (a) Schematics of the calibration procedure. Procedure ①. The blank (deionized water, 60  $\mu$ L) and formaldehyde standard solutions (200, 400, 600, 800, 1000  $\text{mg L}^{-1}$ , 60  $\mu$ L) are pipetted into designated wells. Procedure ②. The 0.10 M sodium sulfite solution (20  $\mu$ L) is pipetted into the designated wells. The reaction time of formaldehyde and sodium sulfite is set at 150 s. Procedure ③. The 0.10 M hydrochloric acid (20  $\mu$ L) is pipetted into one row of the reaction wells, e.g., row #1 (dotted boundary in Fig. 2(a)). Subsequent steps. The damp indicator paper is placed over the row of the reaction well (dotted boundary in Fig. 2(a)). The period for the generation of SO<sub>2</sub>(g) and absorption on surface of indicator strip is 60 s. The indicator paper is removed and scanned on a flatbed scanner. Procedure ③ is repeated for rows # 3 and # 5. The color intensity of each exposed indicator strip is evaluated using ImageJ software. (b) Example of a calibration plot of mean red intensity ( $I_R$ ) (from three indicator strips) vs formaldehyde concentration. Error bars are the standard deviations of the mean  $I_R$ . The inset is the images of the circular color spots of one strip of the indicator paper used in the calibration procedure. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

**Table 1**

List of the pipetting steps for analysis of standard solutions using the 96-well microplate.

Procedure	Pipetting Step	Solution	Position of well
①	1	Blank (DI water) (60 $\mu$ L)	1H, 3H, 5H
	2	200 $\text{mg L}^{-1}$ standard formaldehyde (60 $\mu$ L)	1G, 3G, 5G
	3	400 $\text{mg L}^{-1}$ standard formaldehyde (60 $\mu$ L)	1F, 3F, 5F
	4	600 $\text{mg L}^{-1}$ standard formaldehyde (60 $\mu$ L)	1E, 3E, 5E
	5	800 $\text{mg L}^{-1}$ standard formaldehyde (60 $\mu$ L)	1D, 3D, 5D
	6	1000 $\text{mg L}^{-1}$ standard formaldehyde (60 $\mu$ L)	1C, 3C, 5C
②	7–9	0.10 M sodium sulfite (20 $\mu$ L)	nC, nD, nE, nF, nG, nH (n = 1, 3 and 5)
③	10–12	0.10 M hydrochloric acid (20 $\mu$ L)	nC, nD, nE, nF, nG, nH (n = 1, 3 and 5)

sulfite to generate volatile sulfur dioxide gas, as given in reaction (2) [53].



The sulfur dioxide gas diffuses through the headspace of the well to the surface of the moist indicator paper impregnated with butterfly pea flower extract covering the opening of the well. The increase in [H<sup>+</sup>], resulting from the absorption and hydrolysis of the sulfur dioxide gas, changes the color of the indicator dye (see Section 3.2.1). The headspace colorimetric method was optimized and then applied to the quantitation of formaldehyde in the food samples.

### 3.1. Optimization of the headspace paper-based colorimetric method

The starting conditions for the following optimization study are 60  $\mu$ L standard formaldehyde solutions (0, 200, 400, 600, 800, and 1000  $\text{mg L}^{-1}$ ), 20  $\mu$ L of 0.10 M sodium sulfite solution, 150 s reaction time of formaldehyde and sodium sulfite, 20  $\mu$ L of 0.10 M hydrochloric acid, 6% w/v butterfly pea flower extract, and 60 s for the time of the color

change of the indicator paper. The solutions are added to the wells as described in Section 2.3.2 (a) and the recorded color images analyzed as described in Section 2.3.3.

#### (a) Selection of optimal concentration of hydrochloric acid

Hydrochloric acid was selected as the acid. The concentration of the acid was varied (0.01, 0.05, 0.10, 0.50, and 1.0 M) to select the optimal concentration. The mean of the red intensities ( $I_R$ ) of the six standard formaldehyde solutions were measured for each concentration of hydrochloric acid. Fig. 3(a) shows the plots of  $I_R$  of the standard solutions for each acid concentration.

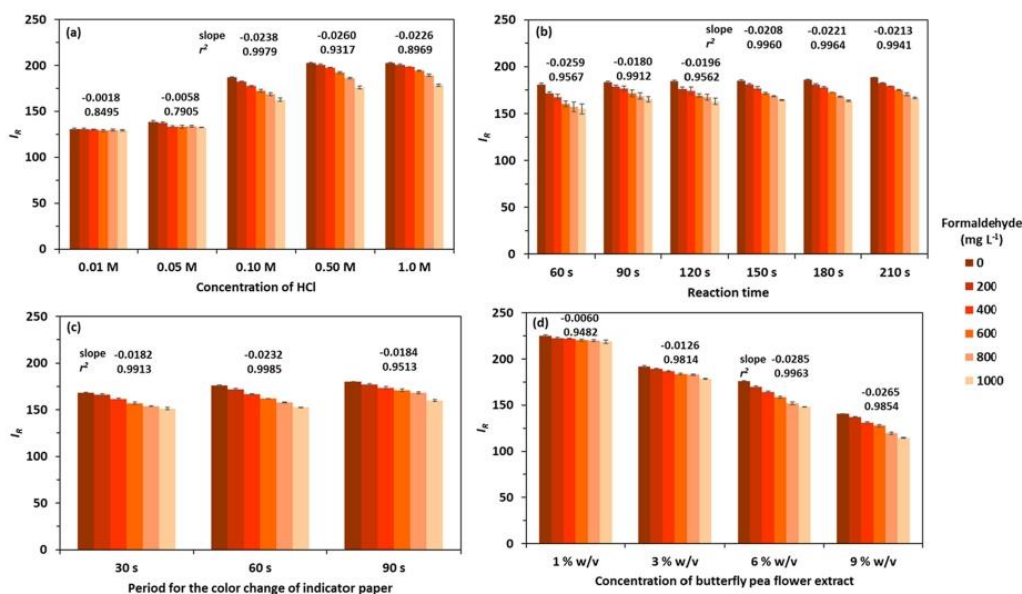
The blank sample (0  $\text{mg L}^{-1}$  formaldehyde) has the maximum concentration of sulfite. The  $I_R$  value of this blank sample increased with the amount of hydrochloric acid, indicating that 0.01 and 0.05 M HCl are not sufficient to convert all sulfite to sulfur dioxide gas (see eqn. (2)). However, the  $I_R$  values did not increase greatly when using [HCl]  $\geq$  0.10 M.

For a fixed concentration of HCl, increase of the formaldehyde concentration gave a linear correlation between  $I_R$  and formaldehyde concentration (cf. Section 2.3.3). Fig. 3(a) shows that the slope and coefficient of determination ( $r^2$ ) is maximal for 0.10 M HCl, indicating that this concentration of acid is sufficient to convert the remaining sulfite to sulfur dioxide gas (and neutralize the NaOH produced in the reaction (eqn. (1)) with good precision. Thus 0.10 M HCl was selected for use in the routine procedure.

#### (b) Selection of sodium sulfite concentration

The maximum concentration of formaldehyde of a sample analyzed by this method is set at 1000  $\text{mg L}^{-1}$  (0.03 mM). The concentration of formaldehyde in the well after addition of all solutions (i.e., 60  $\mu$ L sample, 20  $\mu$ L sulfite, 20  $\mu$ L acid) is therefore 0.018 mM. The concentration of added sulfite (20  $\mu$ L of 0.10 M sodium sulfite) in the well is 20 mM which is sufficiently excess to react with all the formaldehyde (see eqn. (1)).

#### (c) Optimization of reaction time of formaldehyde and sodium sulfite



**Fig. 3.** Optimization of sulfur dioxide gas generation for the headspace colorimetric detection of formaldehyde. Calibration data obtained for (a) various concentrations of hydrochloric acid, (b) various reaction times of formaldehyde and sodium sulfite, (c) different periods for the generation of SO<sub>2</sub> gas and the color change of indicator paper, and (d) various concentrations of the butterfly pea flower extract solution. See caption of Fig. 2(a) for experimental procedure. The starting conditions are: 0, 200, 400, 600, 800, 1000 mg L<sup>-1</sup> standard formaldehyde (60  $\mu$ L); 0.10 M sodium sulfite solution (20  $\mu$ L); 150 s reaction time of formaldehyde and sodium sulfite; 0.10 M hydrochloric acid (20  $\mu$ L); 6% w/v butterfly pea flower extract and 60 s period for the color change of indicator. Error bars represent the standard deviations for three indicator strips. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

Using the optimized conditions for the concentrations of sulfite and hydrochloric acid, the period for reaction of formaldehyde and sodium sulfite was set at 60, 90, 120, 150, 180, and 210 s. The time for the color development was fixed at 60 s. Fig. 3(b) shows the calibration data obtained for the six reaction periods. For reaction time of 150 s and longer, the slopes and coefficient of determination ( $r^2$ ) are almost constant. Therefore, the reaction time of 150 s was selected as the suitable period for the routine work.

(d) Selection of period for the color change of indicator paper

Using the optimized conditions for reaction time, sulfite and acid concentrations, the time that the indicator paper is exposed to the sulfur dioxide gas was set at 30, 60, and 90 s. Fig. 3(c) shows the calibration data obtained for the three time periods. The 60 s period gives the highest slope and coefficient of determination ( $r^2$ ). Therefore, 60 s was selected as the suitable time interval for the routine work.

(e) Selection of concentration of the butterfly pea flower extract

The concentration of butterfly pea flower extract (Section 2.2) will have an effect on the change of the red color intensity of the indicator paper strip with concentrations of formaldehyde in the well. Using the optimized variables for measurement of formaldehyde, Fig. 3(d) shows the calibration data obtained for extracts of 1, 3, 6, and 9% w/v concentration. The 6% w/v extract gives the highest slope and coefficient of determination ( $r^2$ ). Therefore, the extract concentration of 6% w/v was selected for the routine analysis.

### 3.2. Analytical characteristics of formaldehyde analysis by headspace paper-based colorimetric detection

#### 3.2.1. Quantitation and limit of detection (LOD)

When the generated SO<sub>2</sub>(g) is absorbed into the moist indicator paper, the following hydrolysis reactions take place.



The generation of H<sup>+</sup> produces a decrease in the pH of the indicator solution and hence a change in the absorption spectrum of the natural dye. The color of the butterfly pea flower extract, is due to a mixture of the red flavylum and the blue quinoidal compounds, giving the blue to purple color. The solution is red when it is acidic due the increase of the cationic oxonium group of the flavylum [43,54]. The aglycone cores of anthocyanins are affected by pH as shown in Fig. 4 [51]. The increase of [H<sup>+</sup>] is related to the amount of SO<sub>2</sub>(g) produced in the well, i.e., the higher the formaldehyde concentration, the less is the remaining sulfite and thus the lower the concentration of SO<sub>2</sub>(g) in the headspace.

The recorded images of the circular spots are measured as described in Section 2.3.3 but with the red, green and blue intensities measured. Fig. 5 shows the plots of the mean red, green and blue intensities for the formaldehyde standard solutions (0, 200, 400, 600, 800, 1000 mg L<sup>-1</sup>; see Section 2.3.2 (a) for experimental details). Linear regression lines are obtained with negative slopes, i.e., as more SO<sub>2</sub>(g) are produced at lower formaldehyde concentration the color intensities increase, reaching the maximum intensity for 0 mg L<sup>-1</sup> formaldehyde (blank sample). The regression line for the red intensity (Fig. 5) gives the largest slope and highest coefficient of determination ( $r^2$ ) and was thus selected for

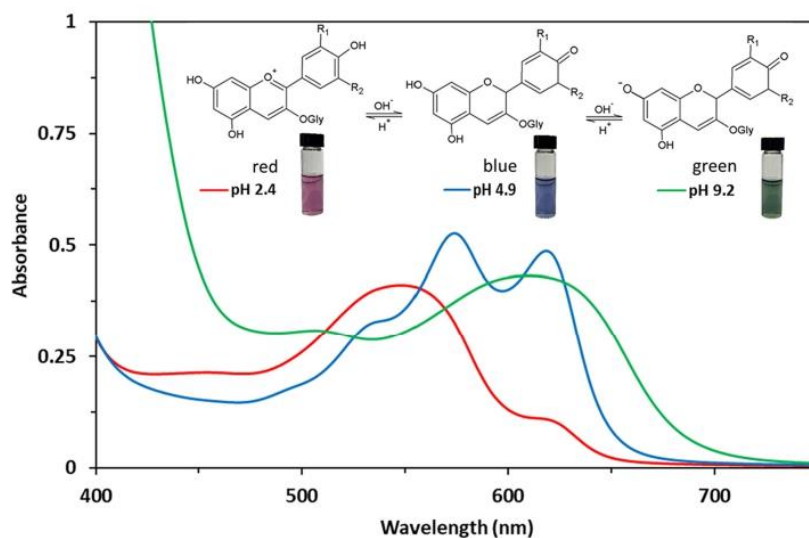


Fig. 4. Visible absorption spectra of butterfly pea flower extract at pH 2.4 (red plot), 4.9 (blue plot), and 9.2 (green plot). The molecular structures of the anthocyanins ( $R_1$ ,  $R_2$ : H or OH) [51] and the color of the solutions for the three pH values are shown. Experimental conditions: 1 mL of 6% w/v butterfly pea flower extract solution diluted to 25 mL with deionized water giving the blue solution with pH 4.9, adjusting to pH 2.4 with 0.10 M HCl and to pH 9.2 with 0.10 M NaOH. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

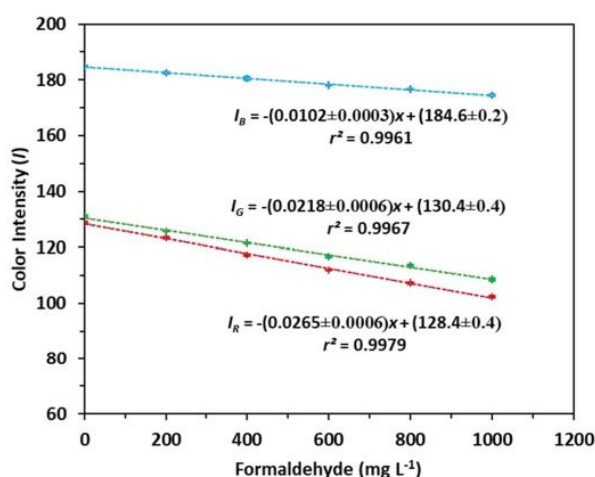


Fig. 5. Plots of the mean intensities of red ( $I_R$ ), green ( $I_G$ ), and blue ( $I_B$ ) with formaldehyde concentrations. Error bars are the standard deviations of the mean for 3 strips of indicator paper. See caption of Fig. 2(a) for experimental procedure. Experimental conditions: reagent blank (DI water, 60  $\mu$ L); 200, 400, 600, 800, 1000  $\text{mg L}^{-1}$  standard formaldehyde (60  $\mu$ L); 0.10 M sodium sulfite solution (20  $\mu$ L); 150 s reaction time of formaldehyde and sodium sulfite; 0.10 M hydrochloric acid (20  $\mu$ L); 6% w/v butterfly pea flower extract; 60 s period for the color change of indicator. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

constructing the calibration line in the routine work (Section 2.3.3).

An example of the regression equation of the red intensity is  $I_R = -(0.0265 \pm 0.0006)x + 128.4 \pm 0.4$ , with  $r^2 = 0.9979$  (see Fig. 2(b) for the calibration plot). An inset of the images of the color spots of the indicator paper strip for the blank and formaldehyde standards is also shown in Fig. 2(b). The LOD is  $40 \text{ mg L}^{-1}$  calculated using  $(2.57 \cdot \text{SD of intercept}) / (\text{slope of calibration line})$  and the limit of quantitation (LOQ) is  $140 \text{ mg L}^{-1}$  calculated using  $(10 \cdot \text{SD of intercept}) / (\text{slope of calibration line})$  [55].

### 3.2.2. Precision of color formation

The precision of the method was measured using the procedure

described in Section 2.3.2 (a) for the blank (DI water) and standard formaldehyde solutions (200, 400, 600, 800, and 1000  $\text{mg L}^{-1}$ ). The results of the measured red intensity values ( $I_R$ ) are shown in Table 2. The precisions of the measured color intensities of the indicator paper strips for all formaldehyde concentrations are less than 2% RSD ( $n = 3$  strips).

### 3.2.3. Interference study

The possible reaction of aldehydes (e.g., acetaldehyde, salicylaldehyde, benzaldehyde) and carbonyl compounds (e.g., acetone, 3-methyl-2-butanone, acetophenone) with sulfite was investigated using a 400  $\text{mg L}^{-1}$  standard formaldehyde solution spiked with each presumptive interfering compound. These solutions were analyzed as described in Section 2.3.2 (b). The tolerance limit is defined as the highest concentration which gives an absolute relative error <5% of the measured red intensity ( $I_R$ ) of the 400  $\text{mg L}^{-1}$  standard formaldehyde. The results are shown in Table 3. The tolerance limits of acetone, 3-methyl-2-butanone, and acetophenone are  $>500 \text{ mg L}^{-1}$ . Acetaldehyde has the lowest tolerance limit at 80  $\text{mg L}^{-1}$  as it can react with hydrogensulfite ion formed from the remaining sulfite ions (see Scheme 1) [56]. However, the tolerance limits of acetaldehyde (80  $\text{mg L}^{-1}$ ) and the other aldehydes (500  $\text{mg L}^{-1}$ ) are still greater than the levels normally found in food [57].

### 3.3. Results of analysis of formaldehyde in food samples

Samples of fresh seafood (squid, shrimp, and fish), fresh meat (raw cow tripe), fresh vegetables (mushroom, bean sprouts, and coconut shoots) and processed food (Thai pork sausage, ham, and rice-flour noodles) were prepared and analyzed using the developed method (see Section 2.3.2 (b)). The results are shown in Table 4 with the

Table 2

Mean of the measured red intensity values ( $I_R$ ) of the indicator paper in the analysis of standard formaldehyde solutions.

Formaldehyde concentration ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Mean $I_R \pm \text{SD}$ ( $n = 3$ strips)	% RSD
0	$128.7 \pm 0.7$	0.5
200	$123.0 \pm 0.3$	0.3
400	$117.9 \pm 1.5$	1.2
600	$112.5 \pm 1.2$	1.0
800	$107.1 \pm 1.1$	1.1
1000	$101.3 \pm 0.4$	0.4

**Table 3**

Tolerance limits of presumptive interfering compounds for the developed method of headspace-colorimetric detection.

Compound	Tolerance limit (mg L <sup>-1</sup> )
Acetaldehyde	80
Salicylaldehyde	500
Benzaldehyde	500
Acetone	>500
3-Methyl-2-butanone	>500
Acetophenone	>500

concentrations (mg L<sup>-1</sup>) of the sample solutions used in the measurements and also the calculated amount (mg kg<sup>-1</sup>) in the original sample.

The headspace paper-based colorimetric detection was validated with the titration method for formaldehyde (see Section 2.4) [24,25]. The formaldehyde contents using the titration method are also given in Table 4. Using paired *t*-test, there are no significant differences between the two methods for all samples ( $t_{stat} = -0.9972$ ,  $t_{crit} = 2.2622$ ,  $P = 0.95$ ).

The effect of food sample matrix on the analysis of formaldehyde by this developed method was also investigated. Food samples (fish, shrimp, and rice-flour noodles) with no formaldehyde were spiked with three different concentrations of formaldehyde within the calibration range. The recoveries of the spiked samples are shown in Table 5, with values in the range of 98–102% and %RSDs of 1.0–3%. The data showed that the headspace paper-based colorimetric method is suitable for analysis of formaldehyde in food samples with no significant matrix effect.

#### 3.4. Comparison with previous works on analysis of formaldehyde in food using colorimetric detection

Table 6 lists previous works on the determination of formaldehyde in food using various colorimetric methods [18,22,27]. The first step of the reactions employed in this work, i.e., reaction with excess sulfite, is the same as that employed in Ref. [27] but in the latter work the NaOH produced was measured (see eqn. (1)). The reduction by formaldehyde of silver nanoclusters (AgNCs) modified Tollens' reagent [18] requires an incubation time of 25 min (see Column 2 in Table 6). The formation of the yellow complex with acetylacetone also requires heating to obtain completion of reaction within 1 min [22,58]. All reported methods employ a single sample per analysis cycle using either absorbance measurement [18] of the sample solution or recording the digital images [22,27] (see columns 3 and 4 in Table 6). This developed method has a wide linear range of 200–1000 mg L<sup>-1</sup> formaldehyde, with LOD of 40 mg L<sup>-1</sup> (1.3 mM) and precision of <2% RSD.

#### 4. Conclusion

Using a 96-well microplate as multiple headspaces, six samples can be simultaneously loaded into the wells to react with added excess sulfite. The excess sulfite is acidified with addition of acid to generate sulfur dioxide gas. The air-space above the solution acts as a headspace

for the sulfur dioxide gas to diffuse to the underside of the moist pH indicator paper that covers the mouth of the well. The indicator is an extract of natural pigments from the butterfly pea flower. The gas is absorbed and hydrolyzed, acidifying the moist pH indicator paper which changes color. The exposed paper is removed, scanned and the images of the 6 spots analyzed for color intensities using ImageJ [50]. The

**Table 4**

Measured formaldehyde content in food samples using the headspace paper-based colorimetric method and the titration method.

No.	Type of food sample	Concentration of formaldehyde ± SD (n = 3)			
		Headspace colorimetric method		Titration method	
		Extract solution (mg L <sup>-1</sup> )	Calculated content in sample (mg kg <sup>-1</sup> )	Extract solution (mg L <sup>-1</sup> )	Calculated content in sample (mg kg <sup>-1</sup> )
<b>Fresh seafood</b>					
1.	Squid	741 ± 11	1460 ± 20	730 ± 17	1450 ± 40
2.	Shrimp	ND	ND	ND	ND
3.	Fish	ND	ND	ND	ND
<b>Fresh meat</b>					
4.	Raw cow tripe	214 ± 6	427 ± 12	190 ± 17	380 ± 30
<b>Fresh vegetable</b>					
5.	Mushroom	298 ± 5	595 ± 11	290 ± 17	580 ± 30
6.	Bean sprouts	828 ± 19	1660 ± 40	870 ± 2	1738 ± 3
7.	Coconut shoots	917 ± 7	1829 ± 14	970 ± 17	1930 ± 30
<b>Processed food</b>					
8.	Thai pork sausage	ND	ND	ND	ND
9.	Ham	370 ± 10	740 ± 20	395 ± 9	789 ± 18
10.	Rice-flour noodles	ND	ND	ND	ND

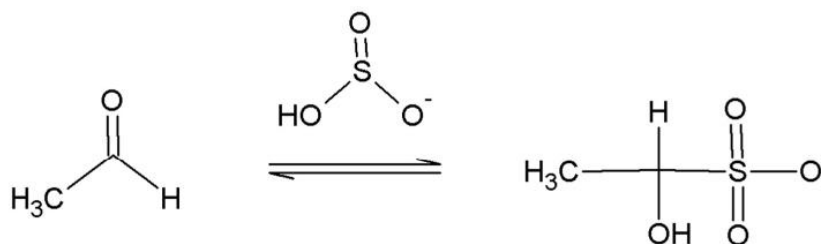
ND: not detected < LOQ (140 mg L<sup>-1</sup>).

**Table 5**

Recoveries of spiked formaldehyde in food samples using the headspace paper-based colorimetric method.

Food sample	Concentration of formaldehyde ± SD (n = 3)			Recovery (%)	RSD (%)
	Extract solution (mg L <sup>-1</sup> )	Amount added (mg L <sup>-1</sup> )	Amount found (mg L <sup>-1</sup> )		
Shrimp	ND	400	404 ± 10	101	2
		600	595 ± 6	99	1.0
		800	807 ± 13	101	1.7
Fish	ND	400	394 ± 8	98	2
		600	610 ± 20	102	3
		800	798 ± 18	100	2
Rice-flour noodles	ND	400	402 ± 11	101	3
		600	589 ± 6	98	1.0
		800	804 ± 9	101	1.2

ND: not detected < LOQ (140 mg L<sup>-1</sup>).



Scheme 1. Reaction of acetaldehyde with hydrogensulfite [56].

**Table 6**

List of formaldehyde analysis in food using colorimetric detection with chemicals employed, reaction time, type of reaction device, number of samples per measurement cycle, reaction product, and analytical characteristics of the method (linear range and precision).

Chemicals	Reaction time	Reaction device	No. of sample/cycle	Measured reaction product	Separation of product	Linear range	%RSD	Reference
Synthesized AgNCs	Incubated for 25 min	10 mL volumetric flask	1	Yellow complex in solution	No	0.9–1.5 mg L <sup>-1</sup>	<3	[18]
Commercial reagents	Mixing for 1 min, heating is preferred	1.5 mL centrifuge tube	1	Yellow product in solution	No	1–25 mg L <sup>-1</sup>	≤3.10	[22]
Commercial reagents	Step 1 <sup>a</sup> = 1 min, Step 2 <sup>b</sup> = solution filled all test zones	Patterned PAD	1	Pink product on paper	No	100–1000 mg L <sup>-1</sup>	NR	[27]
Natural butterfly pea flower extract	Step 1 <sup>a</sup> = 2.5 min, Step 2 <sup>b</sup> = 1 min	96-well microplate	6	Generated SO <sub>2</sub> gas	Yes	200–1000 mg L <sup>-1</sup>	<2	This work

<sup>a</sup> Formaldehyde + Sodium sulfite.

<sup>b</sup> Product to be measured, NR: Not Reported.

concentrations of formaldehyde in the samples are determined using a linear calibration line constructed from the plot of the red color intensities with concentrations of standard formaldehyde solutions. The developed method with headspace paper-based colorimetric detection was validated with the sodium sulfite titration method. This method does not require any scientific instrumentation and is thus low cost.

#### CRedit authorship contribution statement

**Nattapon Yodpach:** Investigation, Formal analysis, Validation, Writing – original draft. **Rattikan Chantiwas:** Visualization, Writing – review & editing. **Prapin Wilairat:** Visualization, Writing – review & editing. **Nathawut Choengchan:** Visualization, Writing – review & editing. **Wiboon Praditweangkum:** Conceptualization, Methodology, Data curation, Visualization, Writing – review & editing.

#### Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Data availability

Data will be made available on request.

#### Acknowledgments

This work was supported by the Department of Chemistry, School of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand.

#### References

- V.J. Coglianò, Y. Grosse, R.A. Baan, K. Straif, M.B. Secretan, F.E. Ghisassi, The working group for Volume 88, Meeting report: summary of IARC monographs on formaldehyde, 2-butoxyethanol, and 1-tert-butoxy-2-propanol, *Environ. Health Perspect.* 113 (2005) 1205–1208.
- C. Protano, G. Buomprisco, V. Cammalleri, R.N. Pocino, D. Marotta, S. Simonazzi, F. Cardoni, M. Petyx, S. Iavicoli, M. Vitali, The carcinogenic effects of formaldehyde occupational exposure: a systematic review, *Cancers* 14 (2022) 165.
- Formaldehyde and Cancer Risk, August 2021. <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/substances/formaldehyde/formaldehyde-fact-sheet>.
- R. Kumar, R.K. Verma, R.K. Dixit, N.V. Kumar, N.R. Kumar, D.K. Katiyar, Embalming solutions and their adverse effects: an update, *Asian J. Pharmaceut. Health Sci.* 3 (2013) 735–738.
- N.T. Subasi, Formaldehyde Advantages and Disadvantages: Usage Areas and Harmful Effects on Human Beings, August 2021, <https://doi.org/10.5772/intechopen.89299>.
- X. Tang, Y. Bai, A. Duong, M.T. Smith, L. Li, L. Zhang, Formaldehyde in China: production, consumption, exposure levels, and health effects, *Environ. Int.* 35 (2009) 1210–1224.
- F. Nowshad, MdN. Islam, M.S. Khan, Concentration and formation behavior of naturally occurring formaldehyde in food, *Agric. Food Secur.* 7 (2018) 17.
- V. Yurayart, W. Sanitchua, Formaldehyde in foods, *Thai J. Toxicol.* 32 (2017) 53–66.
- P. Wahed, MdA. Razaq, S. Dharmapuri, M. Corrales, Determination of formaldehyde in food and feed by an in-house validated HPLC method, *Food Chem.* 202 (2016) 476–483.
- European Food Safety Authority, Endogenous formaldehyde turnover in humans compared with exogenous contribution from food sources, *Efsa J.* 12 (2014) 3550.
- F. Bianchi, M. Careri, M. Musci, A. Mangia, Fish and food safety: determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC-MS analysis, *Food Chem.* 100 (2007) 1049–1053.
- N.I. Marzuki, F.A. Bakar, A.B. Salleh, L.Y. Heng, N.A. Yusof, S. Siddiquee, Development of electrochemical biosensor for formaldehyde determination based on immobilized enzyme, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012) 6070–6083.
- T.A. Donegatti, A. Lobato, L.M. Gonçalves, E.A. Pereira, Cyclohexane-1,3-dione as a derivatizing agent for the analysis of aldehydes by micellar electrokinetic chromatography with diode array detection, *Electrophoresis* 40 (2019) 2929–2935.
- X. Nie, Z. Chen, Y. Tian, S. Chen, L. Qu, M. Fan, Rapid detection of trace formaldehyde in food based on surface-enhanced Raman scattering coupled with assembled purge trap, *Food Chem.* 340 (2021), 127930.
- G. Yuan, H. Ding, L. Peng, L. Zhou, Q. Lin, A novel fluorescent probe for ratiometric detection of formaldehyde in real food samples, living tissues and zebrafish, *Food Chem.* 331 (2020), 127221.
- U.S. Akshath, L.S. Selvakumar, M.S. Thakur, Detection of formaldehyde in food samples by enhanced chemiluminescence, *Anal. Methods* 4 (2012) 699–704.
- X. Cui, G. Fang, L. Jiang, S. Wang, Kinetic spectrophotometric method for rapid determination of trace formaldehyde in foods, *Anal. Chim. Acta* 590 (2007) 253–259.
- K. Chaiendoo, S. Sooksin, S. Kulchat, V. Promarak, T. Tuntulani, W. Ngeontae, A new formaldehyde sensor from silver nanoclusters modified Tollens' reagent, *Food Chem.* 255 (2018) 41–48.
- Á. Ríos, M. Zougagh, M. Avila, Miniaturization through lab-on-a-chip: utopia or reality for routine laboratories? A review, *Anal. Chim. Acta* 740 (2012) 1–11.
- A. Ostovan, M. Arabi, Y. Wang, J. Li, B. Li, X. Wang, L. Chen, Greenificated molecularly imprinted materials for advanced applications, *Adv. Mater.* (2022), 2203154.
- M. Arabi, A. Ostovan, Z. Zhang, Y. Wang, R. Mei, L. Fu, X. Wang, J. Ma, L. Chen, Label-free SERS detection of Raman-inactive protein biomarkers by Raman reporter indicator: toward Ultrasensitivity and universality, *Biosens. Bioelectron.* 174 (2021), 112825.
- W. Wongniramaikul, W. Limsakul, A. Choodum, A biodegradable colorimetric film for rapid low-cost field determination of formaldehyde contamination by digital image colorimetry, *Food Chem.* 249 (2018) 154–161.
- A.F.S. Silva, I.C. Gonçalves, F.R.P. Rocha, Smartphone-based digital images as a novel approach to determine formaldehyde as a milk adulterant, *Food Control* 125 (2021), 107956.
- J.F. Walker, Formaldehyde, Reinhold Publishing Corporation, New York, 1944.
- The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), fifth ed., May 2021. <https://www.edc.gov/niosh/nmam/default.html>.
- I. Finkelde, R.R. Waller, Comparing methods of determining formalin concentration in fluid preservatives, *Collect. Forum* 34 (2020) 32–52.
- N. Taprab, Y. Sameenoi, Rapid screening of formaldehyde in food using paper-based titration, *Anal. Chim. Acta* 1069 (2019) 66–72.
- N. Choengchan, T. Mantim, P. Wilairat, P.K. Dasgupta, S. Motomizu, D. Nacapricha, A membraneless gas diffusion unit: design and its application to determination of ethanol in liquors by spectrophotometric flow injection, *Anal. Chim. Acta* 579 (2006) 33–37.
- K. Sereenonchai, P. Saetear, N. Amorntammarong, K. Uraisin, P. Wilairat, S. Motomizu, D. Nacapricha, Membraneless vaporization unit for direct analysis of solid sample, *Anal. Chim. Acta* 597 (2007) 157–162.
- P. Phansi, S. Sumantakul, T. Wongpakdee, N. Fukana, N. Ratanawimarnwong, J. Sitanurak, D. Nacapricha, Membraneless gas-separation microfluidic paper-based analytical devices for direct quantitation of volatile and nonvolatile compounds, *Anal. Chem.* 88 (2016) 8749–8756.

- [31] N. Chantipmanee, W. Alahmad, T. Sonsa-ard, K. Uraisin, N. Ratanawimarnwong, T. Mantim, D. Nacapricha, Green analytical flow method for the determination of total sulfite in wine using membraneless gas-liquid separation with contactless conductivity detection, *Anal. Methods* 9 (2017) 6107–6116.
- [32] J.J. Peters, M.I.G.S. Almeida, L.O.C. Sraij, I.D. McKelvie, S.D. Kolev, Development of a micro-distillation microfluidic paper-based analytical device as a screening tool for total ammonia monitoring in freshwaters, *Anal. Chim. Acta* 1079 (2019) 120–128.
- [33] P. Jaikang, P. Paengnakorn, K. Grudpan, Simple colorimetric ammonium assay employing well microplate with gas pervaporation and diffusion for natural indicator immobilized paper sensor via smartphone detection, *Microchem. J.* 152 (2020), 104283.
- [34] T. Tolessa, Z.-Q. Tan, Y.-G. Yin, J.-F. Liu, Single-drop gold nanoparticles for headspace microextraction and colorimetric assay of mercury(II) in environmental waters, *Talanta* 176 (2018) 77–84.
- [35] N. Bagheri, M. Saraji, Combining gold nanoparticle-based headspace single-drop microextraction and a paper-based colorimetric assay for selenium determination, *Anal. Bioanal. Chem.* 411 (2019) 7441–7449.
- [36] Y.B. Cho, S.H. Jeong, H. Chun, Y.S. Kim, Selective colorimetric detection of dissolved ammonia in water via modified Berthelot's reaction on porous paper, *Sensor. Actuator. B Chem.* 256 (2018) 167–175.
- [37] J. Jongprakobkit, W. Wisaichon, W. Praditweangkum, A simple and green approach for colorimetric ammonia determination by combining pervaporation with paper impregnated anthocyanins extracted from red cabbage, *Curr. Appl. Sci. Technol.* 20 (2020) 394–407.
- [38] D. Li, H. Duan, Y. Ma, W. Deng, Headspace-sampling paper-based analytical device for colorimetric/surface-enhanced Raman scattering dual sensing of sulfur dioxide in wine, *Anal. Chem.* 90 (2018) 5719–5727.
- [39] Y. Thepchuay, T. Sonsa-ard, N. Ratanawimarnwong, S. Auparakkitanon, J. Sitaturak, D. Nacapricha, Paper-based colorimetric biosensor of blood alcohol with in-situ headspace separation of ethanol from whole blood, *Anal. Chim. Acta* 1103 (2020) 115–121.
- [40] T. Nawalohakul, P. Charoenjiraroj, R. Chantivas, P. Wilairat, W. Praditweangkum, A ninety-six well plate as headspaces with moist starch indicator paper as a cover for the determination of ascorbic acid by iodate oxidation and formation of volatile iodine, *Anal. Methods* 14 (2022) 741–749.
- [41] A. Shahvar, M. Saraji, D. Shamsaei, Headspace single drop microextraction combined with mobile phone-based on-drop sensing for the determination of formaldehyde, *Sensor. Actuator. B Chem.* 273 (2018) 1474–1478.
- [42] C. Liao, M. Zhang, N. Gao, Q. Tian, J. Shi, S. Chen, C. Wang, L. Zang, Paper-based vapor detection of formaldehyde: colorimetric sensing with high sensitivity, *Chemosensors* 9 (2021) 335.
- [43] B. Enaru, G. Dreţcanu, T.D. Pop, A. Stănilă, Z. Diaconeasa, Anthocyanins: factors affecting their stability and degradation, *Antioxidants* 10 (2021) 1967.
- [44] K. Kazuma, N. Noda, M. Suzuki, Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*, *Phytochemistry* 62 (2003) 229–237.
- [45] N.M. Saptarini, D. Suryasaputra, H. Nurmalia, Application of butterfly pea (*Clitoria ternatea* Linn) extract as an indicator of acid-base titration, *J. Chem. Pharmaceut. Res.* 7 (2015) 275–280.
- [46] S.M. Campbell, B. Pearson, C. Marble, Butterfly Pea (*Clitoria Ternatea*) Flower Extract (BPFE) and its Use as a pH-dependent Natural Colorant, May 2021. <http://edis.ifas.ufl.edu/publication/EP573>.
- [47] M. Arabi, A. Ostovan, J. Li, X. Wang, Z. Zhang, J. Choo, L. Chen, Molecular imprinting: green perspectives and strategies, *Adv. Mater.* 33 (2021), 2100543.
- [48] M. Arabi, L. Chen, Technical challenges of molecular-imprinting-based optical sensors for environmental pollutants, *Langmuir* 38 (2022) 5963–5967.
- [49] Q. Meng, T. Han, G. Wang, N. Zheng, C. Cao, S. Xie, Preparation of a natural dye doped Ormosil coating for the detection of formaldehyde in the optical gas sensor, *Sensor. Actuator. B Chem.* 196 (2014) 238–244.
- [50] M.D. Abrãmooff, P.J. Magalhães, S.J. Ram, Image processing with ImageJ, *Biophot. Int.* 11 (2004) 36–42.
- [51] K. Kungsuwan, K. Singh, S. Phetkao, N. Utama-ang, Effects of pH and anthocyanin concentration on color and antioxidant activity of *Clitoria ternatea* extract, *Food Appl. Biosci. J.* 2 (2014) 31–46.
- [52] P.R. Steiner, Determination of paraformaldehyde reactivity and its relationship to PRF resin gelation, *Wood Fiber Sci.* 24 (1992) 73–78.
- [53] Z. Yang, Y. Zhang, Q. Zhang, T. Pei, Z. Meng, Effect of HCl on spectral properties of sulfur dioxide and its derivatives dissolved in water, *Procedia Environ. Sci.* 18 (2013) 92–99.
- [54] S. Singh, K.K. Gaikwad, Y.S. Lee, Anthocyanin – a natural dye for smart food packaging systems, *Korean J. Packag. Sci. Technol.* 24 (2018) 167–180.
- [55] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, sixth ed., Pearson Education, Harlow, 2010.
- [56] M.K. Sheridan, R.J. Elias, Reaction of acetaldehyde with wine flavonoids in the presence of sulfur dioxide, *J. Agric. Food Chem.* 64 (2016) 8615–8624.
- [57] M. Uebelacker, D.W. Lachenmeier, Quantitative determination of acetaldehyde in foods using automated digestion with simulated gastric fluid followed by headspace gas chromatography, *J. Autom. Methods Manag. Chem.* 2011 (2011), 907317.
- [58] G.F. Pinto, D.L. Rocha, E.M. Richter, R.A.A. Muñoz, S.G. da Silva, A multicommuted flow system for spectrophotometric determination of formaldehyde in mushroom, *J. Braz. Chem. Soc.* 29 (2018) 1400–1405.

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นายณัฐพล ยอดเพชร  
 วัน เดือน ปีเกิด 5 เมษายน 2531  
 ที่อยู่ปัจจุบัน 32/1 หมู่ 1 ตำบลบ้านกร่าง อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000  
 โทร. 084-5951791

### ประวัติการศึกษา

2553 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี เกรดเฉลี่ย 2.53 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 2565 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมี เกรดเฉลี่ย 3.81 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### ผลงานทางวิชาการ

2565 Yodpach, N., Chantiwas, R., Wilairat, P., Choengchan, N. and Praditweangkum, W. “Multi-well Plate as Headspaces for Paper-based Colorimetric Detection of Sulfur Dioxide Gas: An Alternative Method of Sulfite Titration for Determination of Formaldehyde” **Analytica Chimica Acta**. 1239(2023) : 340704.